

01674
28

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

PREVALENCIA DE ENFERMEDADES VIRALES EN PEQUEÑOS MAMÍFEROS
SILVESTRES EN EL NORESTE DE MÉXICO (1999 - 2000)

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTADA POR:
MARÍA FLOR VINIEGRA CANTERA

TUTOR PRINCIPAL:
JUAN ANTONIO MONTAÑO HIROSE

COMITÉ TUTORAL:
ARTURO CASO AGUILAR
JORGE TORTORA PEREZ
FRANCISCO GALINDO MALDONADO

MÉXICO, D.F.

MAYO 2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que esta Tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.



MARÍA FLOR VINIEGRA CANTERA

I

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores Dr. Juan Antonio Montaña Hirose y M en C Arturo Caso Aguilar.

Al Laboratorio de Virología del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M.

A los ranchos ganaderos Los Ebanos y Los Pericos del Municipio de Soto la Marina, Tamaulipas; y a los ranchos Santa Teresa y Santo Domingo del Municipio de Guerrero, Nuevo Laredo, Tamaulipas.

Al zoológico Zoofari localizado en el Km. 55 de la carretera federal Cuernavaca – Taxco.

A la Q.F.B. Ma. De la Luz Rosales Montaña, responsable del Laboratorio de Microscopía Electrónica del Departamento de Patología, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M.

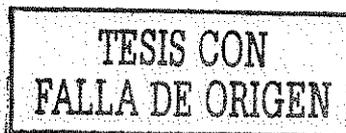
Al Dr. Alvaro Aguilar de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Inmunológicas del Hospital de Pediatría del Centro Médico Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.

II

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA DE CONTENIDO

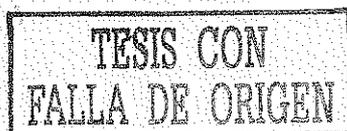
	Página
Declaración	I
Agradecimientos	I
Resumen	III
Summary	IV
Tabla de contenido	V
Lista de cuadros	VII
Lista de figuras	VIII
Capítulo 1 Introducción	1
1.1 Especies estudiadas	2
1.1.1 Orden <i>Carnivora</i>	
1.1.1.1 Familia <i>Felidae</i>	
Ocelote	2
Jaguarundi	3
Gato montés	3
1.1.1.2 Familia <i>Canidae</i>	
Coyote	3
1.1.1.3 Familia <i>Procyonidae</i>	
Mapache	4
Coatí	4
1.1.2 Orden <i>Marsupialia</i>	
1.1.2.1 Familia <i>Didelphidae</i>	
Tiacuache	5
Tiacuachillo de cuatro ojos	5
1.2 Enfermedades	6
1.2.1 Rabia	6
1.2.2 Moquillo canino	6
1.2.3 Leucemia felina	7
1.2.4 Inmunodeficiencia felina	8
1.3 Hipótesis	9
1.4 Objetivos	9
Capítulo 2 Material y métodos	10
Area de estudio	10
2.1 Captura de animales y obtención de muestras	11
2.2 Análisis realizados en el laboratorio	12
Capítulo 3 Resultados	16
Capítulo 4 Discusión	22
Capítulo 5 Referencias	27



Apéndices

Apéndice 1	Permiso de captura de ejemplares	32
Apéndice 2	Hoja de captura	34
Apéndice 3	Prueba de inmunofluorescencia	35
Apéndice 4	Procedimiento para titulación de virus	36
Apéndice 5	Prueba rápida de reducción de focos fluorescentes	37
Apéndice 6	Constantes fisiológicas obtenidas durante la inmovilización	39
Apéndice 7	Ilustraciones y mapas de distribución de las especies	41

estudiadas.



LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 3.1 Especies capturadas en el Municipio de Soto la Marina, Tamaulipas, México; del 26 de octubre al 4 de noviembre de 1999.	17
Cuadro 3.2 Especies capturadas en el Municipio de Soto la Marina, Tamaulipas, México; del 5 al 13 de abril de 2000.	18
Cuadro 3.3 Especies capturadas en el Municipio de Guerrero, Tamaulipas, México; del 17 de febrero al 7 de marzo De 2000.	18
Cuadro 3.4 Especies muestreadas en el zoológico Zoofari el 22 de Julio de 2000.	19
Cuadro 3.5 Prueba rápida de reducción de focos fluorescentes para La detección de anticuerpos contra el virus de la rabia.	21

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 2.2.1 Células BHK infectadas con virus de rabia, microscopía electrónica de transmisión.	14
Figura 2.2.2 Acercamiento de estructuras en forma de bala, correspondientes al virus de la rabia.	14

PREVALENCIA DE ENFERMEDADES VIRALES EN PEQUEÑOS MAMÍFEROS SILVESTRES EN EL NORESTE DE MÉXICO (1999 - 2000)
RESUMEN

Las enfermedades en los animales de vida libre rara vez se han vigilado. Sin embargo, investigaciones recientes han demostrado que los agentes infecciosos deben considerarse como una parte integral en muchos aspectos del comportamiento y la ecología de la fauna silvestre. Además, el riesgo de infecciones debe ser evaluado en todos los proyectos de reintroducción y traslocación. Durante los meses de octubre y noviembre de 1999, febrero, marzo y abril de 2000 se capturaron 8 especies de mamíferos silvestres en 4 ranchos ganaderos del Estado de Tamaulipas, México; con el objetivo de conocer la prevalencia de moquillo canino, rabia, inmunodeficiencia felina y leucemia felina. Los animales fueron capturados con trampas Tomahawk e inmovilizados utilizando una combinación de ketamina y xilacina por vía intramuscular. Se realizó un examen físico de cada ejemplar y se colectaron muestras de sangre, frotis sanguíneos, impresiones conjuntivales y ectoparásitos. También se obtuvieron muestras de 4 felinos silvestres en el zoológico Zoofari. Se realizaron pruebas diagnósticas de inmunofluorescencia para moquillo canino, prueba rápida de reducción de focos fluorescentes para rabia y de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) para leucemia felina e inmunodeficiencia felina con un kit comercial de diagnóstico. Se capturaron 36 individuos de pequeños mamíferos pertenecientes a 8 especies que incluyeron: 1 tlacuachillo de 4 ojos (*Philander opossum*), 10 tlacuaches (*Didelphis marsupialis*), 1 coyote (*Canis latrans*), 6 mapaches (*Procyon lotor*), 2 coati mundis (*Nasua narica*), 1 jaguarundi (*Herpailurus yaguarondi*), 8 ocelotes (*Leopardus pardalis*) y 7 gatos monteses (*Lynx rufus*). Los ejemplares en cautiverio incluyeron: 1 jaguarundi, 2 gatos monteses y 1 ocelote. Ningún individuo fue positivo en las pruebas de moquillo canino y leucemia felina; 1 individuo presentó anticuerpos contra inmunodeficiencia felina y 7 ejemplares presentaron anticuerpos contra rabia. Es fundamental conocer el estado de salud de las poblaciones de animales silvestres, para poder plantear estrategias de manejo, predecir epizootias y mortalidades masivas y prevenir zoonosis. Este estudio brinda un diagnóstico parcial, pero actualizado de las enfermedades virales que afectan a las poblaciones de mamíferos silvestres, que habitan en la zona noreste de México, con el fin de dar fundamentos científicos y objetivos a programas de conservación y manejo. Palabras clave: Inmunodeficiencia felina, leucemia felina, moquillo canino, rabia, mamíferos silvestres, Tamaulipas.

PREVALENCE OF VIRAL DISEASES IN SMALL FREE-RANGING MAMMALS IN NORTHEAST MEXICO (1999 – 2000)

SUMMARY

Diseases in free-ranging wildlife are not monitored very often. However, recent investigations have demonstrated that infectious agents must be considered in many aspects of the behaviour and ecology of wildlife. The risk of infections should always be taken into consideration in every reintroduction and translocation project. During October and November 1999, February, March and April 2000, 8 species of wild mammals were captured in 4 private cattle ranches in Tamaulipas, Mexico; the main objective was to know the prevalence of canine distemper, rabies, feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus. The animals were trapped with Tomahawk traps and immobilized using an intramuscular combination of ketamine and xylazine. A physical exam was conducted to every individual and blood samples, blood smears, conjunctival smears and ectoparasites were collected from each animal. Samples from 4 captive wild felids were also obtained at the Zoofari zoo. The diagnostic tests carried out were immunofluorescence for canine distemper virus, rapid fluorescent focus inhibition test for rabies and an ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay) test using a commercial diagnostic kit for feline immunodeficiency and feline leukemia viruses. 36 individuals belonging to 8 species of small mammals were trapped, they included: 1 gray four-eyed opossum (*Philander opossum*), 10 opossums (*Didelphis marsupialis*), 1 coyote (*Canis latrans*), 6 raccoons (*Procyon lotor*), 2 coati mundis (*Nasua narica*), 1 jaguarundi (*Herpailurus yaguarondi*), 8 ocelots (*Leopardus pardalis*) and 7 bobcats (*Lynx rufus*). The captive species were 1 jaguarundi, 2 bobcats and 1 ocelot. All the animals were negative to canine distemper and feline leukemia; antibodies to feline immunodeficiency virus were detected in 1 individual while antibodies to rabies were detected in 7 individuals. It is fundamental to know the health situation of wildlife populations, in order to establish management strategies and predict epizooties and massive mortalities and prevent zoonosis. The present study offers a partial diagnosis of the viral diseases that are affecting the populations of wild mammals, that live in Northeast Mexico, with the purpose to give scientific and objective fundamentals to management and conservation programs.

Keywords: Feline immunodeficiency, feline leukemia, canine distemper, rabies, wildlife, Tamaulipas.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas son un riesgo permanente para las poblaciones de animales tanto silvestres como en cautiverio, principalmente durante los períodos de reintroducción o traslocación o perturbación de sus ecosistemas, pérdida de hábitat o fragmentación. El sistema inmune de los animales debe ser capaz de responder en cualquier momento a los retos ocasionados por la amplia variedad de agentes infecciosos capaces de producir la enfermedad. La habilidad para resistir o recuperarse de una infección no depende únicamente de la virulencia de cada microorganismo, sino que está involucrada la condición del sistema inmune del hospedero, que puede modificarse o suprimirse debido a la interacción de muchos factores como sustancias tóxicas, pesticidas, metales pesados, nutrición, cambios estacionales, fluctuaciones en la temperatura ambiental y otros factores o eventos del medio ambiente que mantengan una condición de estrés crónico en el individuo.¹

Algunos estudios sugieren que las enfermedades pueden haber causado la extinción o una disminución significativa en ciertas poblaciones. Estas enfermedades pueden haber sido introducidas de forma no natural o afectar una población a la que no afectaban normalmente.² No existe evidencia de que una enfermedad de ocurrencia natural haya causado la extinción de ninguna especie en un ambiente no alterado. Gran parte de la diversidad biológica que se pierde es el resultado de las actividades del ser humano, que originan problemas como el calentamiento global de la atmósfera, adelgazamiento de la capa de ozono, contaminación, desertificación e introducción de especies exóticas. Además, en la medida en que las poblaciones humanas se expanden y colonizan hábitats silvestres, los animales en vida libre pueden tener contacto con enfermedades comúnmente asociadas a los animales domésticos.²⁻⁴

Existe un interés cada vez mayor en cuanto a los efectos que la infección y la enfermedad puedan tener en poblaciones silvestres. La infección se refiere a la presencia de microorganismos (bacterias y virus) en un huésped; la enfermedad resulta sólo si la infección es clínicamente dañina. Ambas pueden tener un impacto en la supervivencia, reproducción, dispersión y distribución de poblaciones del huésped, así como en su nivel de diversidad genética.^{5,6}

Por lo anterior, es conveniente realizar programas de vigilancia de enfermedades, en especies silvestres, conjuntamente con los estudios de campo que investigan el tamaño de las poblaciones y sus hábitos. De esta manera, pueden evaluarse los movimientos, actividad reproductora y destino de los animales bajo estudio, con base en el conocimiento de la presencia o ausencia de infección.⁴

Generalmente se estudian las enfermedades importantes para las especies en peligro de extinción en individuos mantenidos en cautiverio, la mayoría de las

veces en especies similares a las especies amenazadas. Aunque se puede obtener información relevante acerca de la interacción de la enfermedad y el huésped, también pueden existir algunas desventajas; por ejemplo, existen diferencias entre especies con relación a su respuesta ante una determinada enfermedad, también se presentan diferencias en la respuesta de un animal en un ambiente artificial y un individuo de vida libre.²

Las enfermedades en animales de vida libre rara vez se han vigilado. Sin embargo, investigaciones recientes han demostrado que los agentes infecciosos deben considerarse como una parte integral en muchos aspectos del comportamiento y la ecología de la fauna silvestre. Además como se mencionó anteriormente, el riesgo de infecciones debe ser considerado en todos los proyectos de reintroducción y traslocación de especies silvestres.

