



El Colegio de la Frontera Sur

**Riesgo zoonótico y antropozoonótico en carnívoros
silvestres pequeños y medianos en Calakmul, Campeche**

TESIS

Presentada como requisito parcial para optar al grado de
Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural
Por

SERGIO GUERRERO SÁNCHEZ

2011

A mi esposa, Ere: Por estar, por ser parte de esta aventura... y de las que vienen

A mi familia: por su apoyo incondicional, siempre

Todo el mundo es medicina

¿Qué es la enfermedad?

Antiguo dicho Zen

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue parte del proyecto “Uso de la diversidad de flora y fauna en huertos familiares para mitigar la vulnerabilidad de grupos étnicos ubicados en la Reserva de la Biosfera de Calakmul, Campeche” apoyado por FOMIX Campeche-CONACYT.

(Convenio No. 94360), coordinado por el Dr. J. Armando Alayón Gamboa, a quien agradezco su apoyo y confianza. Lo mismo que al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo financiero para cursar este posgrado (Beca No. 235294).

Mi agradecimiento y reconocimiento a mi tutor, Dr. Juan Manuel Weber, por las enseñanzas y el acompañamiento durante este proceso de formación, así como por su invaluable amistad. A los Doctores Eduardo Naranjo Piñera y Gerardo Suzán Azpiri, por sus comentarios y sugerencias para el éxito de este trabajo. Así mismo agradezco la valiosa ayuda en campo del MC. Guillermo Castillo, Víctor Villalobos, Ximena de Lucas, Edwin Ake. A Nicolás Arias de Nuevo Becal y a Renato Chi de Pachuitz; a sus familias y a todas las personas de las comunidades que participaron durante el muestreo de sus animales y por permitirnos trabajar dentro de sus tierras, su amistad y hospitalidad. Al Sr. Demetrio Álvarez (Coyote) por su invaluable apoyo en los trabajos de caracterización del bosque.

Al Dr. Víctor Banda y al MVZ. Miguel Ángel Luna del laboratorio de Leptospirosis del INIFAP, por su apoyo y capacitación para el diagnóstico serológico. A la MC Eréndira Cano y al Biol. Fernando Guerrero por su apoyo durante el manejo y muestreo de los animales domésticos muestreados y en la aplicación de las entrevistas.

Mi especial agradecimiento a mi esposa, Ere, por su apoyo en todo momento, por aguantar con temple mis ausencias durante el trabajo de campo, por su cariño y su compañía. A mi familia, padres, hermana, tíos y abuelos, por creer en mí. Al M.C. Epigmenio Cruz, por enseñarme mis primeros pasos en este camino de la conservación, que me han traído hasta aquí. A mis amigos, mi familia no sanguínea, a todos por ser eso... mis amigos

ÍNDICE

| | |
|---|----------|
| DEDICATORIA..... | i |
| AGRADECIMIENTOS..... | ii |
| ÍNDICE..... | iv |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | vii |
| ÍNDICE DE CUADROS..... | viii |
| RESUMEN..... | 1 |
| INTRODUCCIÓN..... | 2 |
| Importancia de las enfermedades emergentes en la conservación de la fauna silvestre..... | 2 |
| Características relevantes de los huertos familiares..... | 3 |
| Características de parvovirus canino, <i>Leptospira interrogans</i>, <i>Dirofilaria immitis</i>, <i>Ehrlichia canis</i>, <i>Anaplasma phagocytophilum</i> y <i>Borrelia burgdorferi</i> y su importancia zoonótica y antropozoonótica..... | 5 |
| Parvovirus..... | 5 |
| Leptospirosis..... | 7 |
| Dirofilariasis..... | 10 |
| Erliquiosis..... | 110 |
| Anaplasmosis..... | 12 |
| Borreliosis o enfermedad de Lyme..... | 13 |

| | |
|---|-----|
| OBJETIVO GENERAL | 13 |
| PBJETIVOS ESPECÍFICOS | 13 |
| HIPÓTEISIS | 143 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 14 |
| Área de estudio | 19 |
| Métodos | 19 |
| Descripción de la estructura y divesidad del bosque | 20 |
| Capturas y muestreo..... | 21 |
| Diagnóstico serológico..... | 253 |
| RESULTADOS Y DUSCUSIÓN | 256 |
| Descripción de la estructura y diversidad del bosque | 286 |
| Diversidad arbórea | 27 |
| Estructura del bosque | 28 |
| Capturas | 34 |
| Resultados serológicos | 42 |
| Leptospirosis | 45 |
| <i>Parvovirus canino</i> | 51 |
| <i>Dirofilaria immitis</i> | 56 |
| Ehrlichia canis | 57 |

| | |
|-------------------------------|-----------|
| Riesgo relativo | 57 |
| CONCLUSIONES | 62 |
| LITERATURA CITADA..... | 65 |
| ANEXO | 76 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Mapa de ubicación..... | 19 |
| Figura 2. Ocurrencia de los diferentes tipos de vegetación registrados en las comunidades | 26 |
| Figura 3. Valores medios de especies registradas por tipo de vegetación..... | 28 |
| Figura 4. Valores medios de altura del árbol y cobertura del dosel por tipo de vegetación en Nuevo Becal..... | 29 |
| Figura 5. Valores medios de altura del árbol, DAP y cobertura del dosel por tipo de vegetación en Pachuitz | 30 |
| Figura 6. Valores medios de altura de los árboles a lo largo de cada transecto en Nuevo Becal | 31 |
| Figura 7. Valores medios de altura de los árboles a lo largo de cada transecto en Pachuitz..... | 32 |
| Figura 8. Gráfico de número de capturas por especie con respecto a la distribución de las trampas | 36 |
| Figura 9. Número de capturas por especie de acuerdo con los tipos de vegetación | 38 |
| Figura. 10.- Número de capturas por especie de acuerdo con la altura media de los árboles | 40 |
| Figura 11.- Diagramas de dispersión de las especies capturadas con relación al tipo de vegetación y la altura media de los árboles..... | 41 |

| | |
|--|----|
| Figura 12.- Prevalencias de los patógenos estudiados en los marsupiales y pequeños carnívoros silvestres..... | 44 |
| Figura 13.- Prevalencias de los patógenos estudiados en animales domésticos..... | 44 |
| Figura 14. Seroprevalencias de <i>L. interrogans</i> de acuerdo con el tipo de vegetación..... | 49 |
| Figura 15.- Número de individuos positivos a Parvo Virus Canino por tipo de vegetación..... | 53 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1.- Características generales y sanitarias de las comunidades..... | 18 |
| Cuadro 2. Riqueza vegetal registrada en los transectos de las zonas de estudio ... | 27 |
| Cuadro 3. Éxito de captura (noches/trampa) por especie por comunidad..... | 35 |
| Cuadro 4.- Seroprevalencias de <i>L. interrogans</i> | 47 |
| Cuadro 5.- Seroprevalencias de Parvovirus, <i>D. immitis</i> , <i>E. canis</i> , <i>B. burgdorferi</i> y <i>A. phagocytophilum</i> | 52 |
| Cuadro 6.- Riesgo relativo (Rr) con relación a la distancia al poblado..... | 58 |
| Cuadro 7.- Riesgo relativo (Rr) con relación al tipo de vegetación..... | 58 |
| Cuadro 8.- Riesgo relativo de acuerdo con la localidad | 60 |

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar la forma en que las interacciones entre animales domésticos y silvestres, intervienen en la dinámica de *Leptospira interrogans*, *Ehrlichia canis*, *Dirofilaria immitis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* y Parvovirus canino, se capturaron y muestrearon (1663 noches/trampa) tres especies de marsupiales (*Didelphis virginiana* n = 75, *D. marsupialis* n = 39, *Philander oposum* n= 22) y pequeños carnívoros silvestres (*Urocyon cinereoargenteus* n= 7, *Leopardus pardalis* n =1 y *Puma yagouaroundi* n= 1), así como perros, gatos y cerdos domésticos en dos comunidades (Nuevo Becal-NB y Pachuitz-PU) con características demográficas diferentes adyacentes a la Reserva de la Biosfera de Calakmul, Campeche. Mediante pruebas serológicas de campo y de laboratorio se detectaron prevalencias de *L. interrogans*, Parvovirus canino y *E. canis* en los animales domésticos y pequeños carnívoros silvestres de NB mucho mayor que en PU. *Urocyon cinereoargenteus* fue la especie con mayor prevalencia de *L. interrogans* y *E. canis*, lo que sugiere que juega un papel importante en la dinámica de estas enfermedades. Por otro lado, *Puma yagouaroundi* se muestra como una especie susceptible a *E. canis* y *L. interrogans*. El riesgo relativo de transmisión para *Leptospira interrogans* fue 1.01 veces mayor en NB que en PU. Las diferencias encontradas entre las prevalencias de las dos comunidades sugieren que existen elementos sociales y culturales que son potenciales factores de riesgo importantes en la transmisión de las enfermedades estudiadas y que deben ser considerados más profundamente en estudios futuros.

PALABRAS CLAVE: Carnívoros silvestres, *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, huertos familiares, *Leptospira interrogans*, Parvovirus canino, Reserva de La Biosfera Calakmul, Riesgo epidemiológico.

INTRODUCCIÓN

Importancia de las enfermedades emergentes en la conservación de la fauna silvestre

En la última mitad del siglo XX y los primeros años del XXI, se han identificado 335 enfermedades surgidas en lugares donde históricamente no se encontraban y de las cuales, el 24% están asociadas a virus (Jones et al., 2008). Uno de los factores más importantes que desencadenan el surgimiento de estas enfermedades infecciosas emergentes ha sido la expansión territorial de las poblaciones humanas y el aumento de sus densidades, así como la consecuente modificación de los ecosistemas, fragmentación del hábitat, introducción de especies exóticas y el aumento del contacto con las poblaciones silvestres nativas poniéndolas en un potencial riesgo de extinción (Dziedzic *et al.*, 2000; Lafferty y Gerber, 2002; Dobson, 2004).

De acuerdo con Lafferty y Gerber (2002) y Dobson (2004), la degradación y destrucción del hábitat pueden provocar el aumento de la frecuencia de contactos entre especies animales reservorias (portadoras) de un patógeno determinado y otras susceptibles a éste patógeno. La introducción de especies exóticas (p.ej. perros, cerdos y gatos domésticos) en este tipo de hábitat, como parte de las actividades antropogénicas juega un papel determinante en este evento, pues pueden ser reservorias de muchos patógenos para los que ciertas especies silvestres son susceptibles, como es el caso de sarna, distemper canino y parvovirus, entre otros (Valenzuela, 2000; Aguirre, 2002; Suzán y Ceballos, 2005; Cleaveland et al., 2007).

Las frecuencias de contacto inter-especies están determinadas por la diversidad faunística, es decir: Una alta diversidad puede reducir estas frecuencias y por tanto la transmisión interespecífica de enfermedades (Dobson, 2004); Por otro lado, en el caso

de especies con poblaciones pequeñas o raras y que pueden ser susceptibles a ciertos agentes patógenos, éstas pueden verse seriamente afectadas cuando cohabitan con especies reservorias que, en un hábitat fragmentado pudieran aumentar el tamaño de su población (Valenzuela, 2000; Aguirre, 2002; Laferty y Gerber, 2002; Dobson, 2004; Suzán y Ceballos, 2005; Cleaveland et al, 2007).

Cuando esto sucede, es posible que ocurra la extinción de una población o de una especie (Dobson, 2004; Cleaveland et al, 2007). Por tanto, es necesario el entendimiento del papel que juega la diversidad de un ecosistema en la dinámica de transmisión de enfermedades, sea como amortiguador o promotor de un brote epizootico (Dobson, 2004), especialmente cuando el humano y sus animales domésticos se ven involucrados en esta dinámica.

Las actividades antropogénicas, como la introducción de especies animales domésticas con fines de apoyo a la cacería, autoconsumo, compañía y protección de la casa, es un aspecto importante en la emergencia de enfermedades de fauna silvestre. En este sentido, las características intrínsecas de los huertos familiares en zonas rurales, los convierten en sitios importantes en la dinámica de enfermedades emergentes tanto para la salud de la fauna silvestre y doméstica como para la salud pública.

Características relevantes de los huertos familiares

Los huertos familiares son considerados como uno de los agroecosistemas más antiguos que generaron las bases de las civilizaciones mesoamericanas (González-Jácome, 2007). Dentro de ellos existe una gran diversidad de fauna que cumple variadas funciones que favorecen la dinámica de los huertos (Mariaca et al. 2007).

Desde el punto de vista socio-cultural, los huertos familiares permiten a los agricultores enfrentar problemas de seguridad alimentaria, nutrición y salud.

En la Gran Región de Calakmul (incluyendo la Reserva de la Biosfera, RBC) se desconoce cuál es la extensión y cuál podría ser el impacto de estos agro-ecosistemas sobre la biodiversidad (Montagnini y Nair, 2004; Kumar, 2006). Se estima que podrían ocupar poco más de 48,000 ha (Noble y Dirzo, 1997) habitadas por más de 23,115 habitantes de origen maya y mestizos, campesinos con el mayor grado de marginación y pobreza en el estado de Campeche (CONAPO, 2000).

Existe poca información sobre el impacto ecológico que los huertos familiares ejercen sobre los ecosistemas. El desconocimiento es aún mayor cuando se habla del impacto sobre la salud pública, de la fauna silvestre y doméstica. Sin embargo, se sugiere que las actividades antropogénicas cerca de las áreas naturales son algunos de los factores que producen los brotes epizooticos (Williams et al., 2002). La fragmentación del hábitat favorece el acercamiento entre las poblaciones humanas y los animales domésticos con las poblaciones de animales silvestres y así, la transmisión, en ambos sentidos, de enfermedades comunes de origen bacteriano, parasitario y viral (Edwards y McDonnell, 1982; Williams et al., 2002; Mech y Goyal, 1993; Sillero- Zubiri et al., 1996; Valenzuela, 2000; Aguirre et al., 2002; Suzán y Ceballos, 2005; Cleaveland et al., 2007). No obstante, hasta la fecha, en México son pocos los estudios sanitarios en carnívoros silvestres neotropicales y su asociación con los animales domésticos, sobre todo en el trópico mexicano.

De las enfermedades zoonóticas existentes, para este estudio se seleccionaron seis: Parvovirus canino, por su potencial efecto en las poblaciones silvestres; *Leptospira interrogans*, por su importancia en salud pública; *Ehrlichia canis*, *Dirofilaria immitis*,

Anaplasma phagocytophilum y *Borrelia burgdorferi*, por su escaso conocimiento como enfermedades de carnívoros silvestres y su importancia en la salud de comunidades rurales.

Características de parvovirus canino, *Leptospira interrogans*, *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Borrelia burgdorferi* y su importancia zoonótica y antropozoonótica.

Desde 1967, la Organización Mundial de la Salud ha definido el concepto de zoonosis como las enfermedades e infecciones naturalmente transmitidas entre vertebrados animales y humanos (Graczyk, 2002). Estas pueden ser clasificadas de acuerdo con la dirección de la transmisión en antropozoonosis (de humanos a animales) y zooantropozoonosis (de animales a humanos). No obstante, debido a las confusiones que estos dos términos generan, se ha preferido emplear únicamente el término zoonosis para describir ambas categorías (Graczyk, 2002). En este documento, por fines prácticos hemos decidido emplear el término zoonosis para la transmisión de animales a humanos y antropozoonosis para la transmisión de humanos a animales o bien surgidas en la vida silvestre como consecuencia de las actividades humanas.

Así, de las enfermedades que fueron objeto de esta investigación y que a continuación se describen, únicamente el parvovirus puede ser considerado como una enfermedad antropozoonótica, mientras que el resto son esencialmente zoonóticas.

Parvovirus

El Parvovirus canino es un virus altamente resistente a diversas condiciones ambientales, y, por lo tanto, con una gran capacidad de transmisión directa e indirecta, a través de objetos contaminados (fómites) principalmente con heces de un individuo infectado. Es un virus que tiene preferencia por el epitelio del tracto digestivo

produciendo severos daños en el tejido con consecuencias generalmente letales. Afecta esencialmente a cánidos domésticos y silvestres aunque también se han encontrado algunas cepas de mapaches (*Procyon lotor*), mustélidos y marsupiales (Steinel et al., 2001). Debido a que cada vez, es más frecuente la presencia de perros domésticos y ferales en las áreas silvestres, la presencia de este virus está teniendo un impacto importante en las poblaciones de carnívoros silvestres nativos tanto en África como en América (Blood et al., 1982; Gese et al., 1991; Steinel et al., 2001; Fiorelo et al., 2004 y 2006; Suzan y Ceballos, 2005).

Una revisión hecha por Steinel et al. (2001) indica que después de su primer reporte realizado en 1986, una serie de investigaciones han demostrado su presencia en lobos (*Canis lupus*), coyotes (*C. latrans*), dingos (*C. lupus dingo*), chacales (*C. aureus*, *C. adustus*, *C. mesoamericanus*), perros salvajes africanos (*Lycaon pictus*) y en dos especies de zorras (*Vulpes vulpes* y *Alopex lagopus*) que taxonómicamente están más emparentadas con los felinos que con los cánidos (Steinel et al., 2001). Por otro lado, la revisión menciona la infección por una cepa específica de Parvovirus en cheetas y tigres siberianos. Los autores afirman que la intervención de perros domésticos ha sido clave en la dispersión del virus en los animales silvestres (Steinel et al. 2001).

En el estado de Colorado (Estados Unidos), se reportó una acción concomitante entre Parvovirus canino, Coronavirus canino y la acción secundaria de *Cryptosporidium sp.* en un mapache encontrado en las cercanías de Fort Collins (Martin y Zeidner, 1992). También en Colorado, se reportó una prevalencia de 71% en coyotes sin mostrar variaciones temporales en los 4 años de estudio (Gese et al., 1991).

En Minnessota, un estudio con lobos (*Canis lupus*) encontró que existe una relación inversa entre el número de cachorros de una manada y la seroprevalencia de

Parvovirus canino, afirmando que este virus influye sobre las tasas de crecimiento de las poblaciones de lobos en este estado, (Mech y Goyal, 1993).

En Columbia Británica, Canadá, se reportó una prevalencia del 65% de Parvovirus canino en una población de lobos donde, de las ocho manadas estudiadas, en tres se presentó mortandad de los cachorros, así como títulos muy altos de anticuerpos en los adultos. Los autores sugieren que este virus, junto con el de Distemper canino, son la principal causa de mortalidad en estas poblaciones (Johnson et al., 1994).

En México, Distrito Federal, se ha reportado una prevalencia del 86.6% de Parvovirus canino en las comunidades silvestres de dos áreas naturales periurbanas. Se identificaron seis especies silvestres susceptibles y el papel que juegan las altas poblaciones de perros callejeros en la dispersión de éste virus dentro de las áreas naturales protegidas (ANP) de la ciudad (Suzán y Ceballos, 2005). Sin embargo, no hay más trabajos en México que contribuyan a definir la situación de este patógeno en otras zonas del país.

Leptospirosis

La leptospirosis es causada por *Leptospira interrogans*, una espiroqueta de la familia Leptospiraceae, cuyos serovares (210, agrupados en 23 categorías) tienen una distribución mundial. Es capaz de sobrevivir en ambientes húmedos y templados, lo que le confiere una gran capacidad de ser transmitida de forma horizontal directa e indirecta a una gran cantidad de mamíferos susceptibles a través de secreciones o bien del contacto con tejidos contaminados ocasionando enfermedad crónica o aguda y cuyos signos pueden ir desde fiebres y malestares intermitentes hasta severos síndromes renales, neurológicos o cardiovasculares (Bladen, 1976).

La leptospirosis es una enfermedad bacteriana de gran importancia en salud pública, en la que se reconocen a la gran mayoría de los mamíferos silvestres y domésticos como reservorios o portadores asintomáticos. Aunque los roedores se han considerado como los principales reservorios, también existen numerosas especies silvestres identificadas como portadores, entre los que se destacan osos, bisontes de vida libre, pequeños marsupiales, artiodáctilos, quirópteros, lobos marinos e incluso aves, anfibios, y reptiles (Faine, 1994; Zamora y Riedemann, 1999). Se ha sugerido que muchas de estas especies han coevolucionado con algunos serovares de *L. interrogans*, por lo que no se enferman; sin embargo, pueden jugar un papel importante en su transmisión a especies susceptibles entre las que se encuentran los animales domésticos y el ser humano (Thomson, 1961; Faine, 1994). Existe una gran cantidad de variedades de *Leptospira interrogans* con diferentes características antigénicas y patogénicas. En México se reconocen y diagnostican 13 serovariedades (SECRETARÍA DE SALUD, 2000).

En Perú los primeros aislamientos de 6 serovariedades de *L. interrogans* fueron realizados a partir de dos especies de marsupiales de la región selvática. Aunque se desconoce la importancia de estos serovares en la salud pública y de los animales domésticos, el hecho de que hayan sido encontradas en zarigüeyas que están cada vez más en contacto con las poblaciones humanas y de animales domésticos supone un alto riesgo de transmisión hacia estos últimos (Liceras de Hidalgo y Sulzer, 1984).

En Arkansas, se detectó una prevalencia de 46.6% en zorrillos listados (*Mephitis mephitis*) concluyendo que esta especie ejerce un riesgo potencial de transmisión de esta enfermedad, junto con la rabia, al habitar zonas donde coexiste con animales domésticos y humanos (Ferguson y Heidt, 1981).

En Australia, se detectaron anticuerpos contra *L. interrogans* en 7 especies de mamíferos muestreados, de los cuales los koalas (*Phascolarctos cinereus*), ciervos (*Cervus timorensis*) y las zarigüeyas (*Trichosurus vulpeca*) mostraron la mayor prevalencia (Milner et al., 1981).

En el Zoológico Miguel Álvarez del Toro, en Chiapas, un muestreo serológico encontró que las cinco especies de felinos albergadas fueron positivas a ocho serovariedades, compartiendo en ocasiones hasta tres en un sólo individuo (Guerrero-Sánchez et al., 2006), mientras que el zoológico de Chapultepec, en el Distrito Federal se encontró seropositividad en 15 de 19 especies muestreadas a ocho serovariedades (Luna et al., 1996). Ambos trabajos sugieren que los roedores y otros mamíferos silvestres asociados a los zoológicos pueden ser los portadores y diseminadores del patógeno. También es de destacarse que en ninguno de los casos los animales presentaban signos de enfermedad asociada a *L. interrogans*.

Aunque no existe información documentada sobre el papel que pueden estar jugando los cerdos en la transmisión de *L. interrogans* en la fauna silvestre, diversos estudios realizados de forma experimental y de vigilancia epidemiológica han identificado a los serovares Pomona, Canicola, Bratislava, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae y Hardjo como causales de enfermedad en este grupo (Boulanger et al., 1959; Bolin, 1994). De éstas, las tres últimas se reportaron como más frecuentes en felinos silvestres en cautiverio (Luna et al., 1996; Guerrero-Sánchez et al., 2006). Considerando que los cerdos criados en huertos familiares suelen ser manejados bajo un sistema de pastoreo semi-extensivo, donde las crías están más vulnerables a la depredación, así como además facilitan el contacto de especies susceptibles con las deyecciones de los cerdos, las observaciones anteriores sugieren que este grupo

puede estar jugando un papel importante, junto con los perros y gatos ferales en la transmisión de *L. interrogans* hacia la fauna silvestre y hacia los seres humanos.

Dirofilariasis

La filariasis causada por el nemátodo *Dirofilaria immitis* es una parasitosis transmitida por distintas especies de mosquitos (Marks y Boomfield, 1998). Una vez que la larva (microfilaria) es inoculada por el mosquito, esta viaja a través de la circulación para alojarse en el corazón del perro. Sin embargo, en el humano, al ser un huésped accidental, el parásito no puede completar su ciclo y se aloja en las arteriolas pulmonares formando nódulos granulomatosos (Blood et al., 1982; Koneman et al., 1999). Esta es una enfermedad altamente estudiada en perros domésticos y ocasionalmente reportada en humanos, mientras que en animales silvestres las prevalencias son generalmente bajas, siendo los cánidos silvestres los más estudiados (Hubert et al. 1980; Wixson et al., 1991). Los reportes más recientes de este parásito en otras especies silvestres fueron en dos especies de armadillos (*Dasypus novemcinctus*) en Bolivia (Deem et al., 2009).

Aunque es una enfermedad transmitida por vectores, el gran número de especies de mosquitos involucrados en la transmisión de este nemátodo, sugiere que esta puede ser considerada como una enfermedad denso-dependiente (Marks and Boomfield, 1998).

