



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE  
LA SALUD ANIMAL

SERODIAGNÓSTICO DEL VIRUS DE DENGUE EN MONOS  
SARAGUATO NEGRO (*Alouatta pigra*) Y EN QUIRÓPTEROS  
HABITANTES DE DIFERENTES FRAGMENTOS DE SELVA EN  
EL ESTADO DE CAMPECHE

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

SALOMÉ CABRERA ROMO.

TUTOR

DR. GERARDO SUZÁN AZPIRI

COMITÉ TUTORAL

DRA. ROSA MARÍA DEL ANGEL y M EN C. DOMINGO CANALES  
ESPINOSA

México D.F

Junio 2010



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.

A mis padres

A mis hermanos

A mis familiares y amigos

A la selva y su biodiversidad

Por mi raza hablará el espíritu

# AGRADECIMIENTOS

# AGRADECIMIENTOS

A mi *Alma mater* Universidad Nacional Autónoma de México

A mi comité tutorial.

A los miembros del jurado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Al Centro de Investigación de Estudios Avanzados del IPN.

A la Universidad Veracruzana.

Parte de esta tesis fue financiada por el proyecto “Rescate del Mono Aullador Negro (*Alouatta pigra*) en el Estado de Campeche” y por el Departamento de Infectómica y Patogenicidad Molecular del CINVESTAV del IPN.

Quiero extender mi gratitud a todas las personas que me brindaron su apoyo para la realización de este proyecto, especialmente a:

Dra. Rosa María del Ángel y M. en C. Domingo Canales, porque gracias a ustedes fue posible realizar este proyecto.

Al M. en C. Heliot Zarza, muchas gracias por todo tu apoyo, Maestro!

A Rolando Arboledas, Oscar Rico, Juan Ludert, Henry Puerta, Clemente Mosso, Víctor Olvera, Javier Hermida, Pedro Días, Alejandro Coyohua, muchas gracias por sus comentarios y su apoyo incondicional.

Julia Abarca, Sandra López y Elena Arcaráz, por haber sido las mejores compañeras en esos viajes, en esa selva, en esta vida.

# ÍNDICE

RESUMEN.....	I
ABSTRACT.....	II
LISTA DE CUÁDROS.....	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
APÉNDICE.....	V

INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	6
HIPÓTESIS GENERAL.....	6

## **CAPÍTULO 1. SERODIAGNÓSTICO DEL VIRUS DE DENGUE EN MONOS SARAGUATO NEGRO (*Aloutta pigra*) HABITANTES DE DIFERENTES FRAGMENTOS DE SELVA EN EL ESTADO DE CAMPECHE.**

INTRODUCCIÓN.....	7
OBJETIVOS.....	10
HIPÓTESIS.....	10
MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN.....	21
LITERATURA CITADA.....	25

## **CAPÍTULO 2. SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE DENGUE EN POBLACIONES DE QUIRÓPTEROS EN HÁBITAT CON DIFERENTES GRADOS DE FRAGMENTACIÓN.**

INTRODUCCIÓN.....	32
OBJETIVOS.....	37
HIPÓTESIS.....	37
MATERIAL Y MÉTODOS.....	38
RESULTADOS.....	35
DISCUSIÓN.....	67
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	72
LITERATURA CITADA.....	74

# RESUMEN

El presente estudio buscó identificar las características del paisaje asociadas con la prevalencia de dengue en poblaciones de mono saraguato negro (*Alouatta pigra*) y murciélagos que habitan en 9 fragmentos de selva clasificados como chicos, medianos y grandes y en un área de selva continua (en la reserva de la biósfera de Calakmul) en el estado de Campeche. Durante los meses de noviembre de 2007 y 2008 y julio del 2009 se tomaron muestras sanguíneas de ambas poblaciones para el serodiagnóstico del virus mediante la prueba de ELISA Platelia NS1. Se realizó un análisis de diversidad de las poblaciones de murciélagos y un análisis espacial de los fragmentos utilizando imágenes de satélite Aster del 2008. Se consideraron variables como la distancia al poblado más cercano, densidad de población humana y 16 variables generadas por la extensión Patch Analyst 3.1 del programa Arc View 3.2 para conocer los factores paisajísticos que influyen en la seroprevalencia del dengue en las poblaciones muestreadas. Las poblaciones de monos saraguato negro (*Alouatta pigra*) resultaron seronegativas. En los fragmentos grandes y en los sitios mejor conservados con un índice de Shannon  $H > 1.8$  no se encontraron casos positivos. Sin embargo, se encontró una seroprevalencia del 11% en murciélagos habitantes de fragmentos chicos y de 25% y 13% en dos fragmentos medianos cuya distancia al poblado más cercano fue  $< 1\text{Km}$ . La especie *Carollia perspicillata* presentó mayor porcentaje de seroprevalencia. Este estudio proporciona datos espaciales que deben considerarse para la conservación de especies y la prevención de la salud humana.

**Palabras clave:** Dengue en *Alouatta pigra* y murciélagos, fragmentación, diversidad

# ABSTRACT

This study tried to identify landscape features associated with the prevalence of Dengue in populations of black howler monkeys (*Alouatta pigra*) and bats inhabiting nine forest fragments classified as small, medium and large and a continuous forest area (in the Biosphere Reserve of Calakmul) in the State of Campeche. During the months of November, 2007 and 2008 and July 2009 blood samples were taken from both species for the serodiagnosis of virus by ELISA Platelia NS1. We used a diversity analysis for bat populations and a spatial analysis of the fragments using Aster satellite images from 2008. Variables like distance to the nearest town and human population density were considered as 16 variables generated by the Patch Analyst 3.1 extension of the Arc View 3.2 program to determine which factors of the landscape could influence the prevalence of Dengue in the studied populations. All of the black howler monkeys were seronegative. According to Shannon index  $H < 1.8$ , seroprevalence in bats living in small fragments was 11% and 25% and 13%, respectively in two different medium-sized fragments whose distance to the nearest town was  $< 1$  km. No positive cases were found in large and better preserved fragments using Shannon index  $H > 1.8$ . *Carollia perspicillata* bats presented the highest percentage of positive results. This study provides spatial data to be considered for the conservation of species and prevention of human health.

**Palabras clave:** Dengue in *Alouatta pigra* and bats, fragmentation, diversity



**CAPITULO 1**

Cuadro 1.	Características de los sitios de estudio.	15
Cuadro 2.	Características de los fragmentos y de los grupos capturados de Mono Saraguato Negro ( <i>Alouatta pigra</i> ).	17
Cuadro 3.	Densidad de población y casos confirmados de dengue en los poblados cercanos a los fragmentos estudiados.	19

**CAPITULO 2**

Cuadro 1.	Sitios de estudio de acuerdo a tamaño de fragmento, tipos de vegetación y distancia a poblados.	39
Cuadro 2.	Clases asignadas a la composición de los 9 paisajes.	42
Cuadro 3.	Información de poblados contenidos en la matriz de los 9 paisajes.	43
Cuadro 4.	Especies de murciélagos capturadas por fragmento y su respuesta a la fragmentación.	46
Cuadro 5.	Índice de diversidad (riqueza, diversidad y equidad) de los murciélagos capturados por fragmento.	49
Cuadro 6.	Índices de diversidad (riqueza, diversidad y equidad) de los murciélagos capturados por fragmento.	50
Cuadro 7.	Análisis de componentes principales de la matriz de los 9 paisajes, de las variables externas al programa. Contribución de las variables en %.	59
Cuadro 8.	Análisis de componentes principales de la matriz de los 9 paisajes, de las variables obtenidas con Patch Analyst. Contribución de las variables en %	60
Cuadro 9.	Factores que explican el > 90% del total de varianza de las características en los 9 paisajes	60
Cuadro 10.	Seroprevalencia de DENV en murciélagos dentro los fragmentos con distancia a poblados <1 Km.	62

**INTRODUCCIÓN GENERAL**

Figura 1	Ciclos de transmisión del Virus del Dengue	3
----------	--	---

**CAPITULO 1.**

Figura 1	Imagen Satelital de los Fragmentos Chicos en el municipio Del Carmen, Estado de Campeche (Escala 1:50000)	13
Figura 2.	Imagen Satelital de los Fragmentos Medianos en el municipio Del Carmen, Estado de Campeche(Escala 1:50000)	13
Figura 3.	Imagen Satelital de los Fragmentos Grandes en los municipios Del Carmen y Escárcega, Estado de Campeche (Escala 1:80000)	14
Figura 4	Estructura poblacional de los grupos capturados de <i>Alouatta pigra</i> .	18
Figura 5.	Regresión lineal de Tamaño de fragmento por distancia de poblado	19

**CAPITULO 2**

Figura 1.	Riqueza de especies por tamaño de fragmento.	45
Figura 2.	Distribución de especies adaptables y vulnerables por tamaño de fragmento según la respuesta a la fragmentación del hábitat considerando la distancia a poblados.	47
Figura. 3	Abundancia relativa de murciélagos por tamaño de fragmento considerando la distancia a poblados: a) Chicos, b) Medianos, c) Grandes	48
Figura 4.	Dendograma de similitud de especies por fragmentos considerando la distancia a poblados: a) Chicos b) Medianos, c) Grandes.	51
Figura 5	Dendograma de similitud de especies por tamaño de fragmentos.	53
Figura 6	Características de la cobertura del paisaje de los Fragmentos Chicos considerando la distancia a poblados en el municipio de Ciudad del Carmen, Campeche	54
Figura 7.	Características de la cobertura del paisaje de los Fragmentos Medianos considerando la distancia a poblados en el municipio de Ciudad del Carmen, Campeche	55
Figura 8	Características de la cobertura del paisaje de los Fragmentos Grandes considerando la distancia a poblados de los municipios de Ciudad del Carmen y Escárcega Campeche	56
Figura 9.	Composición de la matriz de los 9 paisajes obtenidos por cada fragmento	57

Figura 10	Distribución de la estructura del paisaje de cada fragmento, considerando distancia a poblados a) Chicos , b) Medianos, c) Grandes	58
Figura 11	Seroprevalencia de DENV en fragmentos considerando la distancia a poblados	61
Figura 12.	Seroprevalencia de DENV por especies en fragmentos distancia a poblados < 1 Km	62
Figura 13	Regresión lineal de casos positivos por prevalencia en <i>C. perspicillata</i> .	63
Figura 14	Regresión lineal de casos positivos por densidad de población	64
Figura 15	Regresión lineal de casos positivos por dominancia <i>C. perspicillata</i> en fragmentos	64
Figura 16	Regresión lineal de casos positivos por distancia a poblado	65
Figura 17	Regresión lineal de Casos positivos por Tamaño de fragmento	65
Figura 18	Regresión lineal de prevalencia de DENV (%) en fragmentos considerando el índice de diversidad de Shannon (H).	66
Figura 19	Ciclo de transmisión del virus del dengue en poblaciones de murciélagos que habitan en fragmentos de selva.	71
APENDICES		V
Apéndice 1	Variables usadas para describir las características del paisaje, obtenidas con el programa Patch Analyst 3.1	73

# INTRODUCCIÓN GENERAL.

Las selvas tropicales representan uno de los mayores reservorios de diversidad biológica en el mundo (Ceballos et al 2005), a nivel nacional ocupan 30 734 896 ha, es decir, 16% del territorio nacional (Conabio 2000). Las entidades con mayor superficie de selvas predominan hacia el sureste: Quintana Roo con 3.7 millones de ha, Campeche con 3.3 millones de ha, Oaxaca con 2.4 millones de ha y Chiapas con 2.2 millones de ha (Conabio 2000), sin embargo han sufrido grandes cambios de uso de suelo y presentan altas tasas de deforestación debido a actividades humanas (Estrada et al 2005, Galindo-González 2007). Las estimaciones de la deforestación en el país varían entre 370 000 y 1 500 000 ha/año, con tasas entre 0.8 y 2% anual (Conabio 2000). Estos cambios han transformado la cobertura vegetal original, creando un paisaje heterogéneo y fragmentado (Arroyo Rodríguez et al 2008, Fahrig, L. 2003, Galindo-González 2007), modificando la distribución de especies, la composición de comunidades y el aumento en las tasas de contacto entre fauna silvestre, animales domésticos y poblaciones humanas (Fahring 2003, Suzán et al 2000), lo cual puede alterar la ecología de enfermedades infecciosas permitiendo nuevos patrones de transmisión de patógenos (Suzán et al 2008)

Los efectos de la fragmentación en el paisaje dependen de factores intrínsecos como el tiempo de aislamiento, la distancia entre fragmentos, el grado de conectividad entre los fragmentos y el tamaño de los fragmentos (mientras más pequeño sea el fragmento, mayor será la probabilidad de influencia de los factores externos) (Galindo 2007, McGarigal et al 2009). De igual forma los efectos de la pérdida y fragmentación de hábitat sobre la presencia de enfermedades infecciosas en mamíferos silvestres pueden tener negativas implicaciones en la conservación de la diversidad biológica, sin olvidar la salud y bienestar de las poblaciones humanas (Scott 1988).

La estructura de un paisaje está en función de la distribución de recursos y se ha demostrado en diferentes estudios que influye en la densidad de poblaciones silvestres y en el patrón de movimiento de hospederos, vectores y en la dinámica de enfermedades infecciosas (McCallum 2008).

Actualmente algunas poblaciones de mamíferos silvestres se encuentran amenazadas o en peligro de extinción por lo que cualquier virus o bacteria puede causar una disminución precipitada en sus poblaciones, lo cual significa que los patógenos pueden afectar su distribución y abundancia (Chapman

et al 2005). La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN 2009) menciona que de los 5490 mamíferos del mundo, 79 están clasificados como extinto o extinto en estado silvestre, en tanto que 188 están en peligro crítico, 449 en peligro y 505 son vulnerables. Las enfermedades infecciosas transmitidas entre las poblaciones silvestres, y animales domésticos son una seria amenaza para la conservación de la fauna silvestre, la salud humana y animal (Goldberg et al 2008, Nunn y Altizer 2006).

El papel de los patógenos en la ecología y evolución de los mamíferos silvestres ha generado gran interés entre los investigadores dedicados a la conservación de especies, comprender los factores que influyen en la distribución de agentes infecciosos en fauna silvestre, es muy importante para la conservación de las especies, y para prevenir brotes de enfermedades en humanos (Chapman et al 2005, David y Pedersen 2008).

Los agentes patógenos transmitidos por vectores como los arbovirus, se encuentran comúnmente concentrados en los trópicos, donde coincide la mayor biodiversidad y el mayor grupo de vectores artrópodos (*Anopheles*, *Aedes*, *Culex*,) (Molyneaux 1998).

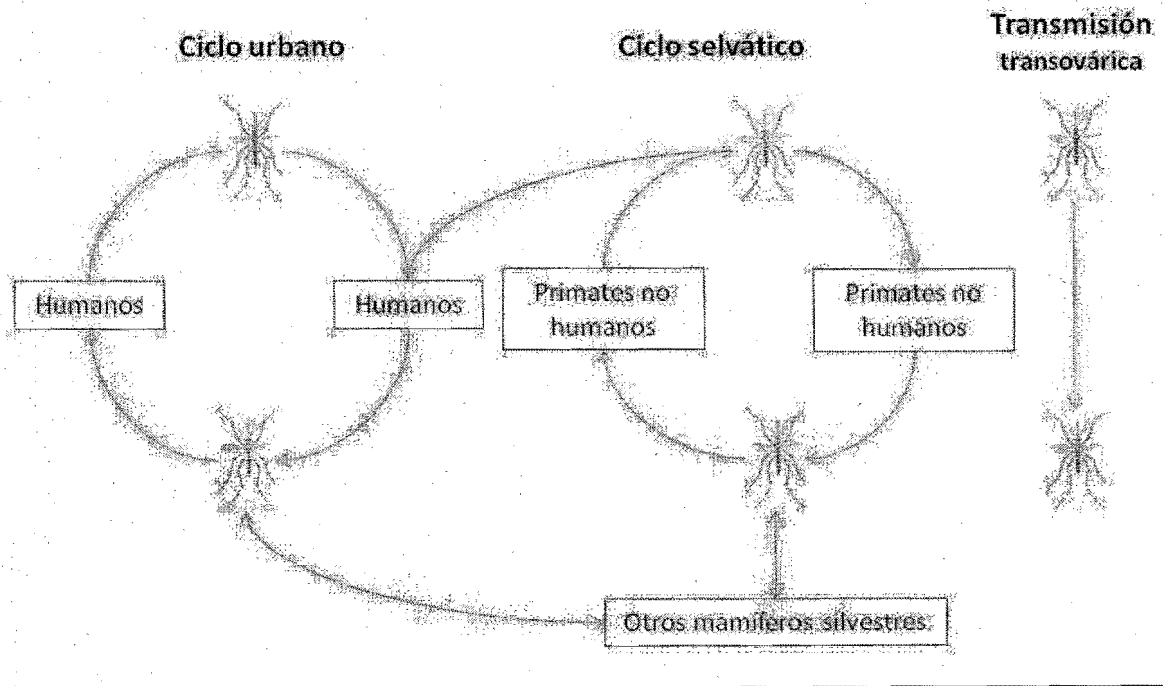
La erosión de los ecosistemas, el comportamiento de los vectores en los bordes de los fragmentos, las actividades antropogénicas alrededor y dentro de éstos y la interacción que se genera entre humanos y vectores es lo que determina la ecología de enfermedades, (Molyneux 1998) por lo que algunos patógenos como los flavivirus, entre estos el virus del dengue, pueden ser perpetuados en su ciclo de transmisión selvático o urbano siendo capaces de afectar diversas especies de vertebrados, entre ellas a los humanos (Flint et al 2000).

En años recientes el virus del dengue (DENV) se ha convertido en un importante problema de salud pública internacional, ya que se ha multiplicado 30 veces el número de casos en los últimos 50 años llegando a más de 50 millones de casos anualmente (WHO 2009). EL DENV puede manifestarse en tres formas clínicas: fiebre por dengue, dengue hemorrágico y síndrome de choque hemorrágico los cuales pueden ser causados por cualquiera de los 4 serotipos conocidos: DENV1, DENV2, DENV3, DENV4, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en las zonas tropicales (Dussart et al 2006, Flint et al 2000, Gómez-Dantés y Willoquet 2009). El virus del dengue (DENV) es un virus con genoma de RNA de cadena sencilla y polaridad positiva, el cual pertenece a la familia *Flaviviridae*. Codifica para tres proteínas estructurales: la proteína C (proteína central), la proteína M (proteína de membrana) y proteína E (proteína de envoltura) y 6 proteínas no estructurales (NS1, NS2, NS3, NS4a, NS4b y NS5).

La cuantificación eficiente de la infección viral en pacientes puede hacerse mediante la detección de una proteína viral específica como lo es NS1, la cual es una glicoproteína altamente conservada del virus del dengue y es secretada durante la fase aguda de infección (Ludert et al 2008). La detección de anticuerpos específicos (IgM e IgG) contra el virus del dengue es uno de los métodos de diagnósticos más utilizados, ya que con esto permite diferenciar entre una infección primaria y secundaria (Holmes et al 2005). En el caso de IgM, ésta es detectada a partir del sexto u octavo día de iniciado el cuadro y permanece en niveles detectables hasta por 30-60 días, en el caso de la IgG en una infección primaria, la respuesta es lenta, de poca intensidad y duración, mientras que en infecciones secundarias hay desarrollo rápido de anticuerpos, aparece a los 14 días post-infección y persiste de por vida. (OMS 2009)

Existen dos ciclos de transmisión del DENV, el ciclo selvático o zoonótico y el endémico o urbano, el cual involucra al humano como hospedero y al mosquito *Aedes aegypti* como vector principal, aunque el *Aedes albopictus* y otras especies del género *Aedes*, pueden funcionar como vectores secundarios (Gubler 2004, Pujol 2006) Ver Figura 1

**Figura 1.** Ciclos de transmisión del Virus del Dengue



En áreas no pobladas, el DENV es mantenido por transmisión vertical, entre mosquitos *Aedes aegypti* durante los periodos inter-epidémicos durante las temporadas de secas (De Silva et al 1999, Platt et al 2000, Wolfe et al 2001). Otro mecanismo usado por los arbovirus para mantenerse fuera del hospedero humano es tener reservorios adicionales, como por ejemplo mamíferos silvestres (Da Silva et al 1999, De Thoisy et al 2004).

El ciclo de transmisión urbano ha sido bien documentado. Sin embargo el ciclo de transmisión selvático ha sido poco estudiado (Wang et al 2000), aunque en recientes investigaciones en mamíferos silvestres se ha señalado la circulación del DENV entre algunas especies de primates no humanos y otros mamíferos, sugiriendo que hay patrones epidemiológicos aunque sin signología detectable en los hospederos (Aguilar-Setien et al 2008, Gubler 2004, De Thoisy et al 2001, De Thoisy et al 2004, De Thoisy et al 2009, Wolfe et al 2001). A pesar de lo ya mencionado el rol que desempeñan los mamíferos silvestres en la emergencia del DENV en el ciclo de transmisión urbano se desconoce.

El dengue es la enfermedad viral transmitida por vectores más importante para los humanos ya que pone en riesgo la salud de millones de personas que viven en zonas urbanas, suburbanas y rurales (Gubler 2004, Hemme et al 2010, WHO 2009); Se considera una enfermedad tropical debido a la distribución geográfica del vector (*Aedes aegypti*) (Gómez-Dantes y Willoquet 2009).

Factores como el rápido crecimiento demográfico, la migración rural-urbana y el aumento de residuos sólidos que proporcionan un hábitat adecuado para el crecimiento de las larvas en las zonas urbanas han favorecido la transmisión del virus a través del vector *Ae. aegypti* ocasionando brotes epidémicos en los países en desarrollo en los trópicos (WHO 2009).

En México como en otras partes del mundo, la presencia del Dengue está condicionada a la existencia del vector. La Secretaría de Salud (2009) menciona que los estados con mayor riesgo para la enfermedad son: Sonora, Nuevo León, Tamaulipas, Sinaloa, Veracruz, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo. Así mismo reporta que el número de casos de dengue clásico ha ido incrementando, ya que en el año 2006 se reportaron 22 810 casos, y en el 2009, se reportaron 41 972. Durante los años de muestreo para este estudio, en el Estado de Campeche, se reportaron un total de 217 casos en 2007 y 46 casos para el 2008.

Considerando que el dengue es una enfermedad cuyo número de casos y distribución geográfica ha aumentado de manera importante en años recientes, y que el estado de Campeche reporta casos

confirmados de dengue en zonas rurales (Secretaría de Salud Campeche 2009) cercanas a fragmentos ocupados por primates no humanos y murciélagos; el presente estudio tiene como objetivo identificar las características del paisaje asociados a la prevalencia de dengue en fragmentos de diferentes tamaños cohabitados por poblaciones de mono saraguato negro (*Alouatta pigra*) y murciélagos, basados en la hipótesis de que allí estos mamíferos se encuentran cercanos a asentamientos humanos.

Este estudio fue dividido en dos capítulos, el primero busca identificar la presencia del DENV mediante serodiagnóstico, en poblaciones de mono saraguato negro (*Alouatta pigra*) en fragmentos de selva con diferentes gradientes de perturbación. El segundo capítulo busca la seroprevalencia de DENV en murciélagos habitantes de fragmentos de selva con diferentes gradientes de perturbación en sitios compartidos con los monos.



# OBJETIVO GENERAL.

El objetivo de este estudio es conocer los efectos de la fragmentación del hábitat sobre la infección del DENV en comunidades de primates no humanos y murciélagos en diferentes fragmentos de hábitat en el Estado de Campeche.

## Objetivos particulares.

- 1) Detectar la presencia de la proteína NS1 circulante en 12 grupos de mono saraguato negro (*Alouatta pigra*) que habitan en fragmentos de diferentes tamaño, (clasificados como Chico, Mediano y Grande) y en un grupo habitantes de Selva Continua.
- 2) Detectar la presencia de la proteína NS1 circulante en murciélagos que comparten los fragmentos mencionados con los monos saraguato negro
- 3) Analizar los resultados obtenidos en el serodiagnóstico o positividad a DENV, considerando las distancias que existe entre fragmentos muestreados y los asentamientos humanos.
- 4) Identificar las variables del paisaje relacionados con la seroprevalencia en las poblaciones muestreadas.

## HIPÓTESIS GENERAL

Los murciélagos y los monos saraguato negro (*Alouatta pigra*) que habiten en lugares severamente fragmentados y cercanos a los asentamientos humanos, presentarán mayor seroprevalencia al DENV.

## CAPÍTULO 1.

Serodiagnóstico del virus de dengue en monos saraguato negro (*Alouatta pigra*) en diferentes tamaños de fragmentos de selva en el estado de Campeche.