1.1 ESPECIES ESTUDIADAS

1.1.1 Orden *Carnivora*

1.1.1.1 Familia *Felidae*

Esta familia está ampliamente distribuida en todo el mundo a excepción de Australia, Madagascar, Antártida y las islas del Pacífico sur.^{7,8} La mayoría de los felinos silvestres son solitarios y muy territoriales.⁸ Las tres especies que se incluyeron en la investigación se alimentan principalmente de pequeños mamíferos, como conejos y roedores, aves y reptiles.^{7,9-13}

El ocelote (*Leopardus pardalis*) es el más largo de los felinos manchados; es de tamaño mediano, el peso de los adultos es de 9-16 kg y llegan a medir hasta 1 metro de longitud, siendo las hembras de menor tamaño. Tiene hábitos nocturnos.^{9,11} Se le puede encontrar en una gran variedad de hábitats, incluyendo manglares, pantanos, sabanas, selvas tropicales y subtropicales, y matorrales espinosos.^{11,14} Actualmente se encuentra distribuido desde el sur de los Estados Unidos de América hasta el norte de Argentina. Casi ininterrumpidamente a través de Belice, el este de Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guayana Francesa, Guatemala, Guyana, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, el este de Perú, Surinam, Trinidad y Tobago, Uruguay y Venezuela. Todas las subespecies del ocelote están clasificadas como amenazadas en el Apéndice I del CITES ("Convention on International Trade in Endangered Species"); y como vulnerable por el IUCN (Unión internacional para la Conservación de la Naturaleza).^{15,16}

El jaguarundi (*Herpailurus yaguarondi*) es un felino pequeño, diferente a cualquier otro gato porque tiene cuerpo largo y esbelto, orejas pequeñas y

redondeadas, patas cortas y pelo corto de color uniforme, sin manchas. Su peso varía de 3 a 9 kg.^{10,11,15} Presenta actividad durante el día principalmente, aunque existen reportes de que llega a tener actividad a todas horas.¹⁰ Se puede encontrar en diferentes tipos de hábitat como selva húmeda tropical, selva subtropical, bosque espinoso subtropical, páramo, sabana, chaparral denso, pradera pantanosa, y matorral espinoso semiárido.^{10,14} Su distribución geográfica abarca desde los extremos sudeste y sudoeste de los Estados Unidos de América (Texas y Arizona, donde se considera muy raro), por ambas costas cálido-húmedas de México hasta Argentina, incluyendo a Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Guayana Francesa, Guatemala, Guyana, Honduras, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Surinam y Venezuela. De las 8 subespecies de jaguarundi, 4 están clasificadas como amenazadas en el apéndice I del CITES, y está considerado como vulnerable por el IUCN.^{10,15,16}

El gato montés (*Lynx rufus*) tiene el tamaño aproximado de un perro pequeño, con piernas largas y cola muy corta, sus orejas son grandes y puntiagudas. El pelo es más largo que el del ocelote con color café moteado. El peso de los adultos es de 5-12 Kg aproximadamente. El gato montés es principalmente nocturno, pero, es común que presente actividad durante el día con mayor frecuencia que la mayoría de los felinos silvestres.^{7,11} En el norte frecuentemente se alimenta de venados.¹³ Se le puede encontrar desde el sur de Canadá hasta el sur de Oaxaca, en México.^{7,16}

Se tienen pocos datos sobre las enfermedades que las 3 especies de felinos mencionadas pueden llegar a padecer en libertad, aunque se ha reportado mediante estudios realizados principalmente en cautiverio, que los felinos no domésticos pueden contraer las mismas enfermedades virales que los gatos domésticos como: inmunodeficiencia felina, panleucopenia felina, rinotraqueítis viral felina, calicivirus, peritonitis infecciosa felina, leucemia viral felina, rabia, reovirus felino, poxvirus (*Orthopoxvirus*), hepatitis viral, linfosarcoma, rotavirus, parainfluenza y papilomas infecciosos felinos. También existen reportes de felinos silvestres que han sido afectados por moquillo canino.^{4,8,17-37}

1.1.1.2 Familia *Canidae*

Los cánidos tienen características anatómicas semejantes, cuyo prototipo es el perro doméstico.⁸ El coyote (*Canis latrans*) es de color rojizo grisáceo o a veces amarillento. El adulto mide aproximadamente un metro de largo con 40 cm de cola, tiene una altura de 58 cm y pesa entre 10 y 20 Kg. Es un animal de hábitos paradójicos, pues es tanto diurno como nocturno, aunque muestra mayor actividad durante el crepúsculo; vive aislado o en parejas y sólo forma grupos familiares temporalmente después de los nacimientos. Su alimentación consiste de pequeños mamíferos y carroña en su mayoría, aunque a veces comen frutas, granos y algunos vegetales.^{7,11,13,38} Se le puede encontrar en una gran variedad de hábitats, tanto naturales como perturbados. Su distribución geográfica abarca

desde el norte de Alaska hasta Costa Rica. Se encuentra en todo el territorio mexicano, excepto en la península de Yucatán.^{11,16} Es susceptible a enfermedades como: tularemia, moquillo canino y rabia entre otras; puede ser afectado por una gran variedad de parásitos tanto internos como externos.³⁸

1.1.1.3 Familia *Procyonidae*

Los miembros típicos de esta familia son pequeños, a menudo presentan manchas faciales y la cola anillada con bandas claras y oscuras; son plantígrados o semiplantígrados. Son omnívoros, por lo que su alimentación es muy variada; incluye frutos, plantas, invertebrados y vertebrados pequeños.^{7,8}

Los mapaches (*Procyon lotor*) tienen el cuerpo gordo, patas y cola cortas; pesan 3-7 kg. Son principalmente nocturnos, pero pueden presentar actividad durante el día. Los machos son de hábitos solitarios y territoriales, sin embargo, las hembras llegan a formar grupos pequeños con las crías de ese año.^{7,11,39} Viven en diferentes hábitats, en donde hay agua durante todo el año, como en bosques templados (de pino, encino y oyamel), en zonas lacustres; en zonas áridas se les encuentra cerca de bordos, presas y arroyos.⁷ Su distribución geográfica se extiende desde la parte central de Canadá hasta Panamá, incluyendo islas cerca de las costas, ha sido introducido en Francia, Alemania y algunas de las repúblicas que anteriormente formaban la URSS.^{7,39,16} Se ha utilizado a los mapaches como una especie indicadora en la vigilancia de zoonosis y contaminantes ambientales. Son reservorios de leptospirosis, rabia, enfermedad de Chagas y tularemia; el moquillo canino es causa de alta mortalidad en las poblaciones de mapaches y son susceptibles al virus de la panleucopenia felina.^{8,39,40}

El coati (*Nasua narica*) tiene el cuerpo largo y esbelto, cola larga, hocico largo y puntiagudo y orejas cortas. La coloración varía de castaño dorado a castaño rojizo, el peso promedio es de 3 a 6 Kg. Las hembras con sus crías son muy sociables y llegan a formar grupos de 25 o más individuos, mientras que los machos en su mayoría son solitarios. Tiene hábitos tanto arbóreos como terrestres y son principalmente diurnos.^{7,11,41} Habitan principalmente en regiones tropicales, aunque también se les puede encontrar en diferentes tipos de bosques (de roble, pino y pino – encino).^{7,41} Su distribución geográfica abarca desde los extremos sur y suroeste de Estados Unidos de América (Arizona y Nuevo México), México (exceptuando Baja California), Centroamérica, y una pequeña porción del norte de Colombia.^{15,16} Es muy susceptible a enfermedades como: rabia, moquillo canino, panleucopenia felina, tuberculosis y salmonelosis.^{8,41}

1.1.2 Orden *Marsupialia*

Este orden de mamíferos se encuentra principalmente en Australia, pero existen algunas especies que viven en Sur y Centroamérica que se han extendido al norte de América. Su característica principal es la presencia de una bolsa o marsupio en las hembras.^{7,8}

1.1.2.1 Familia *Didelphidae*

El **tlacuache** (*Didelphis marsupialis*) tiene una longitud aproximada de 50 cm incluyendo la cola, con patas cortas, nariz larga y puntiaguda y cola desnuda y prensil; el pelaje es variable pero por lo general es de un tono negro con pelos blancos intercalados, dándole un aspecto canoso. De hábitos nocturnos, es un animal solitario con una dieta omnívora, alimentándose principalmente de todo tipo de aves hasta del tamaño de una gallina, huevos, pequeños roedores, insectos, además de toda clase de frutas y carroña. Aunque su origen es tropical, ha invadido zonas áridas y templadas. Se le puede encontrar desde el norte de Estados Unidos de América, atravesando México, Centroamérica, y llega al sur hasta Perú, Bolivia y Brasil.^{7,11,42}

El **tlacuachillo de 4 ojos** (*Philander opossum*) es pequeño, pesa entre 200 y 680 g, tiene el pelo corto, de color gris en el dorso y blanco amarillento en el vientre, alrededor de los ojos tiene pelaje negro y una mancha blanca sobre cada ojo, esta es la razón por la que se le conoce con el nombre de cuatro ojos; tiene cola desnuda y prensil.^{43,44} Es un animal de hábitos estrictamente nocturnos y aunque se le considera omnívoro su dieta es predominantemente carnívora, incluyendo pequeños mamíferos, aves, huevos, lagartijas, ranas, insectos y crustáceos, además de algunas semillas, frutas y hojas.^{43,45,46} Este marsupial está ampliamente distribuido en América central y América del sur, se le encuentra desde México hasta el norte de Argentina.^{43,47}

Existe poca información acerca de las enfermedades a las que son susceptibles estas 2 especies. Los dos tlacuaches son afectados por *Histoplasma capsulatum*; y se menciona en la literatura, mediante estudios realizados en otras especies de esta familia, principalmente el tlacuache de Virginia (*Didelphis virginiana*), que la familia *Didelphidae* es susceptible a enfermedades y agentes etiológicos tales como: estreptococosis, *Pseudomonas spp.*, *Bordetella spp.*, salmonelosis, pasteurelisis, brucelosis, micobacteriosis, leptospirosis, *Escherichia coli*, rabia, enfermedad de Aujesky, encefalitis equina del oeste y herpesvirus tipo B, entre otras.⁴⁸

1.2 ENFERMEDADES

1.2.1 RABIA

La rabia es una enfermedad infecciosa aguda y mortal de la cual se tiene conocimiento en Asia y Europa desde la antigüedad; fue descrita en animales y en el hombre antes del año 2300 A. C. en Egipto y en Grecia fue descrita en animales domésticos por Demócrito (500 A. C.) y Aristóteles (322 A. C.).⁴⁹⁻⁵¹

El virus de la rabia es el serotipo 1 de 7 serotipos del género *Lyssavirus*, pertenecientes a la familia *Rhabdoviridae*.⁵² Es un virus envuelto con forma de bala y tiene un genoma de ARN. Se inactiva fácilmente con solventes orgánicos y detergentes, es sensible a la luz ultravioleta y al calor.^{50,53,54} La forma más común de transmisión es por la mordida de un animal enfermo, ya que el virus se elimina en la saliva; sin embargo, se ha descrito la posibilidad de otras vías tales como infección por aerosoles en cuevas con alta densidad de murciélagos, ingesta de tejidos infectados y transplantes de córnea.^{3,50,52,53,55,56}

La enfermedad se presenta en dos formas clínicas: furiosa y parálitica.⁴⁹⁻⁵² Son susceptibles todos los animales homeotermos aunque existen algunas diferencias entre especies; mientras que los zorros y coyotes son muy susceptibles al virus inoculado intramuscularmente, los tlacuaches son altamente resistentes.^{50,53} Aunque mundialmente se considera al perro como el principal transmisor de la rabia tanto a humanos como a otros animales, dependiendo de la zona geográfica existen diversas especies de animales silvestres que son reservorios o transmisores importantes de la enfermedad. En Estados Unidos de América y Canadá los vectores principales son los zorros (*Vulpes vulpes* y *Urocyon cinereoargenteus*), zorrillos (*Mephitis mephitis* y *Spilogale putorius*), mapaches, coyotes y murciélagos no hematófagos,^{50,53,57,58} en algunas zonas de Asia y en Europa es el zorro; en Africa y Asia es el chacal (*Canis aureus* y *C. mesomelas*),⁵⁰ y en México son los murciélagos hematófagos (*Desmodus rotundus*).^{50,58} No existen muchos reportes acerca de los casos de rabia en especies silvestres en México; se han mencionado algunos casos de rabia en zorrillos en Baja California Sur, Aguascalientes y San Luis Potosí,⁵⁸ y de algunos mamíferos pequeños como tlacuache (*Didelphis virginiana*), ardilla (*Spermophilus variegatus*), zorrillo, cacomixtle (*Bassariscus astutus*), gato (*Felis domesticus*) y perro (*Canis familiaris*) en México, D.F.³

1.2.2 MOQUILLO CANINO

El moquillo es una enfermedad febril, altamente contagiosa con una distribución mundial. Los primeros reportes en perros domésticos indican su presencia en Europa a mediados del siglo XVI.^{29,59-61}