Erlíquiosis

La erliquiosis, causada por *Ehrlichia canis* y *E. chaffeensis* principalmente (aunque existen otras), es una riquetsiosis transmitida por garrapatas de los géneros *Amblioma*, *Ixodes*, *Rhipicefalus* y *Dermacentor* (Blood et al., 1982; Koneman et al., 1999; Haro-Álvarez et al., 2007; Foler et al., 1999; Davidson et al., 1999; Comer et al., 2000;

Castellaw, 2011). Los integrantes del género *Ehrlichia* son parásitos intracelulares que ocasionan enfermedad monocítica que puede tener curso subclínico con fiebres prolongadas hasta una insuficiencia multiorgánica grave (Koneman et al., 1999). Diversos estudios han sido realizados principalmente en venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*), especie altamente susceptible a esta enfermedad también zoonótica. Sin embargo, estudios de los últimos años sitúan a las zorras grises y rojas, mapaches y marsupiales (*Didelphis virginiana*) como reservorios eficientes al asociar títulos altos de anticuerpos con la presencia de garrapatas *I. pacificus* y *D. variabilis* (Foler et al., 1999; Davidson et al., 1999; Comer et al., 2000; Castellaw, 2011).

Anaplasmosis

Otros parásitos intracelulares de importancia zoonótica son *Anaplasma phagocytophilum* (antes denominado *Ehrlichia phagocytophilum*) y *Borrelia burgdorferi*. La primera tiene una distribución mundial predominando en zonas tropicales y subtropicales. En el continente americano los hospederos más estudiados son los cérvidos, principalmente el venado cola- blanca (*Odocoileus virginianus*), y diversas especies de roedores (Foley et al., 2004), considerados como un reservorio eficiente y un riesgo potencial para la transmisión de esta enfermedad (Kuttler, 1984). *A. phagocytophilum* causa enfermedad granulocítica en especies susceptibles que pueden ser caballos, rumiantes, perros, gatos domésticos y el ser humano; así como, coyotes, pumas (*Puma concolor*), zorrillos y gatos monteses (*Felis rufus*). Al igual que *E. canis*, *A. phagocytophilum* es un patógeno vector-dependiente, siendo las garrapatas del género *Ixodes* los principales vectores de esta enfermedad, mismas que también están asociadas a *Borrelia burgdorferi* (Foley et al, 2004; Aguirre, 2009).

Borreliosis o enfermedad de Lyme

B. burgdorferi es el patógeno causante de la enfermedad de Lyme, transmitido a través de la mordedura de garrapatas del género *Ixodes*. La enfermedad se caracteriza por síntomas que pueden ir desde enfermedad articular (esclerosis) hasta enfermedad cardíaca y neurológica. Aunque se han considerado a los lobos como uno de los principales reservorios naturales, se ha encontrado serología positiva en zorras y coyotes (Aguirre, 2009). Los cérvidos también han sido identificados como hospederos de este patógeno (Foley, 2004).

Al igual que *A. phagocytophilum*, se ha sugerido que la enfermedad de Lyme puede presentarse en especies diferentes dependiendo de la estación, ya que las ninfas de la garrapata transmisora tienen preferencia por especies de mamíferos pequeños (roedores, quirópteros y marsupiales), mientras que las adultas tienen preferencia por especies mayores (cérvidos, carnívoros medianos y mayores; Foley, 2004).

En términos generales, los estudios en carnívoros silvestres con respecto a prevalencias o dinámica de transmisión de enfermedad de Lyme, así como de anaplasmosis, dirofilariasis y erliquiosis, son escasos a nivel global, mientras que Leptospirosis y parvovirus canino, entre otras han captado más la atención de los investigadores en el área de salud de fauna silvestre y medicina de la conservación.

El presente estudio caracterizó las condiciones generales de salud con respecto a estas seis enfermedades, de marsupiales, carnívoros silvestres (pequeños y medianos), perros, gatos y cerdos domésticos asociados a los huertos familiares adyacentes a la Reserva de la Biosfera Calakmul (RBC), como parte de las estrategias que contribuyan a reducir la creciente pérdida de biodiversidad en la región y proporcionen herramientas

que permitan reforzar los sistemas de huertos familiares como estrategia para la conservación de la reserva.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el riesgo zoonótico y antropozoonótico de las poblaciones de carnívoros silvestres pequeños y medianos asociados a huertos familiares adyacentes a la Reserva de la Biósfera de Calakmul frente a Parvovirus canino, *Leptospira interrogans*, *Ehrlichia canis*, *Dirofilaria immitis*, *Anaplasma phagocytophilum*, y *Borrelia burgdorferi*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la sero- prevalencia de *L. interrogans*, *E. canis*, *D. immitis*, *A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi* y Parvovirus canino en las poblaciones de carnívoros silvestres asociados a las comunidades de Nuevo Becal y Pachuitz
- Identificar el papel que desempeña la presencia de perros, gatos y cerdos domésticos y ferales en la dinámica de estas enfermedades en las poblaciones de carnívoros silvestres del área de estudio.
- Identificar los factores de riesgo epidemiológico para la transmisión de los patógenos estudiados en las comunidades seleccionadas.

HIPÓTESIS

Considerando las interacciones inter-específicas entre carnívoros silvestres y animales domésticos (perros, gatos y cerdos), se asume que éstos últimos son elementos clave en la dinámica y transmisión de enfermedades como parvovirus canino, leptospirosis, erliquiosis, anaplasmosis, borreliosis y dirofilariasis para las

poblaciones silvestres susceptibles y para las comunidades humanas adyacentes a la Reserva de la Biosfera de Calakmul. Así mismo, se propone la hipótesis de que las comunidades rurales adyacentes a la RBC, son sitios de alto riesgo de transmisión de estas enfermedades entre la fauna silvestre y la doméstica

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

Localizada en el sureste del estado de Campeche, La Gran Región de Calakmul posee el área forestal más extensa del trópico mexicano, conectando las áreas forestales del sureste de Chiapas y del sur de Quintana Roo con la región del Petén, en Guatemala (Galindo-Leal, 1999). Martínez y Galindo- Leal (2002) identificaron siete tipos de vegetación desde acahuales, sabanas y helechales, hasta las selvas medias subperennifolias y altas perennifolias, pasando por selvas bajas secas y sitios denominados bajos inundables que pueden ser subperennifolios o caducifolios (Martínez y Galindo- Leal, 2002). La diversidad de comunidades vegetales presentes en la región es de gran importancia para la variedad de especies de animales que se ven beneficiadas por la heterogeneidad de este ecosistema (Galindo- Leal, 1999). Comprende un área mayor a 1 millón de Ha; en 1989 más de la mitad del área fue decretada por el gobierno mexicano como área de protección y en 1993, se le otorgó la categoría de Reserva de la Biosfera Calakmul (Weber, 2005).

La Reserva de la Biosfera Calakmul (RBC) se localiza al sureste del estado de Campeche en el municipio de Calakmul, limita al este con el estado de Quintana Roo y al Sur con la República de Guatemala; dentro de las coordenadas extremas 19°15' y 17°45' Norte y 90°10' y 89°15 oeste (Figura 1). Comprende una extensión de 723,185

ha divididas en dos zonas núcleo (248,260 ha) y una zona de amortiguamiento (474,924 ha). Siendo parte de la planicie Yucateca y del Petén con elevaciones de hasta de 300 msnm, representa la mayor reserva de bosque tropical en el país con una mezcla de selvas altas, medianas y selvas bajas inundables temporalmente. La importancia de la RBC en cuanto a fauna se refiere, radica en que contiene a seis de las siete especies de marsupiales, dos de los cuatro edentados y cinco de los seis felinos registrados para México (INE, 2000) a los que podemos sumar dos de las tres especies de primates, el tapir centroamericano (*Tapirus bairdii*), las dos especies de pecaríes y las tres especies neotropicales de venados reportados para el país.

Desde el punto de vista antropológico, la zona se distingue por poseer uno de los agrupamientos de zonas arqueológicas de la cultura Maya más sobresalientes del país, con 6250 estructuras arqueológicas registradas en aproximadamente 525 sitios. Debido a sus características fisiográficas y climatológicas ha sido un refugio histórico para los grupos indígenas que la habitan y sus prácticas tradicionales, así como para su fauna y flora (INE, 2000).

Las diferentes actividades de explotación maderera que sufrió la zona desde finales del siglo XIX trajeron un importante impacto ecológico y una transformación de los asentamientos humanos debido a la gran inmigración que tuvo lugar en la zona con motivo de la expansión agrícola y ganadera de finales de la década de 1960, en que también la industria maderera reemplazó a la chiclera como principal actividad forestal, trayendo como consecuencia la disminución considerable de muchas especies vegetales (INE, 2000).

De acuerdo al sistema de clasificación de Köppen modificado por García (1973), el clima en la reserva es cálido subhúmedo (Aw) con un gradiente de precipitación que

disminuye de sur a norte. Se pueden detectar tres subtipos climáticos: Aw_2 (x^1 ; 10% de la zona), Aw_1 (60% de la zona) Aw_0 (30% de la zona). La mayor parte de la reserva esta dentro de la sabana tropical (Aw) entre bosque tropical (Af) y estepa subtropical (Bsh), con estaciones secas y húmedas marcadas con lluvias abundantes en verano (60 mm en el mes más seco), las que determinan la hidrografía de la superficie junto con la evapotranspiración de la vegetación y las masas de agua, suelos y drenaje de la superficie. Algunas de las áreas bajas constituyen humedales permanentes (INE, 2000).

Desde el punto de vista florístico se reconocen 153 familias, 834 géneros y 1936 especies con el 10% de endemismos. Las asociaciones vegetales predominantes son el zapotal y el ramonal pero se pueden reconocer otro tipo de asociaciones: aguadas, asociaciones hidrófilas, selva alta perennifolia y subperennifolia, selva mediana subperennifolia, selva baja subperennifolia inundable, selva baja subperennifolia, selva baja caducifolia, vegetación secundaria, cultivos de frijol (*Phaseolus spp.*), calabaza (*Cucurbita sp.*), chile (*Capsicum sp.*), camote (*Ipomoea batatas*), maíz (*Zea mays*), cítricos (*Citrus sp.*), chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) y nance (*Byrsonima crassifolia*) (Miranda y Hernández, 1963 en INE, 2000).

La fauna está compuesta por 18 especies de peces, 16 de anfibios, 50 reptiles y 286 aves registradas (79% residentes y 21% migratorias); los mamíferos se han reportado en 9 órdenes, 26 familias y 94 especies de las cuales 10 están reportadas en peligro de extinción, 11 amenazadas, 6 raras y 1 sujeta a protección especial, además de 5 especies endémicas para la región (INE, 2000).

Aunque la falta de agua superficial en la zona es una limitante, el crecimiento poblacional en la región ha propiciado un aumento en la demanda de terrenos sin diversificación de actividades productivas, lo que ha generado un incremento en el

deterioro ambiental de la zona, junto con el aumento de la extracción de madera, uso de agroquímicos y la captura y comercio ilegal de especies. Sólo algunas pocas comunidades mantienen sus prácticas tradicionales integradas a los ciclos naturales. La producción ganadera en la zona (bovina, porcina y ovicaprina) es incipiente y tiene una función de subsistencia más que comercial (INE, 2000). Por otro lado, la cacería es actividad muy común, sea por autoconsumo, comercio o por protección de las zonas productivas. Las especies más cazadas son el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*), Temazate (*Mazama pandora* y *M. americana*), pecari de collar (*Pecari tajacu*), pecari de labios blancos (*Tayassu pecari*), pavo ocelado (*Meleagris ocellata*) y ocofaisan (*Crax rubra*) (INE, 2000).

El trabajo de campo fue realizado en las comunidades rurales de Pachuitz, y Nuevo Becal. La primera, de extracción étnica maya y localizada desde hace más de 100 años en el extremo noreste de la Reserva de la Biosfera de Calakmul, en el municipio de Hopelchen (Figura 1), cuenta con aproximadamente 40 familias dedicadas principalmente a la agricultura (milpa) y ganadería de subsistencia. Las actividades comerciales son la producción de miel orgánica y la elaboración de artesanías textiles. Las especies animales domésticas dominantes en los solares son los perros, los pavos y los cerdos; estos últimos pertenecen a la raza conocida como pelón mexicano y junto con los pavos son la fuente de proteína de origen animal más empleada, seguida de la cacería de subsistencia. A simple vista, se observa una homogeneidad en las condiciones de los hogares del ejido, donde la gran mayoría cuenta con letrinas y agua de pozo la mayor parte del tiempo. Además, está rodeado de otros cuatro cuerpos de agua superficial (aguadas) de las que se proveen en casos de que no pueda ser bombeada el agua del pozo (Obs. Pers.); (Cuadro 1).

Cuadro 1.- Características generales y sanitarias de las comunidades de Pachuitz y Nuevo Becal registradas durante las visitas de enero a octubre de 2010

| Localidad | Extracción étnica | Familias | Antigüedad | Actividades | | Servicios | | |
|-------------|-------------------|----------|------------|----------------|-----------------------------------|--------------|------------------------|----------------------------------|
| | | | | Subsistencia | económicas | agua potable | Serv. sanitario | Manejo de basura |
| Nuevo Becal | Mestiza | 35 | < 50 años | milpa; cacería | Cacería deportiva, carbón, chicle | de arroyo, | pozos sépticos | basurero a 400 m de la localidad |
| Pachuitz | Maya | 40 | > 100 años | milpa; cacería | miel, textiles | de pozo | baños con fosa séptica | incineración |

Nuevo Becal, es un ejido ubicado en el extremo oriental de la reserva, en el municipio de Calakmul (Figura1). Con una antigüedad de poco menos de 40 años, está integrado por migrantes mestizos provenientes de diversos estados de la República, entre los que destacan Veracruz, Tabasco y Chiapas. Cuenta con 35 familias residentes, la mayoría dedicada a la agricultura y algunos a la ganadería. La comercialización de productos agrícolas es de baja escala y ocasional a través de intermediarios en la ciudad de Xpujil. En contraste con Pachuitz, las actividades económicas más fuertes en Nuevo Becal son la extracción de madera, la producción y venta de carbón vegetal y, en menor grado la concesión de una Unidad de Manejo Ambiental (UMA) para la cacería deportiva. Las especies domésticas dominantes en la comunidad son los perros, gallinas y cerdos de raza criolla. Las gallinas son la principal fuente de proteína animal junto con la proveniente de animales silvestres (de monte), mientras que los cerdos, si bien pueden ser consumidos en el ejido, son también utilizados para el intercambio comercial con la ciudad de Xpujil y el ejido Zoh-Laguna. Las características generales de la comunidad no son tan homogéneas como en Pachuitz, y si bien hay una aparente derrama económica en el ejido a través de las

actividades económicas mencionadas, no se ve reflejada en las características de las viviendas y en los servicios sanitarios ni de agua potable (Obs. Pers.; Cuadro 1).

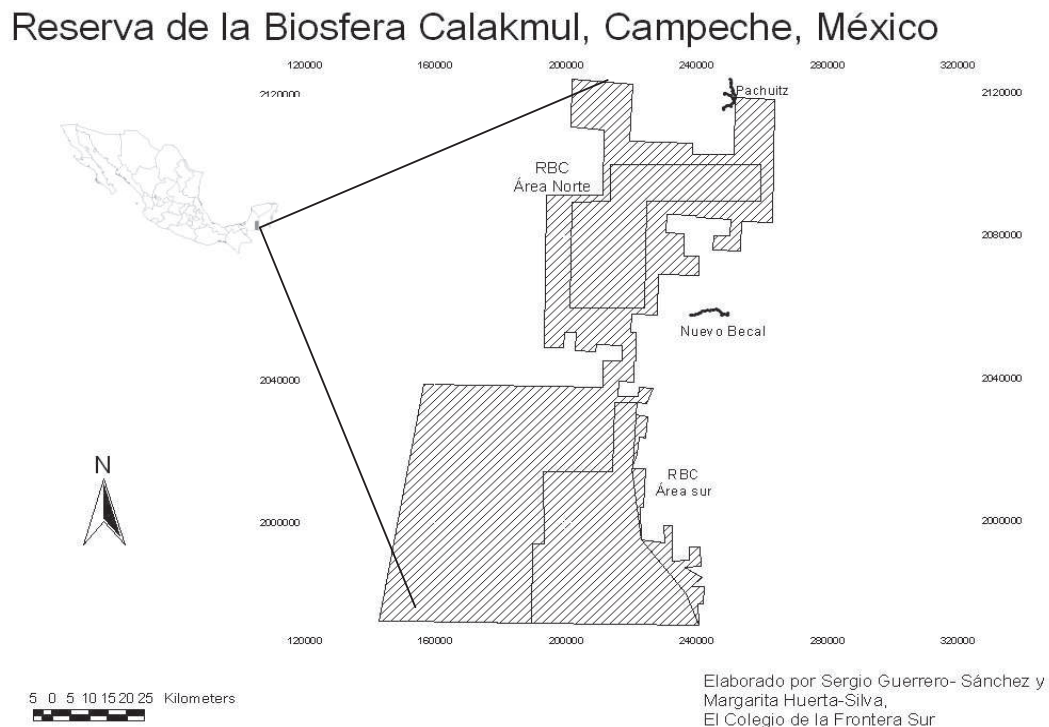


Figura 1. Mapa de ubicación de las localidades de Nuevo Becal y Pachuitz con relación a la Reserva de la Biosfera de Calakmul, Campeche. El mapa inserto en la esquina superior izquierda representa la ubicación de la RBC en la Península de Yucatán, México

Métodos

El estudio se realizó dentro del periodo comprendido entre los meses de enero a octubre de 2010. En cada localidad se trazaron dos transectos de 5.6 km de longitud, partiendo de los huertos familiares (o solares de traspatio) en un sentido radial, es decir, alejándose del poblado. En ambas comunidades, uno de los transectos se ubicó aproximadamente 100 metros paralelo a la carretera de acceso al poblado mientras que el segundo se encontraba paralelo al camino que lleva a las zonas de trabajo. La

selección de los transectos estuvo determinada por su aparente heterogeneidad, su longitud y su fácil acceso en el transporte de las trampas. A lo largo de cada uno de éstos y con una separación de 400 metros, se colocaron 10 trampas tipo Tomahawk medianas de 32"x10"x13" y 5 grandes de 48"x20"x26" preparadas con diferentes tipos de cebo (pollo vivo de no más de 2 semanas en una jaula autónoma interna con agua y alimento, cebos preparados con base en atún, sardina y huevo, frutas aromáticas como guayaba, pera y plátano) (Amin, 2004; Suzan y Ceballos, 2005; Wobeser, 2007). Cada trampa fue ubicada con ayuda de sistemas de posicionamiento global (GPS), y fue revisada cada 24 horas durante 10 días consecutivos de cada mes. A lo largo de estos mismos transectos se realizaron trabajos de caracterización de la estructura y composición del bosque.

Descripción de la estructura y diversidad del bosque

Agentes patógenos como *L. interrogans* y parvovirus canino, al igual que algunos vectores como garrapatas y mosquitos dependen de características microclimáticas específicas para su sobrevivencia (Blood et al., 1982; Thangkankul, 2000; Foley, 2004; Ridzaln et al., 2010). Estos microclimas pueden estar determinados por la variación en las condiciones bióticas de un ecosistema. En este sentido, y con la finalidad de tener un panorama más completo sobre las características de la zona de estudio y de sistematizar diversos componentes de composición y estructura del bosque como posibles elementos clave en la dinámica de las enfermedades estudiadas y por tanto, potenciales sitios de riesgo de transmisión de éstas, se realizó una caracterización de la vegetación en los sitios de trampeo.

Se trazaron siete líneas de intercepción (líneas de Canfield) de 30 metros de largo por 1 m ancho, perpendiculares al transecto (Brower y Zar, 1984). A lo largo de cada

línea se identificaron y registraron todos los árboles por arriba de 10 cm de diámetro a la altura del pecho (DAP). Cada árbol fue registrado con datos de DAP, altura y cobertura del dosel. Así mismo, se calculó la abundancia relativa y diversidad de especies arbóreas por sitio de trampeo (Brower y Zar, 1984). La descripción del estado de conservación del sitio y la identificación de las especies se realizó con el apoyo del señor Demetrio Álvarez, técnico de campo con experiencia probada en la zona estudio y apoyados en la descripción realizada por Martínez et al. (2001) y Martínez y Galindo-Leal (2002). En este sentido, hemos considerado acotar el concepto de estado de conservación como el grado de perturbación o transformación del bosque por causas antropogénicas; así como la antigüedad que un bosque puede tener en recuperación después de ser transformado o perturbado. La categorización de estos sitios obedeció a la observación de la presencia de algunas especies propias de cierto tipo de vegetación, así como a la altura y tamaño del tronco de los árboles, principalmente.

Capturas y muestreo

Los marsupiales capturados fueron manejados principalmente mediante contención física, utilizando guantes de carnaza, laza-trompas y redes de aro para apoyar su inmovilización y minimizar el riesgo para el manejador y para el animal. En el caso de las zorras grises y felinos se utilizó una combinación de Clorhidrato de Ketamina (10mg/kg PV) y Clorhidrato de Xilacina (2mg/kg PV) (Ferguson y Heidt, 1981; Kreeger, 1997; Carpenter, 1996; Suzan y Ceballos, 2007; Ferreira *et al.*, 2009). Los registros de las capturas incluyeron datos de tipo de vegetación, temperatura y humedad relativa del sitio.

Cada individuo fue medido, sexado y pesado; su estado de salud fue evaluado mediante la inspección física general de la condición corporal, detección de heridas o

cicatrices y actitud general; también se registraron datos de temperatura corporal, frecuencia cardíaca y respiratoria. En el caso de los ejemplares anestesiados se registraron datos de tiempo de llenado capilar. Posteriormente se tomaron muestras de sangre a través de punción intra-cardíaca en los marsupiales, mientras que para el resto de los animales, la punción se realizó en la vena cefálica, safena o femoral. La sangre colectada se depositó en tubos al vacío sin anticoagulante (Vacutainer^{MR}, Beckton Dickinson, EUA). Para evitar poner en riesgo la vida de los ejemplares, sólo se extrajo una cantidad de sangre no mayor al 1% de su peso corporal (Suzan y Ceballos, 2005). Después de un periodo de 30 minutos como mínimo, la sangre se centrifugó durante 15 minutos con una centrífuga manual de 4 tubos a 1000 xG (Fuerzas de Gravedad) (Benjamin, 1984; Calama y Roger, 1994; Dybkaer y McQueen, 1994; Fudge, 2000; Guerrero- Sánchez, 2002). Los sueros obtenidos fueron almacenados en congeladores comerciales a -5°C en las comunidades y posteriormente trasladados a la Ciudad de Campeche, donde se almacenaron a -70°C.

Cada individuo capturado fue marcado con un tatuaje permanente en la piel del pliegue inguinal para registrar su recaptura y lograr tener resultados serológicos pareados por medio de las re-capturas (Wobeser, 2007).

Los animales domésticos (perros, gatos y cerdos) fueron manejados con el consentimiento de los dueños. Los perros y los gatos fueron muestreados mediante punción de la vena cefálica mientras que a los cerdos se les realizó punción de la vena marginal de la oreja para la colecta de sangre. Todos los animales domésticos fueron manejados con contención física.

Durante el manejo se realizó una entrevista semiestructurada a cada propietario para averiguar el tipo de animales silvestres que potencialmente entran en contacto con

los animales domésticos, y la frecuencia de estos encuentros. La entrevista estuvo dirigida principalmente al manejo que se les da a los animales domésticos, con énfasis en los cerdos, perros y gatos, la frecuencia de invasiones dentro de los huertos por animales silvestres, percepción de la morbilidad y mortalidad de las especies domésticas mencionadas dentro de la comunidad (Ver formato en Anexos).

Diagnóstico serológico

Las pruebas de diagnóstico de Parvovirus canino, *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma phagocytophilum* se realizaron con pruebas serológicas comerciales de colorimetría. El diagnóstico de Parvovirus canino (PVC) se realizó con el equipo de diagnóstico rápido Anigen CPV* (BIONOTE, Gyong-Ying, Korea) con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 98% validados con Inhibición de la hemaglutinación. La detección de *D. immitis*, *E. canis*, *B. burgdorferi* y *A. phagocytophilum* fue realizada con el equipo Canine SNAP* 4Dx* (IDEXX Laboratories Inc. Westbrook, ME, EUA). La especificidad para estas pruebas en general es del 100% mientras que la sensibilidad es del 96% para *E. canis*, 98.8% para *B. burgdorferi* y del 99% para *D. immitis* y *A. phagocytophilum*, validados con técnicas de inmunofluorescencia / Western Blood, para los microparásitos, mientras que para *D. immitis*, la prueba está validada contra la detección directa del nemátodo. Por razones de presupuesto, para estos diagnósticos se seleccionaron al azar muestras representativas de cada especie y localidad. Se procesaron un total de 50 muestras de animales silvestres y 10 de animales domésticos de cada localidad para cada prueba.

Los diagnósticos de *Leptospira interrogans* se realizaron en los laboratorios del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CENID-M, INIFAP) en la Ciudad

de México, mediante la técnica de Microaglutinación en placa (Millán et al., 2008; Moinet et al., 2009; Raizman et al., 2009; Jiménez-Coello et al., 2010). Todos los sueros fueron procesados para el diagnóstico de nueve serovariedades registradas internacionalmente y tres cepas de reconocimiento nacional (Cepa H-89 del serovar Hardjo; cepa Palo Alto del serovar Icterohaemorrhagiae, y cepa Portland- Vere del serovar Canícola,). Sin embargo, para fines de esta investigación, estas tres variedades se reportan en este trabajo con el nombre del serovar. Se estableció un punto de corte para los títulos positivos de 1:100, que representa el estándar internacional (Millán et al., 2008; Moinet et al., 2009; Raizman et al., 2009; Jiménez Coello et al., 2010).