### INTRODUCCIÓN

Desde el siglo pasado, los humanos hemos modificado el ambiente natural provocando cambios masivos en el hábitat de los primates no humanos. Actualmente la mayoría de las especies de primates viven en ambientes perturbados por actividades antropogénicas, confinados en pequeños remanentes de hábitat natural (Arroyo-Rodríguez et al 2007, Chapman et al 2005, Estrada et al 2002, Goldberg et al 2008, Nunn y Altizer 2006).

El orden de los primates incluye alrededor de 233 especies de simios y monos divididos en linajes antiguos formados por las especies del Nuevo y Viejo Mundo, distribuidos en regiones tropicales y subtropicales de América, Asia y África. Los primates se encuentran entre los mamíferos más amenazados del mundo, ya que son más susceptibles a la destrucción de su hábitat (UICN 2009).

En México existen tres especies de primates pertenecientes a dos géneros (*Alouatta* y *Ateles*) (Ceballos y Oliva 2005). El género *Alouatta* presenta dos especies, el *Alouatta palliata* o Mono Saraguato de Manto y el *Alouatta pigra* o Mono Saraguato Negro. Ambas especies se encuentran clasificadas como especies en Peligro de extinción dentro de la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-ECOL-2001).

Se ha reportado que el mono saraguato negro *Alouatta pigra* puede sobrevivir en pequeños fragmentos de selva (<10 ha) (Estrada et al 2002). A pesar de que el contacto entre humanos y primates silvestres no es un fenómeno reciente, el incremento de la población humana ha originado migraciones hacia las zonas remanentes de selvas tropicales favoreciendo el aumento en las tasas de contacto con las poblaciones de primates silvestres (Arroyo-Rodríguez et al 2008, Travis et al 2006). Navarro et al (2002) reportan que la distribución del género *Alouatta* sp en el estado de Campeche abarca el 40.1% de la superficie del estado

Entre los efectos más importantes de la pérdida y fragmentación de las selvas causadas por la actividad humana sobre las poblaciones de primates silvestres se encuentran cambios en la estructura demográfica de las poblaciones, el aislamiento de las unidades sociales y de individuos, el aumento en la densidad de poblaciones en fragmentos pequeños, disminución del tamaño de las poblaciones, la extinción local de estas y la presencia de enfermedades que ponen en riesgo a las poblaciones (Arroyo-Rodríguez et al 2007, Gillespie et al 2006, Chapman et al 2005, Van Belle S 2005).

La persistencia exitosa del género *Alouatta* en fragmentos de selva ha sido relacionada con su capacidad para adaptar su rango hogareño a la disponibilidad de hábitat, estos primates responden a la reducción de los tamaños de los fragmentos y al incremento de la densidad de población mediante la reducción de su rango hogareño (Azkarate y Arrollo 2007). Las altas densidades de población, la perturbación y fragmentación del hábitat, facilita el contacto entre estos primates y los humanos (Azkarate y Arrollo 2007, Goldberg et al 2009).

La distancia de aislamiento de los fragmentos puede afectar los movimientos de dispersión de las especies, la probabilidad de que los monos saraguato negro (*Alouatta pigra*) se muevan de un fragmento a otro dependerá de la distancia de aislamiento, de la presencia de corredores, y del tipo de matriz que rodea a los fragmentos (Mandujano y Estrada 2005).

El hábitat fragmentado puede tener dos efectos en la dispersión y presencia de enfermedades; el primero se ve influenciado por el área de movimiento de los hospederos o vectores y la variante conectividad entre fragmentos en el paisaje y en consecuencia la invasión de agentes patógenos. El segundo efecto es que la densidad poblacional y supervivencia de los hospederos y vectores varía a través de los paisajes heterogéneos (Mc Callum 2008, McCallum y Dobson 2002).

Gillespie y Chapman (2006), documentaron que el grado de perturbación de un fragmento fue determinante en la prevalencia de infecciones por nematodos en poblaciones de Colobos rojos

(*Procolobus rufomitratu*s) en Uganda. De la misma forma, Chapman et al (2005) reportan que encontraron evidencia que sugiere que en paisajes fragmentados, las poblaciones de humanos y primates no humanos (*Procolobus rufomitratu*s) comparten parásitos como *Ascaris sp* y *Giardia sp*; y que dichos parásitos tienen una prevalencia alta en las poblaciones humanas cercanas a los fragmentos ocupados por los colobos. Otro hallazgo de patógenos encontrados en primates no humanos los cuales se han visto relacionados con la fragmentación de su hábitat son los de De Thoysi et al (2001), quienes reportan seropositividad contra *Toxoplasma gondii* y anticuerpos contra *Plasmodium sp* en monos saraguato adultos, habitantes de paisajes fragmentados.

El conocimiento de enfermedades infecciosas en primates no humanos, permite discernir acerca de la naturaleza de muchas enfermedades que afectan a los seres humanos, particularmente porque los primates pueden ser reservorios de agentes infecciosos que pueden contagiar a los humanos (Chapman et al 2005, Pujol 2006). En estudios recientes se ha demostrado que aproximadamente el 25% de 415 parásitos hallados en primates, también afectan a los humanos, poniendo en peligro tanto a poblaciones humanas como de primates de vida silvestre. Además el 75% de todos los patógenos emergentes son zoonosis. (De Silva et al 1999, Hopkins y Nunn 2007)

Los primates silvestres tienen importantes características que comparten con los humanos como son similitudes morfológicas, fisiológicas, genéticas y conductuales, por lo cual son un modelo ideal para el estudio de enfermedades, ya que pueden ser utilizados como centinelas para identificar el ciclo selvático de transmisión de enfermedades virales importantes para el ser humano (Chapman et al 2005, Hopkins et al 2007, Nunn et al 2006, Travis et al 2006, Wolfe et al 2001).

Por otro lado, los primates no humanos pueden ser un reservorio para enfermedades zoonóticas, debido a su tamaño corporal y a sus características sociales pueden atraer vectores y con ello ser hospederos de diversos patógenos (Nunn et al 2006, Peterson et al 2005, Pujol 2006, Wolfe et al 2001).

Algunos primates del Viejo Mundo (Asia y África) son reservorios para flavivirus como la fiebre amarilla y dengue, mientras en el Nuevo Mundo (América) se ha reportado que primates del género *Alouatta sp*, son reservorios para la fiebre amarilla (Pepin et al 2008, Pujol 2006, Simone et al 2003). Por ejemplo, se sabe que primates del Nuevo Mundo pertenecientes al género *Alouatta sp* y *Aotus sp* pueden presentar signología, viremia, anticuerpos e incluso la muerte por fiebre amarilla (Kochel et al 2005, Simone et al 2003). Sin embargo poco se sabe del impacto que tiene el virus del dengue en las poblaciones de primates del Nuevo Mundo en vida libre y de su papel en el mantenimiento del ciclo selvático de esta enfermedad (Da Silva 2001, Diallo 2003).

El ciclo selvático o zoonótico del dengue, ha sido documentado en África y Asia, involucrando primates no humanos como hospederos (algunas especies son Orangután de borneo *Pongo pygmaeus*, Mono patas *Erythrocebus patas*, Macaco de Cofia *Macaca sinica*, Langur *Presbytis sp*) y diferentes especies de mosquitos *Aedes sp* (Gubler 2004, Pepin et al 2008, Platt et al 2000, Wang et al 2000, Wolfe et al 2001); sin embargo, en las zonas tropicales de América el ciclo selvático del dengue no ha sido reconocido hasta el momento en poblaciones de primates no humanos (De Thoysi et al 2009).

En Malasia, los cuatro serotipos de DENV son mantenidos por mosquitos *Aedes niveus* habitantes de dosel y por primates no humanos. (Wang et al 2000). En Asia, mediante análisis serológicos y el aislamiento del virus en primates del género *Macaca sp* y *Presbytis spp* se sugiere que existe una asociación entre estas especies con los mosquitos *Aedes niveus* como vector principal en el ciclo selvático de DENV -1, -2, 3 y -4. En África occidental, el DENV-2 ha sido identificado dentro el ciclo selvático en primates de la especie *Erythrocebus patas* y en mosquitos *Ae. furcifer*, *Ae. vitattus*, *Ae. taylori*, y *Ae. luteocephalus* (Vasilakis et al 2008)

Los linajes o variantes de los serotipos 1, 2, 3 y 4 del DENV que conforman los ciclos urbanos son evolutiva y ecológicamente distinto a los linajes ancestrales que circulan en las selvas de Asia y Oeste de África entre primates no humanos y mosquitos arborícolas del género *Aedes* (Vasilakis et al 2008, Wang et al 2000). La introducción del virus en las poblaciones humanas del nuevo mundo sucedió durante la colonización e introducción de esclavos en América (De Thoysi et al 2009)

El dengue es la enfermedad transmitida por vectores más importante en el continente Americano, que pone en riesgo la salud de millones de personas que viven en zonas urbanas, suburbanas y rurales (Gubler 2004, Hemme et al 2010, WHO 2009). Factores como el rápido crecimiento demográfico, la migración rural-urbana y el aumento de residuos sólidos que proporcionan un hábitat adecuado para el crecimiento de las larvas en las zonas urbanas han favorecido la transmisión del virus a través del vector *Ae. aegypti* ocasionando brotes epidémicos en los países en desarrollo en los trópicos (WHO 2009).

En México el número de casos de dengue clásico han ido incrementando; en el año 2006 se reportaron 22 810 casos, y en el 2009, se reportaron 41 972. La Secretaría de Salud (2009) menciona el estado de Campeche se encuentra entre los estados con mayor riesgo para la enfermedad.

Considerando que el dengue es una enfermedad cuyo número de casos y su distribución geográfica ha aumentado de manera importante en años recientes, y que el estado de Campeche reporta casos

confirmados de dengue en zonas rurales (Secretaría de Salud Campeche 2009); el presente estudio tiene como objetivo identificar las características del paisaje asociados a la posible positividad de dengue en monos (*Alouatta pigra*) habitantes de fragmentos con diferentes grados de perturbación, tamaños y cercanía a poblados.

## OBJETIVO GENERAL.

Evaluar la prevalencia de la infección por el virus del dengue en poblaciones de Mono Saraguato Negro (*Alouatta pigra*), en diferentes fragmentos de selva en el Estado de Campeche.

## Objetivos particulares.

- 1) Conocer la estructura poblacional de los grupos capturados.
- 2) Conocer la relación que existe entre la distancia a asentamientos humanos y las poblaciones de mono saraguato negro (*Alouatta pigra*) capturadas.
- 3) Identificar la prevalencia al DENV en los monos saraguato negro muestreados.
- 4) Identificar la presencia de anticuerpos IgG e IgM contra el DENV en el suero de los monos muestreados..

## HIPÓTESIS

Los Monos Saraguato Negro (*Alouatta pigra*) que habiten en lugares severamente fragmentados y cercanos a los asentamientos humanos, presentarán mayor seroprevalencia al DENV.

# MATERIAL Y MÉTODOS.

## Área de estudio

El estudio se realizó en el estado de Campeche, que se localiza en el sureste de la República Mexicana ( $17^{\circ}48'$  y  $20^{\circ}52'$  N, y  $89^{\circ}06'$  y  $92^{\circ}45'$  W). El clima del estado es cálido-húmedo, con lluvias en verano con un promedio de 900 a 2000 mm de precipitación pluvial anual. El estado de Campeche posee un 60 % de vegetación primaria, un 34 % de vegetación secundaria y un 6 % de vegetación antropogénica, (Chiappy y Gama 2004) siendo el 48.4% correspondiente al bosque tropical perennifolio y subcaducifolio (Navarro 2003). Los sitios de estudio se encuentran localizados en los Municipios de Ciudad del Carmen, Escarcega, y Calakmul en el Estado de Campeche.

## Sitio de estudio.

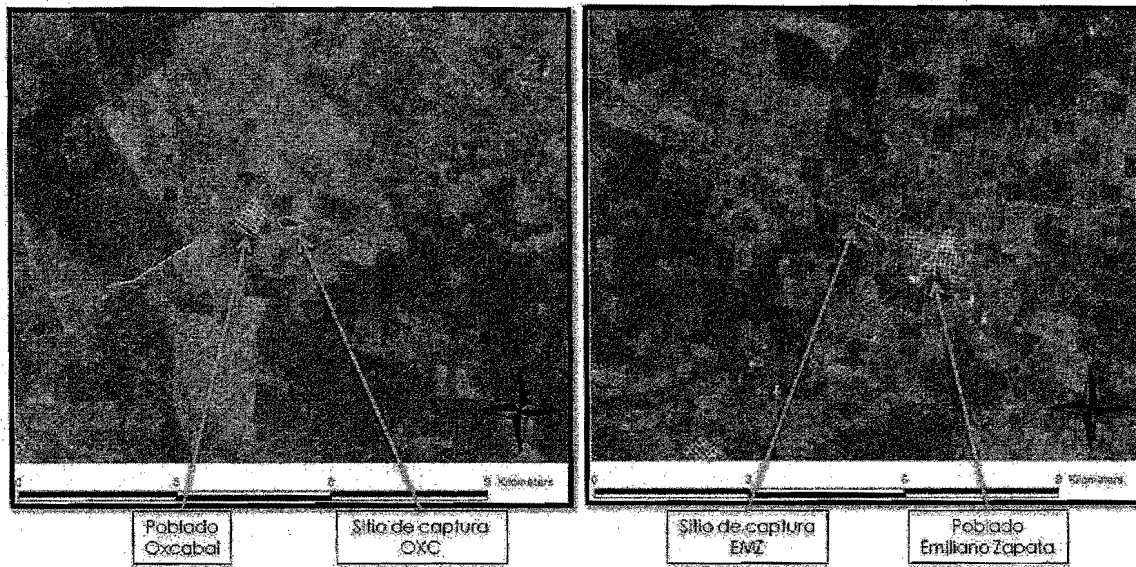
Los muestreos se realizaron en 6 diferentes sitios con distintos grados de fragmentación y en la Reserva de la Biosfera de Calakmul en noviembre del 2007 y 2008. Los fragmentos fueron seleccionados en base al tamaño, presencia de poblaciones de mono saraguato negro (*Alouatta pigra*) estables, y a que dichas poblaciones formaban parte del Proyecto Rescate de Mono Saraguato Negro en el estado de Campeche, desarrollado por la Universidad Veracruzana.

En cada fragmento se determinó el tipo de vegetación dominante y la altura media de los árboles; posteriormente se asignó la categoría de Selva mediana y Selva baja, siguiendo la clasificación utilizada por Martínez y Leal (2002) y por Díaz-Gallegos et al (2002). Un "fragmento" se define como un área remanente de la cobertura forestal original de condiciones ambientales homogéneas y con bordes (o límites) naturales o artificialmente definidos..

Dependiendo el tamaño de los fragmentos se clasificaron en: Fragmento chico Fragmento mediano y Fragmento grande. Para cada uno de los fragmentos, se utilizó una réplica por cada categoría (Ver Cuadro 1 y Figura 1, 2 y 3).

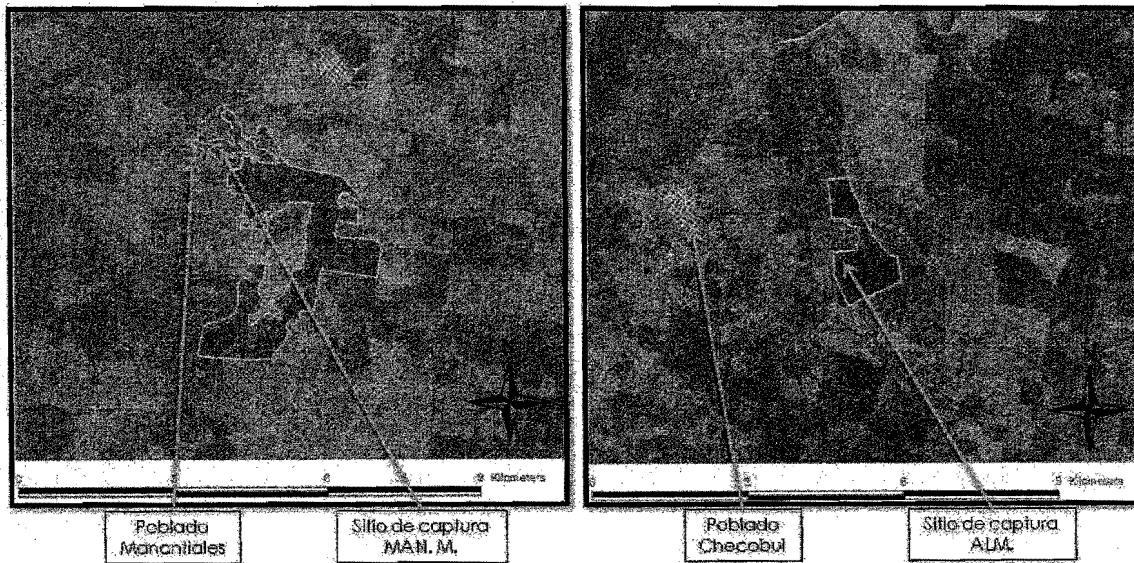


**Figura 1.** Imagen Satelital de los Fragmentos Chicos en el municipio Del Carmen, Estado de Campeche (Escala 1:50000).



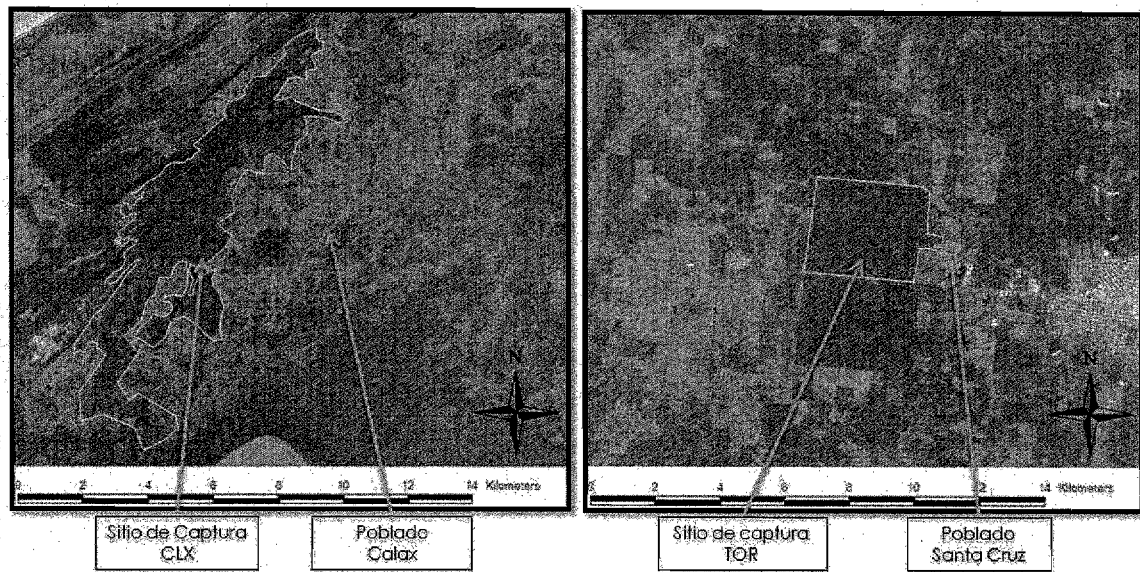
Imágenes Aster proporcionadas por el Dr. Mircea Gabriel Hidalgo Mihart de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

**Figura 2.** Imagen Satelital de los Fragmentos Medianos en el municipio Del Carmen, Estado de Campeche (Escala 1:50000).



Imágenes Aster proporcionadas por el Dr. Mircea Gabriel Hidalgo Mihart de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

**Figura 3.** Imagen Satelital de los Fragmentos Grandes en los municipios Del Carmen y Escárcega, Estado de Campeche (Escala 1:80000).



Imágenes Aster proporcionadas por el Dr. Mircea Gabriel Hidalgo Mihart de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Se consideraron fragmentos chicos a aquellos que tienen alta densidad de población de mono saraguato negro, presenta poca conectividad entre fragmentos, y un alto grado de aislamiento, se encuentran a una distancia a poblados  $< 1\text{km}$ . El rango del área del fragmento es  $< 10\text{ ha}$ .

Se consideraron fragmentos medianos a aquellos que tienen menor densidad de población de mono saraguato negro que los fragmentos chicos, presentan buena conectividad dentro del área muestreada, moderado grado de aislamiento y sólo uno de los fragmentos se encuentra cerca de un poblado ( $< 1\text{km}$ ). El rango del área del fragmento es  $> 100$  y  $< 500\text{ ha}$ .

Se consideraron fragmentos grandes a aquellos que tienen menor densidad de población de mono saraguato negro que los fragmentos anteriores, buena conectividad, y bajo grado de aislamiento, ambos fragmentos se encuentran alejados de poblados ( $> 2\text{ km}$ ). El rango del área del fragmento es  $> 1000$  y  $< 3000\text{ ha}$ .

Se consideró como selva continua al hábitat naturalmente conservado, el tamaño del área es de  $700\ 000\text{ Ha}$  aproximadamente.

# Procedimientos de captura

Se realizaron 2 muestreos anuales en los meses de noviembre de 2007 y 2008. Los procedimientos de captura se llevaron a cabo mediante previa localización visual de los grupos conocidos anteriormente por diversos estudios no invasivos. Los individuos fueron capturados mediante contención química; con dardos a distancia y utilizando clorhidrato de ketamina a una dosis estándar (1.5 ml por individuo = 150 mg totales) (De Thoisy 2001). Una vez que el anestésico hizo efecto, los monos caían del árbol y eran atrapados en una red de lona que se colocó debajo de los individuos. Se obtuvo el peso corporal, sexo de los individuos, edad (se clasificaron como adultos y juveniles), medidas morfo métricas, y muestras de sangre de la vena caudal de cada individuo, posteriormente los animales fueron tatuados en el pliegue de la piel abdominal del lado derecho. La sangre obtenida se colocó en tubos con gel separador, fue centrifugada a 1500 rpm durante 10 minutos. Las muestras se mantuvieron congeladas a -20°C hasta el momento de su procesamiento.

**Cuadro 1.** Características de los sitios de estudio.

Categoría	Sitio <sup>1</sup>	Coordenadas en UTM	Tipo de Vegetación	Área (ha)	Densidad. Ind./Km <sup>2</sup>
Fragmentos chicos	EMZ	71734510 N 207790 E	Selva baja	8.9	67
		714856 N 2086806 E			
Fragmentos Medianos	ALM	712810 N 2081497 E	Selva mediana	168.1	59 <sup>2</sup>
		702694 N 2071421 E			
Fragmentos Grandes	CLX	678091 N 2084582 E	Selva mediana	2807.9	0.5
		73119 N 2071421 E			
Selva Continua	CLK	197292 N 203239 E	Selva mediana	>2000	15.2 <sup>3</sup>

1. EMZ, Emiliano Zapata, OXC, Oxcal, ALM Alamo, MAM Manantiales, CLX Calx, TOR Tormento, CLK Calakmul (Reserva de la biósfera)

2. Densidad de Población de Monos Saraguato Negro (Individuos por Km<sup>2</sup>). Información proporcionada por el Dr. Pedro Díaz, coordinador de campo del Proyecto Rescate de Mono Saraguato Negro en el estado de Campeche, Universidad Veracruzana

3. Van Belle y Estrada (2005)

## Análisis espacial.

En cada sitio de captura se tomaron los puntos de referencia geográfica en unidades UTM, los cuales fueron situados sobre 3 Imágenes tipo Aster obtenidas en Mayo 13 del 2008 del estado de Campeche proporcionadas por el Dr. Mircea Gabriel Hidalgo Mihart de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Mediante el programa de Arc View 3.2® ESRI se determinaron el tamaño de los fragmentos y las distancias que existen de los puntos referidos de captura hacia los poblados más cercanos. Con el programa XLSTAT® Versión 2010.2.03, se realizó un análisis de regresión lineal para identificar la relación entre las distancia a poblados y tamaño de fragmento.

Finalmente se obtuvo el censo poblacional (INEGI 2005), de cada uno de los poblados cercanos a los sitios de captura, y el número de casos confirmados de Dengue en los poblados referidos (Secretaría de Salud Campeche 2009).

## Técnicas de laboratorio.

Las pruebas de diagnóstico se llevaron a cabo en el Departamento de Infectómica y Patogenicidad Molecular del CINVESTAV del IPN. Para el diagnóstico del virus del Dengue, se utilizaron dos pruebas comerciales: La primera fue una prueba rápida comercial de inmunocromatografía Dengue Duo Cassette (PanBio® diagnostics, Australia). Dicha prueba permite en un solo ensayo la detección de anticuerpos anti dengue del tipo IgM e IgG. Esta prueba cuenta con una sensibilidad del 95%, según información proveniente del fabricante. El siguiente ensayo de ELISA Platelia NS1 AG (Dengue NS1 AG, BioRad®), es una prueba inmunoenzimática de tipo sándwich, en formato microplaca, para la detección cualitativa o semicuantitativa del antígeno NS1 del virus del dengue circulante en el suero de pacientes. Presenta una sensibilidad del 93% (Kumarasamy et al 2007). El antígenos NS1 se encuentra en circulación desde día uno hasta el noveno, después de la aparición de los primeros signos de la enfermedad (Dussart 2006). Ambas pruebas se realizaron siguiendo las indicaciones del fabricante.