El virus causante de esta enfermedad está clasificado dentro del género *Morbillivirus* perteneciente a la familia *Paramyxoviridae*; posee un genoma de ARN con sentido negativo y una envoltura lipoproteica, al igual que otros virus envueltos puede ser inactivado fácilmente con el calor, luz, detergentes, solventes lipídicos, desinfectantes y es inestable a temperatura ambiente.^{55,59,60,62}

Se transmite principalmente por aerosoles, exudados nasales y conjuntivales, orina, y heces; los animales con el curso agudo de la enfermedad diseminan el virus en todas las excreciones corporales; aún cuando no presenten signos clínicos. Tiene un curso agudo o subagudo que puede incluir signos respiratorios, gastrointestinales y/o nerviosos.^{29,59,60} Son susceptibles muchas especies del orden *Carnivora*, con mayor frecuencia de las familias *Canidae*, *Mustelidae*, *Procyonidae* y *Viverridae*. Sin embargo, recientemente se han visto afectadas especies de las familias *Hyaenidae* y *Felidae*, de estos últimos principalmente felinos mayores tales como el león (*Panthera leo*), tigre (*Panthera tigris*), leopardo (*Panthera pardus*), leopardo de las nieves (*Panthera uncia*) y jaguar (*Panthera onca*), en los cuales ha causado gran mortalidad tanto en animales de vida libre como en cautiverio.^{27-30,62} Aunque el moquillo canino parece ser un problema que va creciendo en los animales de vida silvestre, existen reportes que indican que esta enfermedad ha estado presente en felinos (leones y tigres en cautiverio) desde hace varios años pero que no había sido diagnosticada. Los carnívoros silvestres no son importantes en el mantenimiento del moquillo canino, pero la enfermedad es de relevancia en carnívoros de vida libre y principalmente en poblaciones pequeñas de especies susceptibles en peligro de extinción, así como en poblaciones dentro de zoológicos.^{62,63}

1.2.3 LEUCEMIA FELINA

El virus de la leucemia felina fue identificado por primera vez en 1964 en un grupo de gatos con linfosarcoma; pero se cree que se originó hace más de 1 millón de años, cuando un retrovirus endógeno de la rata infectó al antecesor del gato doméstico dando como resultado al virus felino exógeno.^{64,65}

El virus de la leucemia felina pertenece a la familia *Retroviridae* y está clasificado dentro del género *Gammaretrovirus* (retrovirus tipo C de mamíferos y reptiles).^{19,51,64,66,67} Es un virus envuelto con un genoma formado por ARN. Es extremadamente lábil cuando está fuera del huésped y puede ser fácilmente inactivado con alcohol, desinfectantes y detergentes comunes, es sensible al calor y a los rayos ultravioleta.⁶⁴⁻⁶⁸

Se le puede dividir en 3 subgrupos, el subgrupo A se transmite fácilmente de un gato a otro y causa rápidamente viremia después de la infección. Los subgrupos B y C son el resultado de polimorfismo en la proteína gp70 de la envoltura debido a una mutación o recombinación de secuencias del subgrupo A con secuencias retrovirales endógenas, estos 2 subgrupos no se transmiten de manera contagiosa entre los gatos. El curso de la enfermedad depende del subgrupo o combinación de subgrupos que están involucrados.^{64,65,67,68}

La vía más frecuente de transmisión es por contacto con la saliva de un animal virémico a través de mordidas; sin embargo también puede transmitirse por medio de orina, heces, lagrimas, leche y por vía transplacentaria.^{51,64,65} En gatos domésticos, la infección ha sido asociada con una gran variedad de desórdenes neoplásicos y no neoplásicos, en los cuales se incluye enfermedad linfoproliferativa, anemia y enfermedades secundarias debidas a inmunosupresión causada por el virus.⁴ Tiene distribución mundial en gatos domésticos y aunque la infección ocurre en felinos no domésticos no se le considera como importante en especies silvestres.^{18,55} Se han reportado casos de infección en el puma (*Felis concolor*),^{33,69} leopardo nebulosa (*Panthera nebulosa*),¹⁹ guepardo (*Acinonyx jubatus*),¹⁹ tigre y gato silvestre europeo (*Felis silvestris silvestris*).^{51,69}

1.2.4 INMUNODEFICIENCIA FELINA

El virus de la inmunodeficiencia felina fue descubierto recientemente y el primer nombre que se le dio fue el de lentivirus felino T- linfotrópico debido a su tropismo por los linfocitos T felinos. Pertenece al género *Lentivirus* dentro de la familia *Retroviridae*. Al igual que todos los retrovirus posee un genoma de ARN de cadena simple y es envuelto.^{51,65-68}

La transmisión es principalmente por mordeduras ya que el virus se elimina en grandes cantidades en la saliva de animales infectados, también puede ocurrir la transmisión transplacentaria o por el calostro, pero es poco frecuente.^{51,64,65,68}

La infección en el gato doméstico consiste en una deficiencia inmune caracterizada por fiebre, linfadenopatía, leucopenia, anemia, anorexia, infecciones secundarias y desórdenes neurológicos.^{23,64,70,71} Son susceptibles los gatos domésticos y se han detectado anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia felina, o contra virus relacionados al virus de la inmunodeficiencia felina, en varias especies de felinos silvestres; entre los cuales se incluye al guepardo, puma, gato montés, jaguar, leopardo, león, leopardo de las nieves, tigre y gato pallas (*Otocolobus manul*), tanto en cautiverio como en vida libre.^{19-26,64,69,71,72} Aunque anteriormente se creía que los lentivirus relacionados con el virus de la inmunodeficiencia felina eran específicos de cada especie y que no eran infecciosos para los gatos domésticos, recientemente se ha reportado la infección entre especies, de lentivirus de puma a gatos domésticos y de virus de inmunodeficiencia felina a puma.^{20,65,72}

1.3 HIPÓTESIS

Algunas especies de mamíferos silvestres (carnívoros y marsupiales) en el noreste de México son susceptibles de padecer enfermedades virales que comúnmente afectan a felinos y otros carnívoros domésticos.

1.4 OBJETIVOS

- I. Realizar el diagnóstico de laboratorio de las enfermedades virales que se mencionan a continuación en mamíferos de vida libre en el Noreste de México.
 - Moquillo canino
 - Rabia
 - Inmunodeficiencia felina
 - Leucemia felina

- II. Identificar si algunas especies que son presas potenciales pueden ser transmisoras de estas enfermedades a los depredadores.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

Se seleccionaron dos diferentes áreas de estudio en el Estado de Tamaulipas, México.

La primera localizada en la costa de Tamaulipas, adyacente al Golfo de México, perteneciente al Municipio de Soto la Marina. En esta región la captura de los animales se llevó a cabo específicamente en 2 ranchos ganaderos privados: Los Ebanos y Los Pericos (23°27'N; 97°48'O). En estos ranchos se ha eliminado algo de la vegetación nativa con cortes en franjas, para permitir el acceso al forraje del ganado y se han mantenido franjas con maleza propia del lugar. Aquí la temperatura varía de -5°C a 34°C con un promedio de 25°C. La precipitación anual tiene un promedio de 92.7 cm, con variaciones durante el año. La vegetación nativa se clasifica como selva baja tropical, propia de la provincia biótica veracruzana, las especies predominantes de árboles son: ébano (*Pithecollobium flexicaule*), chaca (*Bursera simaruba*), higuerón (*Ficus tecolutensis*), tepehuaje (*Lysiloma acapulcensis*), guácima (*Guazuma ulmifolia*), mezquite (*Prosopis glandulosa*), granjero (*Celtis reticulata*) y varias especies de *Acacia* spp. Entre las especies de plantas se pueden encontrar mala mujer (*Cridoscalus multilobus*) y jaboncillo (*Sapindus saponaria*); los pastos dominantes son zacate Guinea (*Panicum maximum*) y zacate estrella africano (*Cynodon dactylon*).¹⁴ Se escogió esta zona debido a que se han realizado estudios anteriores con algunas de las especies de fauna que se incluyeron en este trabajo de investigación y se habían observado las otras especies en el área.

La segunda área se localiza en el Municipio de Guerrero, Nuevo Laredo, Tamaulipas; en los ranchos Santo Domingo (26°15'15"N; 99°44'5"O) y Santa Teresa (26°55'17"N; 99°37'59"O), que forman parte de la Asociación Nacional de Ganaderos Diversificados (ANGADI). La actividad de estos ranchos es principalmente ganadera y agrícola. Se dedican a la cría y engorda de ganado bovino, producción de ovinos y caprinos, cría de equinos y a la producción de semillas de diferentes especies de pastos; así como el aprovechamiento de la flora y fauna silvestre del lugar. El clima es seco, de tipo semidesértico, con temperaturas extremas de 43°C, con sequías periódicas en el verano y de -11°C durante el invierno; con lluvias escasas que van desde muy ligeras hasta tormentosas. La vegetación se clasifica como propia de la provincia biótica tamaulipeca; predominando los matorrales, arbustos, pastos, ébanos, mezquite, huizaches, retamas, gatuño y cactáceas. Se cultivan principalmente el trigo, maíz y frijol; así como diferentes variedades de sorgo y zacates como el buffel, pretoria y "rye grass".⁷³ Se seleccionó esta área porque se habían observado diferentes especies de fauna silvestre, venado cola blanca, pécarí de collar, coyote, conejo, gato montés y mapache, entre otras; que son presas potenciales o comparten el

hábitat con ocelotes y jaguarundis, por lo que era de importancia confirmar la presencia de estos felinos en la zona.

2.1 CAPTURA DE ANIMALES Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Se establecieron 2 períodos de trampeo para los ranchos del Municipio de Soto la Marina, con una duración de 15 días cada uno (22 de octubre de 1999 a 5 de noviembre de 1999; 1º de abril de 2000 a 15 de abril de 2000), y un período de trampeo para los ranchos del Municipio de Guerrero, con una duración de 26 días (13 de febrero de 2000 a 10 de marzo de 2000).

Para la captura se utilizaron trampas Tomahawk de malla de alambre (107 X 50 X 40 cm) con un compartimento para la carnada viva, se utilizaron como carnada gallinas (*Gallus* sp.). Las trampas fueron colocadas en lugares con suficiente sombra a lo largo de senderos donde habían sido observadas huellas de los animales de interés. Las trampas fueron revisadas todas las mañanas durante los períodos de captura, y fueron retiradas al terminar estos.

Los animales capturados fueron inmovilizados por medio de contención química utilizando una combinación de ketamina y xilacina por vía intramuscular a una dosis de 15-20 mg/Kg de ketamina y 5 mg/Kg de xilacina aproximadamente,¹⁴ con algunas variaciones en la dosis dependiendo de la especie capturada. Se realizó un examen físico a cada ejemplar capturado evaluando el estado general, color de mucosas, temperatura rectal, frecuencia cardíaca, y frecuencia respiratoria. Se registró el sexo, edad y peso del animal, así como algunas medidas corporales: longitud del cuerpo, cola, circunferencia del cuello, longitud de caninos. Se colectaron muestras de 1, 3 o 5 ml de sangre, dependiendo del tamaño del ejemplar capturado, a partir de la vena radial o safena utilizando jeringas estériles de 10 o 5 ml de capacidad y agujas de calibre #21, previa desinfección de la piel con un algodón impregnado con alcohol. Las muestras sanguíneas se colocaron en tubos Vacutainer estériles sin anticoagulante que se mantuvieron en refrigeración; el suero fue obtenido por medio de centrifugación a 1,500 rpm durante 15 minutos, almacenado en otro tubo estéril, y mantenido en congelación hasta su posterior análisis serológico en el laboratorio de virología del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M.. También se obtuvieron impresiones conjuntivales utilizando hisopos estériles y realizando la impresión en portaobjetos, también se hicieron frotis sanguíneos y fueron colectados ectoparásitos por medio de pinzas y colocados en tubos de ensaye con alcohol. A los felinos capturados en los ranchos Los Ebanos y Los Pericos se les colocó un collar con radio transmisor ("Wildlife Materials inc.", "Telonics inc") para su identificación; a los otros mamíferos capturados se les identificó temporalmente por medio de pintura y corte de pelo. Los animales fueron supervisados constantemente y liberados en el lugar de captura, después de la recuperación total. También se obtuvieron muestras de sangre e impresión conjuntival de 4 felinos del zoológico Zoofari localizado en el Km. 55 de la carretera federal Cuernavaca – Taxco, el día 22 de julio de 2000.