La sero-prevalencia se determinó calculando el porcentaje de sueros positivos dentro del total de sueros procesados (Gese et al., 1991; Johnson et al., 1998; Suzán y Ceballos, 2005; Wobeser, 2007). En la descripción de la prevalencia se consideró un intervalo de confianza del 95%.

Los resultados fueron clasificados y analizados mediante estadística descriptiva con un intervalo de confianza del 95% (Daniel, 2002). De igual forma, los datos de capturas y vegetación fueron comparados mediante pruebas F de análisis de varianza de una y dos vías, U de Mann-Whitney y H de Kruskal-Wallis para verificar la existencia de diferencias entre las comunidades y entre diversas variables existentes en cada comunidad (Daniel, 2002; Wagner et al., 2003). Los resultados de las prevalencias fueron comparados entre las dos comunidades estudiadas mediante la prueba de Ji cuadrada (χ^2), mientras que las comparaciones entre las características vegetales, distancia al poblado y especies fueron calculadas con la prueba exacta de Fisher (P).

Con el uso de tablas de contingencia y pruebas de χ^2 se definieron las probabilidades de ocurrencia de individuos infectados por localidad, tipos de

vegetación, características estructurales y de composición del bosque, distancia al poblado y abundancia relativa de cada especie capturada.

Se obtuvo el riesgo relativo (Rr) o proporción de prevalencias acumuladas entre individuos seropositivos e individuos con serología negativa, con respecto a una variable como factor de riesgo (Carpenter y Word, 2003; Daniel, 2003; Wagner et al., 2003; Wobeser, 2007). El resultado permitió saber que tan alta es la probabilidad de que ocurra una infección con respecto de la probabilidad de que no ocurra:

$$Rr = \frac{\text{Prevalencia acumulada de individuos positivos}}{\text{Prevalencia acumulada de individuos negativos}}$$

Un resultado igual 1 indica que la variable analizada no representa un riesgo en la transmisión de la enfermedad en cuestión, es decir, no hay asociación entre la variable dependiente y la independiente; por el contrario, el riesgo podrá ser tanto mayor como el resultado sea mayor a 1. Los valores menores a la unidad, indican una asociación negativa entre variables; en epidemiología estos valores indican que el riesgo de transmisión es escaso o nulo (Pfeiffer, 2002). Las variables que se emplearon para este análisis fueron la distancia al poblado, tipo de vegetación y las comunidades rurales *per se*.

RESULTADOS Y DISCUSION

Descripción de la estructura y diversidad del bosque

Se registraron un total de 4 tipos de vegetación, de los cuales, el acahual fue categorizado en 4 grupos de edad. Nuevo Becal (NB) no presentó acahuales mayores de 20 años, siendo los de 10 años los de mayor ocurrencia a lo largo de los transectos

junto con la selva media subperennifolia. Sin embargo, es importante mencionar que este último tipo de vegetación sólo estuvo presente en la zona de protección forestal perteneciente a la comunidad vecina de Zoh-Laguna. En el caso de Pachuitz (PU), los acahuals de 30 años y los bajos inundables fueron más frecuentes a lo largo de los dos transectos (Figura 2.).

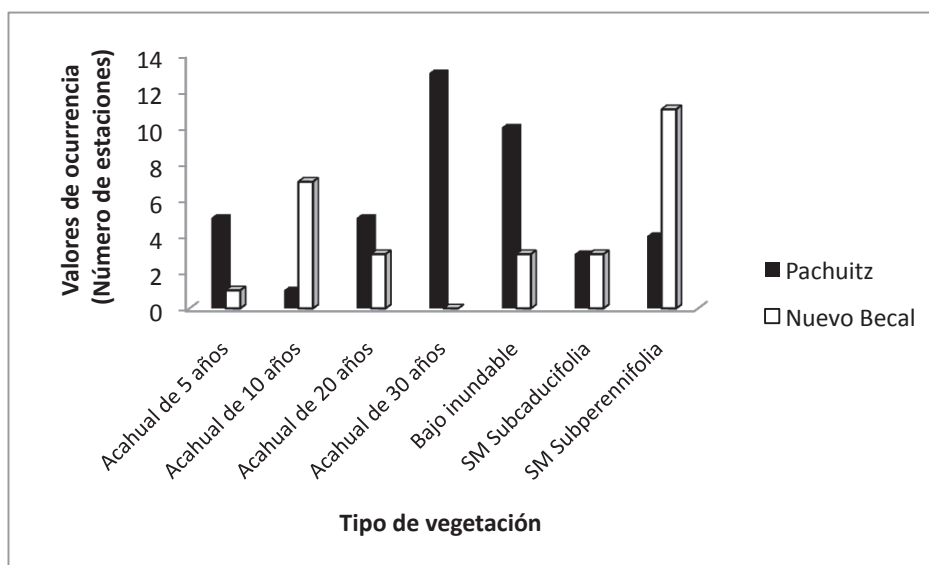


Figura. 2. Gráfica de ocurrencia de los diferentes tipos de vegetación registrados en las comunidades de Nuevo Becal y Pachuitz, Campeche entre los meses de enero a octubre de 2010.

Diversidad arbórea

Se registraron un total de 86 especies arbóreas (NB= 52; PU= 67). En Nuevo Becal, el transecto que presentó mayor riqueza de especies fue el que se ubicaba dentro de la zona de protección forestal de Zoh-Laguna, mientras que el que se encontraba dentro del terreno de NB, presentó la menor riqueza. En términos

generales, PU, presenta mayor riqueza de especies arbóreas. Aunque estadísticamente las diferencias entre ambas comunidades no fueron significativas ($U=85.5$; $p=0.054$), numéricamente los índices de Shannon- Wiener mostraron mayor diversidad en PU que en NB (Cuadro 2).

Cuadro 2. Diversidad vegetal registrada en los transectos de las zonas de estudio, identificación de spp dominantes, valor de Índice de Shannon- Wiener y de índice relativo de Cobertura (IRC).

| Localidad | Transecto | n | Riqueza | Spp. Dominantes | S-W Indx | IRC |
|--------------|--------------|-----------|-----------|-----------------------------|----------|-------|
| Nuevo Becal | 1NB | 7 | 24 | <i>Lonchocarpus xuul</i> | 0.862 | 0.569 |
| | | | | <i>Croton arboreus</i> | 0.562 | 0.658 |
| | 2NB | 7 | 39 | <i>Pouteria durlandii</i> | 0.903 | 0.539 |
| | | | | <i>Metopium brownei</i> | 0.639 | 0.346 |
| | Total | 14 | 52 | | | |
| Pachuitz | 1P | 7 | 36 | <i>Exothea diphylla</i> | 0.874 | 0.840 |
| | | | | <i>Zigia sp</i> | 0.622 | 0.273 |
| | 1P-bis | 5 | 27 | <i>Nectandra coriacea</i> | 0.773 | 0.262 |
| | | | | <i>Ehretia tinifolia</i> | 0.638 | 0.727 |
| | 2P | 8 | 37 | <i>Croton arboreus</i> | 0.798 | 0.222 |
| | | | | <i>Lysiloma latisiliqua</i> | 0.709 | 0.809 |
| Total | 20 | 67 | | | | |

La riqueza arbórea por tipo de vegetación no mostró diferencias significativas en ninguna de las dos comunidades ($H_{NB}= 5.341$; $gl= 4$; $p= 0.254$ / $H_{PU}= 9.121$; $gl=6$; $p= 0.167$). No obstante es posible observar gráficamente mayor diversidad de especies en PU que en NB por tipo de vegetación (Figura 3).

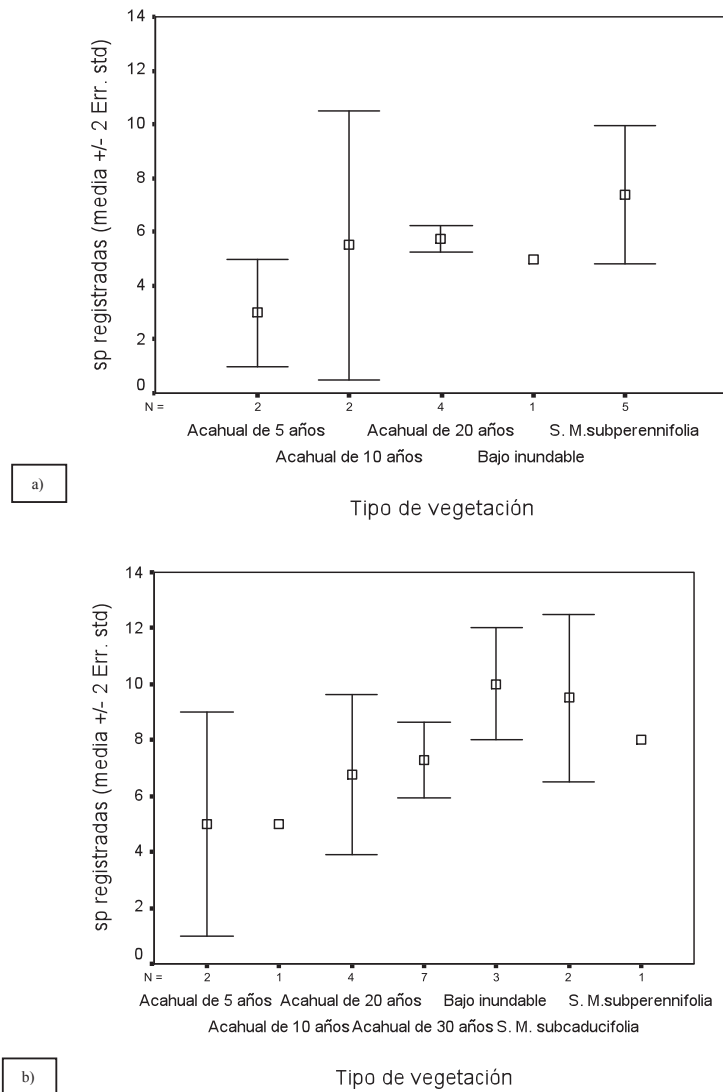
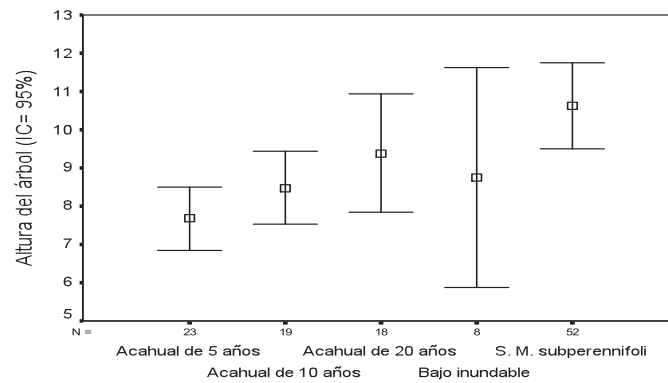


Figura 3. Valores medios de especies registradas por tipo de vegetación en a) Nuevo Becal y b) Pachuitz, Calakmul, Campeche, México. Valores medios \pm 2 errores estándar.

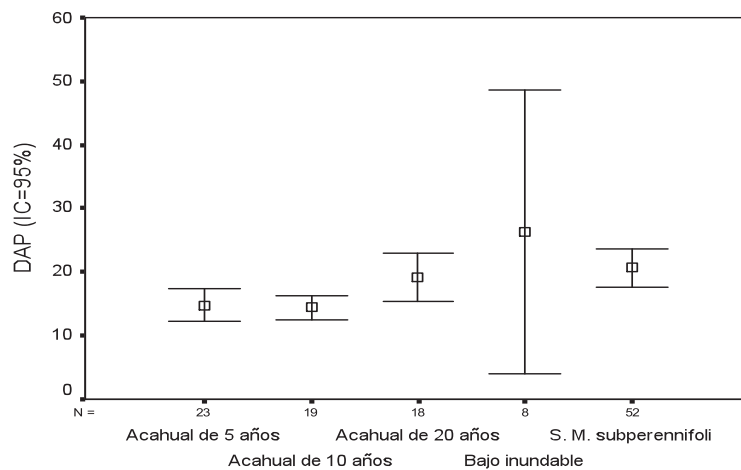
Estructura del bosque

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las dos comunidades con relación a las tres variables analizadas para la estructura arbórea: diámetro a la altura del pecho (DAP; $U=12137.5$; $p= 0.370$), altura del árbol ($U= 11521$; $p= 0.102$) y cobertura del dosel ($U= 12052$; $p= 0.312$). El análisis de la estructura del

bosque entre los diferentes tipos de vegetación muestra diferencias estadísticas en los aspectos de altura ($H= 11.759$; $gl= 4$; $p= 0.019$) y DAP ($H= 11.339$; $gl= 4$; $p= 0.023$) en Nuevo Becal, mientras que Pachuitz mostró diferencias estadísticas en las tres variables analizadas (Altura: $H= 24.24$; $gl= 4$; $p= 0$; Cobertura: $H= 20.22$; $gl= 6$; $p=0.008$; DAP: $H= 17.3$; $gl= 6$; $p= 0.003$; Figuras. 4 y 5). En ambas comunidades, la altura de los árboles está claramente asociada con el tipo de vegetación, como sugieren Martínez y Galindo- Leal (2002). Los DAP también presentan un patrón aparentemente relacionado con el tipo de vegetación y nivel de conservación del bosque (figuras 4 y 5).



a) Tipo de vegetación



b) Tipo de vegetación

Figura. 4. Valores medios de a) altura del árbol y b) cobertura del dosel de acuerdo con el tipo de vegetación en Nuevo Becal, Calakmul, Campeche. Intervalo de confianza (IC)= 95%

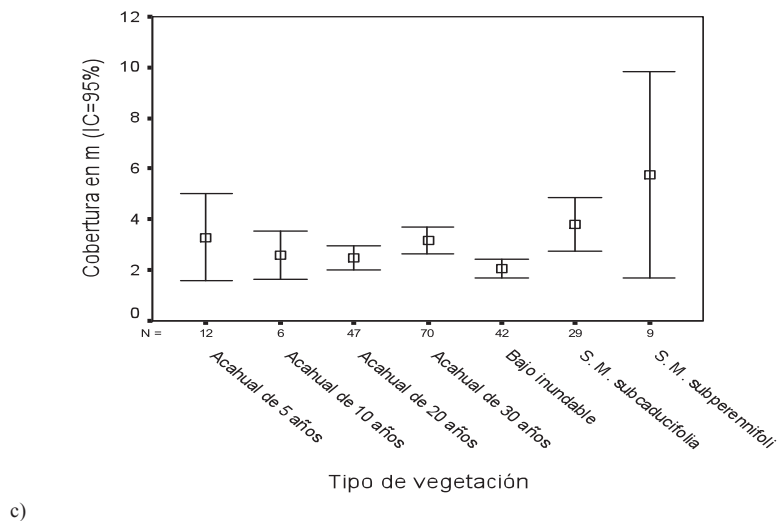
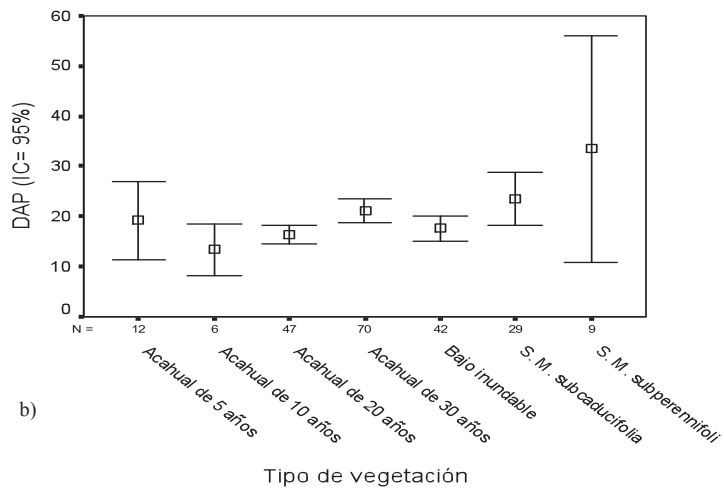
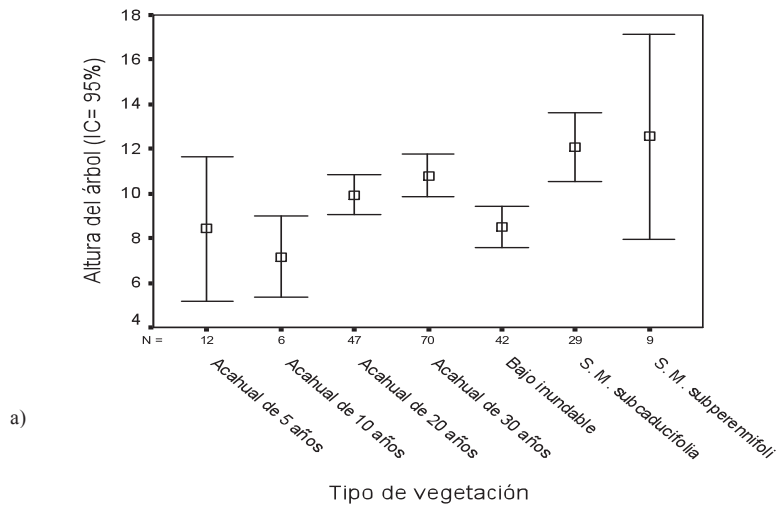


Figura 5. Valores medios de a) altura del árbol, b) DAP y c) cobertura del dosel por tipo de vegetación en Pachuitz, Calakmul, Campeche. IC= 95%

En lo que respecta a las estaciones de trampeo, Nuevo Becal no presentó diferencias estadísticas entre estaciones, ($p > 0.05$) mientras que Pachuitz mostró diferencias estadísticas en la cobertura del dosel ($H = 24.863$; $gl = 7$; $p = 0.001$) y altura del árbol ($H = 16.097$; $gl = 7$; $p = 0.024$); (figuras 6 y 7). Sin embargo, estas diferencias no parecen estar influenciadas por la distancia al poblado, sino más bien por las características propias del bosque (tipos de vegetación) y uso del suelo (milpas, potreros).

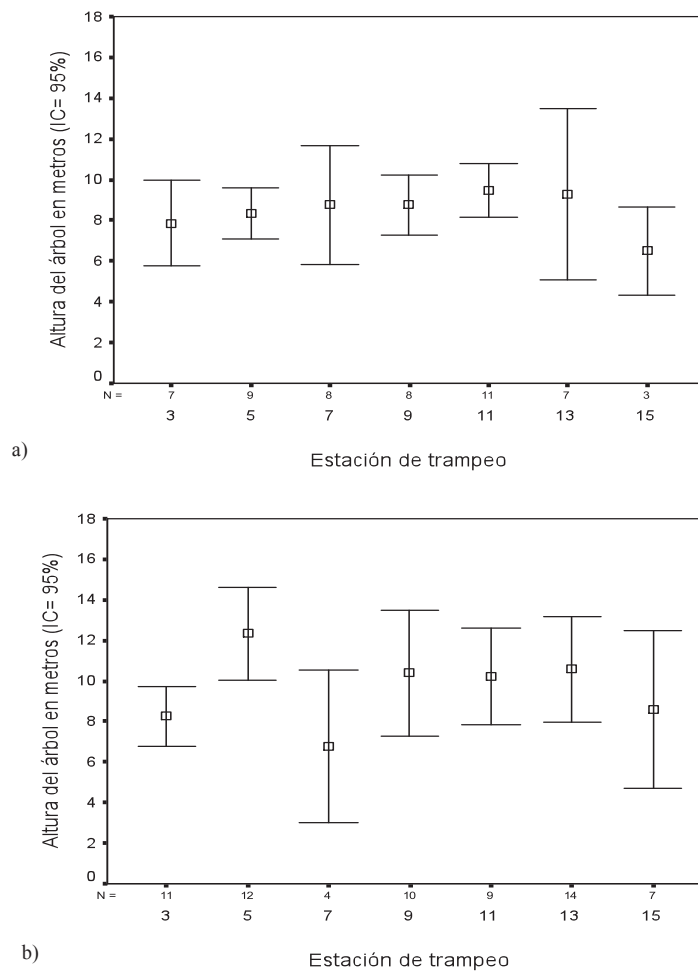
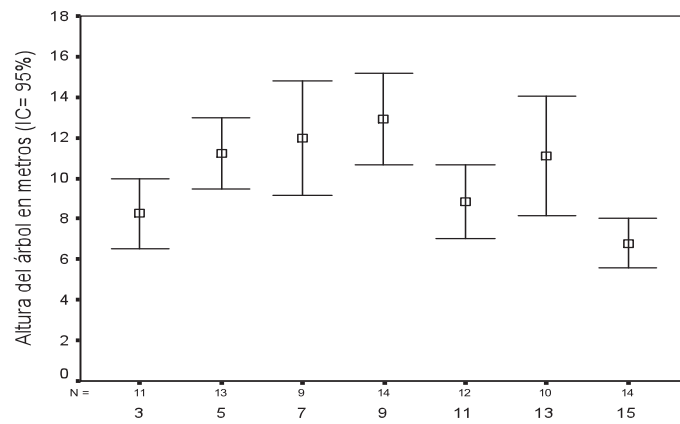
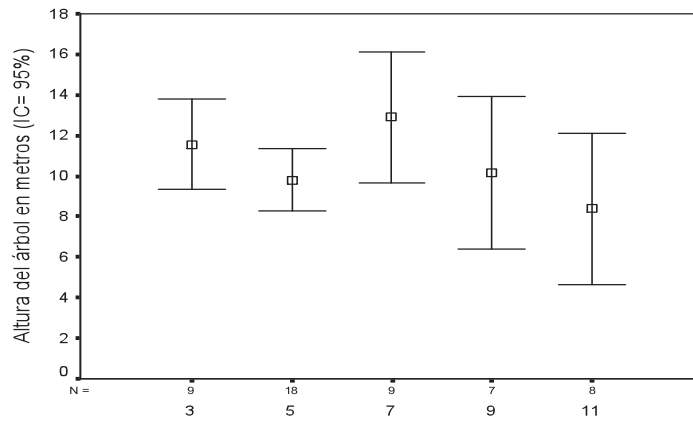


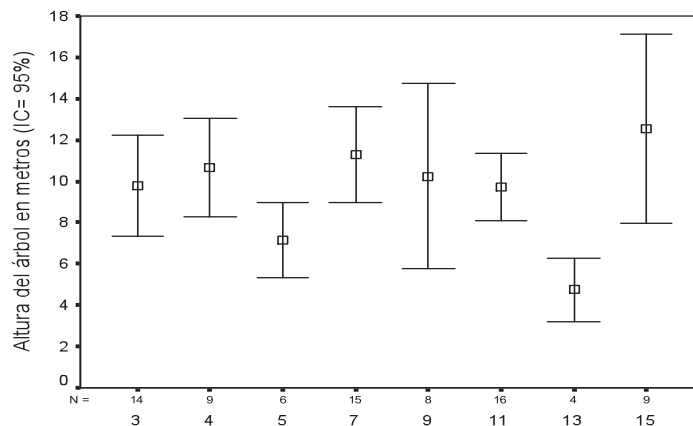
Figura 6 Valores medios de altura de los árboles a lo largo de cada uno de los transectos a) 1NB y b) 2NB; IC= 95%



a) Estación de trampeo



b) Estación de trampeo



c) Estación de trampeo

Figura 7 Valores medios de altura de los árboles a lo largo de cada uno de los transectos a) 1PU; b) 2PU; y c) 1PU-bis. IC= 95%

Martínez y Galindo Leal (2002) propusieron que las actividades antropogénicas en la región han sido determinantes en la estructura y composición de las selvas, teniendo un impacto histórico constante, mismo que se intensificó en algunos sitios a partir de actividades comerciales como la explotación maderera y chiclera desde la segunda década del siglo pasado, aunado a la migración humana hacia la región asociada a estas actividades (Martínez y Galindo- Leal, 2002). La uniformidad estructural aparente en Nuevo Becal sugiere que existe un impacto severo constante a lo largo de su territorio al menos en un radio de 6 km. Por otro lado, en Pachuitz el impacto es más moderado, lo cual favorece la existencia de una mayor presencia de acahuales de más de 30 años y de zonas de bajos inundables. Cabe mencionar que durante el estudio pudimos observar que algunas zonas de bajo inundable en Nuevo Becal habían sido transformadas en zonas de cultivo de maíz asociado con arroz y otras especies comestibles. También pudimos constatar que la producción de carbón es una actividad económica muy común en esta comunidad, donde a lo largo de los dos transectos pudimos registrar al menos seis sitios de extracción de leña y tres hornos para la producción de carbón.