# RESULTADOS

Un total de 46 monos saraguatos negro (MSN) pertenecientes a 12 grupos fueron capturados en 6 fragmentos de selva de tamaños diferentes y 1 grupo perteneciente a la Reserva de la Biosfera de Calakmul. Se registró el sexo y edad aparente de los individuos capturados (Ver Cuadro 2.)

**Cuadro 2.** Características de los fragmentos y de los grupos capturados de Mono Saraguato Negro (*Alouatta pigra*).

Fecha de captura	Fragmento	Sitio <sup>1</sup>	Id de grupo	Macho:Hembra	Adulto:Juvenil	Total
Noviembre 2007	Chico	EMZ	33-1	1:2	3:0	3
		OXC	28-1	1:0	0:1	1
	Mediano	ALM	27-1	1:2	3:0	3
	Grande	TOR	29-1	2:2	4:0	4
		TOR	30-1	2:2	4:0	4
		CLX	31-1	2:3	4:1	5
CLX		32-1	1:3	3:1	4	
Noviembre 2008	Chico	EMZ	33-1	2:1	2:1	3
	Mediano	ALM	58-1	1:1	2:0	2
		MAN.M	59-1	1:1	2:0	2
	Grande	CLX	31-1	2:2	3:1	4
		TOR	55-1	2:2	4:0	4
		TOR	56-1	1:2	3:0	3
Selva Continua	CLK	57-1	1:3	3:1	4	
<b>TOTAL</b>						<b>46</b>

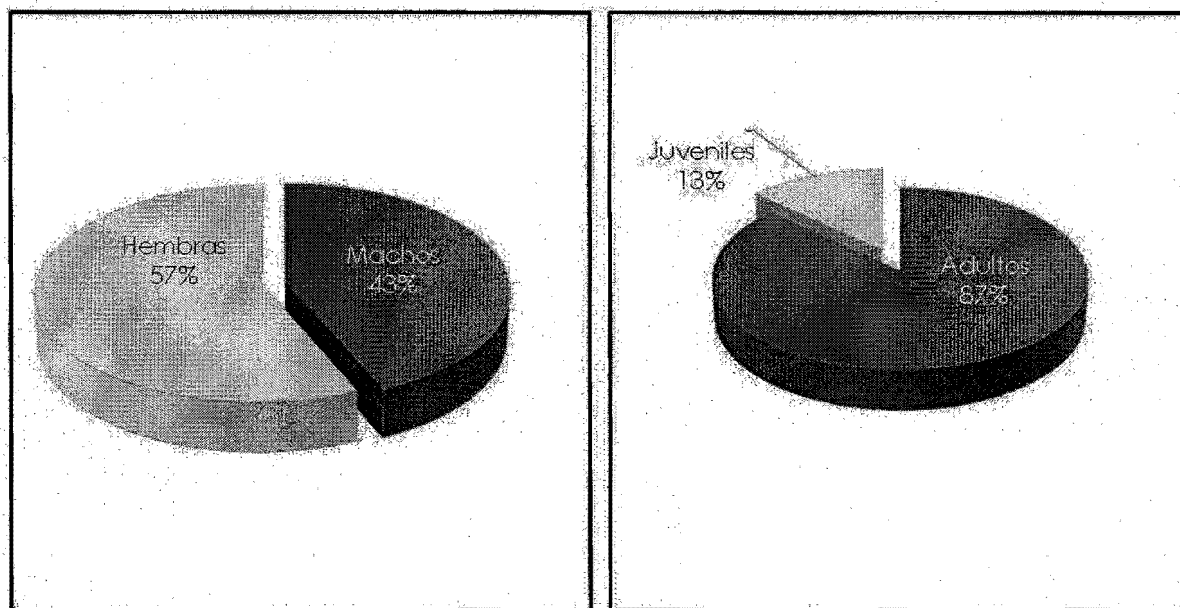
1. Sitio: EMZ, Emiliano Zapata, OXC, Oxcal, ALM Alamo, MAM Manantiales, CLX Calx, TOR Tormento, CLK Calakmul (Reserva de la biósfera)

Los grupos capturados formaron parte de previos estudios sobre la biología de la especie los cuales fueron realizados por el Proyecto Rescate de Mono Saraguato Negro en el estado de Campeche,

desarrollado por la Universidad Veracruzana, por lo que la identificación y ubicación de los grupos facilitó la captura de todos los grupos y la recaptura de dos grupos (el 31-1 perteneciente al fragmento grande CLX y el grupo 33-1 perteneciente al fragmento chico EMZ).

En los fragmentos chicos y medianos sólo se capturó un grupo de monos por sitio, en cambio, en los fragmentos grandes se capturaron dos grupos por sitio. El promedio de individuos por grupo fue de  $3.28 \pm 1.06$ . La estructura de los grupos estuvo compuesta por 43% machos ( $1.43 \pm 0.51$ ) y 57% hembras ( $1.86 \pm 0.86$ ) de los cuales el 87% fueron adultos ( $2.86 \pm 1.09$ ) y el 13% ( $0.43 \pm 0.51$ ) fueron juveniles (Figura 4).

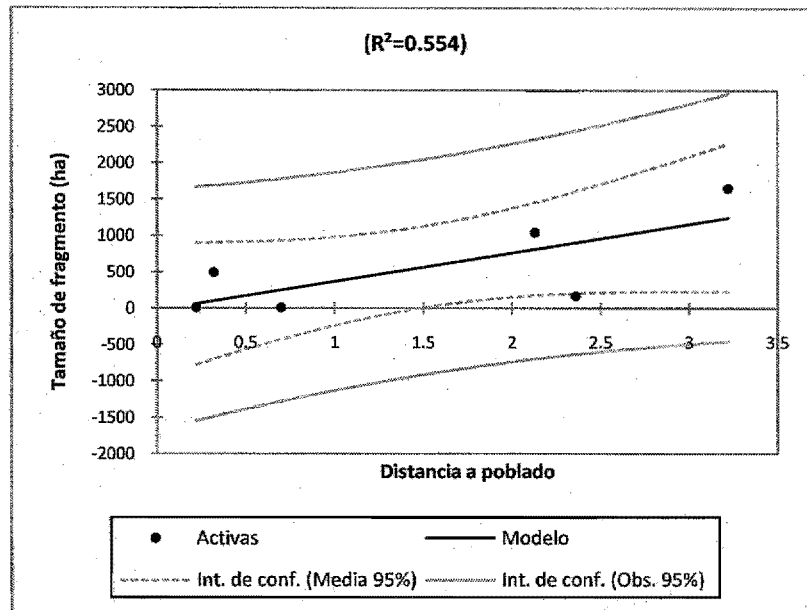
**Figura 4.** Estructura poblacional de los grupos de *Alouatta pigra* capturados



La distancia promedio que existe entre los poblados humanos y los sitios de muestreo sin considerar el tamaño de los fragmentos fue de  $3.06 \pm 1.99$  Km. Se observó que conforme el tamaño de los fragmentos aumenta, la distancia a poblados también incrementa (Ver cuadro 3 y figura 3)

Los datos obtenidos través de la Secretaría de Salud Campeche (2009) muestran que el poblado Chicbul presentó dos casos confirmados de dengue; dicho poblado se encuentra a una distancia menor a 0.7 Km del fragmento chico EMZ (Emiliano Zapata). Ver cuadro 3.

**Figura 5.** Regresión lineal de Tamaño de fragmento por distancia de poblado.



**Cuadro 3.** Densidad de población y casos confirmados de dengue en los poblados cercanos a los fragmentos estudiados

Tamaño del fragmento	Sitio de captura	Distancia poblados Km*	Nombre del poblado	Población ▲	Casos positivos DENV ●
Chico	EMZ	0.7	Chicbul Emiliano Zapata	2669	2
	OXC	0.22	Oxcabal	649	-
Mediano	MAM	0.32	Manantiales	129	-
	ALM	2.36	Checubul	1541	-
Grande	TOR	2.13	Santa Cruz	31	-
	CLX	3.22	Calax	146	-
Selva Continua	Calakmul	24	Conguaz	-	-

Sitio: EMZ, Emiliano Zapata, OXC, Oxcabal, ALM Alamo, MAM Manantiales, CLX Calx, TOR Tormento, CLK Calakmul (Reserva de la biósfera)

\*Distancia al poblado más cercano en Km,

▲Población. Número de habitantes hasta el año 2005 (INEGI 2010)

●DENV. Número de casos de dengue en personas confirmados positivos en 2007. (Secretaría de Salud Campeche (2009).

Los resultados obtenidos en las pruebas de ELISA para las detecciones de NS1 circulante y de

imunocromatografía para la detección de IgM e IgG realizadas en todos los individuos muestreados fueron negativos. Estos resultados sugieren la ausencia de infección activa o pasada por el virus del dengue en estos animales.



# DISCUSIÓN

Al igual que Mandujano y Estrada (2005) en este estudio se observó que los fragmentos más grandes presentaron mayor población de monos que los chicos lo cual sugiere que la pérdida y fragmentación del hábitat afecta significativamente la ocupación de los fragmentos conforme el tamaño de estos disminuye. Estrada et al (2000) mencionan que en hábitat continuo, las poblaciones de *A. pigra* se observan en densidades de 12.7 a 44.1 individuos/km<sup>2</sup>, mientras que en el hábitat fragmentado las poblaciones se presentan en densidades de > 100 individuos/km<sup>2</sup>, sugiriendo un estado de sobrepoblación en los hábitat islas. Las densidades de población observadas en este estudio son semejantes a las reportadas por los autores antes mencionados, sin embargo cabe aclarar que en uno de los fragmentos grandes (CLX) la densidad se obtenida se encontró muy por debajo de las reportadas en la literatura, ya que los dos grupos de monos saraguato negro (*Alouatta pigra*) que se utilizaron en este estudio fueron reubicados en dicho fragmentos.

Van Belle y Estrada (2005) mencionan que la estructura social multimacho-multihembra es predominante en poblaciones de *A. pigra* en hábitat continuo, con dos machos adultos y dos hembras adultas y un grupo variable de inmaduros constituyen el patrón más común, en tanto que los agrupamientos unimacho-unihembra y unimacho-multihembra son más frecuentes en hábitat fragmentado, aunque también se presentan en poblaciones en hábitat continuo, tal como se observó en este estudio.

Por otro lado, Azkarate y Arrollo (2007) mencionan que el tamaño de los fragmentos no es tan buen indicador para predecir la respuesta de los monos aulladores (*Alouatta*) a la perturbación de su hábitat tanto como lo es la densidad de población, la cual se encuentra relacionada positivamente el número de especies arbóreas usadas como alimentación. En este estudio no se incluyó información relacionada con hábitos alimenticios, disponibilidad de alimento y patrones de actividad ya que dicha información fue utilizada para otros estudios dentro del Proyecto de Rescate de Monos Aulladores en el Estado de Campeche.

Las altas densidades de población del género *Alouatta* han sido relacionadas con la disminución de alimento, lo cual puede afectar la sobrevivencia de algunos individuos jóvenes (Azkarate y Arrollo 2007)

Dicho aislamiento puede causar sesgos en la proporción de los sexos de la población de infantes hacia un sexo u el otro como resultado de efectos estocásticos o como una estrategia de las hembras, además puede resultar también en diferentes tasas de mortalidad entre los individuos causadas por la falta de recursos suficientes y/o por el estrés generado por la contracción del hábitat y con esto inmunosupresión; (Van Belle y Estrada 2005).

Se considera que los fragmentos de hábitat cercanos a asentamientos humanos presentan un mayor riesgo de introducción y establecimiento de patógenos (Gubler 2004, Sott 1988, Suzán et al 2000). En dos estudios realizados en poblaciones silvestres de primates en Asia, se demostró la presencia de anticuerpos contra dengue en orangutanes y macacos (De Silva et al 1999, Wolfe et al 2001). Wolfe et al (2001), muestreó poblaciones de Orangutanes de Borneo (*Pongo pygmaeus*) las cuales habitaban fragmentos de selva con distintos grados de perturbación; en este estudio solo 4 de 71 orangutanes muestreados fueron diagnosticados como positivos a DENV-2 por neutralización de anticuerpos, sin embargo no fue posible determinar si el virus era del tipo selvático o endémico. Así mismo Da Silva et al (1999), reportaron anticuerpos positivos contra el DENV en 52 macacos (*Macaca sinica*) en Sri Lanka que fueron muestreados en una zona arqueológica, rodeada por asentamientos humano. En este estudio hacen referencia que los animales que presentaron anticuerpos al virus, probablemente hayan sido infectados durante la epizootia de dengue que se presentó en la zona. En ambos estudios se menciona que ningún primate presentaba signología referente a la enfermedad, concluyendo que no se conoce la función que pueden tener estas especies de primates en el ciclo del dengue, aunque mencionan que pueden servir como hospederos amplificadores.

Como se pudo observar en este estudio, la distancia entre los fragmentos ocupados por monos saraguato negro y las poblaciones humanas, ( $\leq 1\text{km}$  y  $\geq 2$ ) no fue un factor que favoreciera la presencia del virus del dengue en las meta poblaciones muestreadas de mono saraguato negro aún cuando se tienen registros de la presencia del virus en uno de los poblados (Chicbul) cercano a uno de los fragmentos chicos (EMZ).

El estudio de enfermedades en mamíferos silvestres permite estar al tanto del estado de salud de las poblaciones muestreadas, de igual forma permite conocer el papel que tienen las especies como posibles reservorios en la dinámica de enfermedades, por ejemplo aquellas transmitidas por vectores en su ciclo selvático como es el caso del virus del Dengue (DENV).

Existen pocos estudios relacionados con la ecología del DENV en primates no humanos del Nuevo Mundo en su ciclo selvático. De Thoisy et al (2001, encontraron anticuerpos contra dengue y fiebre

amarilla en una población de mono saraguato (*Alouatta seniculus*) capturados en una zona de selva conservada, aunque debido a la reacción cruzada que existe entre los dos tipos de virus mencionados, no es posible determinar que los mono saraguato muestreados hayan sido infectados con el virus del dengue.

En este estudio se buscó, la presencia del virus de dengue en las poblaciones de Mono Saraguato Negro y su posible implicación en el ciclo selvático. Utilizando dos técnicas diagnósticas que pudieran evidenciar la presencia del Dengue (viremia) y la posible exposición al agente (anticuerpos); sin embargo no se encontró evidencia de que los monos muestreados en este estudio, hayan estado en contacto con el DENV debido a los resultados negativos a las pruebas diagnósticas utilizadas. La prueba de ELISA Platelia" NS1 AG (Dengue NS1 AG, BioRad® utilizada también ha sido utilizada por otros autores para el diagnóstico del virus de dengue en poblaciones de murciélagos en los estados de Jalisco, Colima y Veracruz, encontrando murciélagos positivos a esta prueba (Aguilar Setien et al 2008).

Se desconoce si la presencia del dengue en mono saraguato negro (*Alouatta pigra*), pueda afectar directamente a sus poblaciones causándoles la enfermedad clínica o en el peor de los casos la muerte. Tampoco se sabe si esta especie puede ser reservorio natural de la enfermedad contrario a la fiebre amarilla que puede causar enfermedad y muerte en los monos saraguatos (Kochel et al 2005, Simone et al 2003).

Los estudios realizados hasta el momento en primates no humanos del Nuevo Mundo, no han logrado determinar si los primates infectados, son capaces de funcionar como hospederos amplificadores, ya que sólo se han logrado identificar anticuerpos neutralizantes contra el agente patógeno. En un estudio realizado por Rosen (1958) en donde inoculó virus del dengue a varias especies de primates del nuevo mundo en condiciones de laboratorio observó que ninguno de los individuos desarrolló la enfermedad o signología referente, a pesar de que presentaron títulos de inhibición de la hemoaglutinación y neutralizantes

Análisis filogenéticos indican que los linajes endémicos de DENV -1, -2 y -4, evolucionaron independientemente al virus selvático circulante en la región de Asia. Se estima que al tiempo de la divergencia la emergencia del virus endémico ocurrió, en el orden de 1500 años (Wang et al 2000). El virus del DEN, es evolutiva y ecológicamente distinto al linaje ancestral que circula en las selvas de Asia y Oeste de África entre primates no humanos y mosquitos arborícolas del género *Aedes* (Vasilakis et al 2008, Wang et al 2000). La introducción del virus en las poblaciones humanas del nuevo mundo

sucedió durante la colonización e introducción de esclavos en América (De Thoysi et al 2009). Existen datos que sugieren que las variedades selváticas son confinadas al hábitat forestal (Vasilakis et al 2008, Wolfe et al 2001), Wang et al (2000), sugieren que la forma selvática del DENV fue el ancestro de la forma epidémica (urbana) cuando la población humana existente era poca hace miles de años, por lo que la forma selvática probablemente evolucionó cuando el aumento de las poblaciones humanas y su establecimiento en zonas rurales fueron suficientes para servir como reservorios.

El ciclo selvático o zoonótico, ha sido documentado en África y Asia, involucrando primates no humanos como hospederos (algunas especies son Orangután de borneo *Pongo pygmaeus*, Mono patas *Eritrocebus patas*, Macaco de Cofia *Macaca sinica*, Langur *Presbytis sp*) y diferentes especies de mosquitos *Aedes sp* (Gubler 2004, Pepin et al 2008, Platt et al 2000, Wang et al 2000, Wolfe et al 2001). Sin embargo en las zonas tropicales de América el ciclo selvático del dengue no ha sido reconocido hasta el momento en poblaciones de primates no humanos(De Thoysi et al 2009).

Aún cuando nuestros resultados coinciden con aquellos obtenidos en estudios previos realizados en América (De Thoysi et al 2001), no se encontró evidencia del agente patógeno en los grupos de mono saraguato negro muestreados, no podemos descartar que estos animales tengan algún papel en el mantenimiento del virus del dengue en su ciclo selvático. Es por ello que se recomienda realizar este tipo de muestreo en monos saraguatos (*Alouatta*) en estados como Veracruz, el cual presenta el mayor número de casos reportados de dengue (Secretaría de Salud 2009.) La información generada en este estudio, crea nuevas líneas de investigación, por ejemplo, sugerimos que en futuros proyectos relacionados con la ecología del dengue y los primates del Nuevo Mundo, deberá llevarse a cabo y de forma simultánea, la búsqueda del vector en las zonas donde habitan los monos saraguatos negros, con la finalidad de integrar la dinámica del patógeno, del vector y de los primates en el ciclo selvático del dengue. Se sugiere también, el muestro de primates del Nuevo Mundo en cautiverio en zonas endémicas de dengue, con la finalidad de identificar posibles infecciones de forma natural en estos primates, mediante la búsqueda de anticuerpos o posible viremia. Lo anterior permitirá conocer el posible papel de los primates no humanos como hospedero ante el agente.

# LITERATURA CITADA.

Aguilar-Setien, A., M. L. Romero-Almaraz, C. Sanchez-Hernandez, R. Figueroa, L.P. Juarez-Palma, M.M. Garcia-Flores, C. Vazquez-Salinas, M. Salas-Rojas, S. A. Hidalgo-Martinez, S. A. Pierle, C. Garcia-Estrada y C. Ramos. 2008. Short Report. Dengue virus in Mexican bats. *Epidemiology and Infections* 136:1678-1683

Arroyo-Rodríguez V., S. Mandujano, y J. Benítez-Malvido. 2008. Landscape Attributes Affecting Patch Occupancy by Howler Monkeys (*Alouatta palliata mexicana*) at Los Tuxtlas, Mexico. *American Journal of Primatology* 70:69-77.

Azkarate J. C. y V. Arroyo-Rodríguez. 2007. Diet and activity pattern of howler monkeys (*Alouatta palliata*) in los Tuxtlas, México: effects of habitat fragmentation and implications for conservation. *American Journal of Primatology* 69:1013-1029

Boletín de vigilancia epidemiológica 2008. [www.dgepi.salud.gob.mx/boletin](http://www.dgepi.salud.gob.mx/boletin)

Ceballos G., G. Oliva. 2005. Los mamíferos silvestres de México. Comisión Nacional para la Conservación y Uso de la Biodiversidad. Páginas 339-342. Fondo de Cultura Económica, México.

Chiappy C. y L. Gama. 2004. Modificaciones y fragmentación de los geocomplejos tropicales de la península de Yucatán. *Universidad y Ciencia* 17-25.

Conabio, 2000. Estrategia nacional sobre biodiversidad de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. Edición digital: Conabio 2000

Contigiani M.S., C. Fernandez, L.I. Spinsanti, y G.E. Diaz. 2000. Prevalencia de anticuerpos para Flavivirus en el primate *Alouatta caraya* autóctono de la Argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 60: 348-350

Chapman C.A., T.R. Gillespie y T.I. Goldberg. 2005. Primates and the ecology of their infectious diseases: How will anthropogenic change affect host-parasite interactions? *Evolutionary Anthropology* 14:134–144.

Davies T.J. y A.B. Pedersen. 2008. Phylogeny and geography predict pathogen community similarity in wild primates and humans. *Proceedings Biological Science. The Royal Society* 275: 1695–1701

De Silva A.M., P.J. Wolfgang, Dittus, H. P. Amerasinghe y P. F Amerasinghe. 1999. Serologic evidence for an epizootic dengue virus infecting Toque Macaques (*Macaca sinica*) at Polonnaruwa, Sri Lanka. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 60: 300-3006

De Thoisy B., I. Vogel, J.M. Reynes, J.F. Pouliquen, B. Varne, M. Kazanji y J.C. Vié. 2001. Health evaluation of translocated free-ranging primate in French Guiana. *American Journal of Primatology* 54:1–16

De Thoisy B, P. Dussart y M. Kazanji. 2004. Wild terrestrial rainforest mammals as potential reservoirs for flaviviruses (yellow fever, dengue 2 and St Louis encephalitis viruses) in French Guiana. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 98: 409—412

De Thoisy B., V. Lacoste, A. Germain, J. Muñoz-Jordán, C. Colón, J.F. Mauffrey, M. Delaval, F. Catzeflis, K. Kazanji, S. Matheus, P. Dussart, J. Morvan, A. Aguilar Setién, X. Deparis y Lavergne A. 2009. Dengue Infection in Neotropical Forest Mammals. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 9:157-169.

Diallo M., B. Yamar, A. A. Sall, O. M. Diop, J. A. Ndione, M. Mondo, L. Girault y C. Mathiot. 2003. Amplification of the sylvatic cycle of Dengue virus type 2, Senegal, 1999–2000: entomologic findings and epidemiologic considerations. *Emerging Infectious Diseases* 9: 362 – 367.

Díaz-Gallegos J.R., A.O. Castillo y G.G. García. 2002. Distribución espacial y estructura arbórea de la selva baja subperinifolia en un ejido de la Reserva de la Biósfera Calakmul, Campeche, México. *Universidad y Ciencia* 18:11-28

Dussart P., B. Labeau, G. Lagathu, P. Louis, M. R. T. Nunes, S. G. Rodrigues, C. Storck-Herrmann, R. Cesaire, J. Morvan, M. Flamand y L. Baril. 2006. Evaluation of an Enzyme

Immunoassay for Detection of Dengue Virus NS1 Antigen in Human Serum. *Clinical and Vaccine Immunology* 2: 1185–1189

Estrada A., A. Mendoza, L. Castellanos, R. Pacheco, S. Van Belle, García y D. Muñoz. 2002. Population of the black howler monkey (*Alouatta pigra*) in a fragmented landscape in Palenque, Chiapas, Mexico. *American Journal of Primatology* 58: 45-55.

Fahrig L. 2003. Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 34: 487-515

Flint S.J., L.W. Enquist, R.M. Krug, V.R. Racaniello y A.M. Skalka. 2000. Principles of virology, molecular biology, pathogenesis and control. ASM , Washington USA.

Galindo-González J. 2007. Efectos de la fragmentación del paisaje sobre las poblaciones de mamíferos; en caso de los murciélagos de los Tuxtlas, Veracruz. páginas 97-114, en Sánchez-Rojas G., A. Rojas-Martínez. Tópicos en sistemática, biogeografía y conservación de mamíferos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México.