2.2 ANÁLISIS REALIZADOS EN EL LABORATORIO

- a) Detección del virus de moquillo canino por medio de la prueba de inmunofluorescencia, utilizando muestras de impresión conjuntival.^{29,50,60,61,74}
- b) Detección de anticuerpos contra el virus de la rabia por medio de la prueba rápida de reducción de focos fluorescentes, utilizando muestras de suero.^{51,54,75}
- c) Detección del antígeno del virus de leucemia felina, por medio de kits de diagnóstico con la prueba de ELISA (Snap combo de IDEXX) utilizando muestras de suero.^{25,33,60,65,71}
- d) Detección de anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia felina por medio de kits de diagnóstico con la prueba de ELISA (Snap combo de IDEXX), utilizando muestras de suero.^{21,25,60,64,70,71}

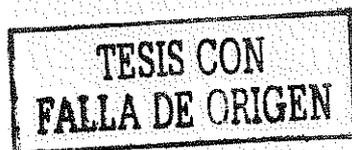
a) Detección del virus de moquillo canino:

Se utilizaron muestras de impresión conjuntival y se realizó la prueba de inmunofluorescencia para moquillo canino.⁷⁴

b) Detección de anticuerpos contra el virus de la rabia:

Cultivos celulares.- Se utilizaron células BHK-21 (Baby hamster kidney) las cuales se trabajaron con medio MEM (medio mínimo esencial) al 10% adicionado de 10% de suero fetal bovino y 10% de TBP (Tryptose phosphate broth). Se hicieron 2 pases por semana, transfiriendo a 3 botellas nuevas, con aproximadamente 740,000 células/botella y adicionándoles 5 ml MEM por botella, los cultivos celulares se mantuvieron a 37 °C, en una incubadora con 5% de CO₂.⁷⁵

Producción de virus.- Se utilizó virus PV - ff 6^{to} pasaje en una dilución 1:100, se inocularon 0.5 ml por botella a tres botellas con monocapas de células BHK-21 pase 81, se incubaron a 37°C durante 1 hora, posteriormente se les adicionaron 5 ml de MEM a cada botella y se incubaron a 36.5°C con 5% de CO₂ durante una semana. Una de las botellas se cosechó a los 4 días posteriores a la inoculación del virus, se fijó en acetona al 80% durante 30 minutos, se incubó con conjugado para rabia durante 1 hora y se observó en el microscopio de inmunofluorescencia para comprobar la presencia del virus. Transcurrida una semana se realizó una primera cosecha la cual se distribuyó en alícuotas de 3 ml cada una y se congelaron a -70°C; a las botellas se les añadió medio MEM y se incubaron en las mismas condiciones durante 4 días, posteriormente se realizó una segunda cosecha, se distribuyó en alícuotas y se congeló a -70°C. Una de las botellas se utilizó para los estudios de microscopía electrónica, para comprobar la presencia



de virus en las células. La otra botella se fijó en acetona al 80% durante 30 minutos y se guardó en refrigeración para observarla en el microscopio de inmunofluorescencia. Se realizó el mismo procedimiento anterior en 3 botellas nuevas con monocapas de células BHK-21 pase 19, obteniéndose una cosecha al 4to día después de la inoculación con el virus, otra cosecha a la semana y una última cosecha el día 12 después de la inoculación con el virus. Las botellas fijadas en acetona 80% no mostraron inmunofluorescencia; sin embargo, en la botella enviada a microscopía electrónica se observó el virus de la rabia en las células (Fig 1 y 2). Para comprobar los resultados obtenidos con las cosechas se usaron 16 ratones, se les dividió en 4 grupos, el primer grupo se inoculó con 0.03 ml/ratón de virus PV – ff 6^{to} pasaje, el segundo grupo se inoculó con 0.03 ml/ratón de la cosecha obtenida al 4^{to} día, el tercer grupo se inoculó con 0.03 ml/ratón de la primera cosecha obtenida a la semana y el cuarto grupo se inoculó con 0.03 ml de la segunda cosecha. Se observaron diariamente para evaluar la presencia de signos compatibles con la rabia y la muerte posterior a los signos observados. A los animales que murieron después del 4^{to} día de la inoculación se les extrajo el encéfalo y se realizaron impresiones en portaobjetos, se fijaron en acetona al 80% durante 30 minutos, se realizó la tinción de inmunofluorescencia y se observaron en el microscopio de luz ultravioleta. NOTA.- Colaboración de la Q.F.B. Ma. De la Luz Rosales Montaña, responsable del Laboratorio de Microscopía Electrónica del Departamento de Patología, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M.

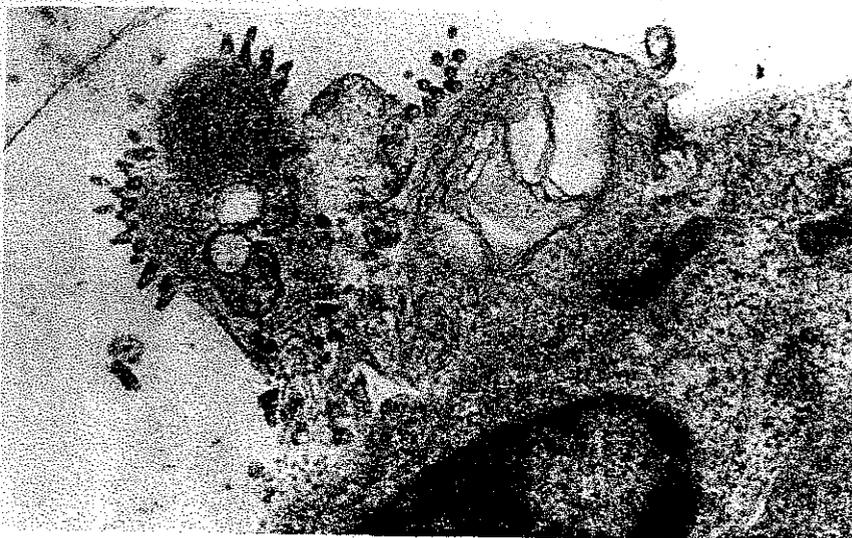


Figura 2.2.1 Células BHK infectadas con virus de rabia, microscopía electrónica de transmisión.



Figura 2.2.2 Acercamiento de estructuras en forma de bala, correspondientes al virus de la rabia.

Se encontraron 4 ratones muertos antes del 4to día de inoculación y fueron desechados inmediatamente. A partir del 5^{to} día, después de la inoculación con el virus, se observaron signos de parálisis en algunos ratones y la muerte de estos al día siguiente, de esta forma murieron todos los ratones; al observar las impresiones de encéfalo en el microscopio todas presentaron inmunofluorescencia positiva, indicadora de presencia del antígeno viral.

Titulación del virus.- Se utilizó una placa para cultivo celular de 96 pozos de fondo plano, conteniendo monocapas de células BHK-21 realizando las titulaciones por duplicado, distribuyendo en la columna 1 y 2 el virus PV – ff 6^{to} pasaje y cada una de las cosechas obtenidas en las columnas siguientes, incluyendo la cosecha obtenida al 4^{to} día después de la primera inoculación con el virus. La última fila se utilizó para el control de células. Del resultado obtenido se consideró la cosecha que presentara mejor título para realizar la prueba rápida de reducción de focos fluorescentes.⁷⁶

Para la prueba rápida de reducción de focos fluorescentes además de utilizar los sueros de los animales capturados, tanto en los ranchos del Estado de Tamaulipas como del zoológico Zoofari, se utilizaron como controles el suero de la sustentante obtenido 15 días después de la vacunación contra el virus de la rabia y los sueros de 2 perros domésticos obtenidos 15 días después de la vacunación antirrábica preventiva. Los sueros que resultaron positivos a la presencia de anticuerpos contra la rabia se titularon realizando diluciones triples seriadas.

c) Detección del antígeno del virus de leucemia felina,

d) Detección de anticuerpos contra inmunodeficiencia felina:

Se utilizó el kit Snap Combo FeLV Ag/FIV Ab de IDEXX que consiste en una prueba de ELISA (análisis por inmunoabsorción ligada a enzimas), diseñado para detectar simultáneamente los antígenos del virus de la leucemia felina (FeLV) y los anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia felina (FIV) en suero, plasma o sangre completa. La detección del antígeno viral específico para el grupo FeLV (p27) implica una infección por el virus de leucemia felina. La medición de los anticuerpos específicos contra el FIV indica que el animal ha sido expuesto al virus y que hay una infección activa por el virus de inmunodeficiencia felina. El análisis Snap Combo FeLV Ag/FIV Ab utiliza anticuerpos monoclonales contra el p27, antígeno del FIV inactivado y controles positivos y negativos. Se utilizó el kit de diagnóstico de acuerdo a las especificaciones del laboratorio.

3. RESULTADOS

Durante los períodos de muestreo en el Estado de Tamaulipas se capturaron un total de 36 individuos: 11 pertenecientes al orden *Marsupialia* y 25 al orden *Carnívora*. Se obtuvieron muestras de impresión conjuntival de todos los ejemplares, con la finalidad de realizar la prueba de inmunofluorescencia para la detección del virus de moquillo canino. Las pruebas serológicas para rabia, inmunodeficiencia felina y leucemia felina sólo se realizaron en 24 carnívoros, debido a que el volumen de sangre obtenido de 10 tlacuaches, 1 tlacuachillo de 4 ojos y un coati no fue suficiente. En el Zoológico Zoofari se obtuvieron muestras tanto de impresión conjuntival como de sangre de 4 individuos pertenecientes a la familia *Felidae*, a todas las muestras de estos animales se les realizaron pruebas para las 4 enfermedades incluidas en la investigación.

Los animales capturados en los ranchos del Estado de Tamaulipas incluyeron 1 tlacuachillo de 4 ojos (*Philander opossum*), 10 tlacuaches (*Didelphis marsupialis*), 1 coyote (*Canis latrans*), 6 mapaches (*Procyon lotor*), 2 coati mundis (*Nasua narica*), 1 jaguarundi (*Herpailurus yaguarondi*), 8 ocelotes (*Leopardus pardalis*) y 7 gatos monteses (*Lynx rufus*). En los ranchos Los Ebanos y Los Pericos localizados en el Municipio de Soto la Marina, se capturaron 1 tlacuachillo de 4 ojos (TO1), 8 tlacuaches (T1 al T8), 1 coyote (C1), 2 mapaches (M1 y M6), dos coati mundis (CM1 y CM2), 1 jaguarundi (J1), 8 ocelotes (O1 al O8) y 1 gato montés (G7), dando un total de 24 individuos (Cuadros 3.1 y 3.2). En los ranchos Santa Teresa y Santo Domingo, localizados en el Municipio de Guerrero se capturaron 2 tlacuaches (T9 y T10), 4 mapaches (M2 al M5), y 6 gatos monteses (G1 al G6), dando un total de 12 individuos (Cuadro 3.3).

En el zoológico Zoofari, se obtuvieron muestras de 2 gatos monteses, 1 jaguarundi y 1 ocelote. Todos se encontraban en aparente buen estado de salud; se utilizó la misma combinación de Ketamina y Xilacina que en los animales de vida libre; no hubo dificultades durante la contención química (Cuadro 3.4).

La mayoría de los animales se encontraron en aparente buen estado de salud, excepto los tlacuaches T2, T4, T7, y T9 que se encontraron muy delgados, dos de ellos con heridas infectadas en miembros anteriores, y el coyote que presentaba un prolapso rectal. Aunque todos los individuos presentaron ectoparásitos (pulgas y garrapatas), se encontró mayor número de estos en los animales capturados en el municipio de Soto la Marina, y en general presentaron mayor infestación por ectoparásitos los tlacuaches (*Didelphis marsupialis*) que las otras especies. Todos los animales se recuperaron bien de la inmovilización química, sólo se presentaron convulsiones en el mapache M6, pero se recuperó después del tiempo estimado. El gato montés G7 fue encontrado muerto aproximadamente 1 mes después de la captura, se desconoce la causa de la muerte y no se obtuvieron muestras.



Cuadro 3.1 Especies capturadas en el Municipio de Soto la Marina, Tamaulipas, México; del 26 de octubre al 4 de noviembre de 1999.

