



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**DETECCIÓN DE DISTEMPER CANINO EN MAMÍFEROS DE LA RESERVA
ECOLÓGICA DEL PEDREGAL DE SAN ÁNGEL**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
Maestro en Medicina Veterinaria y Zootecnia

PRESENTA
Diana Marcela Caro Martínez

TUTOR PRINCIPAL
Heliot Zarza Villanueva
División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Unidad LERMA - UAM

COMITÉ TUTORAL
Carlos González-Rebeles Islas
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

Emilio Rendón Franco
División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM

Ciudad Universitaria, Cd. Mx. Enero 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A mi mamá Inés, mis hermanos Ximena, Fabio, Gina, Gisell y mi sobrina Isabela porque son el motor de mi vida.

A mi novio Efraín por su apoyo incondicional y paciencia en momentos difíciles y por brindarme una nueva familia en México.

A toda mi familia y amigos tanto de México como de Colombia que creyeron en mí y me han brindado su apoyo siempre.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por darme la oportunidad de formarme como profesional y a CONACYT por el apoyo económico que brinda a los alumnos extranjeros.

A mi tutor Heliot Zarza por su ayuda y guía durante todo el proceso de mi formación y el apoyo económico para el desarrollo del proyecto.

A mi comité tutor Dr. Carlos González-Rebeles Islas y al Dr. Emilio Rendón Franco por su acompañamiento, enseñanza y asesoría en este proceso.

Al Dr. Evaristo Barragán por su ayuda al finalizar la tesis y a todos los doctores que hicieron parte de mi formación en el período de mi maestría.

Agradezco a los biólogos de la REPSA Guillermo Gil, Marcela Pérez y Henry Carmona por su apoyo inconmensurable en mi proyecto y por las facilidades permitidas en la logística y al equipo de veterinarios y biólogos por su acompañamiento y enseñanza durante el trabajo en campo.

A mi jurado Dr. Humberto Alejandro Martínez Rodríguez, Alberto Cano Buendía Alberto, Gerardo Suzán, Juan José Pérez Rivero Cruz y Celis por sus valiosas recomendaciones y asesoría para terminar la tesis.

RESUMEN

Una de las principales amenazas para la conservación de la fauna silvestre es la presencia de enfermedades infecciosas emergentes entre las poblaciones silvestres de mamíferos. Hoy en día, promovido por una mayor tasa de contacto entre la fauna silvestre, animales domésticos y la población humana. El objetivo general de este estudio fue detectar la presencia del Virus del Distemper Canino en mamíferos de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA). El trabajo de campo se realizó en octubre 2015 y abril 2016 en zonas conservadas y perturbadas dentro de la REPSA. El diagnóstico se realizó por medio de reacción en cadena de la polimerasa asociada a transcripción inversa. Se obtuvieron 74 muestras de cuatro especies de mamíferos silvestres: tlacuache (*Didelphis virginiana*), ardillón (*Otospermophilus variegatus*), cacomixtle (*Bassariscus astutus*) y zorrillo moteado (*Spilogale angustifrons*) y tres especies de mamíferos de fauna nociva: perro (*Canis familiaris*), gato (*Felis catus*) y ardilla gris (*Sciurus aureogaster*). La frecuencia de VDC fue del 20% en zonas perturbadas y de 0% en las zonas conservadas. La frecuencia por órdenes fue de 7% en Didelphimorphia, 22.2% en Rodentia y 0% en Carnivora. La frecuencia por especie fue de 25% en *D. virginiana* y 33.3% en *O. variegatus*, de estas dos especies positivas la frecuencia por sexo fue 14% en hembras y 27% en machos y la frecuencia por rango de edad fue del 100% en crías y 19% en adultos, las demás especies fueron negativas. La presencia de VDC tuvo una asociación significativa ($p < 0.05$) con el tipo de zona, mas no se asoció con la edad ni el sexo. La presencia de VDC en la REPSA representa una amenaza potencial para las poblaciones de mamíferos silvestres. Se sugieren estudios posteriores con análisis filogenéticos para indicar las cepas que circulan en especies infectadas con VDC para establecer medidas de conservación y mitigación en la propagación de enfermedades infecciosas en la REPSA.