Getis A., A.C. Morrison, K. Gray y T.W. Scott. 2003. Characteristics of the spatial pattern of the dengue vector, *Aedes aegypti*, in Iquitos, Peru. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 69: 494–505

Gillespie T.R. y C. Chapman. 2006. Prediction of parasite infection dynamics in primate metapopulations based on attributes of forest fragmentation. *Conservation Biology* 1-5

Goldberg T.L., T.R. Gillespie, I.B. Rwego, E.L. Estoff y C.A. Chapman. 2008. Forest Fragmentation as cause of bacterial transmission among nonhuman primates, humans, and livestock, Uganda. *Emerging Infectious Diseases* 14: 1375-1382

Gómez-Dantés H. y Ramsey – Willoquet. 2009. Dengue in the Americas: challenges for prevention and control *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro 25 Sup 1: 19-S31,

Gubler D.J. 2004. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: full circle? *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*. 27: 319–330

Hemme R.R., C.L. Thomas, D.D. Chadee y D.W. Severson. 2010. Influence of urban landscapes on population dynamics in a short-distance migrant mosquito: evidence for the dengue vector *Aedes aegypti*. PLoS Neglected Tropical Disease 4:634

Hopkins E.M. y L.C. Nunn. 2007. A global gap analysis of infectious agents in wild primates. Diversity and Distributions 13: 561–572

INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía 2010. <http://www.inegi.org.mx>.

Keesing F., R.D. Holt y R.S. Ostfeld. 2006. Effects of species diversity on disease risk. Ecology Letters 9: 485–498

Kochel J.K., D.M. Watts, A.S. Gozalo, D.F. Ewing, K.R. Porter y K.L. Russell. 2005. Cross-Serotype Neutralization of Dengue Virus in *Aotus nancymae* Monkeys Brief report. Journal of Infection Disease 191: 1001

Kumarasamy V., S. K. Chua, Z. Hassan, A.H.A. Wahab, Y. K. Chem, M Mohamad y K. B. Chua. 2007. Evaluating the sensitivity of a commercial dengue NS1 antigen capture ELISA for early diagnosis of acute dengue virus infection Singapore Medical Journal 48: 669-673.

Kuno G. 2001. Persistence of arboviruses and antiviral antibodies in vertebrate hosts: its occurrence and impacts. Rev. Med. Virol; 11: 165–190

Mandujano S. y A. Estrada. 2005. Detección de umbrales de área y distancia de aislamiento para la ocupación de fragmentos de selva por monos aulladores, *Alouatta palliata*, en los Tuxtlas, México. Universidad y ciencia II: 11-21

Martínez E. y C. Galindo-Leal. 2002. La vegetación de Calakmul, Campeche, México: Clasificación, descripción y distribución. Boletín de la Sociedad Botánica de México 71: 7-32

McCallum H. y A. Dobson. 2002. Diseases, habitat fragmentation and Conservation. *Proceedings of Biological Science* 269: 2041–2049



McCallum H. 2008. Landscape Structure, disturbance and disease dynamics. In Ostfeld, R. S., Keesing, F. & Eviner, V. T. (Eds.) *Infectious Disease Ecology. The effects of ecosystems on disease and of disease on ecosystems*. New Jersey, USA, Princeton University.

Méndez J.A., E. Parra, M. Neira y G.J. Rey. 2007. Detección por reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa del virus de la fiebre amarilla en monos silvestres: una herramienta sensible para la vigilancia epidemiológica. *Biomédica* 7:461-7

Molyneux D.H. 1998. Vector-borne parasitic diseases, an overview of recent changes. *International Journal of parasite* 28: 927-934.

Navarro F.E., C. Pozo de la Tijera y C.E. Escobedo. 2003. Afinidad ecológica y distribución actual de Primates (Cebidae) en Campeche, México *Rev. Biol. Trop.*, 51: 591-600.

Nunn L.C. y S. Altizer. 2006. *Infectious diseases in primates. Behavior, ecology and evolution*. Oxford University press. United Kindom.

Patz, J.A., T.K. Graczyk, N. Gellera y A.Y. Vittorc 2000. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. *International Journal for Parasitology* 30: 1395- 1405

Pepin K.M. y K.A. Hanley. 2008. Density-dependent competitive suppression of sylvatic dengue virus by endemic dengue virus in cultured mosquito cells. *Vector-borne and zoonotic diseases* 8:821-8

Platt K.B., J.A. Mangiafico, O.J. Rocha, M.E. Zaldivar, J. Mora, G. Trueba y W.A Rowley. 2000. Detection of Dengue Virus Neutralizing Antibodies in Bats from Costa Rica and Ecuador. *Journal of Medical Entomology* 37: 965-967

Pujol F.H. 2006. Virus en Primates no humanos: zoonosis, antropozoonosis y biodiversidad. *Interciencia*, 31: 396-402.

Rosen L. 1958. Experimental infection of new world monkeys with dengue and yellow fever viruses. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 7: 406-10

Rudolf V.H. y J. Antonovics. 2005. Species Coexistence and pathogens with frequency-dependent transmission. *The American Naturalist*, 166: 112-117.

Scott M.E. 2005. The impact of infection and disease on animal populations: implications for conservation biology. *Conservation Biology* 1: 40 – 56.

Secretaría de salud 2009. [www.cenave.gob.mx/Dengue](http://www.cenave.gob.mx/Dengue)

Secretaría de Salud Campeche 2009. [www.saludcampeche.gob.mx/epidemiologia/boletines](http://www.saludcampeche.gob.mx/epidemiologia/boletines)

SEMARNAT. Secretaría de Medio ambiente y recursos naturales México 2008  
[www.semarnat.gob.mx](http://www.semarnat.gob.mx)

Simone E., S. Viegas, L. Vera, R. Souza de Barros, S.L. Garmatz, R. Almeida, F. Dominguita y L. Grac. 2003. A case of yellow fever in a brown howler (*Alouatta fusca*) in Southern Brazil *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 15:574–576

Sistema nacional de información en salud [www.sinais.salud.gob.mx](http://www.sinais.salud.gob.mx). México 2008.

Suzán A.G., M.F. Galindo, G.G. Ceballos. 2000. La importancia del estudio de enfermedades en la conservación de fauna silvestre. *Veterinaria México* 31: 223-230.

Suzán G., J.T. Giermakowski, E. Marcé, H. Suzán-Azpíri, B. Armién y T.L. Yates 2006. Modeling hantavirus reservoir species dominance in high seroprevalence areas on the Azuero peninsula of Panama. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 74:1103–1110

Suzán G., E. Marcé, T.J. Giermakowski, B. Armién, J.M. Pascale, J. Mills, G. Ceballos, A. Gómez, A. Aguirre, J. Salazar-Bravo, A. Armién, R. Parmenter, y T. Yates. 2008. The effect of habitat fragmentation and species diversity loss on hantavirus prevalence in Panama. *Animal Biodiversity and Emerging Diseases*. New York Academy of Sciences; 1149: 80–83

Travis D.A., L. Hungerford, G.A. Engel y L. Jones-Engel. 2006. Disease risk analysis: a tool for primate conservation planning and decision making. *American Journal of Primatology* 68: 855–867

Van Belle S., y A. Estrada. 2005. Cambios demográficos en poblaciones del mono aullador negro (*Alouatta pigra*) como consecuencia de la fragmentación del hábitat. Universidad y Ciencia Número Especial II: 1-9.

Vasilakis N., R.T. Tesh y S.C. Weaver. 2008. Sylvatic Dengue Virus Type 2 Activity in Humans, Nigeria, 1966. *Emerging Infectious Diseases* 14: 502-505.

Wang E., H. Ni, R. Xu y A. Barrett, S.J. Watowich, D.J. Gubler y S.C. Weaver. 2000. Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses. *Journal of Virology* april. 3227-3234

Wolfe N, A.M. Kilbourn, W.B. Karesh, H.A. Rahman, E.J. Bosi, B.C. Cropp, M. Andau, A. Spielman y D.J. Gubler. 2001. Sylvatic transmission of arboviruses among bornean orangutans. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene* 64: 310-316

World Health Organization 2009. [www.who.int/csr/disease/dengue/impact](http://www.who.int/csr/disease/dengue/impact)

## CAPÍTULO 2.

Seroprevalencia del virus de dengue en poblaciones de quirópteros en hábitat con diferentes grados de fragmentación, en el Estado de Campeche.

### INTRODUCCIÓN

Actualmente un gran porcentaje de los paisajes naturales han sido modificados debido al cambio en el uso de la tierra dando como resultado un mosaico en el paisaje original formado por una mezcla de fragmentos naturales y fragmentos manejados por el hombre, los cuales varían en forma, composición, forma y disposición espacial de sus elementos (Gehrt y Chelsvig 2003). Entre estos paisajes se encuentran las selvas tropicales las cuales representan uno de los mayores reservorios de diversidad biológica en el mundo (Ceballos et al 2005).

Existen mecanismos en los cuales la biodiversidad puede influir en propiedades o servicios ecosistémicos específicos en los sistemas naturales como por ejemplo la reducción en la transmisión de enfermedades transmitidas por vectores (mosquitos) (Ostfeld y Logiudice 2003). De acuerdo a lo antes mencionado, se puede decir que la biodiversidad ejerce un efecto de dilución cuando una gran diversidad de especies reduce el riesgo de exposición a los humanos para las infecciones transmitidas por vectores (Ostfeld y Logiudice 2003, Turner 1996). Estos efectos pueden deberse a dos componentes básicos: a) reducen el rango de contacto entre el patógeno y el hospedero, es decir una especie (no hospedera) puede ser un hospedero alternativo para el vector y no para el patógeno; y b) reducen y controlan la densidad del vector mediante su depredación (Keesing et al 2006).

Aún cuando la biodiversidad ofrece servicios ecosistémicos muy importantes para la salud humana, ésta se encuentra continuamente amenazada por la destrucción y fragmentación debido a actividades humanas (Ostfeld y Logiudice 2003). Lo anterior ha dejado a la biodiversidad en un estado de crisis global reduciendo el número de especies en comunidades impactadas por actividades antropogénicas, lo cual provoca que las propiedades ecosistémicas y sus servicios sean alterados (Ostfeld y Logiudice 2003, Turner 1996).

Los procesos de urbanización o desarrollo rural han transformado dramáticamente los paisajes naturales ocupados por las especies silvestres (Gehrt y Chelvig 2003). Estos cambios han transformado la cobertura vegetal original, creando un paisaje heterogéneo y fragmentado (Arroyo Rodríguez et al 2008, Fahrig, L. 2003, Galindo-González 2007), modificando la distribución de especies y la composición de comunidades inclusive, estos cambios han ocasionado que algunas especies lleguen a establecerse cerca y dentro de zonas urbanas o rurales, compartiendo así el espacio generando con ello un aumento en las tasas de contacto entre fauna silvestre, animales domésticos y poblaciones humanas (Duchamp et al 2004, Fahring 2003, Gehrt y Chelvig 2003, Suzán et al 2000), lo cual puede alterar la ecología de enfermedades infecciosas permitiendo nuevos patrones de transmisión de patógenos (Suzán et al 2008).

El patrón estructural del paisaje está compuesto por tres elementos: fragmentos, corredores y la matriz (Galindo 2007, McGarigal et al 2009). Los fragmentos están delimitados y diferenciados entre sí por tamaños, formas, composición y estructura biótica; los corredores unen a los fragmentos, y la matriz es el patrón o tipo de cobertura predominante, por lo que tiene un papel importante en la función del paisaje (Galindo 2007).

La ecología del paisaje estudia el efecto de los patrones espaciales sobre los procesos ecológicos, considera la heterogeneidad espacial como un factor central de los sistemas ecológicos (Galindo 2007, Picket y Cadenasso 1995). Los estudios habitualmente abarcan grandes extensiones de suelo, incluyendo diversos ecosistemas en interacción (McGarigal et al 2009)

La erosión de los ecosistemas, el comportamiento de los vectores en los bordes de los fragmentos, las actividades antropocéntricas alrededor y dentro de éstos y la interacción que se genera entre humanos y vectores es lo que determina la ecología de enfermedades, (Molyneux 1998) por lo que algunos patógenos como los flavivirus, entre estos el virus el dengue (DENV), pueden ser perpetuados en su ciclo de transmisión selvático o urbano siendo capaces de afectar diversas especies, entre ellas los murciélagos. (Flint et al 2000)

Los murciélagos representan el segundo orden más abundante de mamíferos; se encuentran ampliamente distribuidos en todos los continentes, y se les puede encontrar en colonias desde 10 hasta 200 000 individuos (Ceballos 2005). En México existen al menos 138 especies (Ceballos 2005, Medellín et al 2000, Neuweiler, 2000, Wong et al 2007).

Las comunidades de murciélagos ocupan varios niveles tróficos dentro de estas comunidades ciertas especies dependen de requerimientos especializados y microhabitat específico lo cual los convierte en importantes indicadores de paisajes fragmentados, pues son susceptibles a la extinción local (Galindo y Sosa 2003, Gehrt y Chelsvig 2003, Medellín et al 2000). Por ejemplo, las especie de la subfamilia *Phyllostominae*, por sus necesidades biológicas son muy sensibles a las perturbaciones del hábitat, en cambio la subfamilia *Stenoderminae* se beneficia con cierto grado de perturbación ya que aprovechan mejor los recursos de la vegetación secundaria y pionera (Galindo-González 2007).

De acuerdo con las capacidades de los murciélagos por adaptarse a los cambios en el paisaje, Galindo-González (2007) propone tres grupos: dependientes del hábitat, vulnerables y adaptables. Los primeros son murciélagos que dependen fuertemente del hábitat no perturbado, habitan en grandes fragmentos con vegetación, no toleran los espacios abiertos ni volar fuera de la cobertura vegetal y son los más especializados en cuanto al tipo de alimentación. Los vulnerables, son especies que también habitan en la selva y los remanentes. Las especies adaptables aprovechan los recursos disponibles en todo el paisaje, son los más tolerantes a las perturbaciones.

Mediante el uso de telemetría, se ha logrado conocer los patrones espaciales de algunas especies de murciélagos frugívoros, se sabe que las distancias promedio en que estas especies se desplazan desde su área de alimentación y refugio nocturno hasta el recurso alimenticio van desde 500 m hasta 3700 m. (Galindo 1998).

La diversidad de especies de murciélagos y sus características biológicas y ecológicas los ha situado como hospederos de un gran número de agentes infecciosos importantes para la salud pública (Wong et al 2007), sin embargo menos del 2% de los patógenos que afectan a los humanos, utilizan murciélagos como reservorios naturales (Dobson 2005).

Es importante reconocer que el incremento de enfermedades transmitidas por los murciélagos hacia seres humanos es un reflejo del creciente contacto entre ambos debido a las modificaciones antropogénicas en el ambiente natural de los murciélagos (Dobson 2005). La estructura espacial y demográfica de las poblaciones de los murciélagos es una variable suficiente que ofrece oportunidad a

los virus para causar infecciones (Calisher et al 2006)

Aproximadamente 59 de las 60 especies virales reportadas en murciélagos, son virus RNA; los cuales son potencialmente importantes en la generación de enfermedades emergentes y re-emergentes en las poblaciones humanas (Wong et al, 2007). Por otro lado, se menciona que los virus pueden invernar en murciélagos e infectarlos de forma persistente, manteniendo virus como lyssavirus o flavivirus por extensos periodos de tiempo sin evidencia de enfermedad (Calisher et al 2006).

Se ha demostrado que la transmisión del virus de la rabia, Nipah, Hendra, y SARS-CoV, a través de murciélagos puede causar alta patogenicidad en diferente especies, entre ellas el ser humano (Calisher et al 2006). Sin embargo en el caso de los virus Hendra y Nipah la OMS (2009) no ha reportado la transmisión directa de entre murciélagos y humanos. Recientemente el orden de los quirópteros ha sido investigado por su rol potencial en la diseminación de arbovirus (De Thoysi et al 2009 Dobson 2005, Kenneth et al 2000, Kuno 2001, Platt et al 2000). Algunos flavivirus que se han identificado en murciélagos mediante detección de anticuerpos son el virus de la encefalitis japonesa (JEV), virus del Río Bravo (RB), Encefalitis de San Luis (SLEV) y recientemente el virus del dengue (DENV) (Aguilar Setien et al 2008, Calisher et al 2006, De Thoysi et al 2009, Gaunt et al 2001, Platt et al 2000 ) En Sudamérica Platt et al (2000) reportaron anticuerpos neutralizantes contra el virus del dengue (DENV-1 Y DENV-2) en un 30% de murciélagos muestreados en Ecuador y en un 20% de anticuerpos neutralizantes contra DENV-2 y DENV-3, en Costa Rica (Platt et al 2000).

En años recientes el virus del dengue (DENV) se ha convertido en un importante problema de salud pública internacional, se han reportado más de 50 millones de casos anualmente (WHO 2009). Es la enfermedad transmitida por vectores más importante en el continente Americano, que pone en riesgo la salud de millones de personas que viven en zonas urbanas, suburbanas y rurales (Gubler 2004, Hemme et al 2010, WHO 2009); Se considera una enfermedad tropical debido a la distribución geográfica del vector (*Aedes aegypti*) (Gómez-Dantes y Willoquet 2009). En México el número de casos de dengue clásico han ido incrementando; en el año 2006 se reportaron 22 810 casos, y en el 2009, se reportaron 41 972. La Secretaria de Salud (2009) menciona el estado de Campeche se encuentra entre los estados con riesgo para la enfermedad

Diversos estudios con aproximaciones espaciales han sido utilizados durante estudios epizootiológicos para predecir la distribución de reservorios de enfermedades y para identificar los atributos del paisaje que se relacionan con parámetros de infección (Suzán et al 2006). En el presente estudio se buscó

conocer cuáles son los elementos paisajísticos que influyen en la presencia del virus del dengue en los murciélagos capturados en fragmentos con distinto grado de perturbación.

Considerando que el dengue es una enfermedad cuyo número de casos y distribución geográfica ha aumentado de manera importante en años recientes, y que el estado de Campeche reporta casos confirmados de dengue en zonas rurales (Secretaría de Salud Campeche 2009) cercanas a fragmentos con diferentes gradientes de perturbación donde podemos encontrar poblaciones de murciélagos; el objetivo de este estudio es identificar cuáles son los factores paisajísticos que pueden influir en la presencia del DENV en poblaciones de murciélagos.



# OBJETIVO GENERAL.

Conocer los efectos de la fragmentación del hábitat sobre la diversidad y en la infección del dengue en comunidades de murciélagos en diferentes fragmentos de hábitat con distintos grados de perturbación en el Estado de Campeche.

## Objetivos particulares

- 1) Identificar la diversidad de murciélagos presente en los fragmentos estudiados considerando los distintos gradientes de perturbación y distancias a poblados.
- 2) Identificar los factores paisajísticos asociados a la infección de dengue en murciélagos en diferentes gradientes de perturbación.

## HIPÓTESIS

Los murciélagos que habiten en lugares severamente fragmentados y cercanos a los asentamientos humanos, presentarán mayor tasa de infección por el virus del dengue.

# MATERIAL Y MÉTODOS.

## Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el estado de Campeche, que se localiza en el sureste de la República Mexicana (17°48' y 20°52' N, y 89°06' y 92°45' W), durante tres periodos: noviembre de 2008, enero y julio del 2009. El clima del estado es cálido-húmedo, con lluvias en verano con un promedio de 900 a 2000 mm de precipitación pluvial anual. Se estima que el 61.5% de Campeche está cubierto con vegetación natural, siendo el 48% correspondiente al bosque tropical perennifolio y subcaducifolio (De la Lara et al 1993, Martínez y Galindo Leal 2002). Los sitios de estudio se encuentran localizados en los Municipios de Ciudad del Carmen y Escárcega, en el Estado de Campeche.

## Sitio de estudio.

Las capturas de murciélagos se realizaron en 9 fragmentos de diferentes tamaños, grados de perturbación y distancia a poblados, de igual forma se consideró el tipo de vegetación según la clasificación de Martínez et al 2002 y De la Lara et al 1993. Los fragmentos fueron clasificados como chicos, medianos y grandes (Ver cuadro 1). Un "fragmento" se define como un área remanente de la cobertura forestal original de condiciones ambientales homogéneas y con bordes (o límites) naturales o artificialmente definidos.

Se consideraron fragmentos chicos a aquellos que tienen poca conectividad entre fragmentos, y un alto grado de aislamiento, dos fragmentos se encuentran a < 1km de poblados y un fragmento se encuentra a > 2 Km de poblados. El rango del área del fragmento es >7 < 80 ha.

Se consideraron fragmentos medianos a aquellos que tienen buena conectividad dentro del área muestreada, moderado grado de aislamiento, dos fragmentos se encuentran a < 1km de poblados y un fragmento se encuentra a > 2 Km de poblados. El rango del área del fragmento es > 100 y < 500 ha.

Se consideraron fragmentos grandes a aquellos que tienen buena conectividad dentro del área muestreada, y bajo grado de aislamiento dos fragmentos se encuentran a > 2 Km de poblados y un fragmento se encuentra a < 1km de poblados. El rango del área del fragmento es > 1000 y <3000 ha.

**Cuadro 1.** Sitios de estudio de acuerdo a tamaño de fragmento, tipos de vegetación y distancia a poblados.

Sitio <sup>1</sup>	Tamaño (ha)	Vegetación	Distancia a poblado	Referencia geográfica (UTM)	
<b>Fragmentos Chicos</b>					
OXC	7.5	Selva mediana	<1km	714856 N	2086806 E
EMZ	8.9	Selva baja		71734510 N	2077909 E
CHC	80	Selva baja	>2km	721127 N	2078392 E
<b>Fragmentos Medianos</b>					
SAB	424.4	Manglar	<1km	693644 N	2099369 E
MAM	493.2	Selva baja		702694 N	2057040 E
ALM	168.1	Selva mediana	>2km	712810 N	2081497 E
<b>Fragmentos Grandes</b>					
TOR	1041	Selva mediana	>2km	731191 N	2059938 E
CLX	1651.3	Selva mediana		678091 N	2084582 E
MAG	1714.4	Selva baja	<1km	702185.4 N	2071421 E

1. EMZ, Emiliano Zapata, OXC, Oxcal, CHC Chicbul, SAB Sabancuy, ALM Alamo, MAM Manantiales mediano, CLX Calx, TOR Tormento, MAG Manantiales grande

## Captura de murciélagos y toma de muestras.

Se colocaron redes de niebla de 3m, 6m y 12m las cuales fueron colocadas en forma de "T" optimizando de ésta forma el esfuerzo de captura dentro de cada fragmento (Zarza 2001). Las redes se abrían a la puesta de sol permaneciendo abiertas durante 7 horas aproximadamente y se revisaban las redes cada 20 minutos, los fragmentos fueron muestreados un total de dos noches a excepción de CLX (Calax) y MAM (Manantiales mediano) que sólo pudimos muestrear una noche en estos fragmentos.

De cada murciélago capturado se registraron los siguientes datos: 1) especie siguiendo la clave de

murciélagos mencionada por Medellín et al (1997) y Ceballos et al (2005), 2) número de individuos, 3) sexo, 4) longitud del antebrazo izquierdo utilizando un vernier, 5) estado reproductivo (mediante la palpación abdominal y la observación de glándulas mamarias activas) se consideraron las categorías de gestante, lactante, 6) peso, utilizando pesolas de 100g.

Las especies de murciélagos fueron clasificadas en base a su nicho trófico en hematófagos, frugívoros, insectívoros y pescadores, de igual forma se consideró la respuesta de las especies a la fragmentación en base a las categorías propuestas por Galindo (2004), las cuales son adaptable, vulnerable y dependiente del hábitat.

Se obtuvieron muestras de sangre de cada murciélago capturado ( $\leq 0.1$ ml de sangre en animales con peso menor a 6g y hasta 2ml en animales con peso de 80 a 120g) siguiendo las recomendaciones de Aguilar-Setien et al (2008). La sangre obtenida fue colocada en tubos Multivette® con gel-Z para favorecer la coagulación con capacidad de 600  $\mu$ l de volumen. Una vez obtenida la muestra de sangre, los murciélagos fueron colocados en sacos de tela para su recuperación, posteriormente se observó su estado de alerta y coloración de mucosas para su liberación. Las muestras fueron refrigeradas y centrifugadas a 1500 rpm durante 10 minutos. Las muestras se mantuvieron congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su procesamiento

## Análisis de diversidad

Se obtuvo la riqueza de especies en cada fragmento la cual consiste en el número total de especies obtenido. Para comparar la diversidad de especies existente entre los fragmentos estudiados se calcularon los índices de Shannon-Wiener (H) y Jaccard, así como la equidad entre los distintos fragmentos.

El índice de Shannon-Wiener (H) (Moreno 2001) expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra. Asume que los individuos son seleccionados al azar y que todas las especies están representadas en la muestra. Adquiere valores entre 0 (cuando hay una sola especie) y el logaritmo de (S), cuando todas las especies están representadas por el mismo número de individuos. Este índice se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$H' = -\sum p_i \ln p_i$$

Donde  $p_i$  = abundancia relativa de la especie  $i$ ,  $\ln$  = es el logaritmo natural

Con el fin de conocer el orden con la que los individuos se reparten entre las especies presentes en la comunidad, se calculó la *equidad*, dividiendo el valor del índice de Shannon - Wiener entre el logaritmo del número de especies presentes en la comunidad ( Begon et al 2006) y está representado por la siguiente ecuación:

$$\text{Equidad} = \frac{H}{H_{\max}}$$

Finalmente, se utilizó el índice de Jaccard como índice de similitud el cual expresa el grado en el que dos muestras son semejantes (Begon 2006, Moreno 2001). Se consideran las especies presentes entre los diferentes fragmentos dentro de cada categoría (chico, mediano y grande) y entre ellos mediante la siguiente ecuación:

$$I_j = \frac{c}{a+b-c}$$

Donde  $a$  es el número de especies presentes en el sitio A;  $b$  es el número presente en el sitio B y  $c$  es el número de especies presentes entre ambos sitios A y B. El intervalo de valores para este índice va de 0 cuando no hay especies compartidas entre ambos sitios, hasta 1 cuando los dos sitios tienen la misma composición de especies (Moreno 2001).