En el caso de Pachuitz no se observó uso o transformación de bajos inundables, ni sitios de producción de carbón. De hecho, la única actividad comercial evidente en esta comunidad es la producción de miel y elaboración de textiles. Otros tipos de comercialización de animales o de especies cultivadas son de baja escala, generalmente (excedentes), mientras que en Nuevo Becal sí existe una cultura de comercialización más marcada a través de intermediarios (carbón, chile, chicle). Este efecto también será evidente en las fases de captura y epidemiología de este estudio (ver más adelante).

A lo largo de los 5.6 km de los transectos no se consiguió identificar un sitio con un área considerable de bosque conservado. Weber (2005) encontró que para la cacería de venados, los habitantes de Nuevo Becal recorren una distancia media de 13.5 km del poblado, lo que sugiere que las zonas mejor conservadas deben encontrarse a partir de esta distancia. Es evidente que la longitud de los transectos trazados en este estudio no fue suficiente para describir el radio de influencia de ambas comunidades; sin embargo, si bien este radio puede suponerse menor a los 13.5 km, el área comprendida dentro de éste no recibe el mismo impacto. Los niveles de impacto, tipo y extensión del mismo deben ser considerados en futuros estudios sobre dinámica de transmisión de enfermedades en la interfase entre las comunidades rurales y los sitios naturales

Capturas

El esfuerzo total de captura fue de 1663 noches/trampa (nc/tp), de las cuales 945 nc/tp correspondieron a Nuevo Becal y 718 a Pachuitz. Una prueba de Kolmogorov-Smirnov demostró que ambos sitios son comparables estadísticamente ($Z= 0.808$; $p= 0.530$) en cuanto al esfuerzo de trampeo. Nuevo Becal ofreció un mayor éxito general de captura con respecto a Pachuitz (10.37% vs 6.55%; $F= 8.043$; $gl=1$; $p= 0.005$). En ambas comunidades, *Didelphis virginiana* fue la especie más abundante y más capturada (4.5% de éxito total), mientras que *Philander opossum* (1.3%) y *Urocyon cinereoargenteus* (0.4%) fueron las especies con menor éxito, sin considerar al yaguarundi (*Puma yagouaroundi*) y al ocelote (*Leopardus pardalis*), de los cuales sólo hubo una captura de cada uno en Nuevo Becal. Entre las tres especies simpátricas de marsupiales no hubo diferencias estadísticas significativas en los éxitos de captura ($p>0.05$; Cuadro 3).

Cuadro 3. Éxito de captura (noches/trampa) por especie en Nuevo Becal y Pachuitz, Calakmul, Campeche. IC (Intervalo de confianza)= 95%

| especie | Éxito de captura % (absolutos; IC; n) | | |
|---------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| | Nuevo Becal | Pachuitz | Total |
| <i>Didelphis virginiana</i> | 4.55 (43; 0.0004; 945) | 4.45 (32; 0.0006; 718) | 4.5 (75; 0.0002; 1663) |
| <i>Didelphis marsupialis</i> | 3.17 (30; 0.0004; 945) | 1.25 (9; 0.0003; 718) | 2.3 (39; 0.0001; 1663) |
| <i>Philander opossum</i> | 2.11 (20; 0.0003; 945) | 0.27 (2; 0.0001; 718) | 1.3 (22; 0.0003; 1663) |
| <i>Urocyon cinereoargenteus</i> | 0.31 (3; 0.0001; 945) | 0.55 (4; 0.0002; 718) | 0.4 (7; 0; 1663) |
| <i>Leopardus pardalis</i> | 0.11 (1; 0; 945) | 0.00 | 0.1 (1; 0; 1663) |
| <i>Puma yagouaroundi</i> | 0.11 (1; 0; 945) | 0.00 | 0.1 (1; 0; 1663) |
| Total | 10.37 (98; 0.0006; 945) | 6.55 (47; 0.006; 718) | 8.70 (145; 0.0003; 1663) |

Con relación a la distancia a los poblados, Nuevo Becal mostró una distribución general más uniforme en las capturas a lo largo del transecto ($H=4.806$; $gl= 4$; $p= 0.308$), mientras que en Pachuitz podemos afirmar que el éxito de captura fue mayor conforme las trampas se alejaron del transecto ($H= 12.760$; $gl= 2$; $p= 0.013$). Considerando que a lo largo de los transectos existe mucha presencia de personas y perros que van a los sitios de trabajo, esta diferencia puede estar más asociada al tipo de vegetación y estructura arbórea que a la distancia a los poblados (Figura 8).

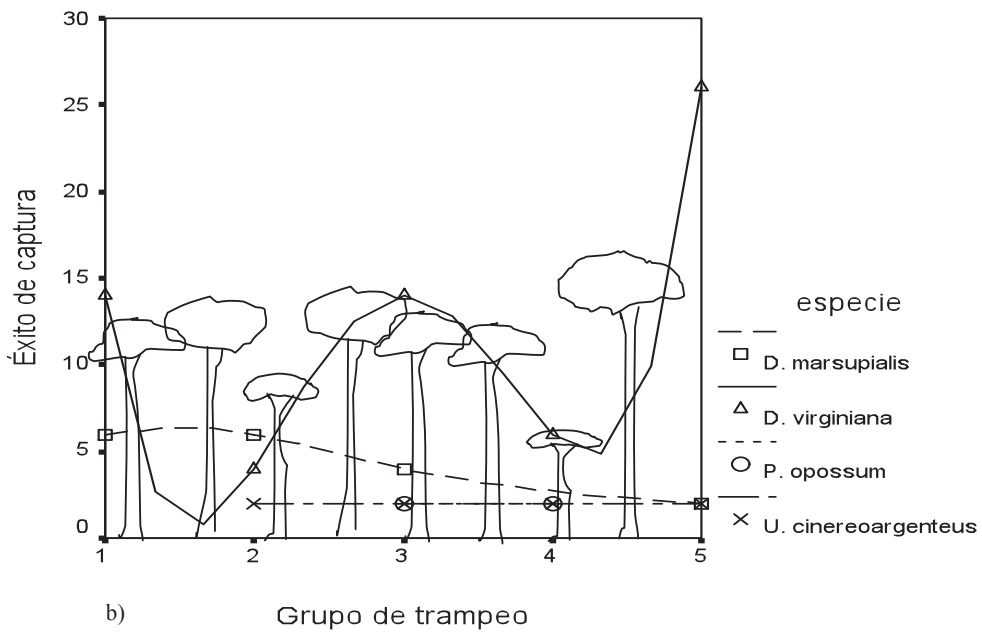
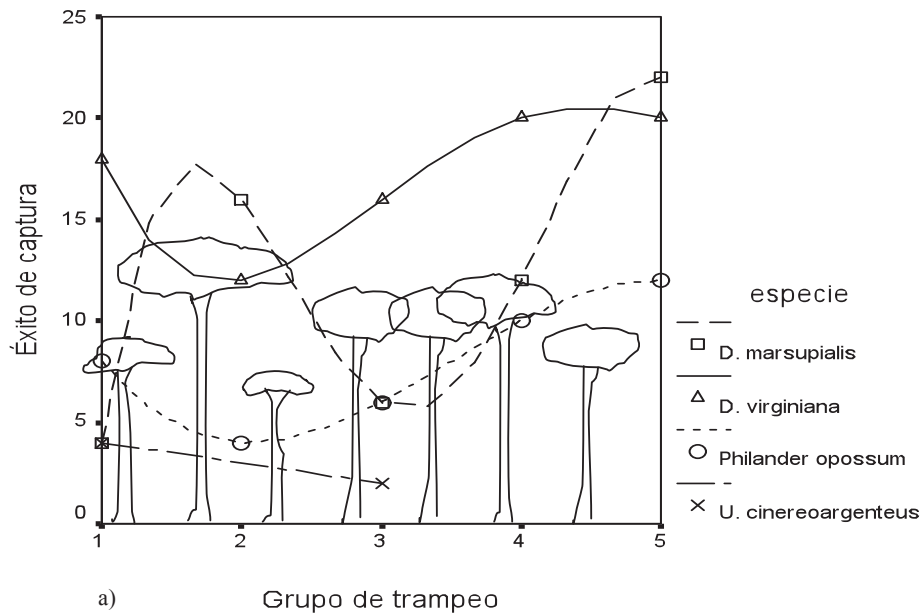


Figura 8. Gráfico de número de capturas por especie con respecto a la distribución de las trampas a lo largo de cada transecto en: a) Nuevo Becal y b) Pachuitz. Cada grupo comprende 3 trampas dispuestas en orden de distancia al poblado, donde el grupo 1 incluye la trampa ubicada en un solar o huerto familiar mientras que el grupo 5 son las trampas más alejadas. El esquema inserto muestra el perfil de la estructura arbórea (altura del dosel) a lo largo de los transectos.

Con relación al tipo de vegetación, en ambas localidades se observó éxito ligeramente mayor de captura en selva media subperennifolia y acahuales de alrededor de 30 años; sin embargo, en términos generales la distribución de las capturas fue muy uniforme: en Nuevo Becal estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($H= 4.603$; $gl= 6$; $p=0.596$), mientras que en Pachuitz, sí existieron diferencias significativas ($H= 39.440$; $gl= 7$; $p< 0.05$), siendo el acahual de alrededor de 30 años y la selva media subperennifolia los sitios de mayor éxito de captura, seguidos por el bajo inundable.

Es importante mencionar que en Pachuitz, a diferencia de Nuevo Becal, durante el periodo de muestreo, no hubo capturas dentro de los huertos familiares (solares). Sin embargo, de acuerdo con la información obtenida de los pobladores, así como por lo observado durante nuestras estancias en la comunidad, es frecuente el ingreso de marsupiales y zorras en algunos solares. Así mismo, en un muestreo anterior a este estudio se realizaron capturas de marsupiales e incluso ocelotes en estos sitios (Weber, 2009, com. pers; Figura 9).

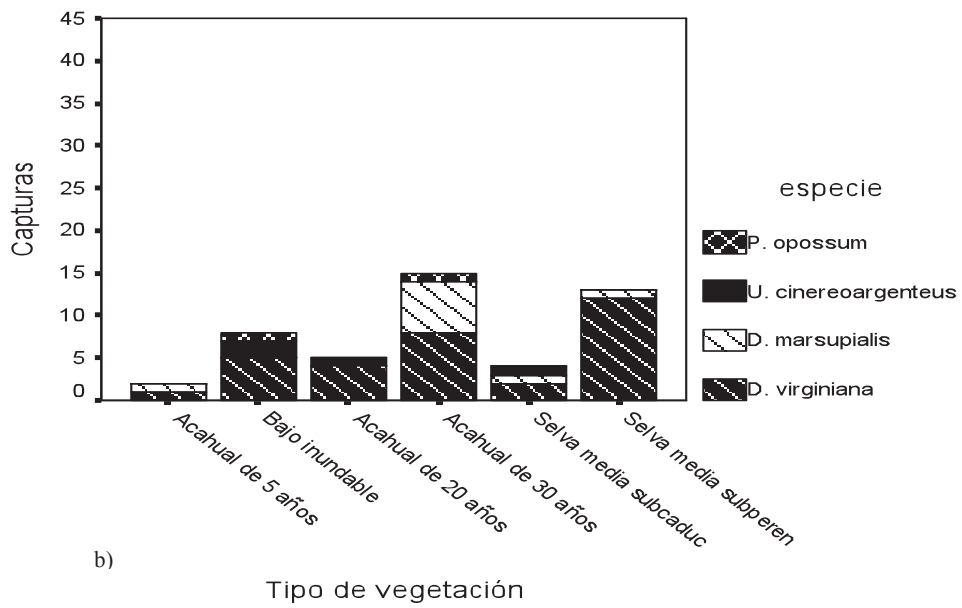
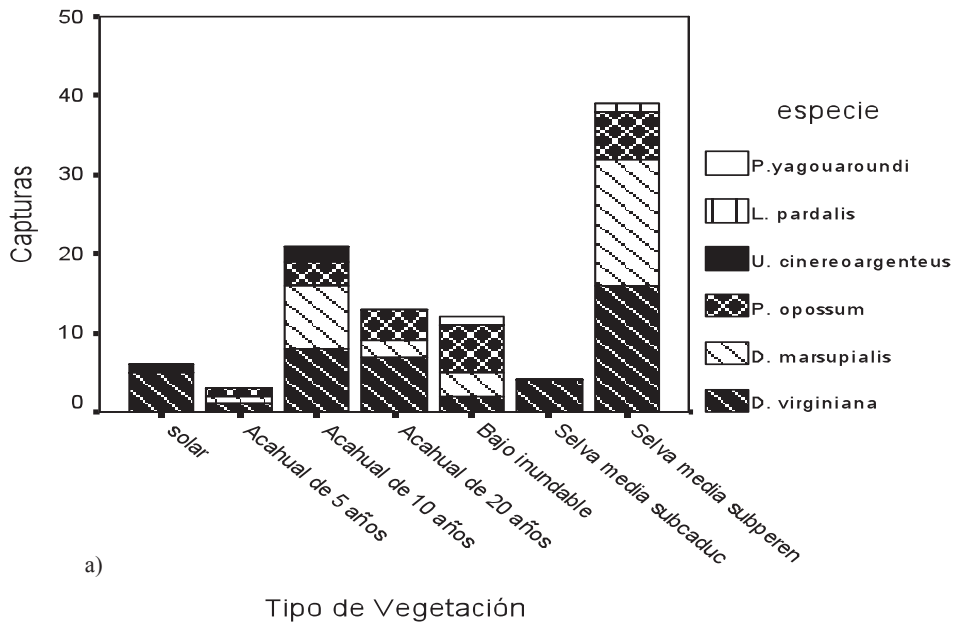


Figura 9. Número de capturas por especie de acuerdo con los tipos de vegetación en a) Nuevo Becal y b) Pachuitz.

Con relación a la estructura del bosque, no parece haber relación entre la cobertura del dosel y el DAP con la distribución de las especies capturadas. Sin embargo, en lo que respecta a la altura media de los árboles, se observó mayor éxito de captura en sitios con alturas medias de los árboles mayores de 6 metros. Aunque Nuevo Becal no mostró diferencias estadísticamente significativas ($H= 0.819$; $gl= 5$; $p= 0.976$), en Pachuitz sí fue posible observar esta diferencia ($H= 16.91$; $gl= 5$; $p= 0.007$; Figura 10).

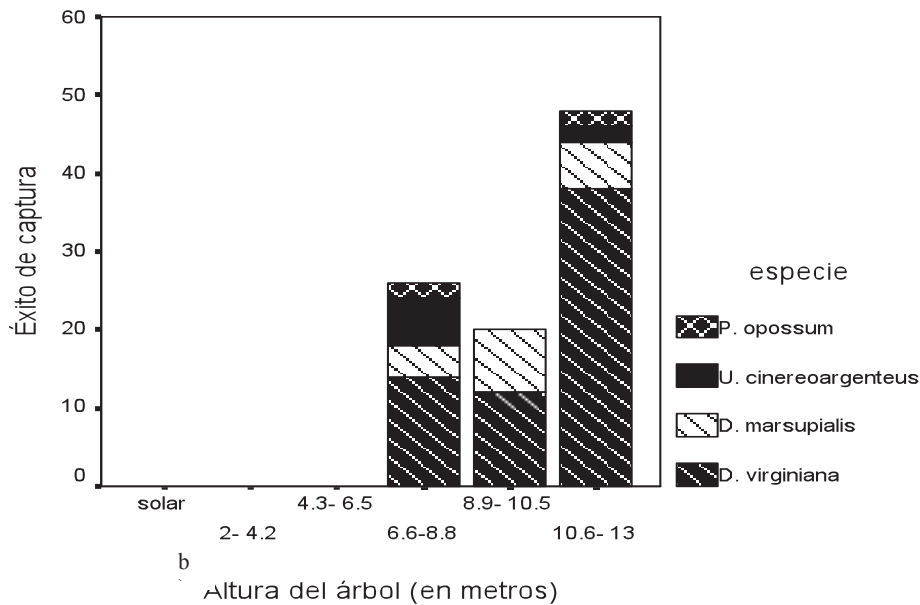
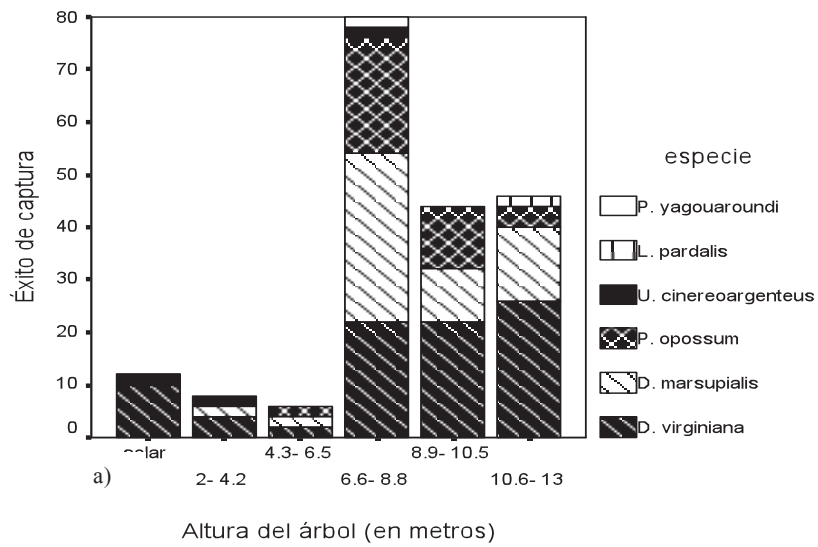


Figura. 10.- Número de capturas por especie de acuerdo con la altura media de los árboles en a) Nuevo Becal y b) Pachuitz

Un análisis de dispersión que combina las variables de tipo de vegetación y altura de los árboles, nos permitió observar una distribución uniforme en las especies capturadas en Nuevo Becal, mientras en Pachuitz, algunas de las especies fueron

capturadas con mayor frecuencia en zonas mejor conservadas y con mayor altura media de los árboles (Figura 11).

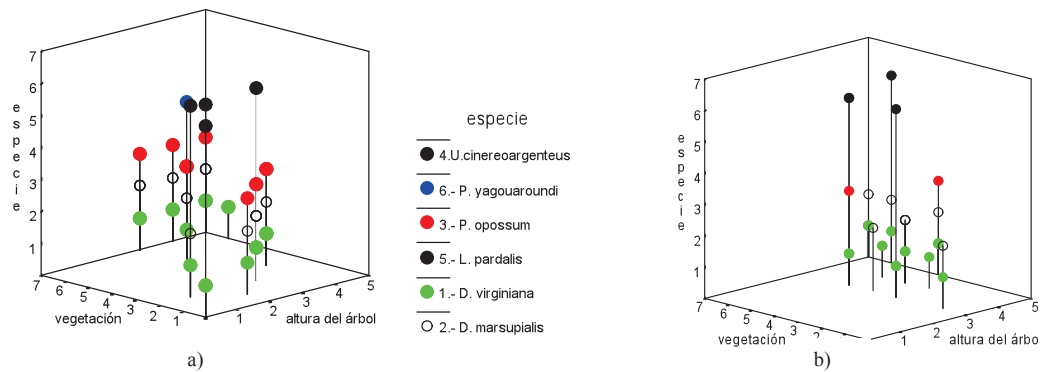


Figura 11.- Diagramas de dispersión de las especies capturadas con relación al tipo de vegetación y la altura media de los árboles en cada estación de trapeo en a) Nuevo Becal y b) Pachuitz.

Vegetación: 0- solar; 1- Acahual (Ac) de 5 años; 2- Ac de 10 años; 3- Ac de 20 años; 4- Ac de 30 años; 5- Bajo inundable; 6- Selva media subcaducifolia; 7- Selva media subperennifolia.

Altura del árbol: 0- solar; 1- de 2 a 4m ; 2- de 4.1 a 6.5m ; 3- de 6.6 a 8.9 m ; 4- de 9 a 10.9 m ; 5- de 11 a 13m

Esto puede entenderse al observar que existe mayor disponibilidad de sitios conservados en Pachuitz, que en Nuevo Becal y que, al pertenecer a especies arborícolas la mayor proporción de individuos capturados, estos sitios les ofrecen un mejor refugio.

En lo que se refiere a la composición del bosque, no se observó ninguna relación entre el éxito de captura y la riqueza de especies arbóreas o los índices de diversidad arbórea entre las dos comunidades. Henske (1995) y Ordeñana (2010) proponen que tanto las zorras como los marsupiales, si bien son especies tolerantes a la actividad humana, suelen preferir las zonas boscosas, por lo que en sus estudios no encontraron diferencias significativas en la abundancia de estas especies en zonas de interior de

bosques o en zonas peri-urbanas. Henske (1995), además propone que las zonas de transición pueden favorecer la abundancia de estas especies debido a la productividad de sitios agrícolas y la protección que ofrece la cobertura de los bosques vecinos. Esto explica porqué los marsupiales y las zorras presentan una distribución uniforme a lo largo de los transectos. La disponibilidad de alimento que ofrecen los asentamientos humanos, incluidos los sitios de cultivo (milpas) y la colindancia de estos con bosques con diferente gradiente de perturbación ofrecen a estas especies un hábitat idóneo (alimento y refugio) donde, además la presencia de depredadores es muy reducida (Medellin y Equihua, 1998). La estructura del bosque parece ser más determinante para la abundancia de estas especies que la composición del mismo.

En el caso de *P. yagouraoundi* y *L. pardalis*, Medellin y Equihua (1998) mencionan su presencia en zonas con diferentes grados de conservación. Su presencia puede estar determinada por la abundancia de pequeños vertebrados como roedores y marsupiales (Konnency, 1989), importantes en su dieta. En ambas localidades los pobladores reportan ataques ocasionales de estas especies dentro de los solares, sobre todo en Pachuitz, donde en 2009 un equipo de trabajo de ECOSUR capturó un ocelote dentro de un solar (Weber, com. pers.). Lo anterior sugiere que la ocurrencia de estos felinos es baja, pero constante en las zonas cercanas a las comunidades humanas, colocándolos en un riesgo potencialmente alto de adquirir enfermedades asociadas a los animales domésticos, como veremos más adelante.

Resultados Serológicos

De los patógenos estudiados, *Anaplasma phagocytophilum* y *Borrelia burgdorferi* no mostraron seropositividad en los animales silvestres ni en los domésticos; es decir, todos los individuos probados resultaron negativos.

En los animales silvestres, Parvovirus canino (PVC) y *D. immitis* mostraron la mayor seroprevalencia (Figura 12). En el caso de los animales domésticos, *L. interrogans* y *E. canis* mostraron mayor presencia serológica, seguida de *D. immitis*, mientras que PVC mostro una seroprevalencia relativamente baja (Figura 13). Tanto en el caso de los animales domésticos como en el de los silvestres, PVC y *L. interrogans* muestran mayor prevalencia en Nuevo Becal que en Pachuitz. Por otro lado, *D. immitis* es más prevalente en Pachuitz que en Nuevo Becal.

La prevalencia de *E. canis* en los animales domésticos de Nuevo Becal está muy por encima de la obtenida en Pachuitz, y aún más que en los animales silvestres de ambas comunidades (Figuras. 12 y 13). Con la finalidad de tener una visión más clara de la influencia que pueden tener los animales domésticos sobre cada una de las enfermedades estudiadas en los animales silvestres, cada patógeno será analizado por separado en lo sucesivo.

En lo que se refiere a las recapturas, se obtuvieron nueve recapturas con una diferencia mínima de un mes. En ningún caso se observaron resultados diferentes en los títulos de anticuerpos que pudieran indicar alguna enfermedad en progreso o en recuperación.

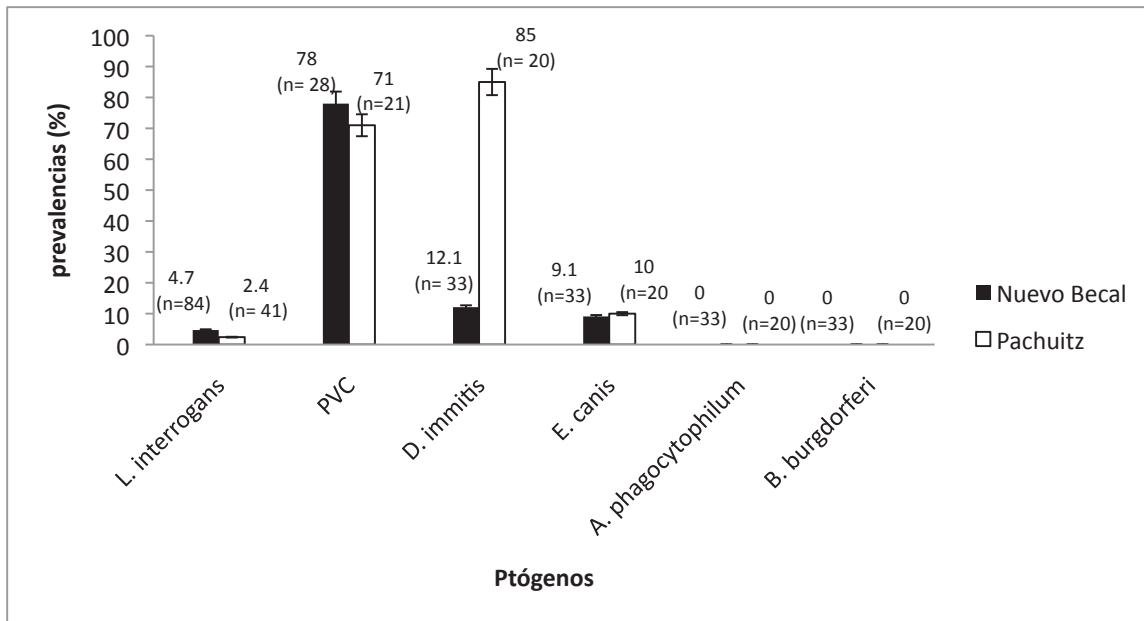


Figura 12.- Prevalencias de los patógenos estudiados en los marsupiales y pequeños carnívoros silvestres en Nuevo Becal y Pachuitz, Calakmul, Campeche. Los valores sobre las barras indican la prevalencia en % y el número de ejemplares muestreados. Las barras de error representan intervalos de confianza (IC)= 95%.