26/10/99						13/4/00
Especie	individuo	edad	sexo	collar de identificación	pruebas	
Tiacuachillo de 4 ojos	TO1	A	♀	-	Mc	
Tiacuache	T1	A	♂	-	Mc	
	T2	J	♂	-	Mc, R, L, I	
	T3	J	♂	-	Mc	
	T4	J	♂	-	Mc	
	T5	A	♂	-	Mc	
	T6	A	♂	-	Mc, R, L, I	
	T7	A	♀	-	Mc	
	T8	J	♂	-	Mc	
Mapache	M1	A	♂	-	Mc, R, L, I	
Coyote	C1	J	♀	-	Mc, R, L, I	
Coatí	CM1	J	♂	-	Mc	
	CM2	A	♀	-	Mc, R, L, I	
Ocelote	O1	A	♀	338 ATS, 834.21 Telonics	Mc, R, L, I	
	O2	A	♂	659 ATS, 866.3 Telonics	Mc, R, L, I	
	O3	J	♀	1800 ATS, 980.35 Telonics	Mc, R, L, I	
	O4	A	♂	826.25 Telonics	Mc, R, L, I	
Jaguarundi	J1	J	♂	582 ATS, 858.51 Telonics	Mc, R, L, I	

■ Período de captura

PRUEBAS

Mc.- Moquillo canino

R.- Rabia

L.- Leucemia felina

I.- Inmunodeficiencia felina

EDAD

A.- Adulto

J.- Joven

SEXO

♀.- Hembra

♂.- Macho

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 3.2 Especies capturadas en el Municipio de Soto la Marina, Tamaulipas, México; del 5 al 13 de abril de 2000.

especie	individuo	edad	sexo	collar de identificación	pruebas
Mapache	M6	J	♂	-	Mc, R, L, I
Ocelote	O5	A	♂	Recaptura 659 ATS	Mc, R, L, I
	O6	A	♂	Recaptura 826.25 Telonics	Mc, R, L, I
	O7	J	♀	-	Mc, R, L, I
	O8	A	♀	1578 ATS, 958.22 Telonics	Mc, R, L, I
Gato montés	G7	A	♂	583 ATS, 858.55 Telonics	Mc, R, L, I

Cuadro 3.3 Especies capturadas en el Municipio de Guerrero, Tamaulipas, México; del 17 de febrero al 7 de marzo de 2000.

especie	individuo	edad	sexo	Pruebas
Tlacuache	T9	A	♂	Mc
	T10	A	♂	Mc
Mapache	M2	A	♂	Mc, R, L, I
	M3	A	♂	Mc, R, L, I
	M4	A	♂	Mc, R, L, I
	M5	A	♂	Mc, R, L, I
Gato montés	G1	A	♀	Mc, R, L, I
	G2	A	♂	Mc, R, L, I
	G3 recaptura G2	A	♂	Mc
	G4	A	♀	Mc, R, L, I
	G5 recaptura G1	A	♀	Mc
	G6	J	♂	Mc, R, L, I

Cuadro 3.4 Especies muestreadas en el zoológico Zoofari el 22 de julio de 2000 (fuera del período de muestreo de campo).

ESPECIE	INDIVIDUO	SEXO	PRUEBAS
Gato montés	GZ1	♀	Mc, R, L, I
	GZ2	♂	Mc, R, L, I
Jaguarundi	JZ1	♀	Mc, R, L, I
Ocelote	OZ1	♀	Mc, R, L, I

Todos los animales eran adultos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Moquillo canino

Todos los animales resultaron negativos al virus del moquillo canino por medio de la prueba de inmunofluorescencia.

Rabia

Por medio de una primera prueba rápida de reducción de focos fluorescentes, no presentaron inmunofluorescencia, en la dilución 1/9 del virus, 4 animales silvestres y 2 animales del zoológico, además de que no fue posible evaluar correctamente el suero de 2 animales silvestres. También en esta prueba 18 animales silvestres y 2 animales de zoológico resultaron negativos. La ausencia de inmunofluorescencia en esta prueba indica la posible presencia de anticuerpos, y para confirmar lo anterior fue necesario realizar una segunda prueba rápida de reducción de focos fluorescentes para la titulación de los sueros sospechosos de la primera prueba y de los sueros que no fueron evaluados. Los resultados de esta segunda prueba fueron de 7 animales positivos a anticuerpos contra el virus de la rabia y 1 animal negativo. El resultado conjunto de ambas pruebas fue de 7 animales positivos y 21 negativos. De los animales que resultaron positivos, 5 fueron animales silvestres (mapache M1, coatí CM2, ocelotes O3 y O6 capturados en el Municipio de Soto la Marina y el gato montés G1 capturado en el Municipio de Guerrero) y 2 fueron animales del zoológico (gato montés GZ1 y jaguarundi JZ1); el título en Unidades Internacionales/ml se muestra en el Cuadro 3.5. El resultado positivo indica la presencia de anticuerpos contra el virus de la rabia, se consideran positivos los valores con un título mayor a 0.5 UI/ml, y negativos todos los valores menores a este título. En el caso del jaguarundi JZ1 al momento de realizar la segunda prueba se utilizaron 30 μ l de suero en lugar de 50 μ l como con las otras muestras debido a que no había suficiente muestra, aún así el resultado fue positivo pero el título no es exacto para este individuo.

Leucemia felina e inmunodeficiencia felina

Todas las muestras resultaron negativas al virus de la leucemia felina.

El gato montés G4 del Municipio de Guerrero mostró anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia felina en la prueba realizada con el kit de diagnóstico Snap Combo FeLV ag/FIV ab (IDEXX Laboratories, Inc. Westbrook, Maine 04092 USA).

Cuadro 3.5 Prueba rápida de reducción de focos fluorescentes para la detección de anticuerpos contra el virus de la rabia.

Procedencia	individuo	Resultado	Título en UI/ml
Soto la Marina, Tamps.	T2	Negativo	0.01
	T6	Negativo	0.01
	M1	Positivo	0.71
	M6	Negativo	<0.01
	CM2	Positivo	0.71
	C1	Negativo	<0.01
	J1	Negativo	0.01
	O1	Negativo	0.01
	O2	Negativo	<0.01
	O3	Positivo	0.96
	O4	Negativo	0.01
	O5	Negativo	0.01
	O6	Positivo	0.75
	O7	Negativo	0.01
O8	Negativo	<0.01	
	G7	Negativo	0.43
Guerrero, Tamps.	M2	Negativo	0.01
	M3	Negativo	0.01
	M4	Negativo	<0.01
	M5	Negativo	<0.01
	G1	positivo	0.7
	G2	Negativo	0.01
	G4	Negativo	<0.01
	G6	Negativo	0.01
Zoofari	GZ1	Positivo	1.62
	GZ2	Negativo	0.01
	OZ1	Negativo	<0.01
	JZ1	Positivo	0.75

Se consideran positivos los animales que presentaron un título mayor a 0.5 UI/ml.



4. DISCUSIÓN

En México existen pocos reportes acerca de las enfermedades virales que pueden padecer los animales silvestres. A pesar de que se llevan a cabo estudios de campo con diferentes especies, la mayoría de estas investigaciones se enfoca exclusivamente en aspectos ecológicos, sin incluir el aspecto veterinario. Y aunque en estos estudios se inmoviliza a los animales para obtener medidas corporales, pesarlos y colocarles collares con radiotransmisor; no siempre se toman muestras que puedan ser útiles en el diagnóstico de enfermedades y ayudar a entender el comportamiento de las poblaciones y la mejor manera de desarrollar programas de conservación.

En el presente trabajo de investigación de 36 animales de vida libre y 4 animales en cautiverio muestreados, 8 individuos presentaron anticuerpos contra alguno de los agentes infecciosos que se consideraron en el estudio. Sin embargo, sólo hubo positivos contra 2 de los agentes virales estudiados (inmunodeficiencia felina y rabia) y ningún animal presentó anticuerpos contra 2 o más enfermedades. Esto no significa que no lleguen a padecer dichas enfermedades, sólo indica que en los animales capturados no había evidencia de ellos en el momento en que fueron obtenidas las muestras. En el Municipio de Soto la Marina se encontraron positivos a anticuerpos contra el virus de la rabia en 4 individuos; en el municipio de Guerrero resultaron positivos 2 individuos, 1 a rabia y 1 a inmunodeficiencia felina; de los animales en cautiverio 2 presentaron anticuerpos contra el virus de la rabia.

La prueba de inmunofluorescencia para la detección del antígeno del virus del moquillo canino además de llevarse a cabo en las muestras de todos los animales capturados tanto de vida libre como en cautiverio, se realizó junto con muestras de perros domésticos que fueron llevadas para diagnóstico al laboratorio y junto con muestras de 1 jaguar y 3 pumas silvestres capturados en la Reserva de la Biósfera de Calakmul, Campeche, que forman parte de un proyecto del Instituto de Ecología de la UNAM; aunque ninguna de las muestras de los animales pertenecientes a la presente investigación resultó positiva con esta prueba, es importante mencionar que 1 puma sí resultó positivo, lo cual indica que esta prueba además de realizarse adecuadamente (ya que también se tienen a los perros domésticos que resultaron positivos y que en este caso se utilizaron como control de la prueba) funciona para el diagnóstico de la enfermedad en animales silvestres y también comprueba que los felinos silvestres en México son susceptibles al virus del moquillo canino; Max Appel 1995 menciona que los felinos domésticos son susceptibles a la infección con este virus, sin manifestación de signos clínicos; sin embargo, en el caso de los felinos silvestres se han reportado brotes de la enfermedad principalmente en felinos mayores, tanto de vida libre como en cautiverio, causando importantes mortalidades.^{28,29,30,62} El resultado en el puma de esta investigación, indica que en esa zona los animales silvestres están en contacto con el virus de moquillo canino, pero esto no indica

necesariamente que el individuo manifieste signos clínicos de la enfermedad, ya que las muestras fueron obtenidas de los animales capturados para el proyecto mencionado y no de animales sospechosos de presentar alguna infección. De la misma manera, los resultados negativos no significan que esos individuos no estén en contacto con el virus, porque como se menciona en la literatura la positividad de la prueba de inmunofluorescencia en muestras de impresión conjuntival, depende de la etapa de la infección, además de ser una prueba con baja sensibilidad.⁷⁷ Aunque estos felinos habitan en una reserva, existe presión humana alrededor de ella, lo que aumenta la probabilidad de contacto entre especies silvestres y domésticas y el contagio de enfermedades, situación que no está considerada en el plan de manejo de la reserva. Por lo mismo, al capturar a los animales silvestres no se obtienen muestras de forma rutinaria ni se estudian mediante pruebas de laboratorio y por ello no se conoce el estado de salud de las poblaciones que forman parte de los proyectos de conservación. Este factor puede ocasionar que en los programas de traslocación y reintroducción se transmitan enfermedades a otros sitios en los que no estaban presentes y viceversa, afectando de manera importante al ecosistema.

Se utilizó el kit comercial Snap Combo FeLV ag/FIV ab (IDEXX Laboratories) para detectar simultáneamente el antígeno del virus de leucemia felina y los anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia felina, dando como resultado un individuo (gato montés G4) positivo sólo a la inmunodeficiencia felina y todas las muestras negativas a leucemia felina. En algunas investigaciones realizadas en felinos no domésticos, principalmente en zoológicos, en Estados Unidos de América y el sur de África ya se había utilizado este kit comercial, por esta razón se sabe que funciona bien en el diagnóstico de ambas enfermedades en animales silvestres^{25,71}, sin embargo en México no se ha estudiado. Aunque se han reportado algunos casos de infección con el virus de leucemia felina en felinos silvestres, este virus no se considera de importancia significativa en estos animales, a diferencia de la importancia que tiene en felinos domésticos.¹⁹ En cambio se ha encontrado infección con el virus de inmunodeficiencia felina o con lentivirus estrechamente relacionados a éste, en diferentes especies tales como el león, leopardo, jaguar, guepardo, tigre, puma y gato montés; tanto silvestres como en cautiverio; se ha demostrado la transmisión entre especies existiendo la posibilidad de la transmisión de felinos domésticos a no domésticos y viceversa; la presencia de anticuerpos con reacción cruzada con los antígenos del virus de inmunodeficiencia felina, y la posibilidad de enfermedad causada por estos virus.^{19,20,21,23,25,71,72} El resultado de un gato montés positivo a anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia felina, indica que ha sido expuesto al virus así como la presencia del virus en el área de estudio, pero por medio de la prueba utilizada no se puede determinar si presenta anticuerpos específicos contra el virus de inmunodeficiencia felina o contra un lentivirus relacionado, ya que debido a que las muestras de los animales fueron obtenidas en ranchos ganaderos, los animales silvestres pueden entrar en contacto con animales domésticos y de esta manera

transmitirse enfermedades. La infección con este virus puede predisponer a otro tipo de enfermedades y de esta manera disminuir las poblaciones de felinos silvestres en la región.