Palabras clave: Didelphimorphia, Distemper Canino, mamíferos silvestres, REPSA, Reserva urbana, Rodentia.

ABSTRACT

One of the major threats to the conservation of wildlife is the presence of emerging infectious diseases among wild mammalian populations. Today, promoted by a higher rate of contact between wildlife, domestic animals and the human population. The aim of this study was to detect the presence of Canine Distemper Virus (CDV) in mammals at Pedregal de San Angel Ecological Reserve (REPSA). The samples were collected between October 2015 to April 2016 in disturbed and protected areas of the REPSA. The diagnostic was made by Reverse transcription polymerase chain reaction. 74 samples were obtained of four species of native wild mammals: common opossum (*Didelphis virginiana*), rock squirrel (*Otospermophilus variegatus*), ringtail (*Bassariscus astutus*) and southern spotted skunk (*Spilogale angustifrons*) and three species of exotic animals: dog (*Canis familiaris*), cat (*Felis catus*) and mexican gray squirrel (*Sciurus aureogaster*). The frequency of CDV was 20% in disturbed areas and there was no evidence of CDV in protected areas. The frequency by order was 7% for Didelphimorphia and 22.2% for Rodentia and Carnivora was negative. The frequency for species was 25% in *D. virginiana* and 33.3% for *O. variegatus*. Of the two positive species sex frequency were 14% for females and 27% for males. The frequency by age group was 100% for young pup and 19% for adults. The CDV presence had a significant association ($p < 0.05$) with type of zone, but it is not associated with age or sex. The presence of CDV in this urban reserve represents a potential threat for wild mammal populations. We suggest to realize studies with phylogenetic analyzes to indicate the circulating viral strains in positive samples to establish conservation and mitigation measures in the spread of infectious diseases in the REPSA.

Key words: Canine Distemper Virus, Didelphimorphia, REPSA, Rodentia, Urban reserve, wild mammals.

ÍNDICE

DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT	V
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
LISTA DE CUADROS.....	IX
1. INTRODUCCIÓN.....	12
1.1. Virus del Distemper Canino (VDC).....	14
1.1.1. Taxonomía.....	14
1.1.2. Estructura genómica.....	15
1.1.1. Ciclo de replicación.....	15
1.1.2. Patogénesis.....	18
1.1.2.1. Neuropatogénesis.....	20
1.1.3. Epidemiología.....	23
1.1.5.1. Antecedentes en México.....	23
1.2. Problemática de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) como reserva urbana.....	24
1.3. Historia natural y Ecología de los mamíferos silvestres de la REPSA.....	26
1.3.1. <i>Bassariscus astutus</i>	26
1.3.2. <i>Didelphis virginiana</i>	27
1.3.3. <i>Sciurus aureogaster</i>	28
1.3.4. <i>Spilogale angustifrons</i>	29
1.3.5. <i>Otospermophilus variegatus</i>	30
1.4. Justificación.....	32
1.5. Hipótesis.....	33
1.6. Objetivos.....	33
1.6.1. Objetivo general.....	33
1.6.2. Objetivos específicos.....	33
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	34