## Análisis espacial

Para determinar la cobertura de los tipos de vegetación y el uso de suelo para cada uno de los nueve sitios de estudio, se realizó una clasificación supervisada en ERDAS 8.1 utilizando tres imágenes de satélite Aster del 2008 correspondientes a la temporada de secas (mayo 13, 2008, proporcionadas por el Dr. Mircea Gabriel Hidalgo Mihart). Durante el proceso de clasificación se emplearon localidades verificadas previamente en campo entre noviembre del 2008 y enero de 2009. Cada punto de muestreo fue georreferenciado y se generó un área de amortiguamiento alrededor de ese punto usando un radio de 3.7 km, considerando la distancia promedio de vuelo de los murciélagos frugívoros (Galindo 1998).

Se determinaron 4 clases de tipos de vegetación y uso de suelo con cobertura forestal y 6 clases de uso de suelo sin cobertura forestal (Cuadro 2), siguiendo la clasificación propuesta por Martínez y Galindo-Leal (2002).

**Cuadro 2.** Clases asignadas a la composición de los 9 paisajes

Con cobertura forestal	Sin cobertura forestal
Selva mediana	Plantación
Selva baja	Zona inundable
Mangla	Pastizal
Sabana húmeda	Aguada
	Cuerpo de agua
	Poblado
	Carretera

Se analizó la composición de cada uno de los 9 sitios de estudio, delimitando los fragmentos al interior del área de amortiguamiento, que conforman la matriz del paisaje, usando el programa Arc View 3.2 (ESRI 1999). Para el análisis de fragmentación del paisaje, se usó la extensión Patch Analyst 3.1. Para cada uno de los 9 sitios de estudios, se analizaron 16 variables generadas por la extensión Patch Analyst de Arcview 3.1, que se usaron para describir las características del paisaje, las variables usadas son explicadas en el Apéndice 1.

Se incorporaron 8 variables externas más a las generadas por Patch Analyst, dichas variables fueron: distancia al poblado más cercano, número de casos positivos obtenidos por fragmentos, seroprevalencia por fragmento, prevalencia de casos positivos en la especie *Carollia perspicillata*, dominancia de la especie *C. perspicillata* en los fragmentos estudiados, Índice de Shannon (H) obtenido en cada fragmento, densidad de población humana, y tamaño del fragmento (Cuadro 3). Finalmente, se obtuvo del censo poblacional del 2005 (INEGI 2005), el número de habitantes de cada uno de los poblados incluidos en el área de amortiguamiento. Además, el número de casos confirmados de Dengue en los poblados referidos por la Secretaría de Salud Campeche (2009).

**Cuadro 3** Información de poblados contenidos en la matriz de los 9 paisajes

Fragmento	Tamaño (ha)	Distancia		Población <sup>1</sup>	Casos positivos
		Poblados Km*	Nombre del poblado		DENV <sup>2</sup>
<b>Chicos</b>					
OXC	7	0.2	Oxcabal	649	-
EMZ	8	0.7	Emiliano Zapata <sup>3</sup>	2669	-
CHC	80	2.0	Chicbul <sup>3</sup>	2669	2
<b>Medianos</b>					
SAB	424	0.9	Sabancuy	6159	2
MAM	493	0.3	Manantiales	129	-
ALM	168	2.4	Checubul	1541	-
<b>Grandes</b>					
TOR	1041	2.1	Km. 36	717	-
CLX	1651	3.2	Calax	146	-
MAG	1714	1.0	Manantiales	129	-

1. Población. Número de habitantes hasta el año 2005 (INEG 2010)

2. DENV. Número de casos de dengue en humanos confirmados positivos en 2007 (Secretaría de Salud Campeche)

3. Poblados fusionados

## Análisis Estadístico

Los índices de diversidad entre los diferentes fragmentos estudiados y las categorías asignadas (Fragmentos chicos, medianos y grandes) fueron comparados mediante el análisis estadístico de ANOVA de una vía (Galindo y Sosa 2003) con el programa Past.exe®.

Con el programa XLSTAT® Versión 2010.2.03, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) (Suzán et al 2001) para conocer los factores que expliquen la mayor parte de la varianza en los 9 paisajes, este análisis suma las diferentes variables producidas por Patch Analyst 3.1, los casos positivos en murciélagos y los datos obtenidos del censo de población. Mediante una prueba de Kolmogorov-Smirnov ( $P > 0.05$ ) se probó la normalidad de los factores obtenidos (Suzán et al 2001). Finalmente se realizó un análisis de regresión lineal para identificar la relación que existe entre los casos positivos en murciélagos y la distancia a poblados, tamaño de fragmento, densidad de población, especie con mayor seroprevalencia al DENV y su dominancia en los paisajes.

## Procesamiento de muestras.

Las pruebas de diagnóstico se llevaron a cabo en el Departamento de Infectómica y Patogenicidad Molecular del CINVESTAV del IPN. Para el diagnóstico del virus del Dengue, se utilizó la prueba de ELISA Platelia NS1 AG (Dengue NS1 AG, BioRad®) siguiendo las instrucciones del fabricante. La prueba de ELISA para NS1 es un método inmunoenzimático tipo sándwich, en formato microplaca, para la detección cualitativa o semicuantitativa del antígeno NS1 del virus del dengue en el suero, y presenta una sensibilidad del 88.7%. El antígenos NS1 se encuentra en circulación desde día uno hasta el noveno, después de la aparición de los primeros signos de la enfermedad y su detección indica infección activa con el virus del dengue (Dussart 2006).

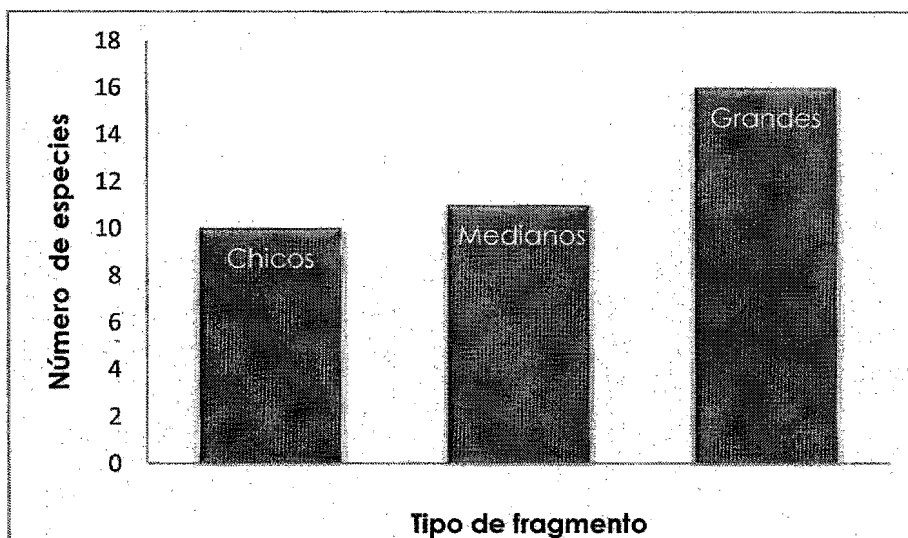


# RESULTADOS

Se capturaron un total de 186 individuos pertenecientes a 20 especies. El número de individuos estuvo distribuido de la siguiente manera 85 individuos en las categorías de fragmentos chicos, 61 individuos en fragmentos grandes y 40 en fragmentos medianos (45%, 33% y 22% respectivamente).

La riqueza de especies obtenida por categoría de fragmentos fue de 16 especies en fragmentos grandes, 11 especies en los fragmentos medianos y 10 especies en fragmentos chicos (Figura 1).

**Figura. 1** Riqueza de especies por tamaño de fragmento.



Del total de especies capturadas, 10 son frugívoras (50%), 7 insectívoros (35%), 1 hematófaga (5%), 1 nectívora (5%) y 1 piscívora (5%); de las cuales 13 especies (65%) son adaptables a la fragmentación, 7 especies son vulnerables (35%). Los fragmentos chicos donde las especies adaptables fueron más abundantes fueron OXC, EMZ, con un 100% y en CHC el 87% de sus especies fueron adaptables y 13% vulnerables. En los fragmentos medianos MAM tuvo el 100% de especies adaptables, SAB tuvo un 66% de especies adaptables y 34% de especies vulnerables y el ALM se registró el 77% de especies adaptables y 23% vulnerables. En los fragmentos grandes CLX presentó el 100% de especies adaptables, mientras que en MAG el 90% fueron adaptables y 10% vulnerables, el TOR albergó las tres categorías, 70% adaptables, 30% vulnerables (Ver figura 2 y cuadro 4).

Cuadro 4. Especies de murciélagos capturadas por fragmento y su respuesta a la fragmentación

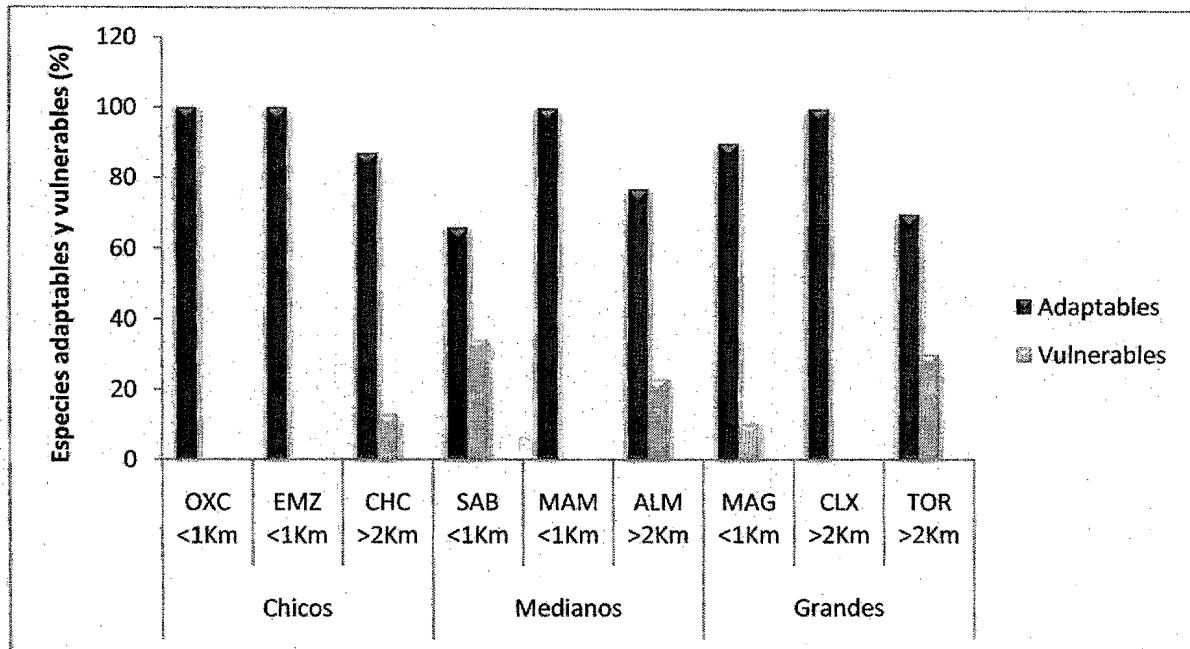
Familia/ Especie	Dieta	Chicos			Medianos			Grandes			Respuesta a la fragmentación
		OXC	EMZ	CHC	SAB	MAM	ALM	TOR	CLX	MAG	
<b>Familia Phyllostomidae</b>											
<b>Subfamilia Stenodermatinae</b>											
<i>Artibeus jamaicensis</i>	FRU	6	-	8	1	2	1	8	3	1	A
<i>Artibeus lituratus</i>	FRU	-	-	1	-	-	-	-	-	-	A
<i>Centurio senex</i>	FRU	-	-	-	1	-	1	-	-	-	V
<i>Dermanura phaeotis</i>	FRU	3	4	3	2	-	4	-	2	7	A
<i>Dermanura watsoni</i>	FRU	-	-	-	-	-	1	-	-	-	V
<i>Sturira lilium</i>	FRU	4	1	4	1	1	1	1	-	2	A
<i>Sturnira ludovici</i>	FRU	-	-	-	-	-	-	1	-	-	V
<i>Uroderma bilobatum</i>	FRU	5	-	3	5	1	1	-	-	1	A
<i>Micronycteris microtis</i>	INS	-	-	1	-	-	-	1	-	-	V
<b>Subfamilia Glossophaginae</b>											
<i>Glossophaga soricina</i>	NCT	6	2	-	9	1	1	1	-	3	A
<b>Subfamilia Carolliinae</b>											
<i>Carollia perspicillata</i>	FRU	9	12	1	-	-	-	1	-	1	A
<i>Carollia sowelli</i>	FRU	2	5	2	-	-	2	1	-	1	A
<b>Subfamilia Desmodontinae</b>											
<i>Desmodus rotundus</i>	HEM	-	2	-	1	-	1	3	-	-	A
<b>Familia Noctilionidae</b>											
<i>Noctilio leporinus</i>	PIS	-	-	-	1	-	-	-	-	-	V
<b>Familia Moormopidae</b>											
<i>Pteronotus parnellii</i>	INS	-	-	-	-	-	-	3	-	-	A
<i>Moormops megalophylla</i>	INS	-	-	-	-	-	-	1	-	-	A
<b>Familia Molossidae</b>											
<i>Molossus rufus</i>	INS	-	-	-	-	-	-	12	-	-	A
<b>Familia Vespertilionidae</b>											
<i>Lasiurus intermedius</i>	INS	-	-	-	-	-	-	-	-	1	A
<i>Rhogeessa tumida</i>	INS	-	-	-	1	-	-	2	-	1	V
<i>Eptesicus furinalis</i>	INS	-	-	-	-	-	-	3	-	-	V
TOTAL DE INDIVIDUOS		36	26	23	22	5	13	38	5	18	
TOTAL DE ESPECIES		7	6	8	9	4	9	13	2	9	

Dieta. FRU, frugívoro; HEM, hematófago; INS, insectívoro; NCT, nectívoro; PIS piscívoro.

Respuesta a la fragmentación. A, especie adaptable. V, especie vulnerable.

Fragmentos: EMZ, Emiliano Zapata, OXC, Oxcal, CHC Chicbul, SAB Sabancuy, ALM Alamo, MAM Manantiales mediano, CLX Calx, TOR Tormento, MAG Manantiales grande

**Figura 2.** Distribución de especies adaptables y vulnerables por tamaño de fragmento según la respuesta a la fragmentación del hábitat considerando la distancia a poblados



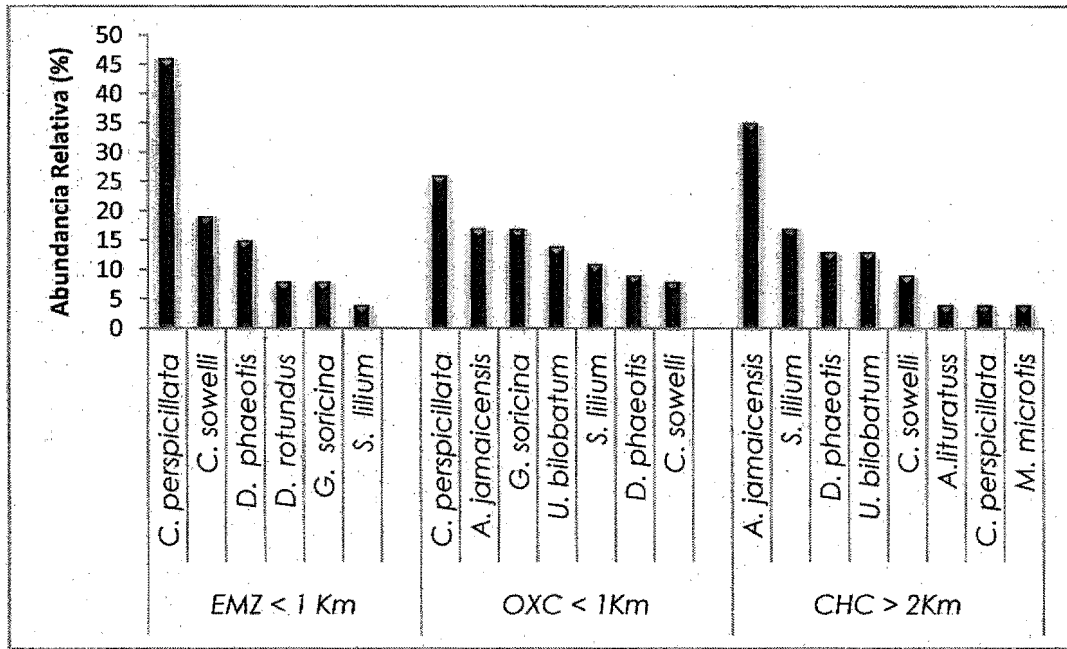
EMZ, Emiliano Zapata, OXC, Oxcal, CHC Chicbul, SAB Sabancuy, ALM Alamo, MAM Manantiales mediano, CLX Calx, TOR Tormento, MAG Manantiales grande

Las especies más abundantes en los fragmentos chicos fueron *Carollia perspicillata* (45% EMZ y 26% OXC) ambos fragmentos se encuentran < 1km de distancia de los poblados; *Artibeus jamaicensis* (35% CHC); en los fragmentos medianos *Glosophaga soricina* (41% SAB), *Artibeus jamaicensis* (40% MAM), *Dermanura phaeotis* (31% ALM) y en fragmentos grandes fueron *Artibeus jamaicensis* (60% CLX), *Molossus rufus* (32% TOR) y *Dermanura phaeotis* (39% MAG) (Figura 3).

Figura. 3 Abundancia relativa de murciélagos por tamaño de fragmento considerando la distancia a poblados

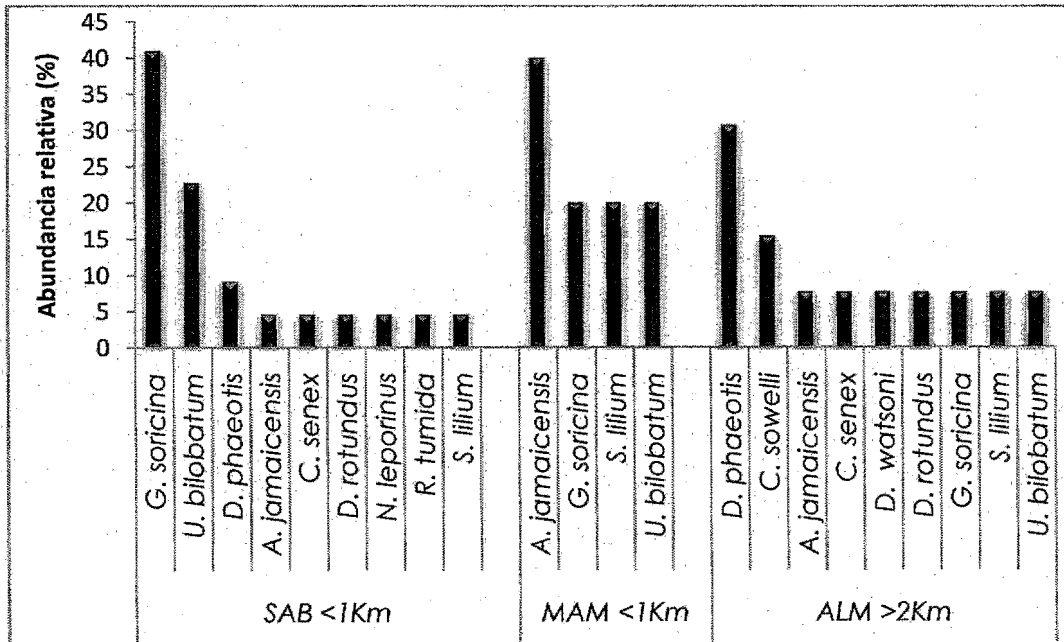
a) Chicos, b) Medianos, c) Grandes.

a) Chicos



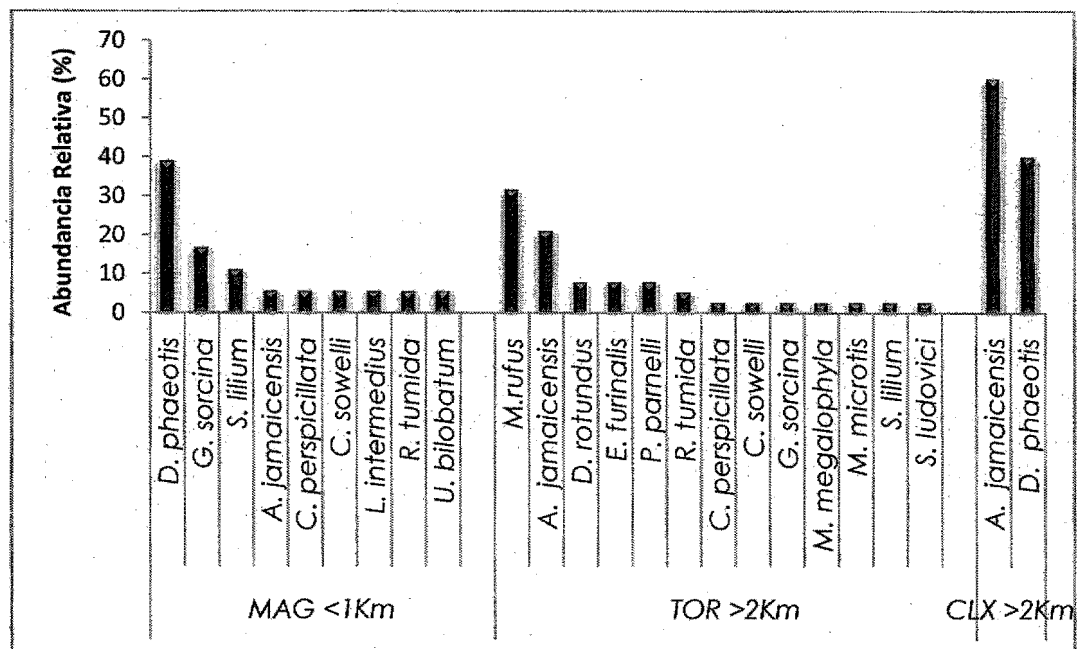
Nombre de los fragmentos: EMZ, Emiliano Zapata, OXC, Oxcabal, CHC Chicbul,

b) Medianos



Nombre de los fragmentos: SAB Sabancuy, ALM Alamo, MAM Manantiales mediano,

c) Grande



Nombre de los fragmentos: : CLX Calx, TOR Tormento, MAG Manantiales grande

Considerando el tamaño de los fragmentos, se encontró mayor diversidad de especies de murciélagos en los fragmentos grandes ( $H=2.403$ ), seguida de los fragmentos medianos ( $H= 2.095$ ) y por último, los fragmentos chicos ( $H = 2.016$ ). En estas tres categorías se observó una equidad de  $E=0.8665$ ,  $E= 0.8738$  Y  $E= 0.8754$  respectivamente (no hay diferencias significativas entre los índices de diversidad observados en las tres categorías de los fragmentos, ANOVA  $F =1.36$ ,  $p>0.05$ ) (Cuadro 5). La especie dominante en cada una de las categorías fue *A. jamaicensis* y *Molossus rufus* en los fragmentos grandes, *G. sorcina* en los fragmentos medianos, y *C. perspicillata* en los fragmentos chicos.