En el caso del virus de la rabia presentaron anticuerpos 1 mapache, 1 coati y 2 ocelotes del municipio de Soto la Marina, Tamaulipas, mientras que sólo fue positivo 1 gato montés del municipio de Guerrero, Tamaulipas; en cuanto a los animales del zoológico presentaron anticuerpos 1 jaguarundi y 1 gato montés. Uno de los ocelotes (O6) fue capturado en dos ocasiones, la primera en octubre de 1999 en donde se le identificó como O4 y resultó negativo en la prueba rápida de reducción de focos fluorescentes, y la segunda ocasión en abril de 2000 identificándose como O6 en donde resultó positivo con la prueba anteriormente mencionada. El resultado en los animales silvestres sugiere la presencia del virus de la rabia en ambas áreas de estudio, los animales han estado en contacto con el virus aunque esto no significa que padezcan la enfermedad. Se ha mencionado que algunas especies como los tlacuaches son más resistentes a la enfermedad que otros mamíferos, mientras que los mapaches, zorrillos, murciélagos y muchas especies de la familia *Canidae* son más susceptibles a la infección y son considerados como reservorios importantes en Estados Unidos de América y Canadá así como en algunos países de Asia y Africa.^{50,53,60} En México se ha identificado la infección con este virus en especies silvestres, principalmente en zorrillos (*Spilogale putorius*, *Conepatus leuconotus*); sin embargo, también se ha demostrado en otras especies como el gato montés, tlacuache, y cacomixtle (*Bassariscus astutus*).^{3,58} La mayoría de los diagnósticos de rabia se realizan postmortem, generalmente a partir del tejido cerebral, en este proyecto se utilizaron muestras de suero, por lo tanto, aunque no es el mejor método de diagnóstico, es útil para conocer si los animales han estado expuestos al virus en determinadas regiones, sin la necesidad de sacrificarlos y sin saber si han presentado signos clínicos previamente; ya que esta prueba detecta los anticuerpos, esto no significa que el animal padezca la enfermedad; pero además detecta individuos que han sido vacunados anteriormente, como es el caso de los 2 felinos del zoológico que resultaron positivos y aún cuando se había reportado que no estaban vacunados, por medio de los títulos de anticuerpos obtenidos se puede sospechar que probablemente fueron vacunados antes de ser adquiridos por el zoológico. El haber encontrado un animal positivo y uno negativo dentro del mismo albergue (gatos monteses) sugiere que probablemente fueron adquiridos en diferentes lugares o que fueron expuestos al virus pero en diferentes condiciones. Durante los últimos 3 años (1999 – 2001), el SIVE (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica) ha reportado casos positivos a rabia en el Estado de Tamaulipas, diagnosticados a partir de muestras de cerebro, siendo los bovinos la especie con mayor incidencia, seguidos de equinos, murciélagos, ovinos y roedores. De las especies silvestres consideradas en el reporte del SIVE, todas las mencionadas se refieren a quirópteros, los cuales son uno de los elementos fundamentales en la epidemiología de la enfermedad, pero se está excluyendo a un vasto número de animales que también están en contacto con las poblaciones

rurales y urbanas y que pudieran actuar como reservorios o vectores. Situación que se pone de manifiesto en los resultados obtenidos en esta investigación, donde prociénidos y felinos silvestres se encontraron con presencia de anticuerpos contra rabia, lo que demuestra el contacto previo con el virus y son los primeros reportes de la ocurrencia de la enfermedad en estas especies en el Estado de Tamaulipas.

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede concluir que a pesar de que las pruebas realizadas no son las más indicadas o las más sensibles, son muy útiles y pueden ser incluidas fácilmente en los trabajos de campo que se llevan a cabo con especies silvestres en las que no se quiere sacrificar a los animales, como es el caso de las especies amenazadas, o en peligro de extinción; con este tipo de pruebas se puede conocer a que agentes infecciosos puede estar expuesto el animal en estudio y prever mortalidades realizando programas de prevención, manejo y conservación adecuados y tomando en consideración todos los riesgos que se pueden presentar. Además de que las muestras utilizadas son fáciles de obtener y se pueden coleccionar durante el tiempo estimado para la inmovilización. También es importante considerar qué enfermedades afectan a las diferentes especies y conocer las características de dichas enfermedades y su efecto en los proyectos de reintroducción o traslocación. Ya que es posible introducir agentes infecciosos en poblaciones que no habían sido afectadas anteriormente por ellos, o provocar brotes debido al manejo que se realiza con los animales. Como se mencionó al principio de esta investigación, la densidad de las poblaciones, perturbación del hábitat, fragmentación, contaminación y la introducción de nuevas especies, entre otros factores, pueden modificar el comportamiento de los parásitos en un determinado huésped.

Es importante conocer la dinámica de las enfermedades dentro de los ecosistemas naturales. Como se mencionó anteriormente, algunas especies puede que funjan como reservorios (como los mapaches y tlacuaches con el virus de la rabia), o que sean más susceptibles que otras (como los mismos mapaches y los miembros de la familia *Canidae* con el moquillo canino). Entonces el efecto que tenga el parásito sobre el mantenimiento de la cadena alimenticia y el balance natural será diferente. Hablando específicamente de los felinos estudiados, puede que su número se vea disminuido directamente por el efecto de cierta enfermedad o que la población de alguna de sus presas potenciales sea la afectada. Pero en ambos casos su ámbito hogareño o su preferencia alimenticia tendrán que adaptarse a la nueva situación. Lo cual deberá ser predicho y evitado por los programas de conservación con la ayuda de un monitoreo y una vigilancia epidemiológica continuos, sobre todo si se trabaja con especies en peligro de extinción.

Otro aspecto que se debe tomar en consideración en los trabajos de campo es que algunos de estos virus causan zoonosis, como es el caso de la rabia en la presente investigación. Por esta razón es necesario que las personas involucradas

en los proyectos de campo, tomen precauciones al manejar a los animales capturados, ya que aunque no presenten signos clínicos al momento de la captura (la mayoría de las veces los signos son imposibles de ser observados en el corto tiempo que se trabaja con ellos), pueden ser un riesgo para otros animales y para los humanos. Al conocer la presencia de determinada enfermedad en el área de trabajo se pueden tomar las precauciones necesarias para cada situación. También es necesario vacunar a los animales domésticos para evitar contagios de estas especies a las silvestres y viceversa. Es fundamental conocer el estado de salud de las poblaciones de animales silvestres, para poder plantear estrategias de manejo y predecir epizootias y mortalidades masivas y prevenir las zoonosis. Este estudio brinda un diagnóstico actualizado de las enfermedades virales que afectan a las poblaciones de felinos silvestres y a las especies con las que conviven, que habitan en la zona noreste de México, con el fin de dar fundamentos científicos y objetivos a programas de conservación y manejo de estas especies animales.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5. REFERENCIAS

1. Klein PA. Immunology and biotechnology for the study and control of infectious diseases in wildlife populations. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 1993; 24: 346-351.
2. Spalding MG, Forrester DJ. Disease monitoring of free-ranging and released wildlife. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 1993; 24: 271-280.
3. Suzan G. Rabia, toxoplasma y parvovirus en mamíferos silvestres de dos reservas del Distrito Federal (tesis de maestría). (Distrito Federal) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1999.
4. Jessup DA, Pettan C, Lowenstine LJ, Pedersen NC. Feline leukemia virus infection and renal spirochetosis in a free-ranging cougar (*Felis concolor*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 1993; 24: 73-79.
5. May RM. Conservation and disease. *Conservation Biology* 1988; 1: 28-29.
6. Scott ME. The impact of infection and disease on animal populations: implications for conservation biology. *Conservation Biology* 1988; 1: 40-56.
7. Ceballos G, Galindo C. Mamíferos silvestres de la cuenca de México. México: Limusa, 1984.
8. Fowler ME, editor. Zoo and wild animal medicine. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1986.
9. Murray JL, Gardner GL. *Leopardus pardalis*. *Mammalian Species* 1997; 548: 1-10.
10. De Oliveira TG. *Herpailurus yagouaroundi*. *Mammalian Species* 1998; 578: 1-6.
11. Leopold SA. Fauna silvestre de México. 2da ed. México: Pax-México, 1977.
12. Maehr DS, Brady JR. Food habits of bobcats in Florida. *Journal of Mammalogy* 1986; 67: 133-138.
13. Leopold BD, Krausman PR. Diets of 3 predators in Big Bend National Park, Texas. *Journal of Wildlife Management* 1986; 50: 290-295.
14. Caso A. Home range and habitat use of three neotropical carnivores in northeast Mexico (tesis de maestría). Kingsville (Texas) Estados Unidos: Texas A&M University, 1994.
15. Sánchez O, Pineda MA, Benítez H, González B, Berlanga H. Guía de identificación para las aves y mamíferos silvestres de mayor comercio en México protegidos por la CITES. México: Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca/Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 1998.
16. Wozencraft WC. Order Carnivora. In: Wilson DE, Reeder DA, editors. *Mammal species of the world a taxonomic and geographic reference*. 2nd ed. Washington: Smithsonian Institution Press, 1993.
17. Quesenberry KE. Infectious diseases of nondomestic cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 1984; 14: 1089-1105.
18. Paul-Murphy J, Work T, Hunter D, McFie E, Fjelline D. Serologic survey and serum biochemical reference ranges of the free-ranging mountain lion (*Felis concolor*) in California. *Journal of Wildlife Diseases* 1994; 30: 205-215.

19. Lutz H, Isenbügel E, Lehmann R, Sabapara RH, Wolfensberger C. Retrovirus infections in non-domestic felids: serological studies and attempts to isolate a lentivirus. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1992; 35: 215-224.
20. Carpenter MA, Brown EW, Culver M, Johnson WE, Pecon-Slattery J, Brousset D, O'Brien SJ. Genetic and phylogenetic divergence of feline immunodeficiency virus in the puma (*Puma concolor*). *Journal of Virology* 1996; 70: 6682-6693.
21. Barr MC, Calle PP, Roelke ME, Scott FW. Feline immunodeficiency virus infection in nondomestic felids. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 1989; 20: 265-272.
22. Barr MC, Zou L, Holzschu DL, Phillips L, Scott FW, Casey JW, Avery RJ. Isolation of a highly cytopathic lentivirus from a nondomestic cat. *Journal of Virology* 1995; 69: 7371-7374.
23. Brown EW, Miththapala S, O'Brien SJ. Prevalence of exposure to feline immunodeficiency virus in exotic felid species. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 1993; 24: 357-364.
24. Brown EW, Yuhki N, Packer C, O'Brien SJ. A lion lentivirus related to feline immunodeficiency virus: epidemiologic and phylogenetic aspects. *Journal of Virology* 1994; 68: 5953-5968.
25. Spencer JA, Van Dijk AA, Horzinek MC, Egberink HF, Bengis RG, Keet DF, *et al.* Onderstepoort *Journal of Veterinary Research* 1992; 59: 315-322.
26. Olmsted RA, Langley R, Roelke ME, Goeken RM, Adger-Johnson D, Goff JP, *et al.* Worldwide prevalence of lentivirus infection in wild feline species: epidemiologic and phylogenetic aspects. *Journal of Virology* 1992; 66: 6008-6018.
27. Blythe LL, Schmitz JA, Roelke M, Skinner S. Chronic encephalomyelitis caused by canine distemper virus in a bengal tiger. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1983; 183: 1159-1162.
28. Appel MJG, Yates RA, Foley GL, Bernstein JJ, Santinelli S, Spelman LH, *et al.* Canine distemper epizootic in lions, tigers and leopards in North America. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1994; 6: 277-288.
29. Appel MJG, Summers BA. Pathogenicity of morbilliviruses for terrestrial carnivores. *Veterinary Microbiology* 1995; 44: 187-191.
30. Fix AS, Riordan DP, Hill HT, Gill MA, Evans MB. Feline panleukopenia virus and subsequent canine distemper virus infection in two snow leopards (*Panthera uncia*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 1989; 20: 273-281.
31. Gould DH, Fenner WR. Paramyxovirus-like nucleocapsids associated with encephalitis in a captive siberian tiger. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1983; 183: 1319-1322.
32. Osofsky SA, Hardy WD, Hirsch KJ. Serologic evaluation of free-ranging lions (*Panthera leo*), leopards (*Panthera pardus*) and cheetahs (*Acinonyx jubatus*) for feline lentivirus and feline leukemia virus in Botswana. *Proceedings American Association of Zoo Veterinarians* 1994; 398-402.
33. Meric SM. Suspected feline leukemia virus infection and pancytopenia in a western cougar. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1984; 185: 1390-1391.