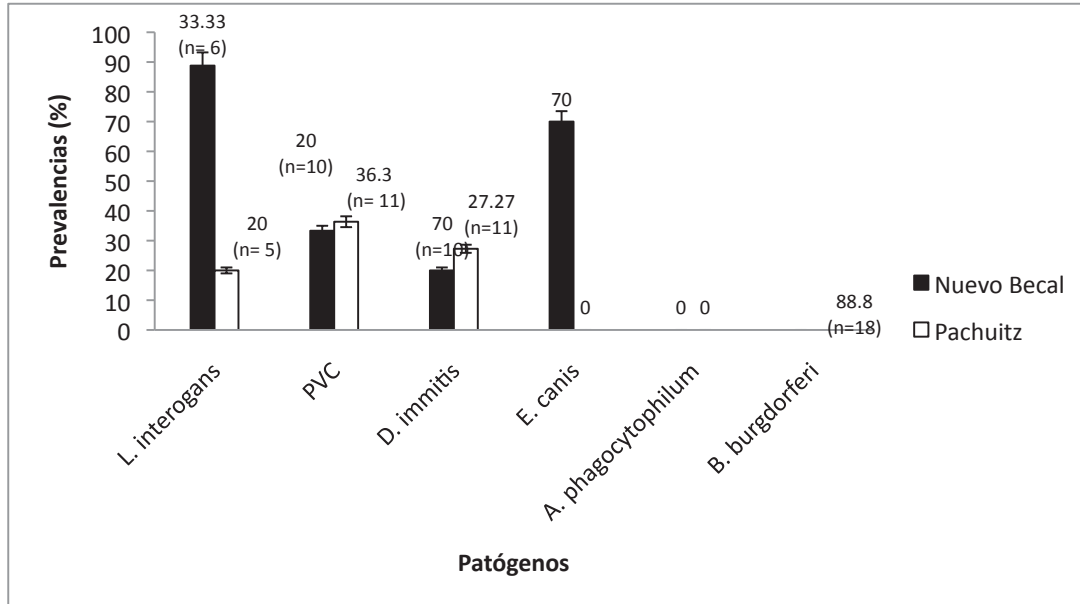


Figura 13.- Prevalencias de los patógenos estudiados en animales domésticos (cerdos, gatos y perros) en Nuevo Becal y Pachuitz, Calakmul, Campeche. Los valores sobre las barras indican la prevalencia en % y el número de ejemplares muestreados. Las barras de error representan intervalos de confianza (IC)= 95%.

Leptospirosis

En los animales domésticos de Nuevo Becal se encontraron anticuerpos contra seis serovariedades de *L. interrogans* (Bratislava, Pyrogenes, Griptiphosa, Canicola, Hardjo, Icterohaemorrhagiae). Los cerdos de Nuevo Becal resultaron positivos a todos los serovares con títulos que van de 1:100 hasta 1:1600 (Icterohaemorrhagiae) mientras que los perros reaccionaron principalmente a Icterohaemorrhagiae (1:100- 1:1600), Pyrogenes (1:100) y Bratislava (1:1600). En Pachuitz sólo se detectaron dos serovares (Icterohaemorrhagiae y Canicola) tanto en perros como en cerdos con títulos de 1:100 y 1:200 principalmente. Solamente un perro mostró títulos de 1:800 al serovar Canicola y un cerdo con títulos de 1: 1600 al serovar Icterohaemorrhagiae.

Las seroprevalencias más altas fueron obtenidas en los perros de Nuevo Becal (100% [n= 11] vs 33% [n= 12] de Pachuitz; $X^2= 11.244$; gl= 1; $p= 0.001$) y en los cerdos de la misma localidad (80% [n= 5] vs 66% [n= 9] de Pachuitz; $X^2= 0.837$; gl= 1; $p= 0.360$). En el caso de los felinos domésticos sólo un gato de Nuevo Becal fue positivo al serovar Icterohaemorrhagiae (50%; título de 1:100). Estas diferencias entre localidades para los serovares son altamente significativas ($X^2= 9.724$; gl= 1; $p= 0.002$, $n_{\text{Nuevo becal}}=18$, $n_{\text{Pachuitz}}= 22$; Cuadro 4).

Jiménez- Coello et al. (2010) reportan una prevalencia del 4.9% en perros callejeros de la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, muy por debajo de lo reportado en este estudio (100% para una de las comunidades muestreadas), además de reportar sólo la presencia de los serovares Tarassovi y Pyrogenes; por otro lado, las prevalencias obtenidas en los cerdos en este estudio, están por encima de lo que Zavala et al. (1984) reportaron para cerdos de traspatio en la península de Yucatán (23%). La alta prevalencia del serovar Icterohaemorrhagiae (90%; IC= 0.05) sugiere que

los perros son una especie clave como transmisor de *L. interrogans* hacia el hombre, otras especies domésticas y a los animales silvestres susceptibles, sobre todo en Nuevo Becal. Sin embargo, es recomendable realizar estudios serológicos en los roedores (principales reservorios de la serovariedad Icterohaemorrhagiae) presentes en las comunidades y sus alrededores para poder determinar el grado de participación que tienen los perros en la dinámica de esta enfermedad.

En cuanto a los animales silvestres, con excepción del serovar Hardjo, los mismos serovares presentes en animales domésticos fueron detectados en los silvestres. De los dos felinos muestreados, sólo el yaguarundi fue positivo a tres serovariedades (Canicola= 1:1600; Icterohaemorrhagiae = 1:1200; Bratislava= 1:800), mientras que el ocelote resultó negativo.

U. cinereoargenteus presentó anticuerpos contra cuatro serovariedades: Canicola (1:400 y 1:1600), Icterohaemorrhagiae (1:100); Pyrogenes (1:100) y Griptiphosa (1:200), mientras que los didélfidos (excepto *P. opossum*) fueron positivos a Icterohaemorrhagiae (1:100) y Canicola (1:100).

Richardson y Gauthier (2003), consideraron en sus estudios que las prevalencias mayores de 1:800 podrían sugerir una enfermedad aguda (citados en Faine, 1988). En este trabajo, los individuos que presentaron títulos mayores, incluso de 1:1600, no mostraron signos de enfermedad aguda (por ejemplo, fiebre, emaciación, dolor o inflamación a la palpación) durante la inspección física, por lo que consideramos que, de acuerdo con lo reportado más recientemente por Millán et al. (2008), estos títulos podrían estar cursando una enfermedad renal crónica.

Las zorras grises presentaron mayor seroprevalencia con relación a las otras especies silvestres capturadas, ($P= 15.028$; $n= 138$; $gl= 5$; $p= 0.008$). Al igual que con

los animales domésticos, Nuevo Becal mostró mayor seroprevalencia y mayor número de serovares presentes que Pachuitz. Sin embargo, en este caso no existió diferencia significativa ($X^2=703$; $gl= 1$; $p= 0.663$; Cuadro 1).

Philander opossum no presentó serología positiva para leptospirosis, mientras que las otras dos especies de marsupiales presentaron prevalencias de 4.76 (*D. marsupialis*) y 4.87 (*D. virginiana*). Estos resultados son muy similares a lo reportado por Milner et al. (1981) y Everard et al. (1983; Cuadro 4).

Cuadro 4.- Seroprevalencias de *L. interrogans* en marsupiales, pequeños y medianos carnívoros silvestres y animales domésticos en Nuevo Becal y Pachuitz, Calakmul, Campeche. IC Intervalo de confianza)= 95%

| localidad | especie (n) | Prevalencias (% [valores absolutos]; IC) | | | | | |
|------------------------------------|------------------------------------|--|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| | | Icterohemorragiae | Bratislava | Pyrogenes | Gripotyphosa | Canícola | Hardjo |
| Nuevo Becal | <i>D. marsupialis</i> (21) | 4.76 [1]; 0.02 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>D. virginiana</i> (41) | 0 | 0 | 0 | 0 | 4.87 [2]; 0.01 | 0 |
| | <i>P. opossum</i> (19) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>U. cinereoargenteus</i> (3) | 33.33 [1]; 0.31 | 0 | 33.33 [1]; 0.31 | 33.33 [1]; 0.31 | 33.33 [1]; 0.31 | 0 |
| | <i>P. yagouaroundi</i> (1) | 100 [1] | 100 [1] | 0 | 0 | 100 [1] | 0 |
| | <i>L. pardalis</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>Canis lupus familiaris</i> (11) | 90.9 [10]; 0.05 | 9.09 [1]; 0.05 | 9.09 [1]; 0.05 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>Sus scrofa</i> (5) | 80 [4]; 0.15 | 20 [1]; 0.15 | 20 [1]; 0.15 | 20 [1]; 0.15 | 20 [1]; 0.15 | 40 [2]; 0.19 |
| | <i>Felis silvestris catus</i> (2) | 50 [1]; 0.48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Pachuitz | <i>D. marsupialis</i> (21) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>D. virginiana</i> (27) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. opossum</i> (2) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>U. cinereoargenteus</i> (4) | | 0 | 25 [1]; 0.21 | 0 | 0 | 25 [1]; 0.21 | 0 |
| <i>Canis lupus familiaris</i> (12) | | 33.33 [4]; 0.05 | 0 | 0 | 0 | 16.66 [2]; 0.06 | 0 |
| <i>Sus scrofa</i> (9) | | 55.5 [5]; 0.1 | 0 | 0 | 0 | 11.11 [1]; 0.06 | 0 |
| <i>Felis silvestris catus</i> (1) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Los individuos positivos a *L. interrogans* fueron observados en solares, achauales de 10 años y bajos inundables ($P_{NB}= 5.844$; $P_{PU}= 8.437$; $p>0.05$). Sólo un caso de Nuevo Becal fue observado en selva media subperennifolia. Thangkankul (2000) y Ridzaln et al. (2010) sugieren que la sobrevivencia de *L. interrogans* es posible en suelos húmedos, con un *Ph* medio de 7.6 y con una temperatura media de 34.5°C; así como con una abundante presencia de reservorios.

Por otra parte, Trueba et al. (2004) mencionan que una adecuada concentración de sales y la viscosidad de suelo también son factores determinantes en la sobrevivencia de esta espiroqueta. Los bajos inundables de la Region de Clakmul, de acuerdo con Martínez y Galindo-Leal (2002), son sitios con suelos que retienen un alto grado de humedad, y por la vegetación cerrada, con poca entrada de luz; este microclima y la presencia de mamíferos reservorios como los capturados en este estudio además de los roedores, puede ser adecuado para la supervivencia de esta espiroqueta, a diferencia de los otros hábitats. En este sentido, es conveniente que se realicen estudios fisicoquímicos de estos suelos y los índices de sobrevivencia de *L. interrogans*.

Por otro lado, los solares y los achauales de 10 años, son los sitios de mayor interacción directa e indirecta entre animales domésticos y silvestres, lo que sugiere que estos dos sitios, pueden ofrecer un ambiente favorable para la sobrevivencia de la espiroqueta y su transmisión (Figura 14).

En lo que respecta a las variables de estructura y diversidad del bosque, no se encontraron diferencias significativas en las prevalencias con relación a estas variables.

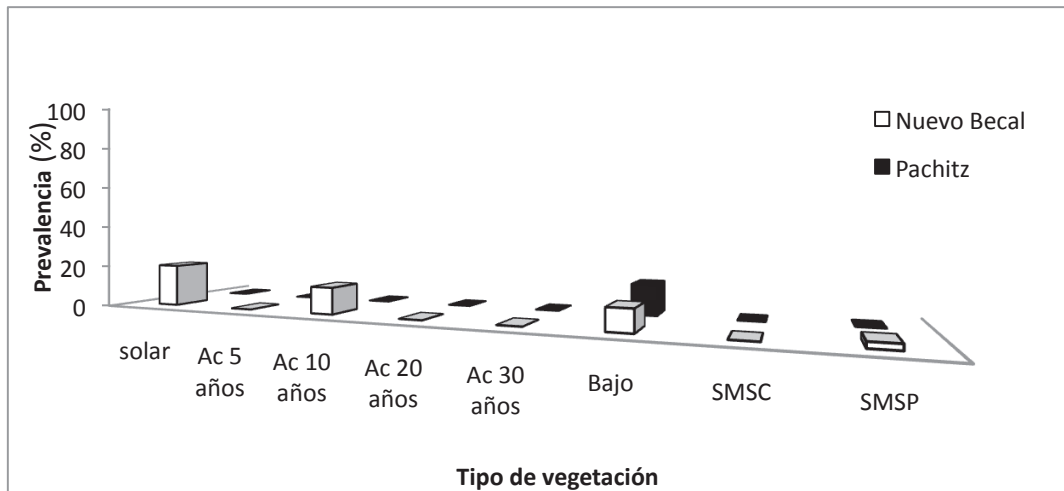


Figura 14. Seroprevalencias de *L. interrogans* de acuerdo con el tipo de vegetación en Pachitz y Nuevo Becal, Calakmul, Campeche.

El yaguarundí es una especie con un rango de ámbito hogareño muy grande de hasta 100 km² y una dieta que incluye a roedores y marsupiales (Konecny, 1989). Además, es una especie reportada por los pobladores de ambas comunidades como depredador frecuente en los huertos familiares, lo que facilita el contacto con animales infectados u objetos contaminados. Estos factores, pueden justificar la infección de serovariedades como *Icterohaemorrhagiae* y *Canicola* con un elevado título de anticuerpos en el individuo capturado en Nuevo Becal, a través del contacto con orina contaminada o del contacto directo con perros de las comunidades (Acha, 1986; Cleaveland et al., 2000). Este caso puede sugerir la existencia de un riesgo alto hacia el yaguarundi y otros depredadores en la zona; sin embargo, por tratarse de un único individuo capturado y de que el ocelote capturado en esta zona, fue negativo, consideramos que es preciso y a la vez urgente, realizar más estudios con énfasis en este grupo de carnívoros (pequeños y medianos felinos) para corroborar esta hipótesis.

El comportamiento arborícola y los hábitos alimenticios de *P. opossum* (Castro-Arellano y Medellín, 2005), pueden justificar el hecho de que esta especie no haya presentado serología positiva. Por otro lado, aunque la frecuencia de ingreso a los huertos familiares es muy similar a la de las zorras grises, los didélfidos no siempre logran escapar de estos sitios, pues son presa fácil de perros y humanos en defensa del huerto y sus animales (gallinas en particular), por lo que resulta difícil que puedan ser contagiados, presentar la enfermedad y, más aún, transmitirla.

En 1981, Amundson y Yuill, encontraron prevalencias de 47% en zorras grises y 39% en zorras rojas (*Vulpes fulva*) en Wisconsin, donde además, el serovar dominante es Gripotiphosa, mientras que Pomona, Canicola e Icterohaemorrhagiae sólo se encontraron en un individuo de zorra gris (3%). En este caso, Amundson y Yuill (1981) sugieren que la infección puede estar asociada a un comportamiento territorial por las interacciones entre individuos jóvenes que están buscando lugares para establecerse. Las zorras que resultaron positivas en este estudio fueron adultos de ambos sexos. De acuerdo con lo que sugieren Amundson y Yuill (1981), estas zorras pudieron infectarse en su etapa juvenil y mantener títulos altos de anticuerpos. Por otro lado, el comportamiento reproductivo puede ser el factor de transmisión en los adultos. En ambos casos puede existir una infección crónica o subclínica; sin embargo, los individuos que resultaron positivos no mostraron signos sugestivos de enfermedad y su estado corporal era bueno.

En este estudio, la prevalencia de 33.3% en las zorras grises es la mayor encontrada para los serovares Canicola e Icterohaemorrhagiae. En este caso es muy probable que la interacción con los perros domésticos, a través de posibles peleas dentro de los solares, o el contacto con orina contaminada, sea un elemento clave en la

transmisión del serovar *Icterohaemorrhagiae* hacia las zorras, mientras que canícola, dadas las prevalencias encontradas, posiblemente esté moviéndose más en sentido inverso, siendo las zorras y en menor grado los marsupiales, los hospederos que contribuyan a la dispersión de este serovar.

De acuerdo con Cleaveland et al. (2000), la interacción de los perros y otras especies silvestres a través de peleas, puede ser un elemento clave en la transmisión de diversas enfermedades por secreciones y aerosoles a través de heridas y mucosas, pero también de forma indirecta al marcar su territorio con orina exponiéndola al contacto con otras especies. Las prevalencias que encontramos en los perros de Nuevo Becal, nos permiten sugerir que estos cánidos domésticos pueden estar favoreciendo la transmisión directa e indirecta a las zorras grises principalmente, y en menor grado a didélfidos y otros pequeños y medianos carnívoros. Sin embargo, en futuros estudios sobre la epidemiología de esta enfermedad en la región deben incluirse otras especies reservorios de *L. interrogans*, principalmente roedores, para poder determinar más claramente el sitio en el que los perros se encuentran en esta dinámica de transmisión.

Parvovirus canino

De los patógenos estudiados, Parvovirus canino (PVC) fue el que más prevalencias presentó en ambas comunidades. Solamente el yaguarundi presentó serología negativa. Los didélfidos fueron el grupo con mayor prevalencia, incluso que los domésticos. El resultado observado en el ocelote no es contundente ya que sólo fue capturado un ejemplar y se encontraba en buen estado de salud. En el caso de los perros domésticos, Nuevo Becal presentó mayor prevalencia que Pachuitz, pero sin diferencias significativas ($X^2= 0.244$; $gl= 1$; $n_{NB}= 6$; $n_{PU}= 5$; $p= 6.21$; Cuadro 5).

Cuadro 5.-Seroprevalencias de Parvovirus canino (PVC), *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma phagocytophilum* en marsupiales, pequeños y medianos carnívoros silvestres y perros domésticos en Nuevo Becal y Pachuitz, Calakmul, Campeche. IC = 95%

| Localidad | Especie | Prevalencias % (valores absolutos; n; IC) | | | | |
|-------------|-------------------------------|---|-------------------------|------------------------|-----------------------|---------------------------|
| | | PVC | <i>D. immitis</i> | <i>E. canis</i> | <i>B. burgdorferi</i> | <i>A. phagocytophilum</i> |
| Nuevo Becal | <i>D. marsupialis</i> | 85.71 (6; 7; 0.034) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>D. virginiana</i> | 80 (8;10; 0.027) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>P. opossum</i> | 85.71 (6;7;0.034) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>U. cinereoargenteus</i> | 50 (1;2; 1.169) | 66.67 (2;3;0.106) | 66.67 (2;3) | 0 | 0 |
| | <i>L. pardalis</i> | 100 (1;1) | 100 (1; 1;) | 0 | 0 | 0 |
| | <i>P. yagouaroundi</i> | 0 | 100 (1;1) | 100 (1;1) | 0 | 0 |
| | <i>Canis lupus familiaris</i> | 33.33 (2;6; 0.053) | 20 (2; 10; 0.027) | 70 (7;10; 0.031) | 0 | 0 |
| Pachuitz | <i>D. marsupialis</i> | 100 (3;3) | 100 (3; 3) | 0 | 0 | 0 |
| | <i>D. virginiana</i> | 88.89 (8;9;0.024) | 100 (10;10) | 0 | 0 | 0 |
| | <i>P. opossum</i> | 100 (2;2) | 100 (2;2) | 0 | 0 | 0 |
| | <i>U. cinereoargenteus</i> | 25 (1;4; 0.073) | 25 (1;4;0.073) | 50 (2;4;0.084) | 0 | 0 |
| | <i>Canis lupus familiaris</i> | 20 (1;5;0.054) | 36.36 (4; 11; 0.029) | 27.27 (3;11; 0.027) | 0 | 0 |

En cuanto a la distribución espacial, sólo en el caso de PVC en Nuevo Becal se observó una mayor prevalencia en los ejemplares capturados en selva mediana subperennifolia (50%; $P= 7.098$; $gl= 3$; $p= 0.046$). Es de suponer que este resultado haya sido influenciado por el alto índice de capturas de didélfidos en este tipo de vegetación. No se pudieron observar otras variables que influyeran en la prevalencia de este virus (Figura 15).

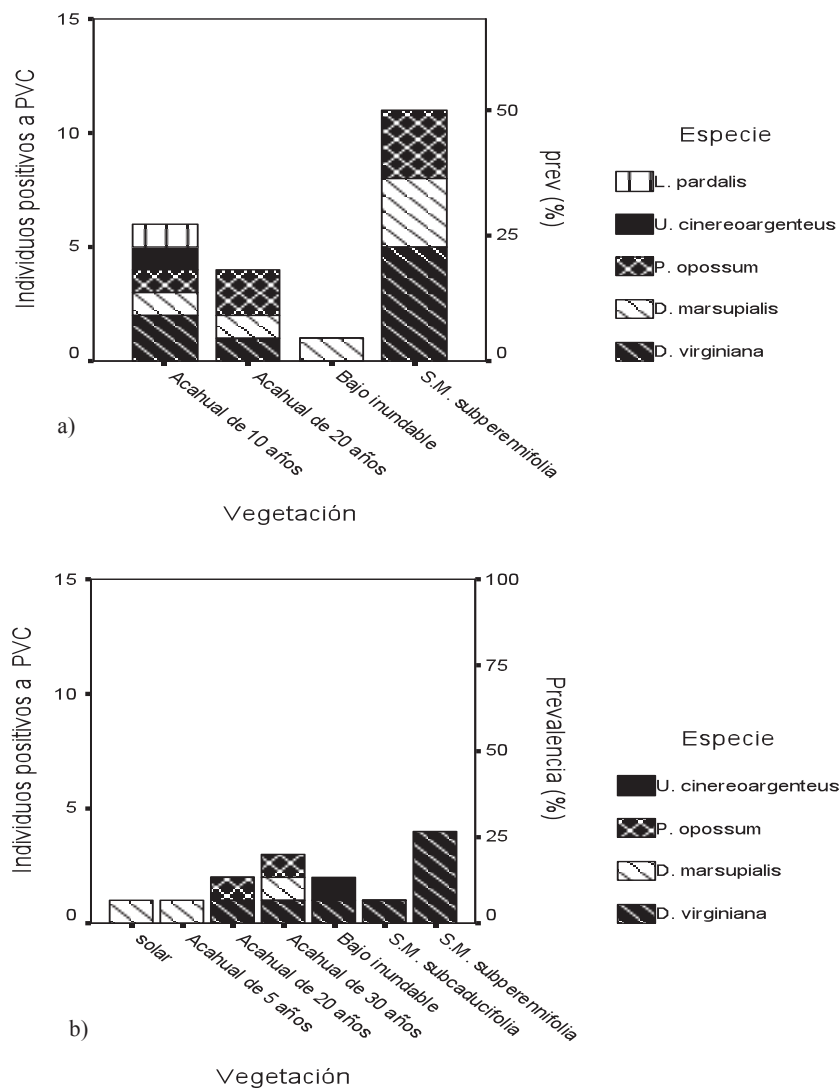


Figura 15.- Número de individuos positivos a Parvo Virus Canino (PVC) en a) Nuevo Becal y b) Pachuitz, de acuerdo con el tipo de vegetación

Muchos autores reportan prevalencias superiores al 60% en diferentes regiones del continente americano en especies potencialmente susceptibles o reservorios de PVC, tales como zorras, lobos, coyotes y mapaches (Gese et al., 1991; Johnson et al., 1994; Suzan y Ceballos, 2005; Fiorello et al., 2007). Por el contrario, Sobrino et al.

(2008), en España, sólo encontraron un 5.1% en zorras *Vulpes vulpes* utilizando el diagnóstico de ELISA.