**Cuadro 5.** Índices de diversidad (riqueza, diversidad y equidad) de los murciélagos capturados por categoría de fragmento

	Riqueza (S)	Capturas	Shannon (H)	Simpson (1-D)	Equidad
<b>Chicos</b>	10	85	2.016	0.8448	0.8754
<b>Medianos</b>	11	40	2.095	0.8462	0.8738
<b>Grandes</b>	16	61	2.403	0.8809	0.8665

Por categoría de tamaño de fragmento se encontró que en los fragmentos chicos, el sitio con mayor diversidad de murciélagos fue CHC (H=1.824), seguido por OXC (H= 1.839) y finalmente EMZ (H=1.482), en cada sitio se observó una equidad de E= 0.8773, E= 0.945 y E=0.827 respectivamente (ANOVA F=0.45, P=0.63). En el caso de los fragmentos medianos, ALM fue el sitio con mayor diversidad (H=2.032), seguido por SAB (H=1.763) y MAM (H=1.332); la equidad observada en cada sitio fue E= 0.9247, E=0.7603 y E=0.961 respectivamente (ANOVA F= 2.23 P=0.12). Finalmente, que tuvieron una diversidad mayor significativamente fueron TOR (H= 2.118), seguido por MAG (1.874) y CLX (0.673); la equidad observada en cada sitio fue de E= 0.8259, E= 0.8527 y E= 0.971 respectivamente (ANOVA F= 3.87 P=0.034) ( $q = 0.028, p < 0.05$ ) (Ver Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Índices de diversidad (riqueza, diversidad y equidad) de los murciélagos capturados por fragmento considerando la distancia a poblados

	Riqueza (S)	Capturas	Shannon (H)	Equidad	Distancia a poblados
<b>Fragmentos Chicos</b>					
OXC	7	36	1.839	0.9451	< 1 Km
EMZ	6	26	1.482	0.827	
CHC	8	23	1.824	0.8773	> 2 Km
<b>Fragmentos Medianos</b>					
SAB	9	22	1.763	0.8026	< 1 Km
MAM	4	5	1.332	0.961	
ALM	9	13	2.032	0.9247	> 2 Km
<b>Fragmentos Grandes</b>					
TOR	13	38	2.118	0.8259	> 2 Km
CLX	2	5	0.673	0.971	
MAG	9	18	1.874	0.8527	< 1 Km

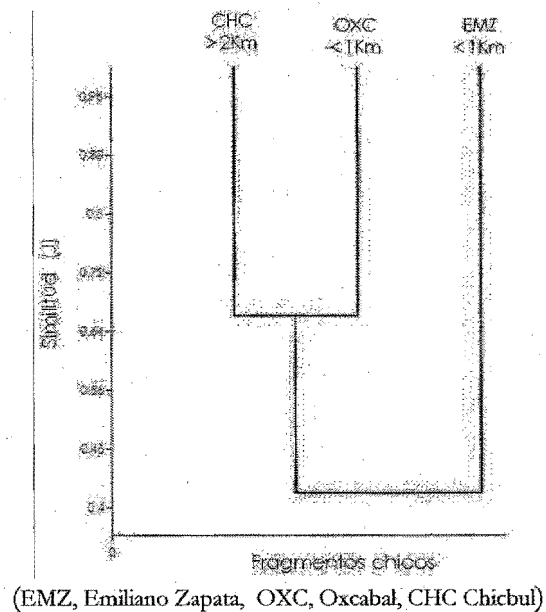
EMZ, Emiliano Zapata, OXC, Oxcabal, CHC Chicbul, SAB Sabancuy, ALM Alamo, MAM Manantiales mediano, CLX Calx, TOR Tormento, MAG Manantiales grande

En cuando a la similitud de especies, la categoría de fragmentos chicos y los fragmentos grandes se observaron 9 especies en común con un índice de similitud del ( $J = 0.52$ ), la categoría de fragmentos medianos, sólo compartió 7 especies con un índice de similitud de ( $J = 0.35$ ) (Figura 4). En los fragmentos chicos se observó que OXC y CHC, fueron los sitios que más especies compartieron (6 especies) con un índice de similitud de ( $J = 0.66$ ), el fragmento EMZ fue el que menos especies (4

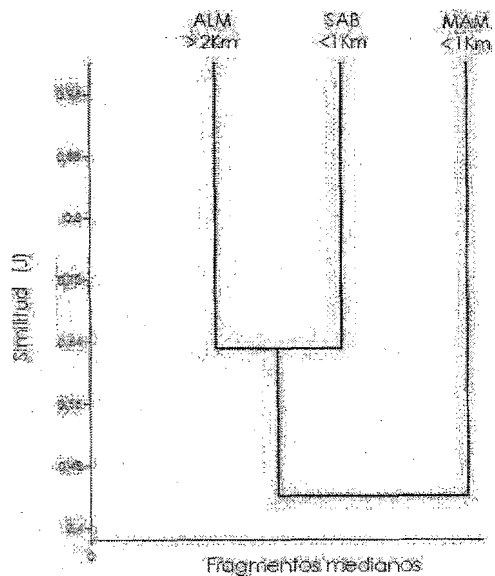
especies) compartió con los antes mencionados con un índice de similitud de ( $J = 0.44$ ). En el caso de los fragmentos medianos, SAB y ALM fueron los fragmentos con mayor índice de similitud ( $J = 0.63$ ) compartiendo 7 especies; el fragmento MAM sólo compartió 4 especies con los fragmentos mencionados y tuvo un índice de similitud de ( $J = 0.44$ ). Finalmente los fragmentos grandes que más especies compartieron (5 especies) fueron TOR y MAG con un índice de similitud de ( $J = 0.29$ ) mientras que CLX sólo compartió 2 especies con los fragmentos mencionados con un índice de similitud de ( $J = 0.22$ ). (Figura 5)

**Figura 4.** Dendograma de similitud de especies por fragmentos considerando la distancia a poblados: a) Chicos b) Medianos, c) Grandes.

a)

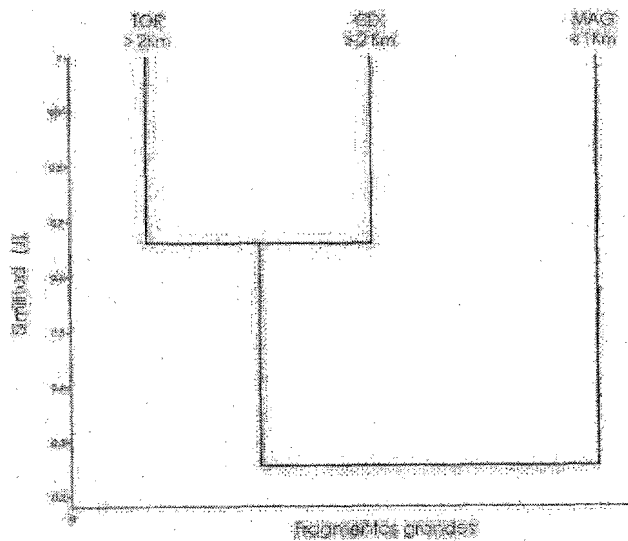


b)



(SAB Sabancuy, ALM Alamo, MAM Manantiales mediano,)

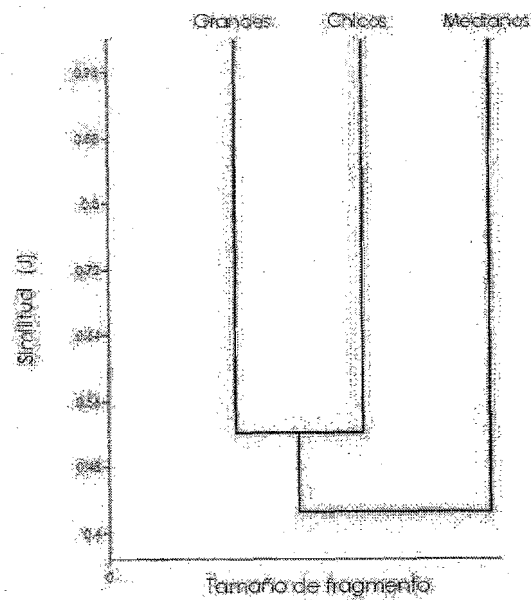
c)



(CLX Calx, TOR Tormento, MAG Manantiales grande)



Figura 5. Dendograma de similitud de especies por tamaño de fragmentos



## Análisis espacial

Se analizaron 9 paisajes de forma circular con un área promedio de 4326 ha (SE  $\pm 20$ ), clasificados de la misma forma que el fragmento del cual fueron originados (Fragmentos chicos, medianos y grandes) (Figura 6, 7 y 8).

**Figura 6.** Características de la cobertura del paisaje de los Fragmentos Chicos considerando la distancia a poblados en el municipio de Ciudad del Carmen, Campeche,

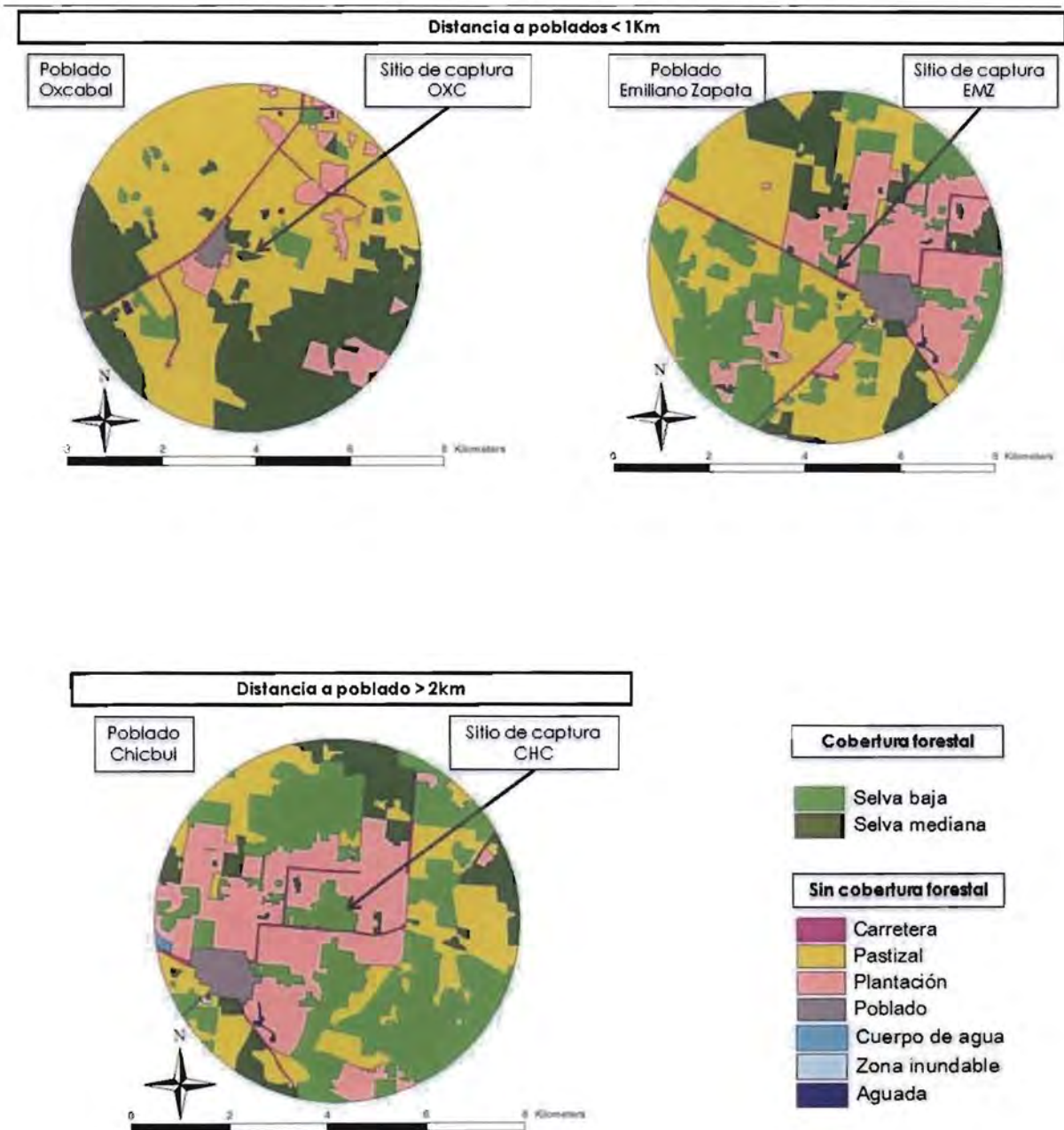
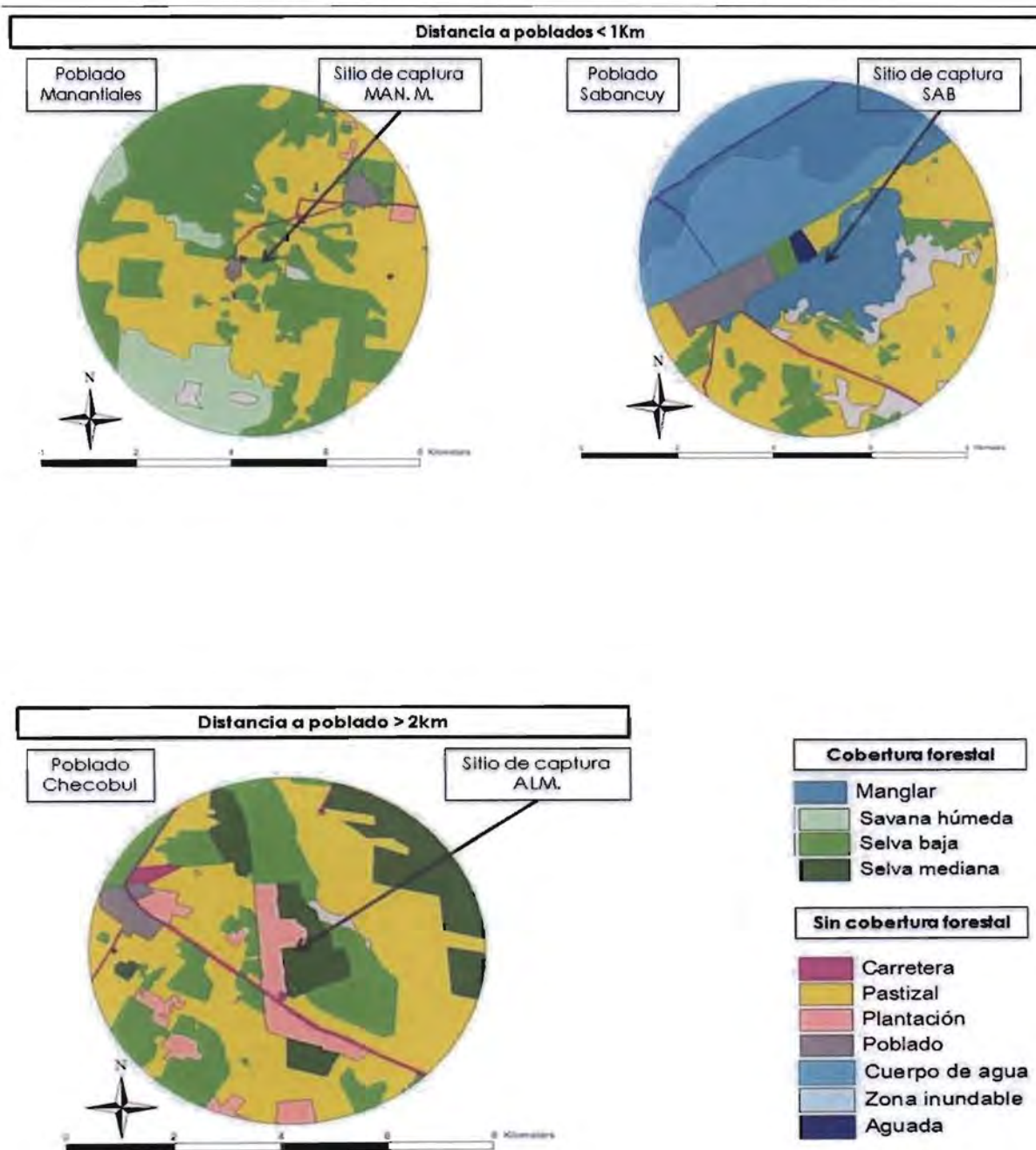
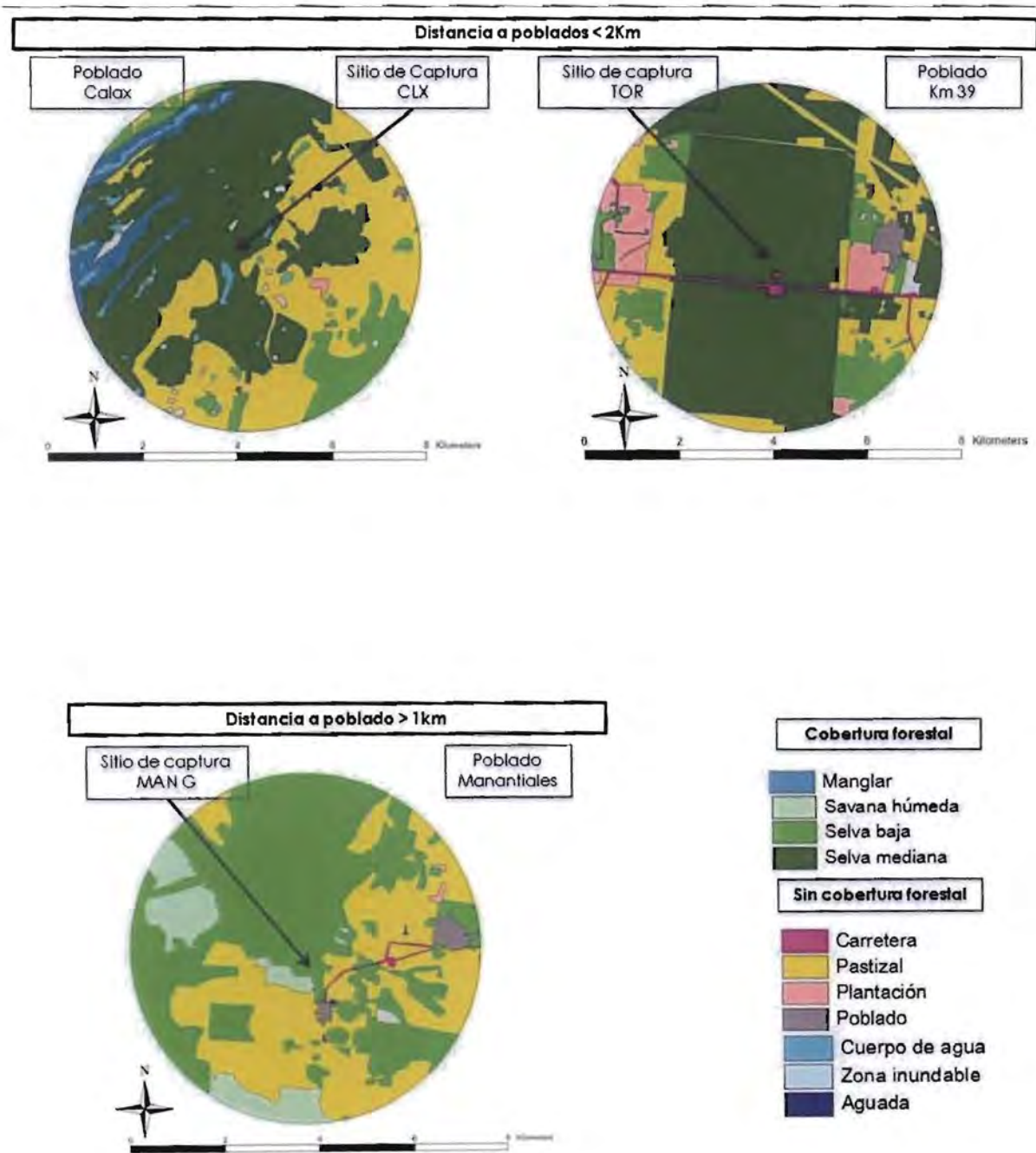


Figura 7. Características de la cobertura del paisaje de los Fragmentos Medianos considerando la distancia a poblados en el municipio de Ciudad del Carmen, Campeche

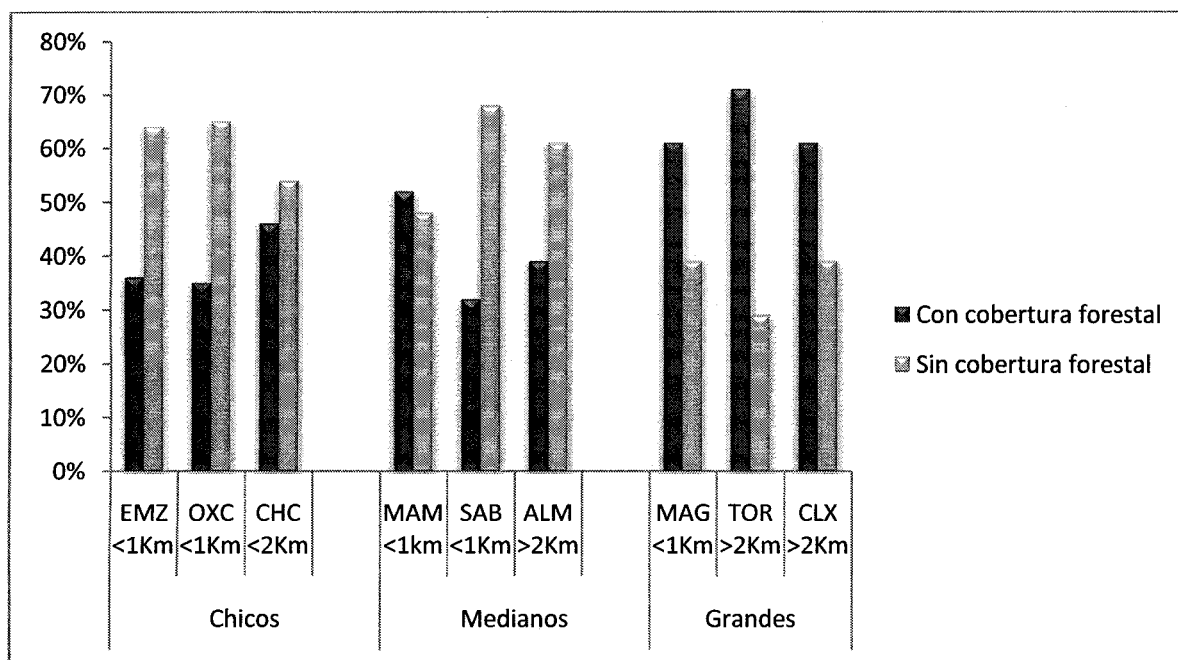


**Figura 8.** Características de la cobertura del paisaje de los Fragmentos Grandes considerando la distancia a poblados de los municipios de Ciudad del Carmen y Escárcega Campeche



Dentro de los paisajes originados a partir de los fragmentos chicos, el paisaje que tuvo la mayor cobertura forestal en su matriz fue CHC con 46% de cobertura vegetal, seguido de EMZ que presentó 36% de cobertura vegetal y en el caso de OXC la matriz estuvo formada por 35% de cobertura vegetal natural y 65% (t=2.5, p>0.05). En el caso de los fragmentos medianos MAM con 52% de cobertura vegetal natural, y 48% sin cobertura seguido por ALM que presentó 39% de cobertura vegetal y 61% sin cobertura en su matriz y finalmente SAB presentó mayor de cobertura vegetal natural en un 55% de su matriz y 45% restante sin cobertura, (t=5.8, p<0.05). Finalmente en los fragmentos grandes el paisaje con mayor cobertura vegetal natural fue el caso del TOR con 71% de cobertura forestal y 29% del resto del paisaje sin cobertura, seguido por CLX que presentó 61% cobertura forestal y 39% sin cobertura y MAG con el mismo porcentaje, 61% de cobertura forestal natural y 39% sin cobertura natural (t=-4.2, p<0.05) (Figura 9)

**Figura 9** Composición de la matriz de los 9 paisajes obtenidos por cada fragmento considerando la distancia a poblados

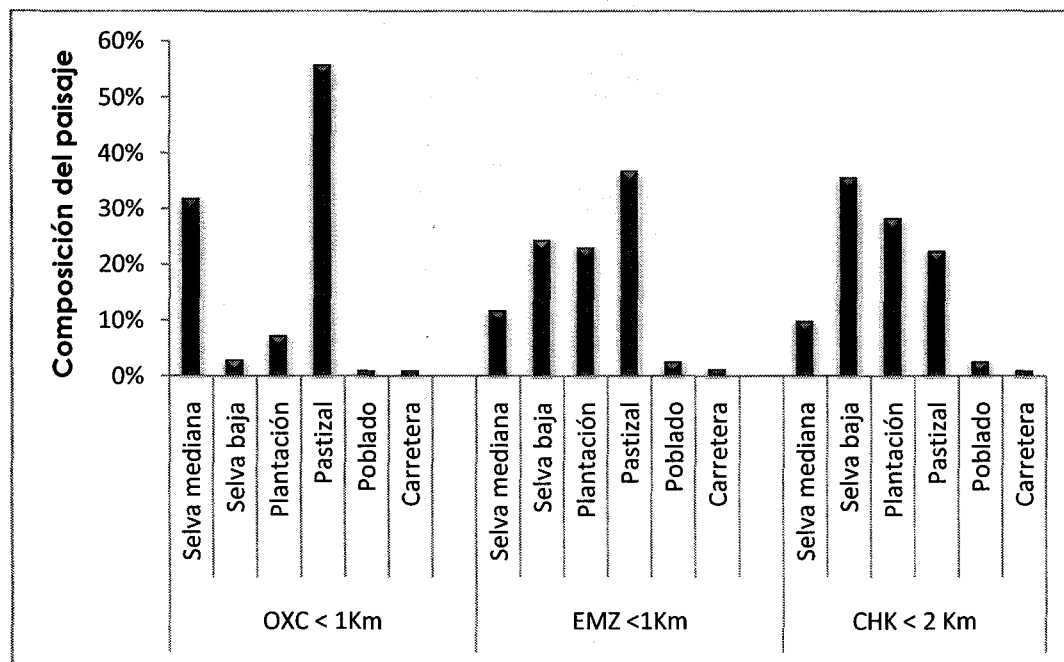


EMZ, Emiliano Zapata, OXC, Oxcabal, CHC Chicbul, SAB Sabancuy, ALM Alamo, MAM Manantiales mediano, CLX Calx, TOR Tormento, MAG Manantiales grande

El tipo de uso de suelo que predominó en la matriz sin cobertura forestal de cada uno de los paisajes fue el pastizal, la distribución de los tipos de vegetación y uso de suelo presentes en los 9 paisajes se muestra en la figura 10.