2.1. Área de estudio.....	34
2.2. Capturas y toma de muestras	35
2.2.1. Obtención de las muestras	36
2.3. Análisis de laboratorio.....	39
2.3.1. Extracción del material genético	39
2.3.2. Técnica RT-PCR.....	40
2.3.3. Electroforesis.....	40
2.3. Análisis de resultados.....	42
2.4.1. Determinación de la frecuencia del virus en función de variables ambientales y poblacionales	42
2.4.2. Análisis estadístico.....	42
3. RESULTADOS.....	43
3.1. Número de muestras obtenidas y animales capturados	43
3.2. Número de animales positivos a VDC por medio de RT-PCR.....	44
3.3. Frecuencia de VDC en mamíferos de la REPSA	45
3.4. Frecuencia de VDC en mamíferos de zonas conservadas en la REPSA	45
3.5. Frecuencia de VDC en mamíferos de zonas perturbadas en la REPSA	45
4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	49
REFERENCIAS	57
ANEXOS.....	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura y organización del genoma del Virus del Distemper Canino	16
Figura 2. Ciclo de replicación del Virus del Distemper Canino	17
Figura 3. Patogénesis del VDC asociado a los signos clínicos	20
Figura 4. Aspecto físico de <i>Bassariscus astutus</i>	26
Figura 5. Aspecto físico de <i>Didelphis virginiana</i>	27
Figura 6. Aspecto físico de <i>Sciurus aureogaster</i>	28
Figura 7. Aspecto físico de <i>Spilogale angustifrons</i>	29
Figura 8. Aspecto físico de <i>Otospermophilus variegatus</i>	31
Figura 9. Mapa del área de estudio y distribución de la REPSA	38
Figura 10. Protocolo utilizado para la técnica RT-PCR para amplificar un fragmento del gen N.	41
Figura 11. Número de muestras obtenidas por cada especie en la REPSA	44
Figura 12. Número de muestras positivas a VDC por medio de RT-PCR en la REPSA según la especie	44

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Tipos de proteínas para las cuales codifica el VDC y su función principal	18
Cuadro 2. Clasificación taxonómica de los mamíferos silvestres de la REPSA ...	31
Cuadro 3. Zonas y fechas programadas para los muestreos	35
Cuadro 4. Mezcla de reacción para la RT-PCR.....	41
Cuadro 5. Descripción del número total de animales, sexo y edad por cada especie de la cual se obtuvo muestra sanguínea	43
Cuadro 6. Frecuencia total de VDC detectada en la REPSA	45
Cuadro 7. Descripción de la población de los mamíferos capturados en las zonas conservadas	46
Cuadro 8. Descripción de la población de los mamíferos capturados en las zonas perturbadas	47
Cuadro 9. Frecuencia de VDC detectada en las zonas conservadas y perturbadas de la REPSA	47
Cuadro 10. Frecuencia total de VDC detectada en la REPSA por cada tipo de orden	47
Cuadro 11. Frecuencia de VDC por cada especie de mamífero capturado en las zonas que se encuentran perturbadas en la reserva, diagnosticadas por medio de RT-PCR.....	48
Cuadro 12. Frecuencia de VDC en <i>Didelphis virginiana</i> y <i>Otospermophilus variegatus</i> según el sexo en las zonas perturbadas de la REPSA.....	48
Cuadro 13. Frecuencia de VDC en <i>Didelphis virginiana</i> y <i>Otospermophilus variegatus</i> según rango de edad en las zonas perturbadas de la REPSA	48

ABREVIATURAS Y SIGLAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNc	Ácido desoxirribonucleico complementario
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
CD	Grupo de Diferenciación
CMH	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
DEPC	Dietilpirocarbonato
DMV	Dolphin Morbillivirus
DNTPs	Desoxirribonucleótidos trifosfato
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EIE	Enfermedades Infecciosas Emergentes
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
IFN	Interferón
IL	Interleuquina
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
MALT	Tejido Linfoide Asociado a Mucosas
MV	Measles Virus
PDV	Phocine Distemper
PMV	Porpoise Morbillivirus
PPRV	Peste de Petits Ruminants Virus

REPSA	Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel
RNasas	Ribonucleasas
RNP	Ribonucleoproteína
RPV	Rinderpest Virus
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
SAG	Servicio Agrícola y Ganadero
SARS	Severe Acute Respiratory Syndrome
SEREPSA	Secretaria Ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel.
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
SLAM	Molécula Linfocitaria Activadora de Señales
SNC	Sistema Nervioso Central
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
VDC	Virus del Distemper Canino

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas una amenaza potencial hacia la salud de animales domésticos, silvestres y seres humanos ha sido por la acción de agentes patógenos que generan Enfermedades Infecciosas Emergentes (EIE), entre sus características se incluyen un incremento rápido en su prevalencia, ocupar un mayor rango geográfico con una mayor diversidad de hospederos y cuya dinámica puede llegar a tener impactos a una escala global (Daszak et al. 2000; Tompkins et al. 2015 ; Wiethoelter et al. 2015). Se ha identificado que la mayoría de las EIE provienen de la fauna silvestre, debido a la actividad de patógenos zoonóticos, lo que permite observar un incremento significativo en el número de casos en tiempos recientes y de esta manera se cataloga como una amenaza que pone en riesgo la salud humana, salud de animales que se encuentran en categorías de riesgo y economía global (Daszak et al. 2000; Jones et al. 2008; Jones et al. 2011; Wiethoelter et al. 2015).