Un estudio realizado por Gabriel et al. (2010) mostró que para dos especies silvestres entre las que estaba la zorra gris, los kits de diagnóstico rápido tuvieron una baja sensibilidad a PVC (31%) pero una especificidad satisfactoria (96%). Los autores mencionan que estas pruebas pueden detectar la presencia de anticuerpos anti PVC en títulos mayores de 1:400 (Gabriel et al., 2010). Por otro lado, recientemente Kapoor et al. (2010) describieron la presencia de Parvovirus endógenos en muchas especies de mamíferos domésticos y silvestres, entre los que destacan los marsupiales y sugieren que estos virus han evolucionado con los mamíferos desde hace más de 20 millones de años, y que ahora pudiera estar ofreciendo a estas especies una posible protección contra virus exógenos (Kapoor et al., 2010). Los resultados encontrados pueden entonces ser el resultado de reacciones cruzadas con anticuerpos a parvovirus endógenos no-patogénicos y no necesariamente indicativos de PVC.

En este estudio, la alta prevalencia de Parvovirus y la baja sensibilidad de las pruebas mencionada por Gabriel et al. (2010), sugieren dos cosas: primero, la posible existencia de virus endógenos en la zona de estudio y no necesariamente de parvovirus canino; y segundo, al menos en el caso de las zorras, los títulos detectados pueden haber sido mayores a 1:400. Aunque hay serología positiva en perros, no podemos asegurar que estos son potenciales transmisores hacia la fauna silvestre o viceversa por lo que es preciso que se realicen estudios más específicos sobre la tipificación de este virus para poder determinar una dinámica epidemiológica de PVC en la región de Calakmul.

Dirofilaria immitis.

La mayor prevalencia fue observada en Pachuitz, en los perros domésticos y en los animales silvestres. En este caso, todas las especies fueron positivas; sin embargo, los marsupiales de Nuevo Becal resultaron negativos mientras que en Pachuitz, se observó una prevalencia del 100% en este grupo. En el caso de las zorras no se observaron diferencias significativas entre las dos comunidades ($X^2= 1.215$; $gl= 1$; $p= 0.486$), ni en los perros ($X^2= 1.527$; $gl= 1$; $p= 0.417$) Los tamaños de muestra y la selección aleatoria de las muestras para cada especie, no permitió determinar una relación entre los sitios de captura y la prevalencia de *D. immitis* (Cuadro 5).

Por lo general, las prevalencias reportadas en diversos estudios con cánidos silvestres son bajas (Hubert et al. 1980; Wixson et al. 1991). La mayoría de los diagnósticos se han realizado a través de la detección directa del parásito. Sin embargo, en 1988, un estudio realizado con ELISA como medio de diagnóstico, observó una prevalencia del 6.4% en zorras rojas en Australia (Marks y Bloomfield, 1998). Los autores sugieren que debido a que se han reportado más de 60 especies de mosquitos vectores de este nemátodo (Boreham and Atwell, 1988, citado en Marks y Bloomfield, 1998), el riesgo epidemiológico de esta parasitosis depende de la densidad de los vectores. Otro estudio realizado en Bolivia mostró una prevalencia del 25% en armadillos de nueve bandas (Deem et al. 2009). Los autores sugieren que puede haber reacción cruzada entre las diferentes especies de gusanos del corazón, por lo que los animales positivos mediante serología, deben ser empleadas otras técnicas que permitan identificar con precisión la especie de filaria que se ha detectado.

Las prevalencias de *Dirofilaria* encontradas en este estudio son más altas que las reportadas anteriormente, aunque el tamaño de muestra no es tan alto. La alta

prevalencia en los marsupiales de Pachuitz puede sugerir que este grupo juega un papel importante en la dinámica de la enfermedad, mientras que en Nuevo Becal, la zorra gris puede ser el hospedero principal. Considerando que esta filariasis es una enfermedad dependiente de vectores, es recomendable realizar estudios sobre las especies de mosquitos existentes en ambas comunidades y averiguar si en éstas existe alguna preferencia específica de hospedero. Así mismo, el estudio por medios directos puede contribuir a calibrar los resultados serológicos obtenidos en este trabajo.

Ehrlichia canis

Tanto con las zorras como con los perros domésticos, la prevalencia mayor se observó en Nuevo Becal (66.67% y 70% vs 50% y 27.27% de Pachuitz, respectivamente), pero en ningún caso hubieron diferencias significativas (X^2 ; $p > 0.05$; cuadro 5).

Como resultado de un estudio experimental, Davidson et al. (1999) situaron a las zorras grises y rojas como especies capaces de mantener a *E. chaffensis* y ubica a *Dermacentor variabilis* como un potencial vector para este patógeno. Por otro lado, Castellaw (2011) agregó a los mapaches (*Procyon lotor*) y a los marsupiales a la lista de potenciales reservorios al encontrar prevalencias del 42.1 y 15.8%, respectivamente. Las garrapatas *Ixodes pacificus* y *D. variabilis* han sido reportadas como los vectores más comunes para diversos hemoparásitos, incluidas diversas especies de Ehrlichia (Davidson et al. 1999; Foley et al. 1999; Castellaw et al. 2000; Comer et al. 2000). La alta prevalencia encontrada en las zorras en este estudio las ubica junto con los perros como las especies clave en la dinámica de esta enfermedad. En los marsupiales se observaron grandes cantidades de ninfas de garrapatas no identificadas, mientras que

en los perros, las zorras y los felinos, se encontraron adultos de diferentes especies en relativamente bajas densidades.

Las ninfas de algunos géneros de garrapatas suelen ser más abundantes en mamíferos pequeños mientras que los adultos prefieren a especies mayores (Foley et al., 1999; Comer et al., 2000). Aunque en este estudio no se encontraron marsupiales con serología positiva a *E. canis*, es posible que este grupo juegue un papel importante en la dispersión de las garrapatas y, potencialmente de este agente patógeno. En este sentido es importante fortalecer esta teoría con estudios de identificación y grado de infestación de garrapatas en los mamíferos silvestres y domésticos.

En el caso de los felinos, Filoni et al. (2006) reportaron la primera evidencia de *E. canis* en un *Puma concolor* y un *Leopardus tigrina*. El presente estudio presenta el primer reporte de serología positiva a *E. canis* para *P. yagouaroundi*. Aunque sólo se trata de un ejemplar, el resultado positivo a *E. canis* en el yaguarundi es relevante por ser el primer reporte, pero además porque, al igual que en la leptospirosis, ubica a ésta como una especie a la que se le debe prestar especial atención durante la vigilancia de estas enfermedades.

Riesgo relativo

Se analizaron diferentes variables como factores de riesgo relativo para la transmisión de enfermedades. En lo que respecta a la distancia al trampeo, Nuevo Becal parece mostrar mayor oportunidad de infección en las zonas más cercanas al poblado para *D. immitis* y *L. interrogans*, mientras que Parvovirus canino se comportó de una manera uniforme. En Pachuitz, por el contrario, las oportunidades de contagio fueron más elevadas en las zonas a distancias intermedias. Sin embargo, en ningún

caso se obtuvieron diferencias significativas (χ^2 ; $p > 0.05$) y los valores de riesgo relativo (Rr) son muy bajos con excepción de Parvovirus canino (Cuadro 6).

Cuadro 6.- Probabilidad de ocurrencia de individuos positivos y Riesgo relativo (Rr) con relación a la distancia al poblado para *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Leptospira interrogans* y Parvovirus canino en Nuevo Becal y Pachuitz, Calakmul, Campeche.

| Patógeno | localidad | Probabilidad de ocurrencia con base en la distancia al poblado (m) | | | | | Estadísticos | | | |
|-----------------------|-------------|--|-----------|------------|-----------|------------|--------------|----------|----|------|
| | | 0-800 | 1200-2000 | 2400- 3200 | 3600-4400 | 4800- 5600 | Rr | χ^2 | gl | p |
| <i>D. immitis</i> | Nuevo Becal | 2.3 | 0 | 2.3 | 0 | 0 | 0.12 | 12.36 | 8 | 0.13 |
| | Pachuitz | 0 | 0 | 11.1 | 25 | 0 | 0.10 | 6.37 | 8 | 0.60 |
| <i>E. canis</i> | Nuevo Becal | 0 | 7.1 | 7.1 | 0 | 0 | 0.06 | 6.74 | 8 | 0.56 |
| | Pachuitz | 0 | 0 | 11.1 | 0 | 0 | 0.05 | 4.14 | 8 | 0.84 |
| <i>L. interrogans</i> | Nuevo Becal | 18.8 | 0 | 7.1 | 5.9 | 0 | 0.06 | 7.34 | 4 | 0.11 |
| | Pachuitz | 0 | 0 | 0 | 2.5 | 0 | 0.02 | 12.96 | 8 | 0.11 |
| Parvovirus canino | Nuevo Becal | 12.5 | 35.7 | 14.3 | 41.2 | 24 | 0.78 | 14.29 | 12 | 0.28 |
| | Pachuitz | 40 | 20 | 44 | 50 | 28.6 | 0.79 | 5.57 | 12 | 0.93 |

En lo que respecta al tipo de vegetación, solamente en Pachuitz se observó una mayor probabilidad de ocurrencia de infección en zonas de selva mediana subcaducifolia ($\chi^2 = 25.816$; $gl = 12$; $p = 0.011$) para *E. canis* y de bajo inundable para *L. interrogans* ($\chi^2 = 25.575$; $gl = 12$; $p = 0.012$); mientras que en Nuevo Becal no se encontraron diferencias significativas (Cuadro 7).

Cuadro 7.- Probabilidad de ocurrencia de individuos positivos y Riesgo relativo (Rr) con relación al tipo de vegetación para *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Leptospira interrogans* y Parvovirus canino en Nuevo Becal y Pachuitz, Calakmul, Campeche.

| Patógeno | localidad | Probabilidad de ocurrencia con base en el tipo de vegetación | | | | | | | Estadísticos | | | | |
|-----------------------|-------------|--|-----------|------------|------------|------------|------|------|--------------|------|----------|----|------|
| | | solar | Ac 5 años | Ac 10 años | Ac 20 años | Ac 30 años | Bajo | SMSC | SMSP | Rr | χ^2 | gl | p |
| <i>D. immitis</i> | Nuevo Becal | 20 | NA | 12.5 | 0 | NA | 10 | 0 | 0 | 0.12 | 13.64 | 10 | 0.19 |
| | Pachuitz | 0 | 0 | NA | 0 | 0 | 14.3 | 50 | 0 | 0.10 | 17.17 | 12 | 0.14 |
| <i>E. canis</i> | Nuevo Becal | 0 | NA | 12.5 | 0 | NA | 0 | 0 | 0 | 0.06 | 12.95 | 10 | 0.22 |
| | Pachuitz | 0 | 0 | NA | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0.05 | 25.81 | 12 | 0.01 |
| <i>L. interrogans</i> | Nuevo Becal | 20 | NA | 12.5 | 0 | NA | 10 | 0 | 2.5 | 0.06 | 5.19 | 5 | 0.39 |
| | Pachuitz | 0 | 0 | NA | 0 | 0 | 14.3 | 0 | 0 | 0.02 | 25.57 | 12 | 0.01 |
| Parvovirus canino | Nuevo Becal | 0 | NA | 37.5 | 36.4 | NA | 10 | 0 | 27.5 | 0.78 | 21 | 15 | 0.13 |
| | Pachuitz | 4.8 | 2.4 | NA | 4.8 | 7.1 | 4.8 | 2.4 | 9.5 | 0.79 | 16.67 | 18 | 0.58 |

Las condiciones microclimáticas de los bajos inundables pueden ser el elemento clave que influya en la sobrevivencia de *L. interrogans* y de su transmisión, como fue expuesto anteriormente; No obstante, es preciso realizar estudios fisico-Químicos del suelo y de índices de sobrevivencia de *L. interrogans* para reforzar esta teoría. En el caso de *E. canis*, el resultado puede no ser relevante dado el pequeño tamaño de muestra (n= 2).

Una comparación entre las probabilidades de ocurrencia de una infección en las dos comunidades no mostró diferencias significativas. Sin embargo, se observa un riesgo relativo ligeramente mayor en Nuevo Becal para la transmisión de *E. canis* (Rr= 1.07) y *Dirofilaria immitis* (Rr= 1.08). En el caso de *L. interrogans*, se observó un riesgo relativo de infección de 1.24 en Nuevo Becal en relación con Pachuitz, mientras que para Parvovirus canino, el riesgo relativo es casi igual en ambas comunidades (Cuadro 8).

Las entrevistas realizadas mostraron como dato relevante una mortandad del 57% en perros de Nuevo Becal, comparada con el 0.001% de Pach Uitz, de acuerdo con lo que los propietarios comentaron. Aunque estos datos no fueron comprobables físicamente durante el año, corresponden a la percepción de los pobladores y por tanto no pueden ser medibles, resulta relevante que haya más memoria de mortalidad de mascotas en Nuevo Becal que en Pachuitz. Este dato sugiere que puede haber una mayor mortandad en Nuevo Becal que en Pachuitz y que debe ser una variable a considerar en próximos estudios. La elevada prevalencia de leptospirosis en perros observada en NB (100%) y el alto valor de riesgo relativo de infección calculado refuerzan esta observación.

Las condiciones sanitarias observadas durante el trabajo de campo (ilustradas en el cuadro 1), pueden explicar, en cierta forma, las altas prevalencias encontradas en Nuevo Becal y la razón por la que en esta comunidad existe mayor riesgo de infección (Tolhurst et al. 2011). En este sentido, es preciso reforzar la vigilancia sanitaria en las comunidades con estudios serológicos de rutina y el monitoreo de incidencia de la enfermedad para poder confirmar esta hipótesis y poder generar estrategias eficientes de control y prevención de la enfermedad.

Cuadro 8.- Probabilidad de ocurrencia de individuos positivos de acuerdo con la localidad y Riesgo relativo (Rr) de transmisión de *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Leptospira interrogans* y Parvovirus canino en Nuevo Becal y Pachuitz, Calakmul, Campeche.

| patógeno | Probabilidad de ocurrencia por Localidad | | | Estadístico | | |
|-----------------------|--|----------|------|-------------|----|------|
| | Nuevo Becal | Pachuitz | Rr | χ^2 | gl | p |
| <i>D. immitis</i> | 7.5 | 3.8 | 1.08 | 0.56 | 1 | 0.81 |
| <i>E. canis</i> | 3.8 | 1.8 | 1.07 | 0.02 | 1 | 0.87 |
| <i>L. interrogans</i> | 3.9 | 0.8 | 1.24 | 0.70 | 1 | 0.40 |
| Parvovirus canino | 46.8 | 31.9 | 0.99 | 0.001 | 1 | 0.97 |

El grado y frecuencia de interacción interespecífica son esenciales en la dinámica de las enfermedades, y los animales domésticos juegan un papel importante en las comunidades rurales dentro de esta interacción (Aguirre, 2002; Dobson, 2004; Suzán y Ceballos, 2005; Cleaveland et al. 2007). Por otro lado, es importante considerar las abundancias y hábitos de las especies involucradas para una más certera consideración del riesgo, además de las características propias del patógeno y los vectores que lo transmiten, en el caso de ocurrir (Keesing, 2010).

Debido a sus hábitos, en este trabajo las zorras se presentaron como la especie silvestre clave en la dinámica de todas las enfermedades aquí estudiadas y pueden ser consideradas como especies indicadoras en la epidemiología de las mismas (Aguirre,

2009). Por el contrario, los felinos (principalmente *P. yagouaroundi*) son las especies potencialmente amenazadas, en particular por la Leptospirosis y Ehrlichiosis. Debido a la baja seroprevalencia contra las enfermedades estudiadas en este trabajo, los marsupiales de la región no parecen jugar un papel importante en la transmisión y dispersión de estas enfermedades, con excepción de *D. immitis*, donde al parecer sí pueden jugar un papel importante. Sin embargo, las altas densidades de ninfas de garrapatas encontradas en ellos, sugiere que pueden ser dispersores indirectos de *E. canis* y quizás de *Anaplasma phagocytophilum* y *Borrelia burgdorferi* (aunque éstas dos enfermedades no se detectaron en este estudio), por lo que es preciso que en futuras investigaciones se incluya la diversidad y abundancia de vectores, así como las preferencias de hospederos.

De acuerdo con Burdon y Thral (2008), los sistemas productivos pueden influir en la dinámica de hospederos y de ciertas enfermedades, por lo que es importante la realización de estudios epidemiológicos a nivel de paisaje agroecológico (Burdon y Thral, 2008). Una de las limitantes de este estudio fue la probable subestimación del radio de influencia de los poblados, por lo que no se pudo encontrar una relación lineal entre las variables ecológicas y la prevalencia de estas enfermedades. Es recomendable que, para tener un conocimiento más preciso sobre éstas, se realicen trabajos a mayor escala espacio - temporal.

Por otro lado, el factor cultural y las condiciones sanitarias de las comunidades parecen ser elementos clave en la presencia, ausencia y dinámica de estas enfermedades, por lo que considero importante que estas variables puedan ser analizadas más a detalle en futuros estudios como factores de riesgo en la dinámica de enfermedades hacia la fauna silvestre en la región.

CONCLUSIONES

Las prevalencias y los valores de riesgo relativo encontrados en Nuevo Becal sugieren que esta comunidad es un sitio clave para la transmisión de la leptospirosis y Ehrlichiosis. Por otro lado, en el caso de PVC, es preciso realizar más estudios complementarios que permitan precisar la cepa o cepas virales circulantes y/o la presencia de parvovirus endógenos no-patogénicos, por lo que en este momento no podemos aceptar o negar su relevancia epidemiológica en la zona de estudio. En lo que respecta a *D. immitis*, Pachuitz aparentemente presenta las condiciones adecuadas para la presencia de este nemátodo. En este sentido es preciso que se desarrollen estudios complementarios sobre la diversidad y ecología de vectores potencialmente transmisores.

El caso de *L. interrogans* es un tema importante en este trabajo debido a la alta prevalencia en perros domésticos y en las zorras de Nuevo Becal. En este sentido es preciso realizar estudios complementarios que involucren a otros posibles reservorios, así como a las condiciones sanitarias y aspectos socio- culturales del sitio como posibles elementos que favorezcan la supervivencia de la espiroqueta en la comunidad. Un monitoreo en humanos es imprescindible en la zona para poder determinar la relevancia de esta enfermedad en la salud pública de la región.

Asimismo, un estudio a una escala espacio-temporal más grande puede ofrecer información precisa sobre la calidad de los bosques como elementos importantes en la dinámica de enfermedades, así como permitir delimitar más adecuadamente el radio de impacto que tienen las zonas rurales sobre las áreas naturales.

Este es el primer estudio en México que encuentra una prevalencia del 100% de *L. interrogans* en perros domésticos, colocándolos como posibles transmisores del

serovar Icterohaemorrhagiae hacia las comunidades silvestres y otras especies domésticas de la zona, incluyendo al ser humano. También es el primer estudio que reporta a *P. yagouaroundi* con presencia de *L. interrogans* serovares Canicola e Icterohaemorrhagiae, sugestivos a una enfermedad renal crónica; así como de *E. canis* para la misma especie en México. Podemos sugerir que este grupo de pequeños felinos es uno de los grupos taxonómicos vulnerables en la dinámica de transmisión de leptospirosis y ehrlichiosis; Sin embargo, debido a que solamente se capturó un individuo de esta especie durante el periodo de muestreo, es importante realizar muestreos enfocados a este grupo, para poder definir con claridad el estado de salud de sus poblaciones.

Los resultados muestran a las zorras grises y a los perros domésticos como hospederos importantes y potenciales especies centinelas de, *L. interrogans*, *E. canis* y *D. immitis* en la región.

El parentesco de las zorras grises con los perros domésticos y su hábito de incursionar en los huertos familiares para depredar aves domésticas las ubica como una especie importante en la dinámica de la leptospirosis. Aunque los didélfidos muestran el mismo hábito de ingresar a los huertos familiares, estos son menos propensos a sobrevivir a ataques de perros y humanos, mientras que las zorras muestran mejores habilidades para escapar y probablemente desarrollar la enfermedad y dispersarla hacia las áreas silvestres.

El comportamiento territorial que presentan los cánidos deberá ser considerado en futuros estudios sobre la dinámica de infección de estas y otras enfermedades. Así mismo, es preciso que se realicen estudios complementarios sobre los vectores

involucrados en la dinámica de *E. canis*, *D immitis* y otras enfermedades zoonóticas y antropozoonóticas transmitidas por artrópodos.

Con base en los resultados obtenidos es importante que se implementen trabajos interinstitucionales y multidisciplinarios dirigidos al establecimiento de un sistema de vigilancia epidemiológica y epizootiológica en la región y de una estrategia eficiente de medicina preventiva con impacto en la salud pública, salud de animales domésticos y de la fauna silvestre.

LITERATURA CITADA

- Aguirre, A.A. 2009. Wild canids as sentinels of ecological health: a conservation medicine perspective. *Parasites & Vectors* 2009, 2(Suppl 1):S7. 8 pp
- Aguirre, A.A; Ostfeld, R.S; Tabor, G; House, C; Pearl, M.C; Eds. 2002. Conservation medicine: Ecological Health in practice. Oxford University Press. New York. Pp 403.
- Amin, O.M. 2004. Patrones de alimentación y disponibilidad de presas del Jaguar (*Panthera onca*) y del Puma (*Puma concolor*) en la Reserva de la Biosfera Calakmul, Campeche, México. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. 63 pp.
- Barker, I.K; Povey, R.C; Voigt, D.R. 1983. Response of Mink, Skunk, Red foxes and Raccoon to Inoculation with Mink Virus Enteritis, Feline Panleukopenia and Canine Parvovirus and prevalence of antibody to parvovirus in wild carnivores in Ontario. *Can. J. Comp. Med.* 47:188-197.
- Benjamin, Maxine M. 1984: Manual de Patología Clínica en Veterinaria, 1º edición, Editorial Noriega - Limusa, México
- Blenden, D. C. 1976 Aspectos epidemiológicos de la leptospirosis. P. Científica No. 316 OPS.
- Blood, D. C.; Herderson, J. A.; Radostits, O. M. 1982. Medicina veterinaria. Editorial Interamericana, 5ta. Edición.
- Bolin, C.A. 1994. Diagnosis of leptospirosis in swine. *Swine Health and Production*. Vol 2, No. 3. pp 23-24.
- Boulanger, P; Mitchell, D; Corner, A; Bourassa, M. 1959. Observations on Leptospirosis in Swine. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. Vol XXIII, No 11. pp 8-13

- Burdon, J.J. And Thrall, P.H. 2008. Pathogen evolution across the agro-ecological interface: implications for disease management. *Evolutionary applications*. Journal compilation. 1 (2008) 57–65
- Calama, Roger R. 1994: Procedimientos para el Manejo y Procesamiento de Especímenes de Sangre; Criterios para la preparación de una muestra óptima de suero y plasma y para los dispositivos para procesar especímenes de sangre.- *Bioquímica*, Vol. XIX, No 74. p 27.
- Carpenter, James W. 1996: *Exotic Animal formulary*. Greystone publications. Kansas, U.S.A
- Carpenter, T.E; and Ward, M.P.2003. Methods for determining spatial clusters in surveillance and survey programs. En Salman, M.D. (Ed.). *Animal disease surveillance and survey systems. Methods and applications*. Pp 87-99.
- Castellaw, A. H; Chenney, E.F. And Varela-Stokes, A.S. 2009. Tick-Borne Disease Agents in Various Wildlife from Mississippi. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. April 2011, 11(4): 439-442.
- Castro- Arellano, I. y Medellín, R.A. 2005. Tlacuache Cuatro ojos. En Ceballos, G. y Oliva, G. (Coord.). *Los mamíferos silvestres de México*. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad y Fondo de Cultura Económica. México. Pp 111-112.
- Cleaveland, S; Mlengeya, T; Kaare, M; Haydon, D; Lembo, T; Laurenson, M.K; Packer, C. 2007. The conservation relevance of epidemiological research into carnivore viral diseases in Serengeti. *Conservation biology*. Vol. 21, No. 3, 612-622.

- Comer, J.A; Nicholson, W.L; Paddock, C.D; Sumner, J.W. And Childs, J.E. 2000. Detection of antibodies reactive with *Ehrlichia chaffeensis* in the raccoon. Journal of Wildlife Diseases, 36(4), 2000, pp. 705–712
- CONAPO. 2000. Campeche, indicadores socioeconómicos por municipio, estimaciones con base en el XII Censo general de población y vivienda, 2000.
- Craft, M.E; Volz, E; Packer, C; Meyers, L.A. 2008. Distinguishing epidemic waves from disease spillover in a wildlife population. Proceedings of the Royal Society B. published on line doi:10.1098/rspb.2008.1636
- Daniel W.W; 2002. Bioestadística, Base para el análisis de las ciencias de la salud. Limusa Wiley, México
- Daszak, P; Cunningham, A.A; Hyatt, A.D. 2000. Emerging Infectious Diseases of Wildlife-Threats to Biodiversity and Human Health. Science's Compass. Science. Vol 287: 21; pp.443- 449.
- Davidson, W.R; Lockhart, J.M; Stallknecht, D.E. And Elizabeth W. Howerth, E.W. 1999. Susceptibility of red and gray foxes to infection by *Ehrlichia chaffeensis*. Journal of Wildlife Diseases, 35(4), 1999, pp. 696–702
- Deem, S.L; Noss, A.J; Fiorello, C.V; Manharth, A.L; Robbins, R.G; Karesh, W.B. 2009. Health assessment of free-ranging three-banded (*Tolypeutes matacus*) and nine-banded (*Dasybus novemcinctus*) armadillos in the Gran Chaco, Bolivia. Journal of Zoo and Wildlife Medicine 40(2): 245–256, 2009.
- Diario Oficial de la Federación. 1994. Acuerdo mediante el cual se enlistan las enfermedades y plagas exóticas de notificación obligatoria en los Estados Unidos Mexicanos, para el caso de los perros y gatos. México.