34. Rao AT, Nayak BC. Rabies in a tigress. *Indian Veterinary Journal* 1984; 61: 84.
35. Jayakumar SR, Babu MM, Gopal T, Keshavamurthy BS. Rabies in a wild leopard – *Felis (Panthera) pardus*. *Indian Veterinary Journal* 1989; 66: 1076-1077.
36. Singh RLM, Singh D. Rabies outbreak in a lion safari. *Indian Veterinary Journal* 1991; 68: 370.
37. Chamberlain MJ, Leopold BD, Burger LW, Plowman BW, Conner LM. Survival and cause-specific mortality of adult bobcats in central Mississippi. *Journal of Wildlife Management* 1999; 63: 613-620.
38. Bekoff M. *Canis latrans*. *Mammalian Species* 1977; 79: 1-9.
39. Lotze J, Anderson S. *Procyon lotor*. *Mammalian Species* 1979; 119: 1-8.
40. Roscoe DE. Epizootiology of canine distemper in New Jersey racoons. *Journal of Wildlife Diseases* 1993; 29: 390-395.
41. Gompper ME. *Nasua narica*. *Mammalian Species* 1995; 487: 1-10.
42. Gardner AL. Order Didelphimorphia. In: Wilson DE, Reeder DA, editors. *Mammal species of the world a taxonomic and geographic reference*. 2nd ed. Washington: Smithsonian Institution Press, 1993.
43. Álvarez del Toro M. Los mamíferos de Chiapas. Tuxtla Gutierrez: Universidad Autónoma de Chiapas, 1977.
44. Vieira MV. Body size and form in two neotropical marsupials, *Didelphis aurita* and *Philander opossum* (Marsupialia: Didelphidae). *Mammalia* 1997; 2: 245-254.
45. Fonseca SD, Cerqueira R. Water and salt balance in a south american marsupial, the gray four-eyed opossum (*Philander opossum*). *Mammalia* 1991; 3: 421-432.
46. Julien-Laferrrière D, Atramentowicz M. Feeding and reproduction of three didelphid marsupials in two neotropical forests (French Guiana). *Biotropica* 1990; 22: 404-415.
47. Adler GH, Seamon JO. Distribution of four-eyed opossum, *Philander opossum* (Marsupialia, Didelphidae) on small islands in Panama. *Mammalia* 1996; 1: 91-99.
48. Anfibios y aves de presa. Memorias del Diplomado en medicina y manejo de fauna silvestre; modulo II; 1993 abril 12-17; México (D. F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, División de Educación Continua, UNAM.
49. Fenner FJ, Gibbs EPJ, Murphy FA, Rott R, Studdert MJ, White DO. *Veterinary virology*. 2nd ed. U.S.A.: Academic Press, 1993.
50. Sikes RK. Rabies. In: Davis JW, Karstad LH, Trainer DO, editors. *Infectious diseases of wild animals*. Iowa: The Iowa State University Press, 1981:3-17.
51. Siegal M, editor. *The Cornell book of cats*. New York: Villard Books, 1991.
52. Plotkin SA. Rabies. *Clinical Infectious Diseases* 2000; 30: 4-12.
53. Baer GM, Wandeler AI. Rabies virus. In: Appel MJ, editor. *Virus infections of vertebrates*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V., 1987:167-182.
54. Melgarejo A. Estudio epidemiológico de la rabia en el municipio de Tejuipilco, Estado de México de 1984 a 1991 (tesis de maestría). Distrito Federal (México) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1995.

55. Cottral GE. Manual de métodos estandarizados en microbiología veterinaria. Distrito Federal: Ediciones Científicas La Prensa Médica Mexicana S.A., 1986.
56. Correa-Girón EP, Allen R, Sulkin SE. The infectivity and pathogenesis of rabiesvirus administered orally. *American Journal of Epidemiology* 1970; 2: 203-215
57. Hanlon CA, Childs JE, Nettles VF. Special series-recomendations of a national working group on prevention and control of rabies in the United States. Article III: Rabies in wildlife. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1999; 215: 1612-1618.
58. Aranda M, López-de Buen L. Rabies in skunks from Mexico. *Journal of Wildlife Diseases* 1999; 35: 574-577.
59. Budd J. Distemper. In: Davis JW, Karstad LH, Trainer DO, editors. *Infectious diseases of wild animals*. Iowa: The Iowa State University Press, 1981:31-44.
60. Swango LJ. Canine viral diseases. In: Ettinger SJ, Feldman EC, editors. *Textbook of veterinary internal medicine diseases of the dog and cat*. 4th ed. U.S.A.:W.B. Saunders Company, 1995:398-409.
61. Frisk AL, König M, Moritz A, Baumgärtner W. Detection of canine distemper virus nucleoprotein RNA by reverse transcription-PCR using serum, whole blood, and cerebrospinal fluid from dogs with distemper. *Journal of Clinical Microbiology* 1999; 37: 3634-3643.
62. Barrett T. Morbillivirus infections, with special emphasis on morbilliviruses of carnivores. *Veterinary Microbiology* 1999; 69: 3-13.
63. Anderson EC. Morbillivirus infections in wildlife (in relation to their population biology and disease control in domestic animals). *Veterinary Microbiology* 1995; 44: 319-332.
64. Barr MC, Olsen CW, Scott FW. Feline viral diseases. In: Ettinger SJ, Feldman EC, editors. 4th ed. U.S.A.:W.B. Saunders Company, 1995:409-428.
65. Rojko JL, Hardy WD. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: Sherding RG, editor. *The cat diseases and clinical management*. 2nd ed. U.S.A.:W.B. Saunders Company, 1994:263-367.
66. Von Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, *et al.* *Virus Taxonomy*. 7th report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Virology Division, International Union of Microbiological Societies, 2000.
67. Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ. *Veterinary Virology*. 3rd ed. California: Academic Press, 1999.
68. Pedersen NC. *Feline infectious diseases*. U.S.A.:American Veterinary Publications, Inc., 1988.
69. Leutenegger CM, Hofmann-Lehmann R, Riols C, Liberek M, Worel G, Lups P, *et al.* Viral infections in free-living populations of the european wildcat. *Journal of Wildlife Diseases* 1999; 35: 678-686.
70. Macy DW. Feline immunodeficiency virus. In: Sherding RG, editor. *The cat diseases and clinical management*. 2nd ed. U.S.A.:W.B. Saunders Company, 1994:433-444.

71. Letcher JD, O'Conner TP. Incidence of antibodies reacting to feline immunodeficiency virus in a population of asian lions. *American Association of Zoo Veterinarians* 1991; 324-329.
72. VandeWoude S, O'Brien SJ, Hoover EA. Infectivity of lion and puma lentiviruses for domestic cats. *Journal of General Virology* 1997; 78: 795-800.
73. Escoto MM. Herencia misteria. Un reencuentro con la historia del rancho San Rafael de las tortillas, Guerrero, Tamaulipas. Tamaulipas: UANL Centro de información de historia regional, 1998.
74. Kawamura A. Fluorescent antibody techniques and their applications. 2nd ed. Tokyo: University of Tokyo Press, 1977.
75. Burleson FG, Chambers TM, Wiedbrauk DL. *Virology, a laboratory manual*. San Diego: Academic Press Inc.
76. Bourhy M, Sureau P. *Laboratory methods for rabies diagnosis*. Paris: Unite de la Rage, Institut Pasteur, 1990.
77. Haines DM, Martin KM, Chelack BJ, Sargent RA, Outerbridge CA, Clark EG. Immunohistochemical detection of canine distemper virus in haired skin, nasal mucosa, and footpad epithelium: a method for antemortem diagnosis of infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1999; 11: 396-399.

Apéndice 1. Permiso de captura y de obtención de muestras emitido por SEMARNAP



SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE
RECURSOS NATURALES Y PESCA

INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA
DIRECCIÓN GENERAL DE VIDA SILVESTRE
AV. REVOLUCIÓN No. 1425, COL. TLACOPAC
01040 MÉXICO, D.F.

OFICIO No. DOO. 02.- 01006/2000.

Ciudad de México, a 22 de febrero del 2000.

DR. JUAN ANTONIO MONTAÑO HIROSE
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
CIUDAD UNIVERSITARIA, C.P. 04510
MÉXICO, D.F.

Considerando que ha dado cumplimiento a los requisitos establecidos para efectuar investigaciones de flora y fauna silvestres en territorio Mexicano, esta Dirección General con fundamento en los Artículos 32 Bis fracción V de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; Artículos 3 fracción XI, 79, fracciones I, II, III, VI y VII; 80 fracción I, 82, 83 y 87 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente; Artículo 57, fracciones I, VIII, XIV y XV del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca, no tiene inconveniente en que se lleve a cabo la captura para la toma de medidas morfológicas, muestras sanguíneas, de pelo y tejido y liberación inmediata de hasta diez (10) individuos de cada una de las especies de felinos *Leopardus pardalis*, *Herpailurus yagouaroundi*, *Procyon lotor*, *Nisaea narica*, *Taxidea taxus*, *Didelphis marsupialis*, *Mephitis mephitis*, *Lynx rufus* y *Canis latrans*, en las localidades de Los Ebanos, Los Pericos, Tepehuaje y en el Ejido Tepehuaje el Estado de Tamaulipas, durante un período de un (1) año, a partir de la expedición del presente oficio.

Esta denuncia se expide en apoyo a las actividades inherentes al desarrollo del proyecto de investigación denominado "Prevalencia de enfermedades virales en ocelotes (*Leopardus pardalis*) y jaguarundis (*Herpailurus yagouaroundi*) silvestres en el noroeste de México" que lleva a cabo la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, con la colaboración de la MVZ. María Flor Vitegra Cantera de la misma Facultad y el M. en C. Arturo Casó Aguilar de la Facultad de Ciencias de la UNAM, debiendo sujetarse a las siguientes condicionantes:

- 1.- Cumplir con las disposiciones Administrativas, Fiscales y de Sanidad exigibles por las autoridades competentes. No se autoriza la coteja definitiva de ningún ejemplar.
- 2.- En la realización del proyecto propuesto, se responsabilizará al titular de la investigación de cualquier impacto significativo a las poblaciones de la flora o fauna silvestres y sus hábitats, por lo que deberá considerar el riesgo de perturbación del ecosistema, antes de su ejecución y no llevarlo a cabo si el riesgo es alto.
- 3.- Al inicio de las actividades de campo, deberá enviar estrictamente por escrito y utilizando cualquier medio su programa de trabajo, a la Delegación Federal de la Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca en el Estado de Tamaulipas (Tel. 01 (12) 29 26 00; Fax 01 (12) 29 26 01). Así mismo, al término de dichas actividades, lo notificará de igual manera a la Delegación, enviando un reporte detallado, por escrito que incluya la descripción y especificaciones de la investigación, la problemática detectada, comentarios y propuestas de solución al respecto.
- 4.- El responsable del proyecto deberá someter a la consideración de esta Dirección General, en un plazo no mayor de 30 (TREINTA) días de concluida la vigencia de la presente, un informe que describa detalladamente las actividades realizadas, los resultados obtenidos, la problemática del área trabajada, las potenciales alternativas de solución y en su oportunidad, la(s) publicación(es) y sobre tiras producto de esta(s) investigación(es).

2.-

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Apéndice 1 (continuación)



SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE
RECURSOS NATURALES Y PESCA

OFICIO Nu. DOO.02 01006/2000.

- 2 -

5.- La totalidad del material colectado deberá destinarse exclusivamente a los fines específicos del proyecto, objeto de la presente anuencia. El material colectado será depositado en el Laboratorio de Virología del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, donde el titular de la investigación, *asume la responsabilidad de remitir a esta Dirección General, constancia original de los depósitos debidamente firmadas, especificando la cantidad de material depositado.*

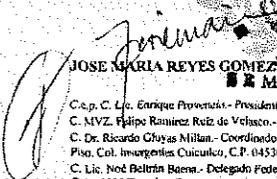
6.- Queda estrictamente **prohibido** efectuar colecta, transporte y aprovechamiento alguno de las especies de flora y fauna silvestres, cualesquiera que sea su estatus, excepto los ejemplares aquí autorizados, así como realizar actividades en áreas naturales protegidas de México, sean Estatales o Federales.

7.- De acuerdo al Artículo 87 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, esta anuencia no ampara el aprovechamiento de los especímenes para fines de utilización en biotecnología.

La presente anuencia es personal e intransferible y habrá de mostrarse a las Autoridades Federales, Estatales y Municipales, cuantas veces la soliciten. Así mismo y tomando en consideración lo establecido por el Artículo 87 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, el titular de la presente deberá contar con la autorización expresa de los legítimos propietarios de la tierra donde pretende desarrollar el proyecto.

El incumplimiento de las condiciones aquí establecidas, dará origen a la instauración de un procedimiento administrativo ante la autoridad competente, para proceder a la cancelación de la anuencia y a la aplicación de la legislación correspondiente, según sea el caso.

ATENTAMENTE
SUFRAGIO EFECTIVO. NO REELECCIÓN.
EN AUSENCIA DEL C. DIRECTOR GENERAL
CONFORME AL ART. 87 DE LA LEY GENERAL DEL
INTERIOR DE LA SEMARNAP FIRMA EL PRESENTE
EL DIRECTOR DE GESTIÓN Y ATENCIÓN A USUARIOS


JOSE MARIA REYES GOMEZ
S E M A R N A P

C.e.p. C. Lfo. Enrique Provenza - Presidente del Instituto Nacional de Ecología - Edificio

C. MVZ. Felipe Ramirez Ruiz de Velasco - Director General de Vida Silvestre - Edificio

C. Dr. Ricardo Chuyas Millán - Coordinador General de Inspección Fitosanitaria y de Flora y Fauna Silvestres, PROFEPA - Perifoneo Sur 4906, 1er. Piso, Col. Insurgentes Cuicuilco, C.P. 04530, Delegación Cuicuilco.

C. Lic. Noé Beltrán Baena - Delegado Federal de la SEMARNAP en el Estado de Tlaxcala - Calle Encino No. 100 Enc. Av. Hidalgo Col. Aguila C.P. 99230 Tlaxiaco, Tlax.

C. Biot. Pedro Esteban Díaz Díaz - Subdirector de Servicios al Usuario - Edificio.

C. Ing. Florentino Chiliboga Morales - Encargado del Departamento de Permisos y Autorizaciones en Territorio Nacional - Edificio.