La aparición y frecuencia de las EIE dependen de una serie de condiciones ambientales como una mayor tasa de contacto entre fauna silvestre -ser humano - fauna doméstica, lo que favorece los saltos taxonómicos debido a la riqueza de hospederos naturales. Aunado a estas condiciones, se encuentran las variables climáticas, movimientos de vectores, densidad de población humana, urbanización, cambio en el uso del suelo, manipulación biomédica y ecológica. Estas condiciones han sido inherentes con la presentación de brotes de emergencia médica como el Dengue, cólera, virus del Ébola, virus del Nipah y Síndrome Respiratorio Agudo y Grave (SARS) (Daszak et al 2000; Jones et al.2008; Tompkins et al. 2015).

Las zonas que presentan fragmentación del hábitat por acciones antropogénicas son susceptibles a tener cambios en la densidad, diversidad genética, distribución

geográfica de las especies, alterar las condiciones micro climáticas y biogeográficas e incrementar el riesgo de enfermedades infecciosas para la fauna silvestre y el humano por una alteración de los patrones espaciales en la prevalencia de los patógenos (McCallum & Dobson 2002; Suzán et al. 2012). El efecto de borde aumenta en las áreas fragmentadas y reducidas en tamaño, lo que significa que la población que habita ese pequeño fragmento es más susceptible a los efectos de la matriz circundante porque se vuelven propensas a ser habitadas por especies invasoras, exóticas, animales ferales, patógenos y aumento de la transmisión de enfermedades infecciosas lo que conlleva a una alteración de la distribución, abundancia e interacción y biodiversidad de las especies del fragmento, debido a esto la prevalencia de EIE se ha documentado como alta en estos ambientes causado por un bajo número de especies hospedadoras porque hay disminución en la biodiversidad del parche, lo que altera la función del ecosistema y aumenta la probabilidad de extinción de esas poblaciones de animales locales (MacArthur et al. 1964; McCallum & Dobson 2002; Suzán et al. 2009; Suzán et al. 2012; Rubio et al. 2014).

El impacto de las EIE en fauna silvestre se ve reflejado en la alteración de la dinámica y salud del ecosistema, afectan la biodiversidad y ponen en riesgo su conservación al disminuir sus tamaños poblacionales, asimismo aumentan los problemas de salud pública (Smith et al. 2006; Delahay et al. 2009; Wiethoelter et al. 2015). Algunos ejemplos de epizootias de EIE en fauna, principalmente por bacterias y virus, reflejan resultados devastadores con altos eventos de mortalidad, como el brote de Rinderpest en África en ungulados silvestres en 1890, presencia de *Pasteurella multocida*, Virus del Oeste del Nilo y *Salmonella spp.* en aves acuáticas en Estados Unidos entre 1971 y 2005, Brotes del virus del Distemper Canino (VDC) en mapaches en Estados Unidos y brotes de Influenza Aviar A (H5N2), (H5N8), y (H5N1) en aves domésticas y silvestres en el 2014 en Estados Unidos (Williams et al. 2002; Ip et al. 2014; Tompkins et al. 2015). Debido a esto,

el monitoreo de enfermedades infecciosas en poblaciones silvestres es necesario como medida preventiva para mitigar el riesgo de aparición de brotes y garantizar la conservación de estas poblaciones (Daszak et al. 2000; Wilkinson et al. 2014; Tompkins et al. 2015).

Uno de los agentes etiológicos relacionado con epizootias causantes de mortalidad en mamíferos silvestres ha sido el VDC, el cual infecta principalmente diversas familias del orden Carnívora y hospederos no convencionales en familias de los órdenes Rodentia, Artiodactyla y Proboscidea lo que demuestra la habilidad de este virus en la transmisión cruzada entre especies, catalogándose como una enfermedad altamente contagiosa que se distribuye a nivel mundial (Zachary & McGavin 2011; Origgi et al. 2012; Sakai et al. 2013; Greig et al. 2014; Martínez y Ruiz 2016).