- Dobson, A. 2004. Population dynamics of pathogens with multiple host species. *The American Naturalist* (Supplement). Vol. 6; Nov.2004
- Dybkaer, R.; McQueen, M.J. 1994 *Mejoría continua de la calidad. Guía para los laboratorios clínicos de América Latina*. Edit Médica Panamericana y Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica.
- Edwards, M, A; McDonnell, U. Eds. 1982. *Animal Disease in relation to animal conservation (the proceedings of a symposium held at the Zoological Society of London on 26 and 27 November, 1981)*. Academic Press. Londres. Pp 336.
- Faine, S. 1994. *Leptospira and leptospirosis*. CRC Press, London.
- Ferguson, D.V; Heidt, G.A. 1981. Survey for rabies, leptospirosis, toxoplasmosis and tularemia in striped skunks (*Mephitis mephitis*) from three public use area in northwestern Arkansas. *Journal of Wildlife Diseases* Vol 17, No. 4. pp 515-519.
- Filoni, C; Cataño-Dias, J.L; Bay, G; Durigon, E.L; Silva Pinto, R.J; Hans Lutz, H. And Hofmann-Lehmann, R. 2006. First Evidence of Feline Herpesvirus, Calicivirus, Parvovirus, and Ehrlichia Exposure in Brazilian Free-ranging Felids. *Journal of Wildlife Diseases*, 42(2), 2006, pp. 470–477
- Fiorello, C.V; Noss, A.J; Deem, S, L; Maffei, L. And Dubovi. E.J. 2007. Serosurvey of Small Carnivores in the Bolivian Chaco. *Journal of Wildlife Diseases*, 43(3), 2007, pp. 551–557
- Foley, J.E; Foley, P; Jecker, M; Swift, P.K. And Madigan, J.E. 1999. Granulocytic ehrlichiosis and tick infestation in mountain lions in California. *Journal of Wildlife Diseases*, 35(4), 1999, pp. 703–709

- Foley, J.E; Foley, P; Brown, R.N; Lane, R.S; Dumler, J. S. and Madigan, J.E. 2004
Ecology of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in the western
United States *Journal of Vector Ecology* June, 2004. Pp 41-50
- Fudge, Alan M. 2000, Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets. W.B. Saunders
Company, Philadelphia, U.S.A.
- Gabriel, M.W; Wengert, G. M; Matthews, S.M; Higley, J.M; Foley, J.E; Blades, A;
Sullivan, M and Brown, R.N. 2010. Effectiveness of Rapid Diagnostic Tests to
Assess Pathogens of Fishers (*Martes pennanti*) and Gray Foxes (*Urocyon
cinereoargenteus*). *Journal of Wildlife Diseases*, 46(3), 2010, pp. 966–970
- Galindo- Leal, C. 1999. La Gran Región de Calakmul, Campeche: Prioridades biológicas
de conservación y propuesta de modificación de la Reserva de la Biosfera.
Reporte a World wildlife Found- México, México DF. 37pp.
- Gese, E.M; Schultz, R.D; Rongstad, O.J; Andersen, D.E. 1991. Prevalence of antibodies
against Canine Parvovirus and Canine Distemper virus in Wild Coyotes in
Southeastern Colorado. *Journal of Wildlife Diseases*. 27 (2), pp. 320-323
- Gispert, C.M; Gómez, A; Nuñez, P.A. 1993. Concepto y manejo tradicional de los
huertos familiares en dos bosques tropicales mexicanos. En Leff, E. y Carabias,
J. (Coordinadores) *Cultura y manejo de los recursos naturales*, México. Editorial
Porrua y PNUD, Vol II. pp. 576-623.
- González- Jácome, A. 2007. Agroecosistemas mexicanos: Pasado y presente.
Itinerarios, revista de la Universidad de Varsovia, Polonia. Vol. Otoño.
- Graczyk, T.K, 2002. Zoonotic infections and conservation, en Aguirre, A.A; Ostfeld, R.S;
Tabor, G; House, C; Pearl, M.C; Eds. 2002. *Conservation medicine: Ecological
Health in practice*. Oxford University Press. New York. Pp 221- 227

- Guerrero – Sánchez, Sergio, 2002.- Contribución al estudio de los valores hemáticos y bioquímicos de mustélidos del *Zoológico Regional Miguel Álvarez del Toro*, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Veracruz, Ver.
- Guerrero- Sánchez, S; Cabrera- Bas, Elsy; Luna- Álvarez, M; Socci- Escatel, G; Banda- Ruíz, V; Leptospirosis in felids of the Miguel Alvarez del Toro Regional Zoo in Chiapas, Mexico. Memorias del 55° Congreso anual de la Asociación de enfermedades de vida silvestre (WDA) en la Universidad de Connecticut, Storrs, Connecticut, E.U. Agosto de 2006.
- Hubert, GF; Kick, T.J. And Andrews, RD. 1980. *Dirofilaria immitis* in red foxes in Illinois. *Journal of Wildlife Diseases*, 16 (2),1980. pp 229- 232.
- INE. 2000. Programa de manejo de la Reserva de la Biosfera Calakmul. Instituto Nacional de Ecología, Secretaría de Medio Ambiente, Recursos naturales y Pesca. México
- Jimenez-Coello, M; Ortega-Pacheco, A; Guzman-Marin, E; Guiris-Andrade, D.M; Martinez-Figueroa, L. and Acosta-Viana, K. Y 2010. Stray Dogs as Reservoirs of the Zoonotic Agents *Leptospira interrogans*, *Trypanosoma cruzi*, and *Aspergillus* spp. in an Urban Area of Chiapas in Southern Mexico. *Vector-borne and zoonotic diseases*. Volume 10, Number 2. Pp 135- 141
- Johnson, M.R; Boyd, D.K; Pletscher, D.H. 1994. Serologic investigations of Canine Parvovirus and Canine Distemper in relation to Wolf (*Canis lupus*) pup mortalities. *Journal of Wildlife Diseases*, 30 (2), 1994. pp 270-273

- Jones, K.E; Patel,N.G; Levy, M.A; Storeygard,A; Balk, D; Gittleman, J.L; Daszak, P. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. Vol 451: 21. pp. 990- 994 doi: 10.1038/nature06536
- Kapoor, A; Simmonds, P and Lipkin, I. W. 2010. Discovery and Characterization of Mammalian Endogenous Parvoviruses. *Journal of Virology*, December 2010, p. 12628-12635, Vol. 84, No. 24
- Keesing, F; Belden, L.K; Daszak, P; Dobson, A; Harvell, C.D; Holt, R.D; Hudson, P; Jolles, A; Jones, K.E; Mitchell, C.M; Myers, S.S; Bogich, T. & Ostfeld, R.S. 2010. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature*, Vol 468, Dec. 2010, pp 647- 652
- Koneman, E.W; Allen, S.D; Janda, W. M; Shreckenberger, P.C. And Winn, W.C. 1999. *Diagnóstico Microbiológico; Texto y atlas a color*. 5a ed. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 1432 pp.
- Krebs, C.J. 1999. *Ecological Methodology*. 2nd edition, Benjamin Cummins, CA USA. 620p.
- Kreeger, Terry J. 1997: *Handbook of Wildlife Chemical Immobilization*. International Wildlife Veterinary Service Inc. 2^o Edicion. U.S.A
- Kumar, B.M. 2006. Carbon sequestration potential of tropical homegardens. En Kumar, M.B. y Nair, P.K.R. (Eds.), *Tropical homegardens: A time- tested example of sustainability agroforestry*. Springer, The Netherlands. 185- 204 pp.
- Kuttler, K.L. 1984. Anaplasma infections in wild and domestic ruminants: A review. *Journal of Wildlife Diseases*, 20(1), 1984, pp 12-20

- Lafferty, K.D; Gerber L.R. 2002. Good medicine for conservation biology: The intersection of epidemiology and conservation theory. *Conservation Biology*, 16: 593- 604.
- Liceras de Hidalgo, J; Sulzer, K.R. 1984. Six new leptospiral serovars isolated from wild animals in Peru. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 19. No. 6, pp 944-945.
- Luna- Álvarez, M; Moles- Cervantes, L.P; Torres- Barranca, J.I; Gual- Sill, F. 1996. Investigación serológica de leptospirosis en fauna silvestre mantenida en cautiverio en el zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México. *Revista Veterinaria México*. Universidad Nacional Autónoma de México, 27 (3) pp 229-234.
- Mariaca Méndez, R; Jácome González, A; Lerner Martínez, T. 2007. en I. López-Olguín, J.F; Aragón A, G; Tapia R, A.M. (Eds.). *Avances en agroecología y ambiente* Vol. I Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. Pp119-183.
- Marks, C.A. And Bloomfield, T.E. 1998. Canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) detected in red foxes (*Vulpes vulpes*) in urban Melbourne. *Veterinary Parasitology* 78 (1998) 147-154
- Martin, H.D; Zeidner, N.S. 1992. Concomitant Cryptosporidia, Coronavirus and Parvovirus in a Raccoon (*Procyon lotor*). *Journal of Wildlife Diseases*, 28 (1), 1992, pp. 113- 115.
- Mech, L.D; Goyal, S.M. 1993. Canine Parvovirus effect on wolf population change and pup survival. *Journal of Wildlife disease*. 29:330- 333

- Medellín, R. A. y Equihua M. 1998. Mammal species richness and habitat use in rainforest and abandoned agricultural fields in Chiapas, Mexico. *Journal of Applied Ecology*. 1998, 35, pp.13-23
- Milner, A.R; Wilks, C.R; Spratt, D.M; Presidente, P.J.A. 1981. *Journal of Wildlife Diseases*. Vol 17, No 2.pp 197- 202.
- Montagnini, F; Nair, P.K.R. 2004. Carbon sequestration: An underexploited environmental benefit of agroforestry systems. *Agroforestry systems*. 61: 281-295.
- Moreno- Black, G; Somnasang, P; Thamathawan S. 1996. Cultivating continuity and creating change: women's home garden practices in northern Thailand. *Agriculture and human values*. 13-3: 3-11
- Munson, L. Terio, K. A; Kock, R; Mlengeya, T; Roelke, M. E; Dobovi, E; Summers, B; Sinclair, A.R.E; Packer, C. 2008. Climate extremes promote fatal co- infections during Distemper epidemics in African lions. *PLoS ONE* 3 (6): e2545. doi: 10.1371/journal.pone.0002545
- Noble, I.R; Drizo, R. 1997. Forests as human- dominated ecosystems. *Science*, 227:522-525.
- Pfeiffer, D. U. 2002. Veterinary Epidemiology –An introduction. Course proceedings. The Royal Veterinary College. University of London. UK. 63pp.
- Ridzlan, F.R., Bahaman, A.R., Khairani-Bejo, S. and Mutalib, A.R. Detection of pathogenic *Leptospira* from selected environment in Kelantan and Terengganu, *Malaysia Tropical Biomedicine* 27(3): 632–638 (2010)

- Schneider, J. 2004. Toward an analysis of home- garden cultures. In Eyzaguirre, P.B and Linares, O.F. (Eds.). Home garden and agrobiodiversity. Smithsonian Institution, Washington DC. 41-55 pp.
- SECRETARIA DE SALUD. 2000. Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-029-SSA2-1999, para la vigilancia epidemiológica prevención y control de la leptospirosis. Diario Oficial de la federación., 30 de junio de 2000.
- Sillero- Zubiri, C; King, A.A; Macdonald D;W. 1996. Rabies and mortality in ethiopian wolves (*Canis simensis*). J. Wildlife diseases. 32:80-86.
- Sobrinho R; Arnal, M.C; Luco, D.F. And Gortázar, C. Prevalence of antibodies against canine distemper virus and canine parvovirus among foxes and wolves from Spain. Veterinary Microbiology. Volume 126, Issues 1-3, 1 January 2008, Pp 251-256
- Steinel, A; Parrish, C. R; Bloom, M.E; Truyen, U. 2001. Parvovirus infections in wild carnivores. Journal of Wildlife diseases, 37 (3), 2001, pp. 594-607.
- Suzán, G; Ceballos, G. 2005. The role of feral mammals on wildlife infectious disease prevalence in two nature reserves within Mexico City limits. Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 36 (3): p.479-484.
- Tangkanakul, W. 2000. Risk factors associated with leptospirosis in northeastern Thailand, 1998. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 63(3): 204–208.
- Thomson, H. V. 1961. Ecology of diseases in Wild mammals and birds, *Vet. Rec.* 73: 1334 -1337.

- Tolhurst, B.A; Ward, A.I & Delahay, R.J. 2011. A study of fox (*Vulpes vulpes*) visits to farm buildings in Southwest England and the implications for disease management. Eur. J. Wildl. Res. Published on line 2011. DOI 10.1007/s10344-011-0523-0.
- Trueba, G., Zapata, S., Madrid, K., Cullen, P. & Haake, D. 2004. Cell Aggregation: A mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. International Microbiology 7: 35–40.
- Valenzuela, D; Ceballos, G; García, A. 2000. Mange epizootic in White-nosed coatis in western Mexico. Journal of Wildlife Diseases. 36 (1). p 56- 63.
- Wagner, B; Gardner, I; Cameron, A; Doherr, M.G. 2002. Statistical analysis of data from surveys, monitoring, and surveillance systems. En Salman, M.D. (Ed.). Animal disease surveillance and survey systems. Methods and applications. Pp 67-86.
- Weber, M. 2005. Ecology and conservation of sympatric tropical deer populations in the Greater Calakmul Region, south-eastern Mexico. PhD thesis. School of Biological and Biomedical Sciences, University of Durham, UK. 241 pp.
- Williams, E. S; Yuill, T; Artois, M. Fischer, J. y Haigh, S.A. 2002. Emerging infectious diseases in wildlife. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 21(1), 139-157
- Wixson, MJ, Green, SP, Corwin, RM, and Fritzel, EK. 1991. *Dirofilaria immitis* in coyotes and foxes in Missouri. Journal of Wildlife Diseases 27 (1), 1991, pp166-169
- Wobeser, Gary A. 2007. Disease in Wild animals, Investigation y management. 2nd edition. Springer. Canada.
- Zamora J; Riedemann, S. 1999. Wild animals as reservoirs of leptospirosis in Chile. Revision of studies in the country. Archivos de medicina Veterinaria. Vol. 31. No. 2.

A N E X O

GUÍA DE ENTREVISTA

Número de Entrevista: _____

Entrevistador/a: _____

* Fecha: _____

* Localidad: _____

DATOS DE L@S HABITANTES DEL SOLAR (se obtendrán de datos previos del Proyecto Caracterización Huertos Familiares en Calakmul)

Familia que habita el solar: _____

* Tipo Nuclear () Extensa ()

Número de miembros Hombres: _____ Mujeres: _____

* Adultos: _____ * Niños/as: _____

Nombre de jefes/as de familia: _____

Lugar de origen de jefes/as de familia: _____

* Extracción étnica: _____

Tiempo de residencia en la comunidad: _____

Tiempo de residencia en el solar muestreado: _____

* En caso de provenir de una comunidad distinta, sus animales domésticos:

() Proviene del lugar de origen () Fueron adquiridos en el nuevo lugar de residencia

DATOS SOBRE ANIMALES

1. ¿Cuántos animales domésticos tiene? Aproximadamente (A) / Exactamente (E)

Perros: ___ Gatos: ___ Cerdos: ___ A / E EPollos: ___ A / E EPavos: ___ A / E Patos: ___ A / E

+Otros (cuál y cuántos):

* En caso de ser silvestre: Forma de adquisición: _____

Lugar de origen: _____

En caso de tratarse de una familia extensa, cada familia nuclear:

*() Tiene sus propios animales domésticos () Posee animales en copropiedad con los demás miembros de la familia extensa

* Si cada familia nuclear tiene sus propios animales, éstos:

() Se mantienen aislados del resto () Habitan el mismo espacio y tienen contacto directo con el resto de los animales del solar

* Si cada familia nuclear posee sus propios animales, éstos son intercambiados:

() con los otros miembros de la familia extensa () con dueños de otros solares

() con personas de otras comunidades

En una frecuencia de: _____ veces por mes _____ veces por año

2. Función zootécnica / Uso doméstico

| | Perros | Gatos | Cerdos | Pollos | Pavos | Patos | + |
|---------------------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|---|
| Cacería | | | | | | | |
| Trabajo | | | | | | | |
| Compañía | | | | | | | |
| Venta local | | | | | | | |
| Venta externa | | | | | | | |
| Autoconsumo | | | | | | | |
| Otros (especificar) | | | | | | | |

3. ¿Vacuna a sus animales?

| | NO | SI | Enfermedad |
|--------|----|----|------------|
| Perros | | | |
| Gatos | | | |
| Cerdos | | | |
| Pollos | | | |
| Pavos | | | |
| Patos | | | |
| + | | | |

4. ¿Con qué frecuencia lo acompaña su perro a la milpa/selva/potrero?

Frecuencia: ____ veces a la semana ó ____ veces al mes

5: ¿Con qué frecuencia se encuentra con animales silvestres en esas salidas?

Animales: _____ Frecuencia: ____ veces a la semana ó ____ veces al mes

Contacto con esos animales Lejano () Estrecho ()

Otros datos de interés al respecto: _____

6. ¿Cuántos de los perros del solar acompañan regularmente a cazar? _____

7. ¿Con qué frecuencia?

Época de secas: ____ veces a la semana ó ____ veces al mes

Época de lluvias: ____ veces a la semana ó ____ veces al mes

8. ¿Qué animales caza? _____

9. ¿Han muerto sus perros la cacería? SI () NO ()

Causas: _____

10. ¿Qué ha hecho con el cuerpo? _____

11. ¿Existen animales silvestres que entren al solar para cazar a los animales domésticos?
 SI () NO () ¿Cuáles? _____

13. ¿Con qué frecuencia? _____ veces a la semana _____ veces al mes _____ veces al año

14. ¿Cuáles son los animales domésticos atacados con mayor frecuencia? (escala +++ frecuentemente depredado, ++ medianamente depredado, + poco depredado, 0 no depredado)

Perros: _____ Gatos: _____ Cerdos: _____ Pollos: _____ Pavos: _____ Patos: _____ + : _____

15. ¿Qué hace cuando suceden los estos ataques? _____

16. ¿Qué enfermedades o padecimientos han padecido sus animales durante los últimos cinco años? _____

_____ 1

7. ¿Cuántos animales se le han muerto por periodo?

| especie | perros | gatos | cerdos | aves | otros |
|---------|--------|-------|--------|------|-------|
| Semana | | | | | |
| Mes | | | | | |
| Año | | | | | |

Manuel Weber

De: jwdwda@gmail.com
Enviado el: Martes, 22 de Febrero de 2011 01:54 p.m.
Para: mweber@ecosur.mx
Asunto: 2011-02-055 Receipt of New Paper by Journal of Wildlife Diseases

Dear Dr. Weber,

On February 22, 2011, I received your manuscript entitled "SEROPREVALENCE OF *Leptospira interrogans* IN WILD CARNIVORES, MARSUPIALS AND DOMESTIC ANIMALS IN CALAKMUL, CAMPECHE, MEXICO" by Sergio Guerrero-Sánchez and Manuel Weber.

Your manuscript has been assigned the Paper #: 2011-02-055.

You may check on the status of this manuscript by selecting the "Check Manuscript Status" link under the following URL:

<<http://jwd.allentrack.net/cgi-bin/main.plex?el=A1CE4zE3A4CkE7F2A9ciYbwCoEtFR9ci58KjQmgAZ>>

(Press/Click on the above link to be automatically sent to the web page.)

Thank you for submitting your work to the Journal of Wildlife Diseases.

Sincerely,

James N. Mills, Ph.D.
Editor
Journal of Wildlife Diseases

1 Running title: Seroprevalence *Leptospira* Calakmul Mexico

2

3 **SEROPREVALENCE OF *Leptospira interrogans* IN WILD CARNIVORES,**
4 **MARSUPIALS AND DOMESTIC ANIMALS IN CALAKMUL, CAMPECHE, MEXICO**

5

6 **Sergio Guerrero-Sánchez and Manuel Weber¹**

7

8 Text word count: 2680

9 Abstract word count: 219

10

11 Author affiliations:

12 ¹ Departamento de Ecología y Sistemática Terrestres, El Colegio de la Frontera Sur-
13 ECOSUR. Unidad Campeche. Calle 10 x 61 #264 Centro, Campeche, Campeche.
14 Mexico.

15 Tel 52 (981) 8164221

16 Author for correspondence: mweber@ecosur.mx

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26 ABSTRACT:

27 Leptospirosis research in Latin America has been focused on rodents, zoo, and
28 domestic animals. This work was designed to obtain information on the presence and
29 seroprevalence of *Leptospira interrogans* infection in domestic animals, free-ranging
30 marsupials and medium sized wild carnivores in two rural communities around the
31 Calakmul Biosphere Reserve (CBR), in south-east Campeche, Mexico. Serum samples
32 were collected from domestic dogs, pigs, cats, three species of free-ranging opossums
33 (*Didelphis virginiana*, *D. marsupials* and *Philander opossum*), gray foxes (*U.*
34 *cinereoargenteus*), an ocelot (*Leopardus pardalis*) and a jaguarondi (*Puma*
35 *yagouarondi*). Antibodies of 6 serovars (*bratislava*, *pyrogenes*, *gripotiphosa*, *canicola*,
36 *hardjo* and *icterohaemorrhagiae*) of *L. interrogans* were detected. Serovar
37 *icterohaemorrhagiae* was the most commonly detected in both domestic and free-
38 ranging species. This is the first study documenting 100% seroprevalence of *L.*
39 *interrogans* in a rural free-ranging dog population in Mexico. To the best of our
40 knowledge, this is also the first report of a likely case of chronic infection of leptospirosis
41 in a free-ranging jaguarondi. Our results suggest that further studies in the area are
42 urgently needed and should focus on the evident role of domestic dogs in the
43 transmission of leptospirosis to humans and wildlife, the role of different sanitary
44 practices among Mayan and *mestizo* communities, as well as studies on the eco-
45 epidemiology of leptospirosis in endangered species, such as wild cats.

46

47 KEY WORDS: Carnivores, *Leptospira*, Mexico, *Puma yagouarondi*, *Urocyon*
48 *cinereoargenteus*

49

50 Leptospirosis is a zoonotic disease of world-wide distribution, affecting all species
51 of mammals and recently reported as increasing in many countries (Blenden, 1976,
52 Bharti et al. 2003). Several mammals have been reported as hosts for this spirochete,
53 including several Australian marsupials (Milner et al, 1981), species from Europe and
54 Asia (Millán et al, 2008; Moinet et al, 2009) and many American mammals (Ferguson
55 and Heidt, 1981; Licerias de Hidalgo and Sulzer, 1984; Raizman et al, 2009). In Latin
56 America, epidemiological research of leptospirosis has been traditionally focused on
57 domestic animals, zoo animals and rodents, neglecting the role that many free-ranging
58 wild mammals might play as reservoirs and susceptible hosts in the infection dynamics
59 of this disease (Lilenbaum et al. 2002, Bharti et al. 2003, Jimenez-Coello et al. 2010)

60 This work was performed from January to October 2010 with the aim of obtaining
61 information on the prevalence of antibodies to assorted serovars of *Leptospira*
62 *interrogans* in domestic animals, free-ranging opossums and medium sized wild
63 carnivores; all associated to home garden subsistence peasant production within two
64 rural communities located in the boundaries of the Calakmul Biosphere Reserve (CBR),
65 in Campeche, Mexico.

66 The CBR is located in southeast Campeche, Yucatan peninsula, Mexico (19°15'
67 17°45' North; 90°10'; 89°, 15' West). It represents both the main continuous block of
68 preserved tropical forest and the largest tropical protected area in Mexico. It is
69 composed by a mixture of tall, medium and short tropical semi-perennial and semi-
70 deciduous rain forests and lowland flooding forests with an extension of 723,185 ha
71 (INE, 2000); (Figure 1). It is one of the areas with the lowest human population densities
72 in Mexico, where most inhabitants are either Mayans or immigrants (Ericson et al. 1999).

73 The two human communities studied (Nuevo Becal [NB] and Pach-Uitz [PU]) are within
74 the southeast and northeast limits of the CBR, respectively. NB is a “*mestizo*”
75 community (a mixture of several ethnic groups) while PU is an entirely Mayan
76 settlement. In both communities, home gardens (maize and other vegetable crop
77 production), pig breeding and hunting are among the major subsistence activities.