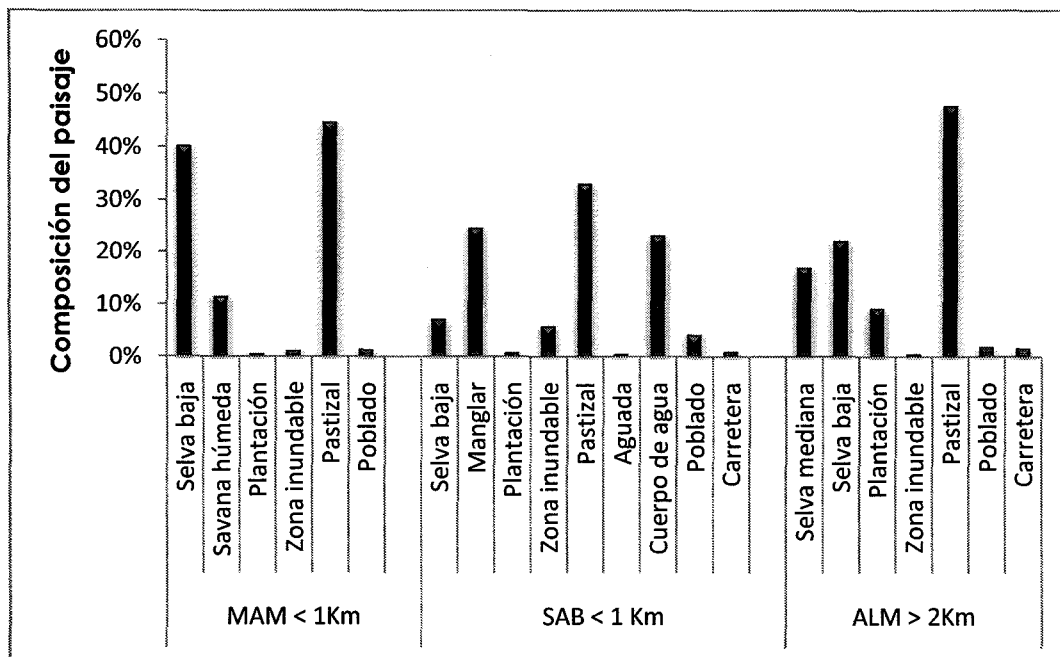
**Figura 10** Distribución de la estructura del paisaje de cada fragmento, considerando distancia a poblados a) Chicos , b) Medianos, c) Grandes

a)



EMZ, Emiliano Zapata, OXC, Oxcabal, CHC Chicbul

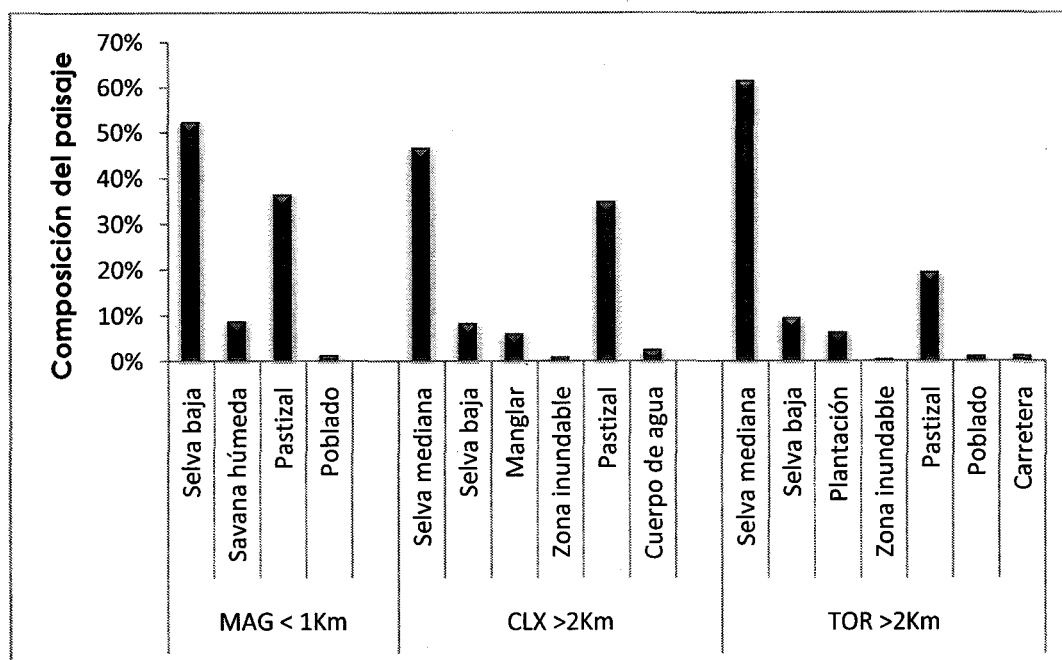
b)



SAB Sabancuy, ALM Alamo, MAM Manantiales mediano



c)



CLX Calx, TOR Tormento, MAG Manantiales grande

El análisis de componentes principales (ACP) muestra las 24 variables del paisaje obtenidas a través de Patch Analyst y el análisis de diversidad, éstas explican (resaltado en negritas) la influencia sobre la prevalencia de casos positivos de murciélagos en los fragmentos. Las variables fueron reducidas a 5 factores principales que explican el 90% de la varianza de las características obtenidas en los 9 paisajes (Cuadro 7, 8, y 9).

**Cuadro 7.** Análisis de componentes principales de la matriz de los 9 paisajes, de las variables externas al programa. Contribución de las variables en %.

Características del paisaje	Factores				
	F1	F2	F3	F4	F5
Distancia a poblado más cercano (Km)	<b>5.8</b>	2.5	3.9	0.7	0.6
Número de casos positivos	0.1	<b>9.2</b>	1.3	9.6	0.2
Seroprevalencia por fragmento	1.5	2.9	2.3	7.6	1.9
Prevalencia de positivos en la especie <i>C. perspicillata</i> por sitio	1.2	4.2	<b>7.5</b>	3.5	9.7
Dominancia de <i>C. perspicillata</i> en los paisajes	0.6	2.6	<b>8.1</b>	0.6	13.6
Índice de Simpson (1-D)	2.5	3.5	1.8	12.6	1.7
Densidad de población humana	0.5	<b>10.3</b>	1.7	0.8	8.6
Tamaño de fragmento (ha)	0.1	<b>8.3</b>	2.2	2.1	1.4

**Cuadro 8** Análisis de componentes principales de la matriz de los 9 paisajes, de las variables obtenidas con Patch Analyst. Contribución de las variables en %

Características del paisaje	Factores				
	F1	F2	F3	F4	F5
Área total del paisaje (ha)	0.0	2.8	<b>14.2</b>	6.4	0.4
Número de parches	<b>13.8</b>	0.4	0.0	0.0	0.9
Tamaño medio del parche (ha)	<b>13.8</b>	0.0	0.1	0.3	1.4
Mediana del tamaño del parche	2.2	0.0	1.8	<b>10.7</b>	11.0
Coefficiente de variación del tamaño del parche	3.2	<b>10.0</b>	1.1	1.8	1.0
Desviación estándar del tamaño del parche (ha)	4.6	<b>9.1</b>	0.2	1.6	0.1
Total de borde (m)	<b>11.0</b>	0.6	3.4	0.0	0.1
Densidad del borde (m/ha)	<b>10.9</b>	0.6	3.8	0.0	0.1
Media del borde del parche	<b>10.1</b>	0.5	2.9	0.4	3.6
Índice medio de la forma	0.2	<b>10.0</b>	3.7	1.5	0.1
Área media ponderada del índice de forma	2.7	<b>8.1</b>	1.5	6.1	1.7
Media de la relación del área del perímetro	0.5	0.0	3.5	6.6	<b>19.3</b>
Dimensión fractal de la media del parche	1.5	0.0	0.5	<b>14.7</b>	11.9
Área ponderada de la dimensión fractal media del parche	2.5	4.3	<b>6.9</b>	5.1	4.8
Índice de Shannon	<b>4.8</b>	<b>4.5</b>	6.1	1.1	4.8
Índice de equidad	<b>6.2</b>	2.8	7.3	0.0	0.4

**Cuadro 9** Factores que explican el > 90% del total de varianza de las características en los 9 paisajes.

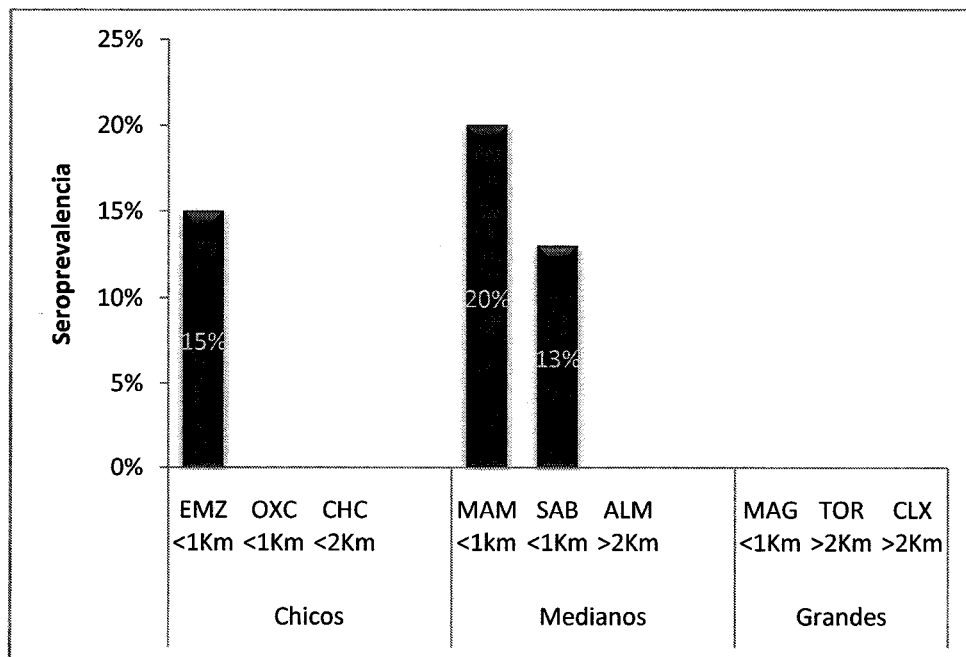
Factores ACP	Valor propio	% de Variabilidad	% Acumulado
F1	6.9	27.6	27.9
F2	6.2	24.9	52.4
F3	4.0	16.1	68.5
F4	3.6	14.2	82.8
F5	1.9	7.7	90.5



# Seroprevalencia del DENV en los murciélagos muestreados.

Se analizaron un total de 146 muestras de suero (78% del total de individuos capturados) de los cuales sólo 8 individuos (5% fueron positivos a DENV ( $8/146 = 5\%$ ) por la prueba de ELISA NS1. Los fragmentos donde se registraron los casos positivos con mayor seroprevalencia fueron EMZ (Emiliano Zapata) con 15% (4/26) (fragmento chico) seguido por SAB (Sabancuy) con 13% (3/22) y MAM (Manantiales mediano) 20% (1/5) (ambos fragmentos medianos). No se encontró diferencia significativa entre la seroprevalencia hallada debido al tamaño de los fragmentos ( $t= 2.77 p>0.05$ ). Es importante señalar que los tres fragmentos mencionados se encuentran a menos de 1Km de distancia a poblados (Figura 11).

**Figura 11** Seroprevalencia de DENV en fragmentos considerando la distancia a poblados



EMZ, Emiliano Zapata, OXC, Oxcabal, CHC Chicbul, SAB Sabancuy, ALM Alamo, MAM Manantiales mediano, CLX Calx, TOR Tormento, MAG Manantiales grande

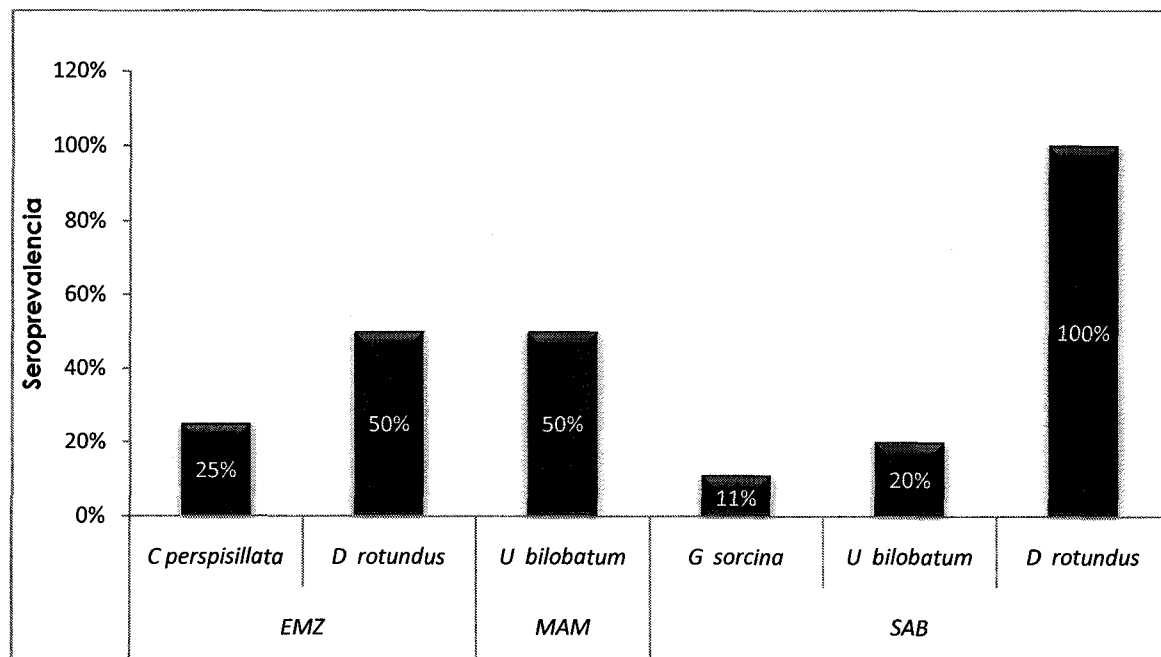
La seroprevalencia por especie encontrada en el fragmento chico EMZ, se distribuyó en un 25% (3/12) en la especie *Carollia perspicillata* y en un 50% (1/2) en *Desmodus rotundus*. En el caso de los fragmentos

medianos, la seroprevalencia se distribuyó en MAN un 50% (1/2) en *Uroderma bilobatum*; mientras que en SAB un 11% (1/9) en la especie *Glossophaga soricina*, 20% (1/5) en *Uroderma bilobatum* y un 100% (1/1) en la especie *Desmodus rotundus* (Cuadro 10 y Figura 12).

**Cuadro 10.** Seroprevalencia de DENV por especie de murciélago dentro los fragmentos con distancia a poblados <1 Km

Sitio	Especie	Individuos capturados por especie	Individuos positivos
EMZ	<i>Carollia perspicillata</i>	12	3
	<i>Desmodus rotundus</i>	2	1
MAM	<i>Uroderma bilobatum</i>	2	1
	<i>Glossophaga soricina</i>	9	1
SAB	<i>Uroderma bilobatum</i>	5	1
	<i>Desmodus rotundus</i>	1	1

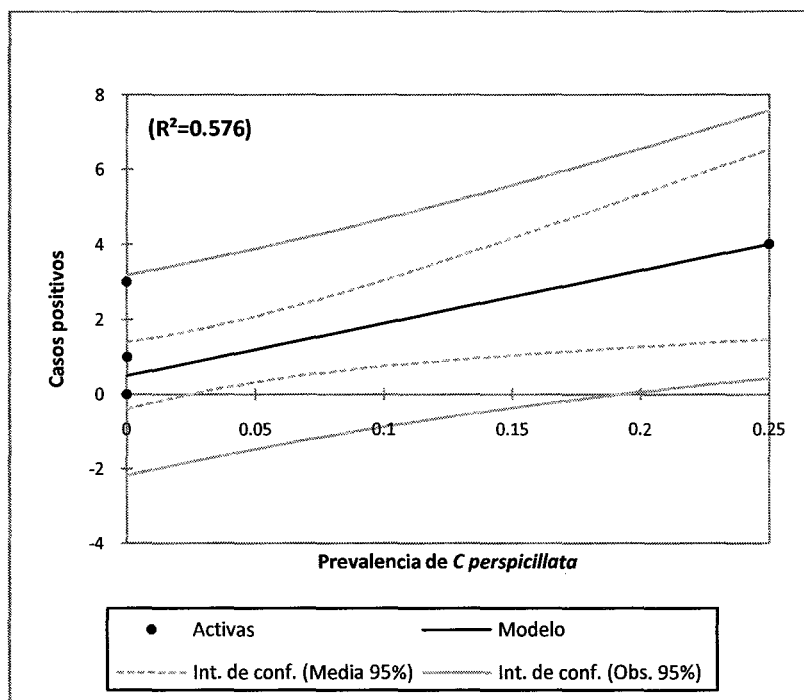
**Figura 12** Seroprevalencia de DENV por especies en fragmentos distancia a poblados < 1 Km.



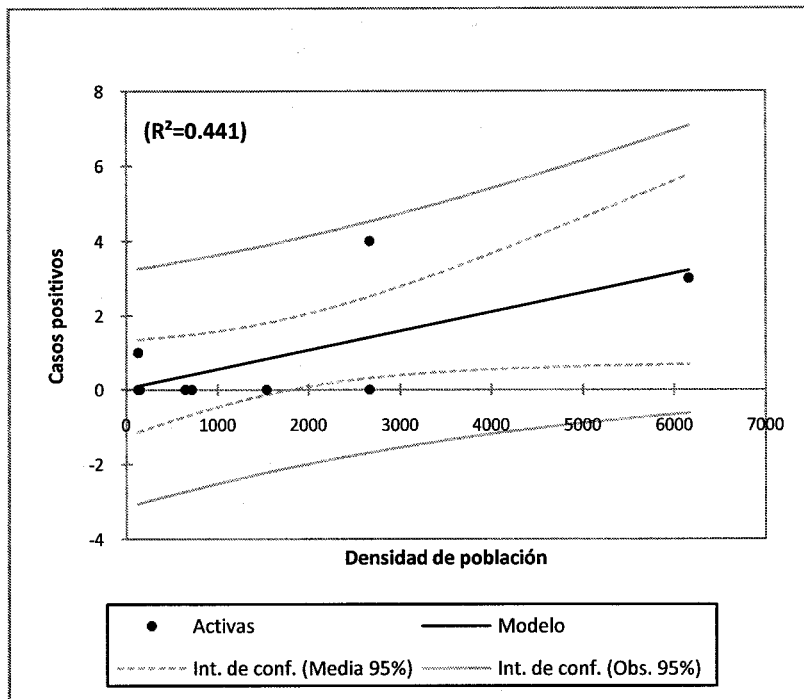
EMZ, Emiliano Zapata, SAB Sabancuy, MAM Manantiales mediano

La variable que más se relacionó con la seroprevalencia del DENV (casos positivos) en los murciélagos muestreados fue la prevalencia encontrada en la especie *Carollia perspicillata* ( $R^2= 0.576$ ), seguida por la densidad de población ( $R^2= 0.441$ ), dominancia de *C perspicillata* en fragmentos ( $R^2= 0.298$ ), distancia a poblados ( $R^2= 0.2$ ) y finalmente el tamaño del fragmento ( $R^2= 0.142$ ), (figura 13, 14, 15, 16, 17). Finalmente se observó que los fragmentos estudiados con un índice de diversidad  $H > 1.8$  no presentaron casos positivos al DENV en los murciélagos muestreados ( $R^2= 0.076$ ) (Ver figura 18).

**Figura 13** Regresión lineal de casos positivos por prevalencia en *C perspicillata*



**Figura 14** Regresión lineal de casos positivos por densidad de población  
(Número de habitantes)



**Figura 15** Regresión lineal de casos positivos por dominancia *C perspicillata* en fragmentos

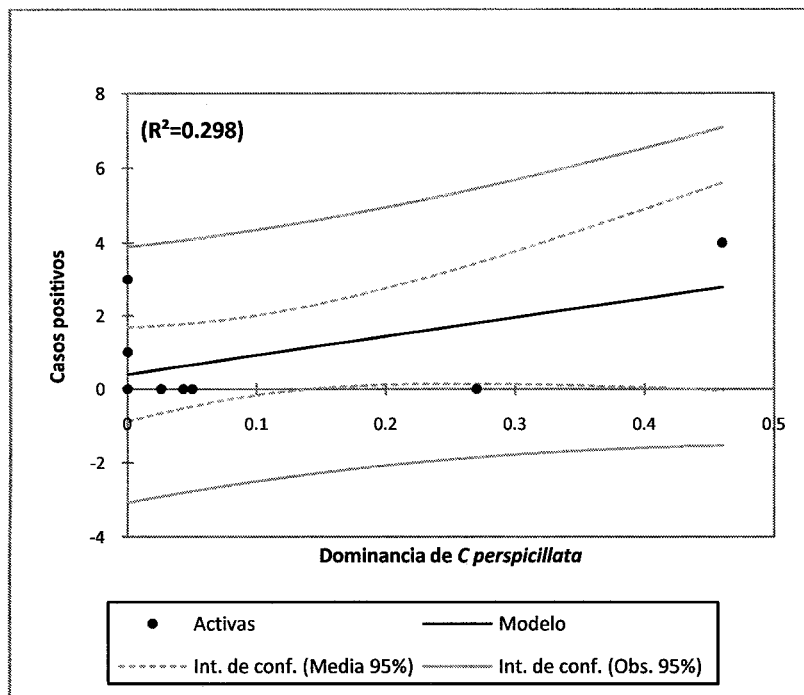


Figura 16 Regresión de casos positivos por distancia a poblado

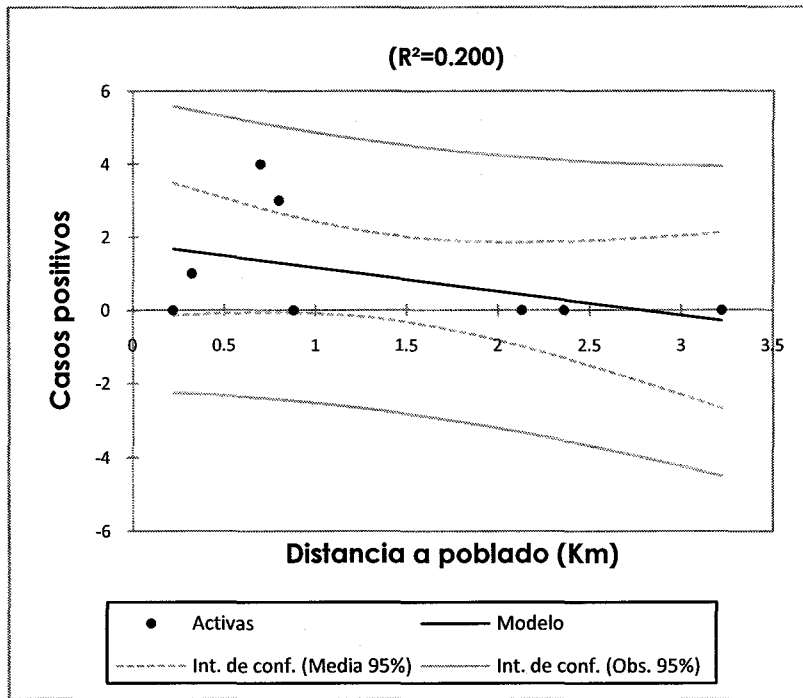


Figura 17 Regresión lineal de Casos positivos por Tamaño de fragmento

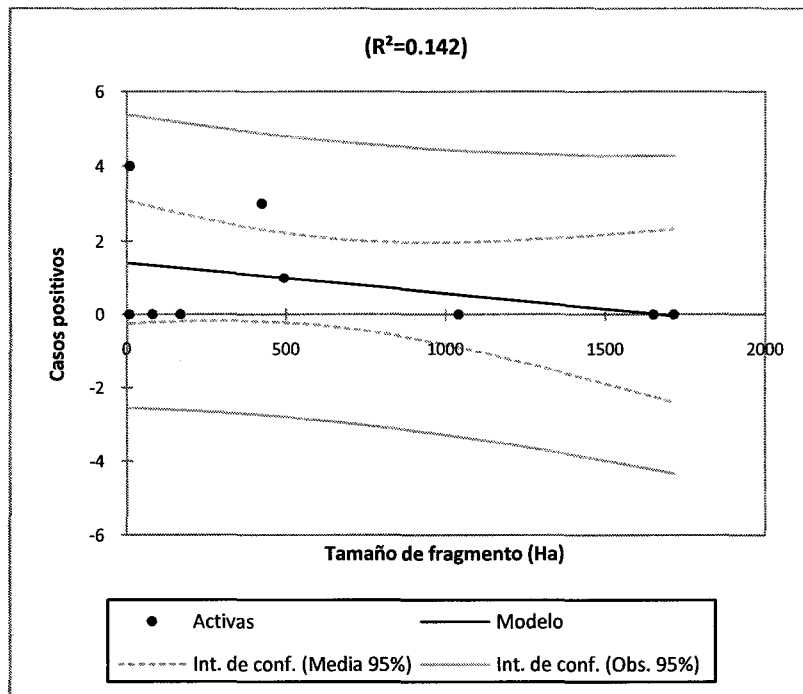
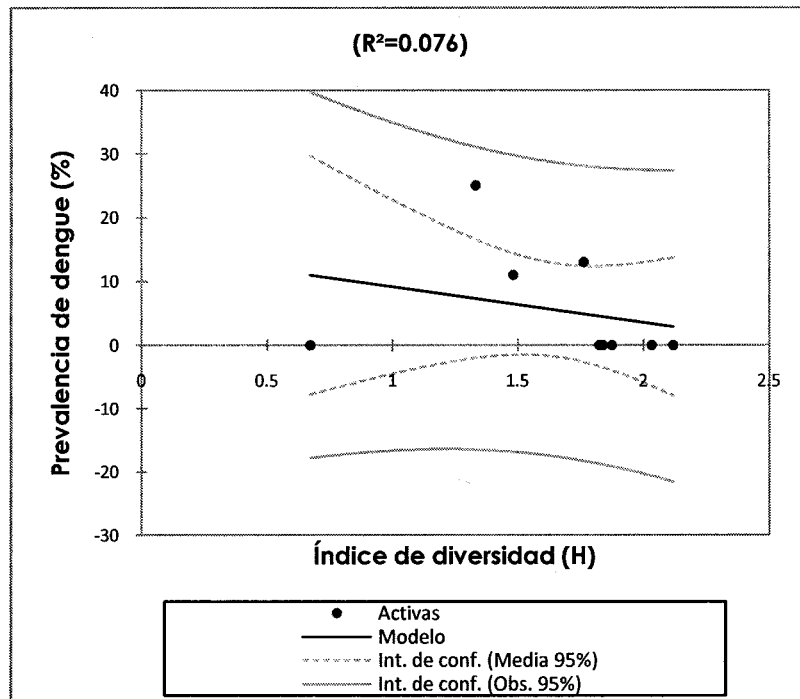


Figura 18. Regresión lineal de prevalencia de DENV (%) en fragmentos considerando el índice de diversidad de Shannon (H).