1.1. Virus del Distemper Canino (VDC)

El VDC fue aislado por primera vez por Henri Carré en 1905, de aquí su identificación antigua como enfermedad de Carré (Ludlow et al. 2014). Se encuentra estrechamente relacionado con el virus del Sarampión el cual infecta a humanos (Beineke et al. 2009).

1.1.1. Taxonomía

El VDC está clasificado dentro del orden Mononegavirales, familia Paramyxoviridae, subfamilia Paramyxovirinae, pertenece al género *Morbillivirus* (International Committee on Taxonomy of Viruses ICTV 2014). A este género pertenecen también otras especies como el virus del Sarampión que infecta al ser humano “Measles Virus” MV; entre los animales domésticos se encuentran “Rinderpest Virus” RPV, “Peste de Petits Ruminants Virus” PPRV en vacas, cabras y ovejas; “Dolphin

Morbillivirus” DMV en delfines; “Phocine Distemper Virus” PDV en focas y “Porpoise Morbillivirus” PMV en marsopas (Sips et al. 2007; Beineke et al. 2009; Aguilar & Lee 2011).

1.1.2. Estructura genómica

El VDC es un virus envuelto de genoma ARN de sentido negativo y cadena sencilla con una nucleocápside de simetría helicoidal no segmentada, es pleomórfico formado aproximadamente por 16000 pb con un tamaño entre 150 y 250 nm (Battisti et al. 2012). Codifica para seis proteínas estructurales (figura 1) y dos genes accesorios no estructurales del gen P descritas en el cuadro 1 (Beineke et al. 2009). Su capacidad de infección y reproducción disminuye o es nula en ambientes muy secos, altas temperaturas, rayos UV y desinfectantes comunes (Rikula 2008; Gilbert et al. 2015).

1.1.1. Ciclo de replicación

La replicación del virus tiene lugar en el citoplasma de la célula infectada, ya que son independientes de la maquinaria nuclear y codifica su propia enzima replicativa que es la ARN polimerasa dependiente de ARN para la síntesis de ARNm (Figura 2). La fusión se genera a partir de 14 a 24 horas post infección por medio de la unión de la partícula viral a la superficie de la célula blanco a través de la proteína de fusión (F) (Harrison et al. 2010). Esta interacción está dada por la hemaglutinina viral (H) que se une al receptor celular CD46 que inhibe la activación del complemento o SLAM (Molécula Linfocitaria Activadora de Señales) llamado también CD150, estos receptores son expresados por células B, T, macrófagos y células dendríticas (Carvalho et al. 2012; El Najjar et al. 2014). En algunos estudios se ha reportado que el VDC puede usar un receptor llamado PVRL4 para infectar

células epiteliales, cuando no se expresa CD150 (Carvalho et al. 2012; Ludlow et al. 2014).