78 Two 6.5 km transects were set along trails and dust roads beginning in a home
79 garden and finishing in the jungle in each community. Ten medium (32”x10”x13”) and
80 five large (48”x20”x26”) live traps were permanently set at 500 meters intervals in each
81 transect. Medium-sized traps were baited either with mix of tuna, eggs and sardines or
82 with fresh fruit (guava, bananas). Large traps were baited with a self-sustained (food,
83 water & shelter provided) plastic cage containing a live chicken (Suzan and Ceballos,
84 2005; Wobeser, 2007). Live traps were activated and monitored every 24 hours, for 7 to
85 10 consecutive days for 10 months; for a total of 1712 night/traps. Captured animals
86 were immobilized either physically or with a mixture of Ketamine hydrochloride
87 (Inoketam, Virbac, Jalisco, Mexico) and Xilazine hydrochloride (Rompun, Bayer, Mexico
88 City, Mexico), following Kreeger (1997) guidelines; then measured, tagged and released
89 after full recovery. Blood samples were collected via intracardiac puncture in opossums
90 and cephalic or saphene veni-puncture in carnivores (Suzan and Ceballos, 2005).

91 Blood samples from 39 domestic animals, including dogs (n=11 NB; n= 12 PU),
92 pigs (n= 5 NB; n= 9 PU) and cats (n= 2 NB; n=1 PU), were collected previous consent
93 from the owners. Samples from dogs and cats were collected via saphene veni-puncture
94 and by ear veni-puncture in the pigs. Blood was centrifuged at 3000 r.p.m and the serum
95 was stored at -20°C until transported to the laboratory, where it was stored at -70°C. All
96 sampled specimens were carefully inspected and found healthy at external examination.

97 Serum samples were analyzed for *L. interrogans* antibodies using the micro-
98 agglutination test (MAT) at the National Leptospirosis Reference Laboratory, Instituto
99 Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Mexico City. A
100 threshold titre for positive reactors was established at 1:100 following most accepted
101 convention (Millán, et al, 2008; Moinet et al, 2009; Raizman et al, 2009; Jiménez Coello
102 et al, 2010). Serovars tested were *bratislava*, *pyrogenes*, *gripotiphosa*, *canicola*,
103 *pomona*, *wolfii*, *hardjo*, *tarasovi* and *icterohaemorrhagiae*. Seroprevalence is reported
104 with 95% confidence intervals (Johnson et al, 1998 Suzan and Ceballos, 2005;
105 Wobeser, 2007).

106 We explored statistical differences in seroprevalence among the two communities
107 using a Mann Whitney non-parametric *U* test at $p < 0.05$. Differences in seroprevalence
108 among serovars and among species were explored using a Kruskal-Wallis non
109 parametric test and a Bonferroni likelihood test for multiple comparisons at $p < 0.05$ (Zar
110 1984).

111 Antibodies for six serovars (*bratislava*, *pyrogenes*, *gripotiphosa*, *canicola*, *hardjo*
112 and *icterohaemorrhagiae*) were found in the domestic animals at NB. All pigs in NB were
113 positive to all serovars with titres ranging from 1:100 to 1:1600 (*icterohaemorrhagiae*)
114 while all dogs reacted to *icterohaemorrhagiae* (1:100 - 1:1600), *pyrogenes* (1:100) and
115 *bratilslava* (1:1600). In PU, only two serovars (*icterohaemorrhagiae* and *canicola*) were
116 detected both in pigs and dogs with titres of 1:100 and 1:200. One dog presented high
117 antibody titres (1:800) to the *canicola* serovar and one pig was found with high titres
118 (1:1600) to the *icterohaemorrhagiae* serovar (Table 1).

119 Significant differences in seroprevalence were found in the dogs of NB (100% [n=
120 11] vs. 33% [n= 12] in PU; $U = 22$; $p < 0.05$) but not in the pigs (80% [n= 5 NB] vs. 66%

121 [n= 9 PU]; $U= 17$; $p> 0.05$). Differences in serovar prevalence among localities were also
122 statistically significant ($U=103$; $p <0.05$, n=18 NB, n= 22 PU); (Table 1). Only one cat in
123 NB reacted positive to the serovar *icterohaemorrhagiae* at a marginal (1:100) titre.

124 Blood samples were obtained from common opossums *Didelphis virginiana* (45 in
125 NB ; 33 in PU), tropical opossums *D. marsupialis* (30 NB; 10 PU), four-eyed opossums
126 *Philander opossum* (20 NB; 2 PU), gray foxes *Urocyon cinereoargenteus* (3 NB; 4 PU),
127 an ocelot *Leopardus pardalis* and a jaguarondi *Puma yagouaroundi* (both from NB).

128 The same serovars detected in domestic animals were detected in the wildlife,
129 with the exception of serovar *hardjo*, not found in wildlife. The jaguarondi was found
130 positive with very high antibody titres to three serovars (*canicola*= 1:1600;
131 *icterohaemorrhagiae*= 1:1200; *bratislava*= 1:800) and assumed as chronically ill
132 according to Millán et al. (2008). The ocelot was found negative. Gray foxes presented
133 antibodies to four serovars: *canicola* (1:400 and 1:1600), *icterohaemorrhagiae* (1:100);
134 *pyrogenes* (1:100) and *gripotiphosa* (1:200), while less than 3% of the common and
135 tropical opossums were positive to *icterohaemorrhagiae* (1:100) and *canicola* (1:100). All
136 four-eyed opossums resulted negative (Table 1).

137 Jiménez-Coello et al. (2010) reported 4.9% seroprevalence in dogs of a peri-
138 urban area of southeast Mexico, which is well below the 100% seroprevalence reported
139 here for NB. They found two serovars (*tarassovi* and *pyrogenes*) in this dog population.
140 Seroprevalences in pigs are also much higher than those reported by Zavala et al.
141 (1984) for rural pigs in northern Yucatan. The high antibody titres found for the
142 *icterohaemorrhagiae* serovar (90%; CI= 0.05) in our study, clearly points at domestic
143 dogs as key elements in the transmission dynamics of *L. interrogans* to humans, other
144 domestic species and wildlife.

145 Richardson and Gauthier (2003) following Faine (1988) statements, considered
146 titres of 1:800 and above as suggestive of acute infection in raccoons. In our study,
147 individuals with titres higher than 1:1600 and above, did not presented any signs of
148 acute disease. A more recent study (Millán et al. 2008), found that high antibody titres
149 are indicative of chronic leptospirosis in several species of wild carnivores and feral cats.

150 Serovar prevalence was statistically different in gray foxes when compared to all
151 other species ($K=13.10$; $p<0.05$); (Table 1). Gray foxes can be identified as important
152 elements in leptospirosis transmission dynamics in our study area. As occurred with
153 domestic animals in NB, wildlife in this community presented higher seroprevalence than
154 PU. However, this difference is not statistically significant ($U=1703$; $p>0.05$, $n= 84$ NB;
155 $n= 54$ PU). The results with opossums are very similar to those reported by Milner et al.
156 (1981) and Everard et al. (1983).

157 The jaguarondi is an endangered species with a large home range (>100 km²).
158 Their diet includes rodents and marsupials (Konecny, 1989). It has been reported in the
159 study area as a predator of domestic fowl, perhaps making it vulnerable to leptospirosis
160 infection throughout the contact with rats and domestic dogs. Furthermore, the higher
161 prevalence found in NB, may explain this animal reacting to “domestic” serovars such as
162 *icterohaemorrhagiae* and *canícola* (Bharti et al. 2003). Although the ocelot resulted
163 negative, the extremely high titres found in the jaguarondi, prompt further investigations
164 in wild cats in the study area.

165 Riley et al. (2004) reported zero prevalence of leptospirosis in gray foxes in
166 northern California compared with 4% seroprevalence in a peri-domestic area. Serovar
167 *bratislava* was detected in domestic dogs. Garcelon et al. (1992) reported 14%
168 seroprevalence of *L. interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae* in the Channel islands

169 gray foxes (*U. littoralis*). Amundson and Yuill (1981), found high prevalences in gray
170 (47%) and red *Vulpex fulva* (39%) foxes in Wisconsin, where the dominant serovar
171 found was *gripotiphosa* (a common dairy cattle isolate), while *pomona*, *canicola* and
172 *icterohaemorrhagiae* were found in only one gray fox. The authors suggest that territorial
173 behavior in young dispersing individuals might be associated with infection dynamics in
174 these species. In our study, a seroprevalence of 33% in gray foxes is the highest ever
175 reported for the *canicola* and *icterohaemorrhagiae* serovars in this species.

176 Interaction between gray foxes, opossums and domestic dogs might play a role in
177 leptospirosis transmission dynamics in our study area. *L. interrogans* serovar
178 *icterohaemorrhagiae* may infect gray foxes via domestic dogs, while *canicola* might be
179 transmitted to other species by gray foxes and opossums. Free-ranging dogs are
180 common companion to the local peasants and hunters in the area. Transmission
181 through fights, territorial or scent marking behavior may occur among gray foxes and
182 dogs with higher probability than among carnivores or opossums. This is common in
183 both wild and domestic canids (Cleveland et al, 2000). Moreover, gray foxes and
184 opossums are the most common predators of domestic fowl in the area. Local people
185 commonly kill them in their home gardens to protect their domestic animals. Differences
186 in survival rates after attacking home gardens among foxes and opossums might explain
187 the different *L. interrogans* prevalence found. Gray foxes may have higher survival rates
188 when harassed by dogs and humans, therefore becoming active carriers; while
189 opossums tend to be frequently killed, then finishing that infection chain overall.

190 NB presented higher prevalence than PU. Differences in sanitary conditions
191 among human communities might explain these patterns. Studies on cultural and

192 sanitary practices among local human populations are urgently needed to further
193 understand leptospirosis dynamics in the area.

194 Our results suggest that further studies in the area should focus on the role of
195 domestic dogs in the transmission of leptospirosis to humans and wildlife. Studies on the
196 eco-epidemiology of leptospirosis in endangered species, such as wild cats are urgently
197 needed. This is the first study documenting 100% *L. interrogans* seroprevalence in a
198 rural free-ranging dog population in Mexico. To the best of our knowledge, this is also
199 the first report of a likely leptospirosis chronic infection in a jaguarondi.

200 This study was partially supported by the “Vulnerability in Home Gardens” project
201 (FOMIX-CONACYT-94360) and a CONACYT master’s thesis scholarship to SGS. We
202 thank the support and confidence of A. Alayón and the valuable field assistance of G.
203 Castillo, V. Villalobos, X. de Lucas, E. Ake, E. Cano, F. Guerrero, N. Arias and R. Chi.
204 The support of the local people of Pach Uitz and Nuevo Becal was instrumental. V.
205 Banda and M. A. Luna of the INIFAP lab provided essential laboratory and diagnostic
206 support.

207 LITERATURE CITED

208 AMUNDSON T. E. and YUILL, T. M. 1981. Prevalence of selected pathogenic microbial
209 agents in the red fox (*Vulpes fulva*) and gray fox (*Urocyon cinereoargenteus*) of
210 Southwestern Wisconsin. Journal of Wildlife Diseases. 17- 22
211 BHARTI, A. R., NALLY, J. E., RICALDI, J. N., MATTHIAS., A., DIAZ, M. M., LOVETT,
212 M. A., LEVETT., P. N., GILMAN, R. H., WILLIG, M. R., GOTTUZZO, E. and VINETZ,
213 J.M. 2003. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. The Lancet Infectious
214 Diseases. 3: 757-771

215 BLENDEN, D.C. 1976. Aspectos epidemiológicos de la leptospirosis. *In*: Reunion
216 interamericana sobre el control de la fiebre aftosa y otras zoonosis. Panamerican Health
217 Organization, Washington, DC, 316: 60-168

218 CLEAVELAND, S; APPELC, M.G.J; CHALMERSD, W.S.K; CHILLINGWORTH, C;
219 KAAREE, M; and DYE, C. 2000. Serological and demographic evidence for domestic
220 dogs as a source of canine distemper virus infection for Serengeti wildlife. *Veterinary*
221 *Microbiology*. 72: 217- 227

222 ERICSON, J., FREUDENBERGER, M. K and BOEGE, E. 1999. Population dynamics,
223 migration and the future of the Calakmul Biosphere Reserve. Occasional Paper 1.
224 Program on Population and Sustainable Development. American Association for the
225 Advancement of Science. 72 pp.

226 EVERARD, C. O. R; G. M. FRASER-CHANPONG, L. J. BHAGWANDIN; M. W. RACE,
227 and A. C. JAMES. 1983. Leptospire in wildlife from Trinidad and Grenada. *Journal of*
228 *Wildlife Diseases*, 19: 192-199

229 FAINE, S. 1988. Leptospirosis. *In*: Balows, A, Hausler, W.J., Ohashi, M., et al., eds.
230 *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practice, Vol. 1*. New York:
231 Springer-Verlag, 1988.

232 FERGUSON, D.V; HEIDT, G.A. 1981. Survey for rabies, leptospirosis, toxoplasmosis
233 and tularemia in striped skunks (*Mephitis mephitis*) from three public use area in
234 northwestern Arkansas. *Journal of Wildlife Diseases*. 17: 515-519.

235 GARCELON, D. K; WAYNE, R.K. and GONZALES, B. J. 1992. A serologic survey of the
236 island fox (*Urocyon littoralis*) on the Channel Islands, California. *Journal of Wildlife*
237 *Diseases*. 28: 223-229

238 JIMENEZ- COELLO, M; ORTEGA-PACHECO, A GUZMAN-MARIN, E; GÜIRIS-
239 ANDRADE, D. M; MARTINEZ-FIGUEROA, L. and ACOSTA-VIANA, K. Y. 2010. Stray
240 Dogs as Reservoirs of the Zoonotic Agents of *Leptospira interrogans*, *Trypanosoma*
241 *cruzi*, and *Aspergillus* spp. in an Urban Area of Chiapas in Southern Mexico. Vector-
242 Borne and Zoonotic Diseases. 10: 135-141.

243 KONECNY, M. J. 1989. Movement patterns and food habits of four sympatric carnivore
244 species in Belize, Central America. Advances in Neotropical Mammalogy, 1989: 243-
245 264.

246 KREEGER, T.J. 1997: Handbook of Wildlife Chemical Immobilization. International
247 Wildlife Veterinary Services Inc. 2º Edition. Forth Collins, Co, U.S.A. 342 pp.

248 LICERAS DE HIDALGO,J and SULZER, K.R. 1984. Six new leptospiral serovars
249 isolated from wild animals in Peru. Journal of Clinical Microbiology. 19: 944-945.

250 LLENBAUM, W., MONTEIRO, R. V., RISTOW, P., FRAGUAS, S., CARDOSO, V. S. and
251 FEDULO. L. P. L. 2002. Leptospirosis antibodies in mammals from Rio de Janeiro Zoo,
252 Brazil. Research in Veterinary Science. 73: 319-321

253 MILLÁN, J; CANDELA. M. G.; LÓPEZ-BAO, J. V; PEREIRA. M, MARÍA ÁNGELES
254 JIMÉNEZ, M. A. and LEÓN-VIZCAÍNO, L. 2008. Leptospirosis in wild and domestic
255 carnivores in natural areas in Andalusia, Spain. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 9:
256 549-554.

257 MILNER, A.R; WILKS, C.R; SPRATT, D.M. and PRESIDENTE, P.J.A. 1981. The
258 prevalence of anti-leptospiral agglutinins in sera of wildlife in southeastern Australia.
259 Journal of Wildlife Diseases. 17: 197- 202

260 MOINET, M; FOURNIER-CHAMBRILLON, C; ANDRÉ- FONTAINE, G; AULAGNIER, S;
261 MESPLE, A; BLANCHARD, B; DESCARSIN, V; PHILIPPE DUMAS, P; DUMAS, Y;

262 COÏC, C; COUZI, L. and FOURNIER, P. 2010. Leptospirosis in free-ranging endangered
263 European mink (*mustela lutreola*) and other small carnivores (mustelidae, viverridae)
264 from southwestern France. Journal of Wildlife Diseases. 46: 1141–1151

265 RAIZMAN. E. A; DHARMARAJAN, G; BEASLEY, J.C; CHING C. WU, C.C; ROMAN, M.
266 POGRANICHNIY, R. M. and RHODES, O. E. Jr. 2009 Serologic survey for selected
267 infectious diseases in raccoons (*Procyon lotor*) in Indiana, USA. Journal of Wildlife
268 Diseases, 45: 531–536

269 RICHARDSON, D. J. and GAUTHIER, J.L. 2003. A serosurvey of Leptospirosis in
270 Connecticut peridomestic wildlife. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 3: 187-193

271 RILEY, S. P. D; FOLEY, J; and CHOMEL, B. 2004. Exposure to feline and canine
272 pathogens in bobcats and gray foxes in urban and rural zones of a national park in
273 california. Journal of Wildlife Diseases. 40: 11–22

274 SUZAN, G; and CEBALLOS, G. 2005. The role of feral mammals on wildlife infectious
275 disease prevalence in two nature reserves within Mexico City limits. Journal of Zoo and
276 Wildlife Medicine. 36: 479-484.

277 WOBESER, G. A. 2007. Disease in wild animals, Investigation y management. 2nd ed.
278 Springer. New York, USA. 393 pp

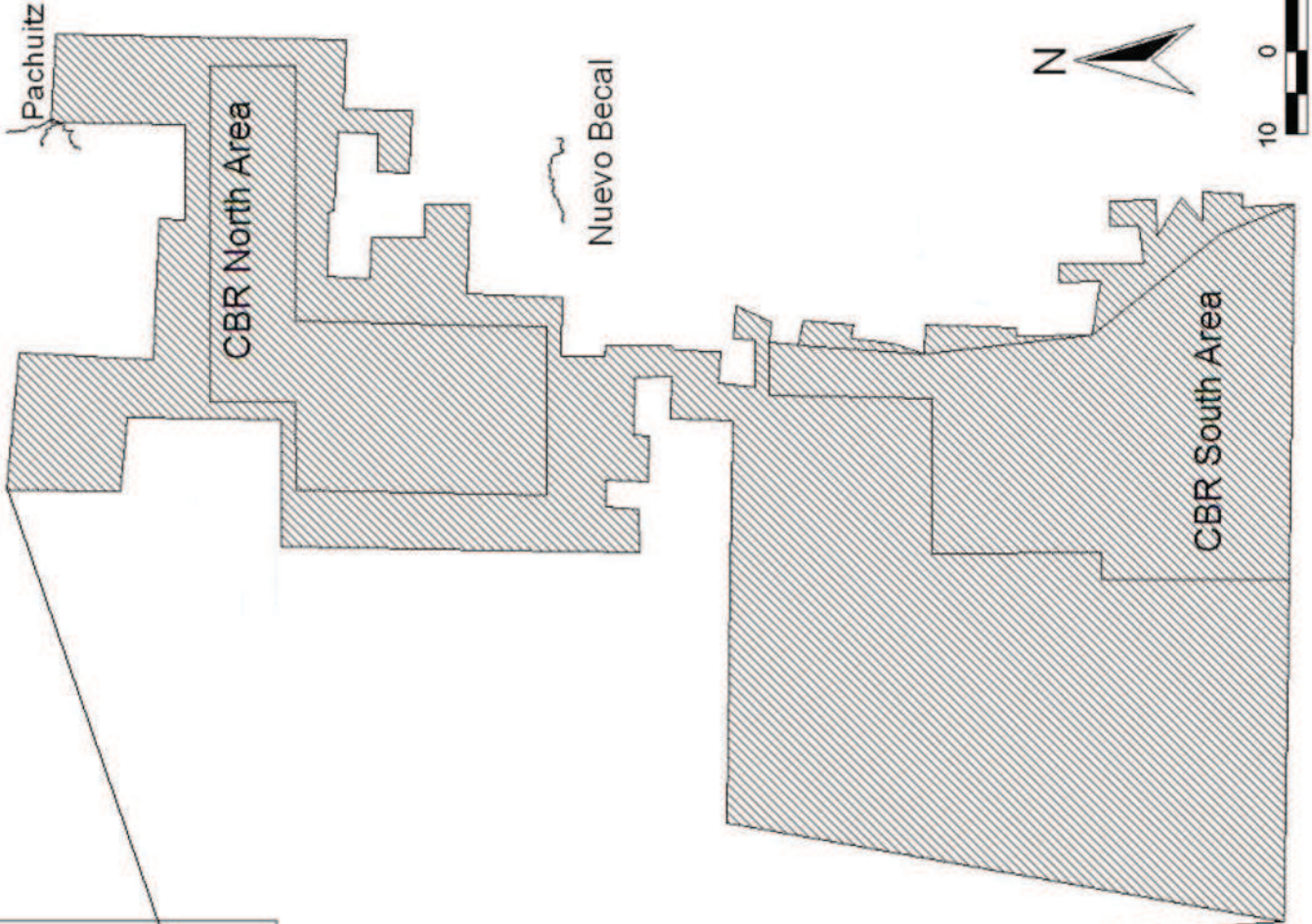
279 ZAR, J. H. 1984. Biostatistical Analysis. 2nd. Prentice Hall, New Jersey, USA. 718 pp

280 ZAVALA-VELÁZQUEZ, J; PINZÓN CANTARELL, J; FLORES CASTILLO, M. DAMIÁN
281 and CENTENO, A. G. 1984. Leptospirosis in Yucatan: Serologic study in humans and
282 animals. Salud pública México. 26: 254-259

283

284

285 Figure 1. Study areas; communities of Pach-Uitz (PU) and Nuevo Becal (NB) in the
286 surroundings of the Calakmul Biosphere Reserve (CBR), southeast Campeche, Mexico.
287 Marks in each community represent the location of transects for live-trapping wild
288 mammals. Insert indicate the location of the CBR in Mexico.



10 0 10 Kilometers

Table 1.- Seroprevalence of *Leptospira interrogans* serovars in marsupials, medium-sized wild carnivores, domestic pigs, dogs and Patch-Uitz, Calakmul, Campeche, Mexico (January-October 2010)

| Locality | Common name | Scientific name | Seroprevalence of <i>Leptospira Interrogans</i> (% [positives/s | | | |
|-------------|-------------------|---------------------------------|---|-------------------|------------------|---------------------|
| | | | <i>Icterohemorrhagiae</i> | <i>Bratislava</i> | <i>Pyrogenes</i> | <i>Gripotyphosa</i> |
| Nuevo Becal | Tropical opossum | <i>Didelphis marsupialis</i> | 4.7 [1/21]; 0.02 | 0 | 0 | 0 |
| | Common opossum | <i>Didelphis virginiana</i> | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Four-eyed opossum | <i>Philander opossum</i> | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Gray fox | <i>Urocyon cinereoargenteus</i> | 33.3 [1/3]; 0.31 | 0 | 33.3 [1/3]; 0.31 | 33.3 [1/3]; 0.31 |
| Nuevo Becal | Jagouarundi | <i>Puma yagouaroundi</i> | 100 [1/1] | 100 [1/1] | 0 | 0 |
| | Ocelot | <i>Leopardus pardalis</i> | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Domestic dog | <i>Canis lupus familiaris</i> | 90.9 [10/11]; 0.05 | 9.1 [1/11]; 0.05 | 9.1 [1/11]; 0.05 | 0 |
| | Domestic pig | <i>Sus scrofa</i> | 80 [4/5]; 0.15 | 20 [1/5]; 0.15 | 20 [1/5]; 0.15 | 20 [1/5]; 0.15 |
| Nuevo Becal | Domestic cat | <i>Felis catus</i> | 50 [1/2]; 0.48 | 0 | 0 | 0 |
| | Tropical opossum | <i>Didelphis marsupialis</i> | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Common opossum | <i>Didelphis virginiana</i> | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Four-eyed opossum | <i>Philander opossum</i> | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Patch-Uitz | Gray fox | <i>Urocyon cinereoargenteus</i> | 0 | 25 [1/4]; 0.21 | 0 | 0 |
| | Domestic dog | <i>Canis lupus familiaris</i> | 33.3 [4/12]; 0.05 | 0 | 0 | 0 |
| | Domestic pig | <i>Sus scrofa</i> | 55.5 [5/9]; 0.1 | 0 | 0 | 0 |
| | Domestic cat | <i>Felis catus</i> | 0 | 0 | 0 | 0 |

(CI) Confidence Interval = 95%

gs and cats in Nuevo Becal

| Sampled]; CI) | |
|-------------------|----------------|
| <i>Canicola</i> | <i>Hardjo</i> |
| 0 | 0 |
| 7.3 [2/41]; 0.01 | 0 |
| 0 | 0 |
| 33.3 [1/3]; 0.31 | 0 |
| 100 [1/1] | 0 |
| 0 | 0 |
| 0 | 0 |
| 20 [1/5]; 0.15 | 40 [2/5]; 0.19 |
| 0 | 0 |
| 0 | 0 |
| 0 | 0 |
| 0 | 0 |
| 25 [1/4]; 0.21 | 0 |
| 16.6 [2/12]; 0.06 | 0 |
| 11.1 [1/9]; 0.06 | 0 |
| 0 | 0 |