# DISCUSIÓN

## Diversidad de murciélagos.

Las 20 especies capturadas en este estudio, representan el 14% del total de especies que se encuentran en México y el 38% de las especies reportadas en el estado de Campeche (Ceballos et al 2005, Medellín et al 1997).

El presente estudio, registró mayor número de capturas, y diversidad en los fragmentos grandes, lo cual sugiere que se encuentran mejor conservados (Galindo 2007 Zarza 2001), contrario a los fragmentos chicos que tienen baja diversidad debido a una fuerte influencia de actividades humanas, tal como lo reportan Galindo y Sosa (2003) y Oprea et al (2009).

De manera similar a lo reportado por Galindo y Sosa (2003), encontramos mayor porcentaje de especies frugívoras pertenecientes a la subfamilia *Stenodermatinae*, distribuidas en todos los fragmentos, lo cual es benéfico debido a su función de dispersión de semillas tanto en el interior de selvas conservadas como en zonas perturbadas (Galindo 1998).

En comparación con otros estudios (Medellín et al 2000, Oprea et al 2009) nuestro resultado también muestra que las especies *Carollia perspicillata* y *Glossophaga soricina*, fueron las especies más dominantes en fragmentos chicos (perturbados) mientras que en fragmentos medianos y grandes (poco perturbados) la especie *Artibeus jamaicensis* fue la más dominante en al menos 3 fragmentos.

En relación a los índices de diversidad obtenidos entre fragmentos (Chicos y medianos), observamos que los fragmentos más alejados de un poblado (> de 2km de distancia) fueron los que presentaron mayor diversidad, sin embargo esto no necesariamente refleja que las especies capturadas habiten en dichos fragmentos especialmente si hay otros fragmentos cercanos dentro del paisaje con cobertura forestal los cuales generen recursos suficientes para mantener una población (Zarza 2001). En los fragmentos grandes, los índices de diversidad difieren de lo esperado debido a que en el caso particular

de CLX, la baja diversidad que se presentó en este fragmento, se debe al reducido tamaño de muestra y que sólo se pudo realizar la captura de murciélagos en una noche (observación personal).

En cuanto a la similitud de especies que existe entre los tamaños de fragmento (chicos medianos y grandes), la distancia a poblados parece no influir en los resultados observados, ya que las categorías de fragmentos chicos y grandes fueron los que más especies compartieron.

Con la finalidad de identificar y evaluar la función utilitaria de la biodiversidad, recientemente ha crecido el interés por conocer los efectos de ésta sobre el riesgo de enfermedades, (Keesing et al 2006). En este estudio observamos que los sitios con mayor diversidad ( $H > 1.8$ ) no presentaron casos positivos al DENV, lo cual sugiere que a mayor diversidad las poblaciones de murciélagos se mantienen libres de patógenos (Ostfeld y Logiudice 2003). De acuerdo a lo antes mencionado, se puede decir que la biodiversidad ejerce un efecto de dilución favorable, reduciendo la densidad del vector mediante su depredación (Keesing et al 2006) y el riesgo de exposición a los humanos para las infecciones transmitidas por vectores como el DENV (Ostfeld y Logiudice 2003, Turner 1996).

Con los resultados positivos al DENV en murciélagos del género *Carollia* y con los reportados por (Aguilar Setien et al 2008, De Thoisy et al 2009, Platt et al 2000) sugerimos que existe una correlación entre la dominancia este género y la incidencia del virus en las poblaciones murciélagos, lo anterior puede deberse a que es un género adaptable a los cambios en su hábitat natural (Galindo 2007).

En el presente estudio y en los realizados por Aguilar Setien et al (2008), De Thoisy et al (2009) y Platt et al (2000) aún no se ha logrado demostrar cuál es la función de las especies de murciélagos reportadas como positivas a DENV. En estos casos los murciélago pudrían comportarse como un hospedero alternativo para el vector y reducir el rango de contacto entre el patógeno y las poblaciones humanas (Keesing et al 2006).

## Análisis espacial

Los efectos de la fragmentación en el paisaje dependen de diversos factores como el tiempo de aislamiento, la distancia entre fragmentos, el grado de conectividad entre los fragmentos, el cambio de uso de suelo por actividades antropogénicas, el efecto de borde que favorece la invasión de especies generalistas, el tamaño de los fragmentos y la influencia de los factores externos (Fahrig 2003 Galindo 2007, McGarigal et al 2009). Sin embargo en algunos casos la fragmentación del hábitat tiene efectos



menos negativos sobre la biodiversidad ya que ciertas especies de murciélagos pueden ocupar más de una clase de hábitat lo que les permite desplazarse entre paisajes fragmentados (Fahrig 2003, Gehrt y Chelsvig 2003).

Especies adaptables a la fragmentación pueden desplazarse entre diferentes fragmentos en búsqueda de alimento (Galindo 2007), por tal motivo pudimos encontrar un mayor porcentaje de especies de murciélagos adaptables en todos fragmentos chicos y en el resto de los fragmentos, sin embargo las especies vulnerables sólo se encontraron en fragmentos con un área  $> 80$  ha, lo cual puede indicar la integridad del ecosistema (Medellin et al 2000).

En este estudio se observó que los fragmentos en donde se encontraron los murciélagos positivos a DENV (un fragmento chico y dos medianos) han sufrido cambios importantes en la estructura del paisaje (con una pérdida  $>$ al 50% de cobertura forestal) originada por actividades antropogénicas, cercanía a poblados ( $< 1$ Km) y elevada densidad de población ( $> 2000$  habitantes). Por el contrario, los fragmentos (grandes) mejor conservados (con mayor cobertura forestal  $\geq 60$  %) y con mayor índice de diversidad no presentaron casos de DENV

Considerando los estudios realizados previamente por Aguilar-Setien (2008) donde menciona que una de las especies que resultó positiva al DENV en su estudio fue capturada dentro de una zona rural donde el virus es endémico (comunicación personal) y la relación que existe entre los resultados obtenidos en este estudio a través del análisis espacial y los datos obtenidos a través de la Secretaría de Salud, Campeche (2009), sobre el número de casos confirmados de DENV en los poblados cercanos a los fragmentos, podemos sugerir que los cambios en la estructura del paisaje han favorecido las tazas de contacto entre humanos, vectores y murciélagos alterándose así la ecología de enfermedades infecciosas (Suzán et al 2000).

Los resultados obtenidos con el programa Patch Analyst 3.1 y el análisis de componentes principales sugieren que los factores paisajísticos relacionados con el efecto de borde, la distancia a poblados y la densidad de población en los asentamientos humanos influyeron en la presencia de casos positivos de DENV en murciélagos dentro de los fragmentos estudiados.

# Infección por DENV en murciélagos.

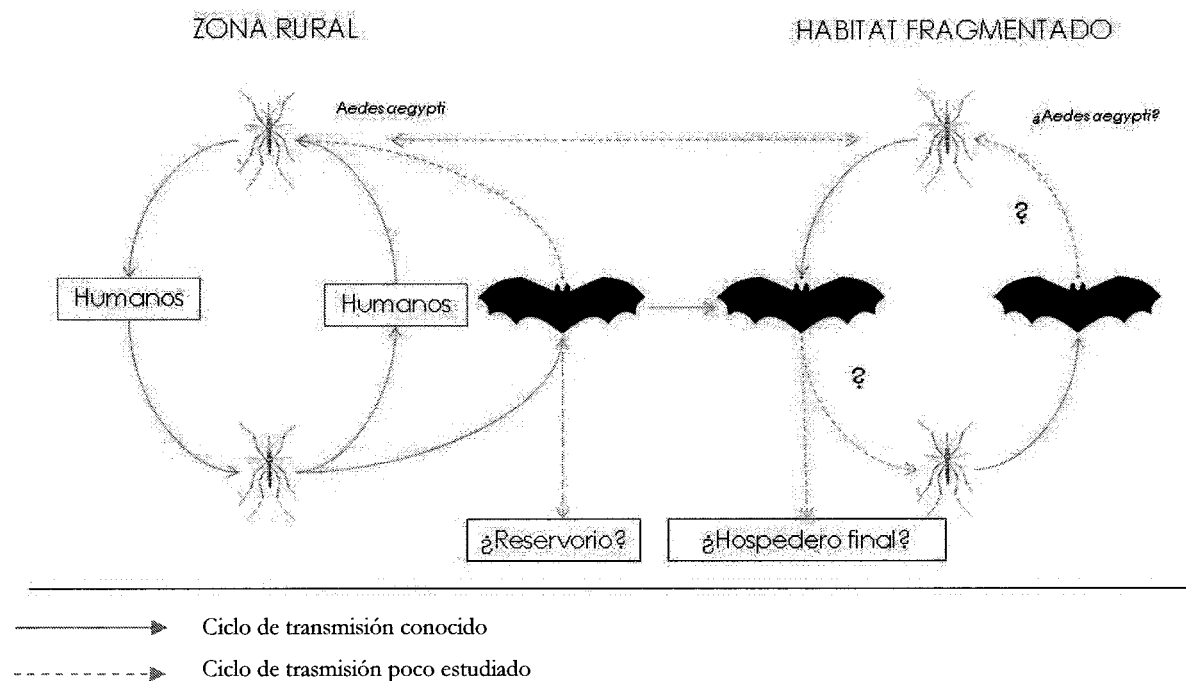
Existen evidencias de que el virus del dengue (DENV), ha infectado diversas especies de murciélagos en Ecuador, Costa Rica, Guyana Francesa y México (Aguilar Setien et al 2008, De Thoisy et al 2009, Platt et al 2000). Este es el primer estudio realizado en el estado de Campeche que logró detectar mediante la prueba de ELISA la proteína NS1 del virus del dengue en el suero de murciélagos capturados en fragmentos de selva cercanos a zonas rurales (distancia < 1 Km) donde se reporta baja incidencia de la enfermedad (Secretaría de Salud Campeche 2009).

Los géneros infectados por el DENV (*Uroderma sp*, *Carollia sp*, *Glosophaga sp*) coinciden con las reportadas por Aguilar-Setien (2008), De Thoisy et al (2009) y Platt et al (2000), sin embargo en este estudio, también se identificó a la especie *Desmodus rotundus* como seropositiva al DENV.

La seroprevalencia obtenida en cada especie, estuvo relacionada con el número de individuos capturados por fragmento, en el caso de *D rotundus*, solo un individuo de esa especie fue capturada en el fragmento mediano (SAB), por lo que la prevalencia se ve elevada, no así en el caso de *C perspicillata*, que fue la especie más abundante en el fragmento chico (EMZ).

Se cree que la emergencia de cadenas selváticas de DENV en el ciclo urbano pueden requerir primero la adaptación en los vectores domésticos y hospederos humanos (Vazilaskis et al 2007). Considerando el estudio realizado por De Thoisy et al (2009) donde reporta que la secuencia del DENV aislado de un murciélago *Carollia perspicillata* capturado en la Guyana Francesa, es 97.3% idéntica a una secuencia aislada en Japón (cadena de virus endémico), podemos suponer que el virus de cepas endémicas se está adaptando a otros hospederos silvestres como los murciélagos. El impacto de dicha adaptación en cuanto a los efectos de virulencia en poblaciones humanas o de murciélagos es desconocido (Ver Figura 19).

**Figura 19** Ciclo de transmisión del virus del dengue en poblaciones de murciélagos que habitan en fragmentos de selva.



Consideramos que el uso de las pruebas diagnósticas utilizadas en este estudio fueron adecuadas, ya que la prueba de "ELISA Platelia" NS1 AG (Dengue NS1 AG, BioRad®) ha sido utilizada por otros autores para el diagnóstico del virus de dengue en poblaciones de murciélagos en los estados de Jalisco, Colima y Veracruz, encontrando murciélagos positivos a esta prueba (Aguilar Setien et al 2008).

Conocer la ecología de la infección por virus en murciélagos y cuál es la función de estos para mantener la infección, podría determinar si los murciélagos son reservorios u hospederos accidentales debido a saltos taxonómicos (Bennet 2006). Debido a que dichos saltos taxonómicos parecen ser eventos aleatorios, las poblaciones susceptibles a dichos saltos taxonómicos deberían ser monitoreadas frecuentemente (Dobson 2005).

Entender la ecología del paisaje y la asociación que existe entre el cambio del uso de suelo y la transmisión de patógenos entre mamíferos silvestres, humanos y animales domésticos debe ser un objetivo importante para desarrollar estrategias que favorezcan la conservación de los mamíferos en vida libre, así como salvaguardar la salud humana y de los animales domésticos (Goldeberg et al 2008).

Los resultados obtenidos en este estudio confirmaron la hipótesis planteada por los que se concluye que de este estudio, es decir que los murciélagos que habitan en lugares severamente fragmentados y cercanos a los asentamientos humanos, presentarán mayor seroprevalencia al DENV.

## PERSPECTIVAS FUTURAS

EL ciclo selvático del virus del dengue aun no ha sido reconocido en las Américas, ya que hasta el momento, los casos reportados de DENV en murciélagos no han demostrado que exista una diferencia significativa con las secuencias aisladas del virus en poblaciones humanas y aquellas aisladas en murciélagos.

Hasta el momento no existen estudios en el estado de Campeche que indiquen la presencia de vectores como *Aedes albopictus* o de *Ae aegypti* en zonas selváticas, lo cual podría aportar información valiosa para conocer la dinámica del DENV en las zonas en donde se realizó este estudio, por lo que sería importante realizar la captura e identificación de dichos vectores.

Es importante considerar a los mamíferos silvestre no sólo como un reservorio potencial del DENV, también debemos considerarlos como potenciales hospederos, sensibles a la infección y/o desarrollo de la enfermedad como ocurre en humanos, lo cual pondría en riesgo su conservación; por tal motivo se requieren más investigaciones que permitan conocer el papel que las especies silvestres desempeñan en el ciclo del dengue.

Sugerimos que en futuros estudios se tomen muestras de órganos para poder identificar el virus mediante técnicas moleculares y conocer que serotipo infecta a las especies de murciélagos y su relación o diferencia con los que circulan en zonas rurales o urbanas.

Este estudio debe ser considerado para la realización de posteriores estudios en zonas endémicas de dengue, ya que proporciona información importante para el desarrollo de programas de salud enfocadas al DENV.

## APÉNDICE 1.

Variables usadas para describir las características del paisaje, obtenidas con el programa Patch Analyst

### 3.1

---

<i>Área total del paisaje</i>	Extensión total del paisaje, se expresa en términos de la medida del área y del perímetro de los fragmentos.
<i>Número de fragmentos</i>	Densidad de los fragmentos (expresada como el número de fragmentos presentes por paisaje estudiado en el área).
<i>Tamaño medio de los fragmentos</i>	Índice obtenido en base al número de fragmentos contenidos en cada paisaje.
<i>Desviación estándar de los fragmentos</i>	Es una medida de absoluta variación, está en función de la media del tamaño del fragmento y la diferencia del tamaño entre el resto de los fragmentos contenidos en el paisaje.
<i>Coficiente de variación del tamaño fragmento</i>	Compara la variabilidad entre los fragmentos.
<i>Total de borde</i>	Medida absoluta de la longitud total del borde de un paisaje en particular y está en función del perímetro del fragmento.
<i>Densidad del borde</i>	Estandariza el borde por unidad de área la cual facilita la comparación entre los paisajes de diferentes tamaños.
<i>Índice medio de la forma</i>	Promedio de la forma del fragmento considerando la relación media del perímetro y el área de un paisaje en particular.
<i>Área media ponderada del índice de la forma</i>	Pondera los fragmentos conforme a su tamaño, es decir fragmentos grandes son ponderados con más peso que aquellos de menor tamaño, calculando el promedio de la forma del fragmento para cada paisaje.
<i>Dimensión fractal de la media del fragmento</i>	Se aplica a los fragmentos del paisaje utilizando la relación perímetro área.
<i>Área media ponderada de la dimensión fractal del fragmento</i>	Detectan la complejidad de la forma y pondera los fragmentos de acuerdo a su tamaño.

---

Marigal y Marks (2004)

## LITERATURA CITADA CAPITULO 2.

Aguilar-Setien, A., M. L. Romero-Almaraz, C. Sanchez-Hernandez, R. Figueroa, L.P. Juarez-Palma, M.M. Garcia-Flores, C. Vazquez-Salinas, M. Salas-Rojas, S. A. Hidalgo-Martinez, S. A. Pierle, C. García-Estrada y C. Ramos. 2008. Short Report. Dengue virus in Mexican bats *Epidemiology and Infections* 136:1678-1683.

Begon M. C.R. Townsend y J.I Harper. 2006. *Ecology from individuals to ecosystems* 4<sup>th</sup> edition. Blackwell publishing.

Bennett M. 2006. Bats and human emerging diseases. *Epidemiology and Infections* 134: 905–907.

Blanco L.A.J. y G.J. García. 1997. A study of habitat fragmentation in Southeastern Brazil using remote sensing and geographic information system (GIS). *Forest Ecology Management* 98:35-47.

Calisher C.H, J.E. Childs, H.E. Field, K.V. Holmes y T. Schountz. 2006. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clinical Microbiology Reviews* July: 531–545

Ceballos, G., G. Oliva y H. Arita. 2005. *Los Mamíferos silvestres de México*, Conabio. México D.F.

De la Lara G., y P. Ramírez-García. 1993. La vegetación del manglar en la laguna de términos, Campeche. *Evaluación preliminar a través de imágenes LANSAT. Hidrobiológica.* 3: 29-39

Dobson A. 2005 What links bats to emerging infectious diseases? *Science* 310: 628-629.

Duchamp J.E, D.W. Sparks y J.O Whitaker 2004. Foraging-habitat selection by bats at an urban-rural interface: comparison between a successful and a less successful species. *Canadian Journal Zoology*, 82: 1157-1164.

Fahrig L. 2003. Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 34: 487-515

Gaunt M.W., A.A. Sall, X. Lamballerie, A.K.I. Falconar, T.I Dzhivanian y E.A. Gould. 2001. Phylogenetic relationships of flaviviruses correlate with their epidemiology, disease association and biogeography. *Journal of General Virology* 82: 1867–1876

Galindo G.J. 1998. Dispersión de semillas por murciélagos: su importancia en la conservación y regeneración del bosque tropical. *Acta Zoológica Mexicana*, 73 (2): 57-74

Galindo G.J y V.J. Sosa. 2003. Frugivorous bats in isolated trees and riparian vegetation associated with human-made pastures in a fragmented tropical landscape. *The Southwestern Naturalist* 48: 579-589

Galindo, G.J. 2004. Clasificación de los murciélagos de la región de los Tuxtlas, Veracruz, respecto a su respuesta a la fragmentación del hábitat. *Acta Zoológica Mexicana* 20: 239-243

Galindo, G.J. 2007. Efecto de la fragmentación del paisaje sobre las poblaciones de mamíferos; el caso de los murciélagos de los Tuxtlas, Veracruz páginas 97-114, en Sánchez R.G, Rojas-Martínez A. Tópicos en sistemática, biogeografía, ecología y conservación de mamíferos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo 1ª edición. México

Gehrt S.D. y J.E. Chelsvig. 2003. Bat activity in an urban landscape: patterns at the landscape and microhabitat scale. *Ecological Applications* 13: 939-950

Marigal K. y B.J Marks. 1994. Fragstats, spatial pattern analysis program for quantifying landscape structure. Oregon State University.

McGarigal K., S. Tagil y S.A. Cushman 2009. Surface metrics: an alternative to patch metrics for the quantification of landscape structure. *Landscape Ecology* 24:433–450

Medellín R.A, H. T. Arita y O. Sánchez. 1997. Identificación de los murciélagos de México, clave de campo. *Publicaciones Especiales, Asociación Mexicana de Mastozoología, A. C., México*. 83 pp.

Medellín R.A., M. Equihua y M.A. Amin. 2000. Bat diversity and abundance as indicators of disturbance in neotropical rainforests. *Conservation Biology* 14: 1666-1675

- Moreno C. E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T-Manuales y Tesis SEA. Zaragoza,
- Neuweiler G. 2000. The Biology of the Bats. Oxford University Press: Oxford,
- Omatsu T, Watanabe S, Akashi H, Yoshikawa Y. Biological characters of bats in relation to natural reservoir of emerging viruses *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2007 (30): 357–374
- Oprea M., C.E. Esbérard, T.B. Vieira, P. Mendes, V.T. Pimenta, D. Brito, A.D. Ditchfield. 2009. Bat community species richness and composition in a restinga protected area in Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 69: 1073-1079.
- Ostfeld R.S., y K. Logiudice. 2003. Community disassembly, biodiversity loss, and the erosion of an ecosystem service. *Ecology* 84: 1421-1427
- Pickett S.T.A. y M.L. Cadenasso. 1995. Landscape ecology: spatial heterogeneity in ecological systems. *Science* 269: 331-334
- Platt K.B., J.A. Mangiafico, O.J. Rocha, M.E. Zaldivar, J. Mora, G. Trueba y W.A. Rowley. 2000. Detection of Dengue Virus Neutralizing Antibodies in Bats from Costa Rica and Ecuador. *Journal of Medical Entomology*, 37 (6): 965-967
- Turner I.M. 1996. Species loss in fragments of tropical rain forest: a review of the evidence. *Journal of Applied Ecology*. 33: 200-209.
- Wong S., S. Lau , P. Woo, Y. Kwok-Yung. 2007. Bats as a continuing source of emerging infections in humans. *Reviews in Medical Virology* 17: 67–91
- Zarza H. 2001. Estructura de la comunidad de pequeños mamíferos en diversos hábitats en la Selva Lacandona, Chiapas, México. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México
- Vasilakis N., E.J. Shell, E.B. Fokam, P.W. Mason, K.A. Hanley, D.M. Estes y S.C Weaver. 2007. Potential of ancestral sylvatic dengue-2 viruses to re-emerge. *Virology* 358: 402–412.