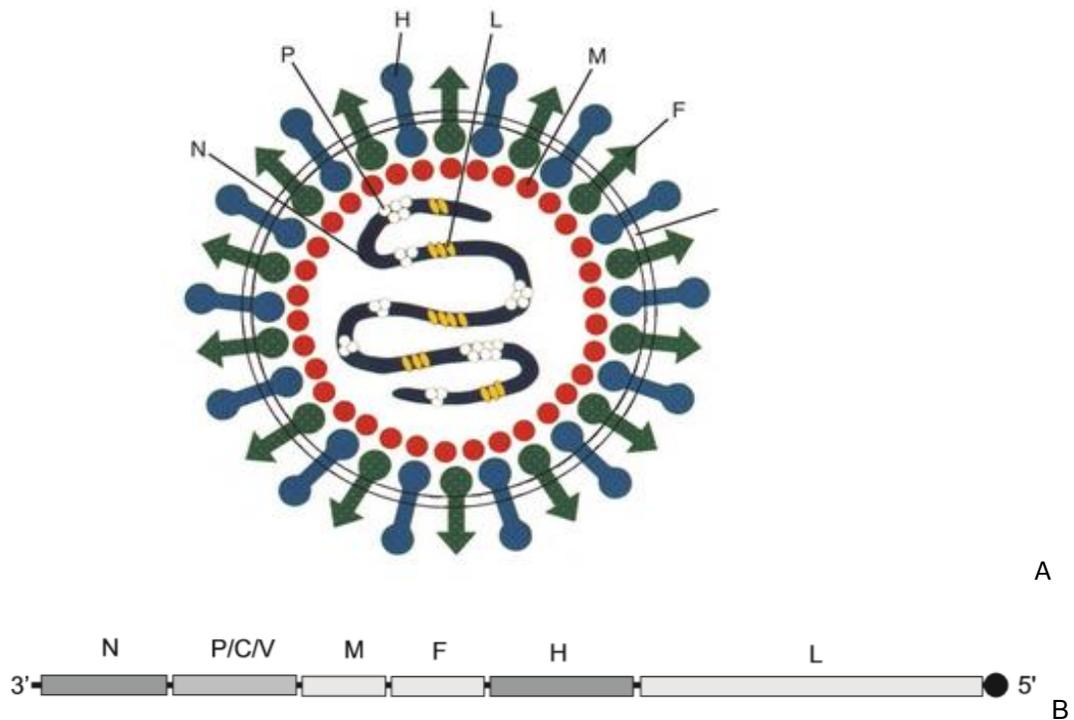


Figura 1. Estructura y organización del genoma del Virus del Distemper Canino. (A) Diagrama del virus y ubicación de sus proteínas Hemaglutinina H, de fusión F, de Matriz M, Nucleocápside N, fosfoproteína P, proteína larga L. (B) Genoma de una molécula lineal de polaridad negativa en sentido 3' UTR-N-P(C, V)-M-UTR-F-H-L-UTR-5'. Tomado de Greene & Vandeveld (2012), Piccone & Furtado (2007).

Después de la fusión y pérdida de la envoltura y debido a la estabilidad del complejo RNP (genoma + nucleoproteína) el cual no se separa en todo el ciclo de replicación, el RNP se usa como plantilla para una primera transcripción del genoma en sentido negativo realizada por el complejo de la polimerasa formada por los genes P y L donde se produce de manera abundante ARNm y los extremos 3' de los genes se transcriben en mayor medida que los extremos 5', durante la síntesis de ARNm la polimerasa viral recibe un señal entre las regiones intergénicas al terminar la copia de un gen, para reiniciar la transcripción del subsecuente gen. Para la replicación debe existir la suficiente cantidad de componentes proteicos virales y se genera una transcripción individual, así cada gen origina un ARNm que tiene una estructura *cap* en la extremidad 5' y codifica una sola proteína para generar copias

complementarias de polaridad positiva llamadas antígenomas que actúan como plantillas para la síntesis realizada por la polimerasa viral de nuevos ARN genómicos, los cuales son fuertemente recubiertos por la proteína N para formar un nuevo complejo RNP y protegerse así de la degradación. En el lugar de replicación se forman cuerpos de inclusión característicos del virus (Piccone & Furtado 2007; Pinoti et al. 2009; Harrison et al. 2010; El Najjar et al. 2014).

Las proteínas H y F son sintetizadas en los ribosomas adyacentes al retículo endoplásmico y su porción glicosídica es modificada en el aparato de Golgi y posteriormente se transportan a través de vesículas a la membrana celular donde la proteína M los inserta en sitios seleccionados de la membrana plasmática para generar la unión de estas glicoproteínas de membrana con el nuevo complejo RNP que forman el virión el cual se libera a través de gemación (Harrison et al. 2010; El Najjar et al. 2014: cuadro 1).