Archivo General (1395-03; Memo No. 076/00)

Ministerio

JMRG/PEDD/FCHM/montaño.rtf

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Apéndice 2. Hoja de captura

Fecha.- ___/___/___
DATOS INDIVIDUALES

Especie.- _____

Edad aprox. _____

Sexo _____

Peso estimado _____ kg.

Peso real _____ kg

DROGAS Y DOSIS UTILIZADAS

Inicio de la captura _____ horas.

Fin de la captura _____ horas

Anestésico inicial mg ml

vía hora

Suplementación

Otras drogas

MONITOREO FÍSICO

FC

FR

Temp

hora

MUESTRAS RECOLECTADAS

Sangre

c/anticoagulante # muestras _____ ml _____ #i.d. _____

s/anticoagulante # muestras _____ ml _____ #i.d. _____

Ectoparásitos

muestras _____ i.d. frasco/tubo _____

IDENTIFICACIÓN DEL ANIMAL

Marcas propias

Collar

Otros medios de identificación

COMENTARIOS



Apéndice 3. Prueba de inmunofluorescencia.⁷⁴

MATERIAL:

Portaobjetos con muestras de impresión conjuntival

Lápiz graso

Acetona

Conjugado anti-moquillo canino

Vaso de precipitados

PBS

Agua destilada

Glicerina al 50%

Microscopio de luz ultravioleta (Marca Zeiss, modelo III RS)

PROCEDIMIENTO:

1. Circular la muestra con lápiz graso.
2. Fijar en acetona durante 10 minutos.
3. Secar a medio ambiente.
4. Adicionar el conjugado cubriendo la superficie de la muestra.
5. Incubar a 37°C durante 1 hora.
6. Lavar con PBS durante 5 minutos.
7. Lavar con agua destilada.
8. Secar a medio ambiente.
9. Adicionar una gota de glicerina a la muestra.
10. Colocar un cubreobjetos

Observar en el microscopio de luz ultravioleta.

Apéndice 4. Procedimiento para la titulación de virus.

1. Colocar 100 μ l de medio MEM a todos los pozos. Se utilizó una placa para cultivo celular, de 96 pozos, de fondo plano, marca Costar número 3596.
2. Distribuir 50 μ l de la suspensión del virus y de cada una de las cosechas del virus, en los pozos correspondientes de la primera fila que se habían previsto. Hacer esto por duplicado.
3. Realizar diluciones triples seriadas hasta la penúltima fila (fila G), eliminar 50 μ l después de la última dilución. La última fila (fila H) se considera control de células y no se le adiciona virus.
4. Incubar a 37°C en atmósfera húmeda y con 5% de CO₂ durante 1 hora.
5. Tripsinizar las células BHK-21, pase 22, realizar el conteo de las células con el hemocitómetro, y ajustar la concentración a 50,000 células en 100 μ l.
6. Distribuir 100 μ l/pozo de la suspensión celular, incluyendo a la fila H.
7. Incubar durante 24 horas a 37°C en atmósfera húmeda y 5% de CO₂.
8. Eliminar el sobrenadante de cada pozo.
9. Enjuagar una primera vez con acetona 80%, después fijar durante 30 minutos la placa, sin tapa, con acetona al 80%, a temperatura ambiente. Vaciar y dejar secar.
10. Refrigerar hasta poder colorearla.
11. Colorear durante 1 hora con 50 μ l /pozo de conjugado antinucleocápside rábica (laboratorios Baer) a 37°C en cámara húmeda. NOTA.- Esto se realizó después de 10 días de haber fijado la placa para cultivo celular.
12. Lavar la placa con tampón PBS Ca²⁺Mg²⁺, una vez durante 30 segundos, una vez 1 min. y una vez 5 min. Lavar la placa con agua destilada. Vaciar y dejarla secar.

Depositar una gota de glicerina 50% pH 8.5 en cada pozo y observar la fluorescencia con el microscopio de luz ultravioleta.

Apéndice 5. Prueba rápida de reducción de focos fluorescentes.⁷⁶

MATERIAL:

Células BHK-21 pase 25

Virus fijo de la rabia CVS (cosecha de cultivos celulares infectados)

Medio de cultivo Dulbecco MEM ajustado con NaHCO_3 , suplementado con suero fetal bovino inactivado 10% (Laboratorios Gibco BRL, 0579)

Suero de referencia (2 UI/ml)

PBS y PBS $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$

Acetona 80% conservada a 4°C

Conjugado antinucleocápside rábica (Laboratorios Baer)

Placa para cultivo celular de 96 pozos con fondo plano marca Costar número de catálogo 3596

Baño - María ajustado a 60°C

Estufa ajustada a 37°C con 5% de CO_2

Microscopio de luz ultravioleta Olympus

Glicerina al 50%

Pipeta ajustable tipo Pipetman Gilson

PROCEDIMIENTO:

1. Inactivar los sueros durante 30 minutos a 60°C.
2. Prever pozos de control de células normales y control de virus
3. Realizar titulaciones. Utilizando la primera mitad de la placa para una dilución del virus de 1:9, y la segunda mitad de la placa para una dilución del virus de 1:81.
4. Distribuir 100 μl /pozo de MEM completo (ajustado con NaHCO_3 suplementado con suero fetal bovino inactivado al 10%).
5. Efectuar diluciones triples seriadas del suero de referencia (50 μl de suero en 100 μl de medio) directamente en los pozos. Distribuir 50 μl /pozo de cada suero problema en los pozos que le corresponden, mezclar bien y eliminar 50 μl . En los pozos controles de células el suero se reemplaza por el medio de cultivo.
6. Adicionar 50 μl /pozo de suspensión viral (diluciones 1/9 y 1/81), excepto en los pozos controles de células y de virus.
7. En los pozos controles del virus realizar diluciones seriadas de la suspensión del virus.
8. Incubar durante 1 hora a 37°C en atmósfera húmeda y 5% de CO_2 para permitir la neutralización del virus.
9. Tripsinizar las células BHK-21, contarlas y ajustar la concentración a 50,000 células/50 μl . Distribuir 50 μl /pozo de la suspensión celular.
10. Incubar durante 24 horas a 37°C en atmósfera húmeda y 5% de CO_2 .
11. Verificar el estado de las células normales en el control de células.

12. Eliminar el sobrenadante de cada pozo.
13. Enjuagar una primera vez con acetona 80%, después fijar durante 30 minutos la placa sin tapa, con acetona 80%, a temperatura ambiente.
14. Vaciar y dejar secar la placa. Mantenerla en refrigeración hasta poder observarla al microscopio.
15. Colorear durante 1 hora con 50 μ l/pozo de conjugado antinucleocápside rábica, a 37°C, en cámara húmeda.
16. Lavar la placa con tampón PBS $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ una vez durante 30 segundos, una vez 1 minuto y una vez 5 minutos.
17. Lavar la placa con agua destilada una vez durante 5 minutos.
18. Vaciar y dejar secar la placa.
19. Depositar una gota de glicerina 50% pH 8.5 en cada pozo, observar la fluorescencia en el microscopio de luz ultravioleta.

NOTA.- Suero de referencia (2UI/ml) donado por el Dr. Gilberto Cortés.

Se utilizó un microscopio invertido de EPI iluminación de luz ultravioleta Olympus perteneciente a la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Inmunológicas del Hospital de Pediatría del Centro Médico Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, en el Distrito Federal, con la colaboración del Dr. Alvaro Aguilar.

Apéndice 6. Constantes fisiológicas al inicio de la inmovilización química de los animales capturados en el estado de Tamaulipas, México.

INDIVIDUO	FRECUENCIA CARDIACA	FRECUENCIA RESPIRATORIA	TEMPERATURA RECTAL
Tlacuachillo 4 ojos (TO)	250/min		37.5°C
Tlacuache 1 (T1)	210/min	72/min	37.1°C
Tlacuache 2 (T2)	140/min	20/min	37.2°C
Tlacuache 3 (T3)	187/min	70/min	
Tlacuache 4 (T4)	175/min	30/min	
Tlacuache 5 (T5)	195/min	33/min	
Tlacuache 6 (T6)	196/min	15/min	
Tlacuache 7 (T7)	190/min	32/min	
Tlacuache 8 (T8)	183/min	28/min	
Tlacuache 9 (T9)	180/min	28/min	
Tlacuache 10 (T10)	156/min	12/min	35.5°C
Coyote 1 (C1)	137/min	20/min	40.6°C
Mapache 1 (M1)	122/min	26/min	38.4°C
Mapache 2 (M2)	140/min	45/min	38.6°C
Mapache 3 (M3)	170/min	48/min	39.5°C
Mapache 4 (M4)	140/min	34/min	39.4°C
Mapache 5 (M5)	155/min	28/min	40.2°C
Mapache 6 (M6)	112/min	24/min	39.6°C
Coatí 1 (CM1)	250/min	50/min	40.0°C
Coatí 2 (CM2)	140/min	40/min	37.7°C
Ocelote 1 (O1)	100/min	30/min	39.3°C
Ocelote 2 (O2)	160/min	32/min	38.8°C
Ocelote 3 (O3)	150/min	46/min	39.3°C
Ocelote 4 (O4)	145/min	26/min	39.9°C
Ocelote 5 (O5)	130/min	36/min	39.5°C
Ocelote 6 (O6)	135/min	24/min	38.3°C
Ocelote 7 (O7)	163/min	35/min	40.7°C
Ocelote 8 (O8)	96/min	24/min	38.7°C
Jaguarundi 1 (J1)	140/min	32/min	40.2°C

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

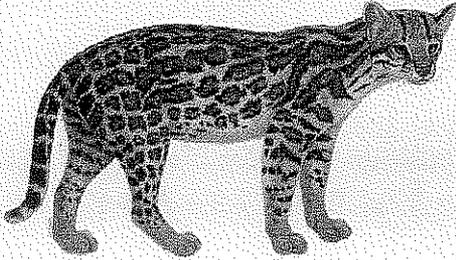
Apéndice 6. Continuación constantes fisiológicas.

<i>INDIVIDUO</i>	<i>FRECUENCIA CARDIACA</i>	<i>FRECUENCIA RESPIRATORIA</i>	<i>TEMPERATURA RECTAL</i>
Gato montés 1 (GM1)	140/min	26/min	39.2°C
Gato montés 2 (GM2)	160/min	25/min	39.0°C
Gato montés 3 (GM3)	150/min	17/min	38.3°C
Gato montés 4 (GM4)	135/min	16/min	39.4°C
Gato montés 5 (GM5)	135/min	19/min	39.3°C
Gato montés 6 (GM6)	130/min	18/min	38.7°C
Gato montés 7 (GM7)	130/min	18/min	39.8°C

Apéndice 7. Ilustraciones y distribución geográfica de las especies estudiadas.

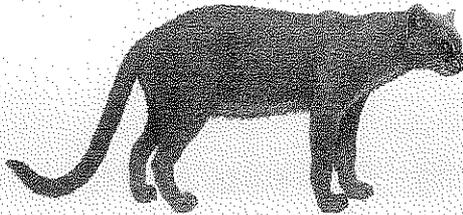
OCELOTE

Fuente: <http://www.conabio.gob.mx/cites/allesmam.cgi?id=298&oops=15563>



JAGUARUNDI

Fuente: <http://www.conabio.gob.mx/cites/allesmam.cgi?id=297&oops=18881&ns=ns>



GATO MONTES

Fuente: <http://lvnx.uio.no/calfolk/rufus-06.htm>

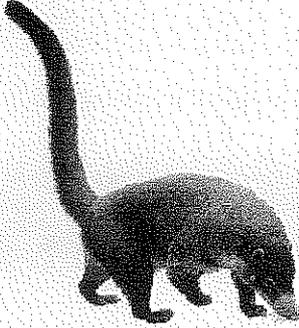


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Apéndice 7. Continuación

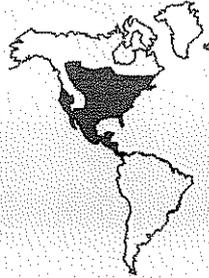
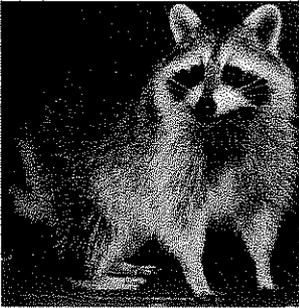
COATI

Fuente: <http://www.conabio.gob.mx/cites/allesman.cgi?id=312&oops=18881>



MAPACHE

Fuente: <http://www.loomcom.com/raccoons/gallery/pegs/tea-party6.jpg> , 39



COYOTE

Fuente: <http://www.lcra.org/lands/roughs/diamonds/organism/mammals/coyote.htm> , 38



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Apéndice 7. Continuación

TLACUACHE

Fuente: <http://www.lcra.org/lands/roughs/diamonds/organism/mammals/opossum.htm>



TLACUACHILLO DE 4 OJOS

Fuente: <http://www.uaf.edu/museum/mammal/Hayward/0075.htm>



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**