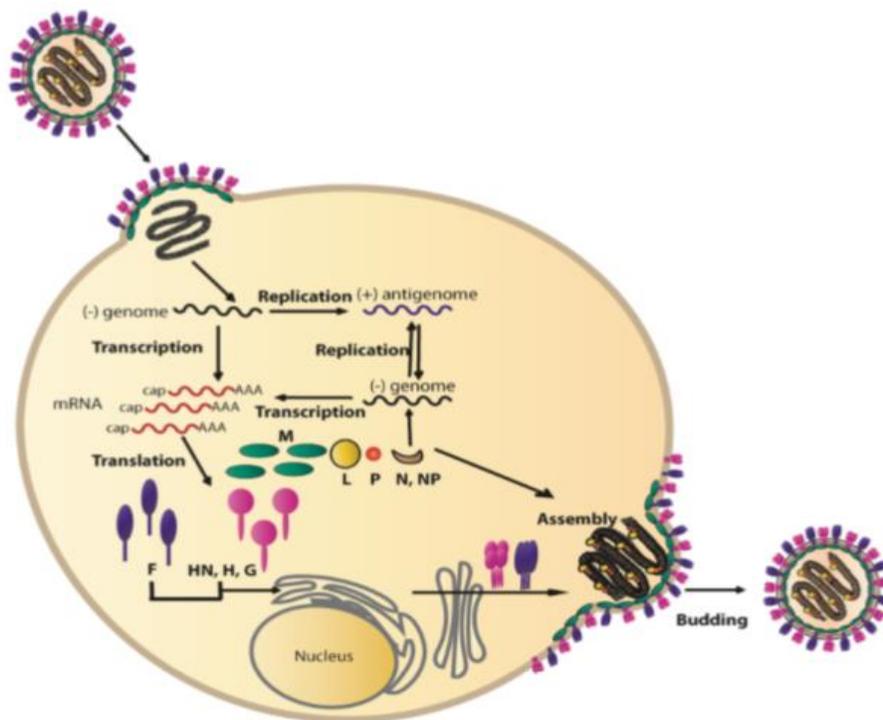


Figura 2. Ciclo de replicación del Virus del Distemper Canino. Unión del virión a la célula, transcripción, replicación, ensamblaje y gemación. Tomado de El Najjar et al. (2014).

Cuadro 1. Tipos de proteínas para las cuales codifica el VDC y su función principal

Proteína	Tipo	Función	
Hemaglutinina	H	Estructural	Unión al receptor y entrada del virus a la célula
Proteína de Fusión	F	Estructural	Fusión del virus con la membrana plasmática
Nucleocápside	N	Estructural	Replicación, ensamblaje viral, persistencia del virus
Fosfoproteína	P	Estructural	Forma complejo de la polimerasa, replicación y transcripción viral
Proteína larga	L	Estructural	Síntesis ARN viral, forma complejo de la Polimerasa
Proteína de Matriz	M	Estructural	Determina la distribución de las glicoproteínas superficiales H y F y su asociación con el complejo RNP, ensamble de la partícula viral, gemación, mantiene la estructura del virión, persistencia del virus.
Proteína	C	Accesoria	Unidad extra transcripcional del gen P, evasión de la respuesta inmune como antagonista del IFN.
Proteína	V	Accesoria	Unidad extra transcripcional del gen P, evasión de la respuesta inmune como principal antagonista del IFN.

Adaptado de Greene & Vandeveldel (2012); Alvisi (2013); El Najjar et al. (2014).

1.1.2. Patogénesis

La severidad, duración y presentación clínica de la enfermedad es inherente como en otras enfermedades infecciosas al tipo de cepa viral, condición ambiental, tiempo de infección, estado inmune y edad del hospedero (Schobesberger et al. 2005; Beineke et al. 2009). En condiciones óptimas de exposición, es principalmente transmitido a través de secreciones oro-nasales por aerosoles; infectan el tracto respiratorio superior y durante las primeras 24 horas post infección hay replicación viral en macrófagos y células B y T del epitelio respiratorio y tonsilas (Rikula 2008; Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012).

Hacia el día 4, las partículas virales se diseminan al sistema linfóide y tejidos hematopoyéticos medula ósea, timo, hígado, bazo, nodos linfoides mesentéricos, Tejido Linfóide asociado a Mucosas (MALT), células de Kupffer, macrófagos de la *lamina propia* del tracto gastrointestinal, células mononucleares, lo que conlleva a una severa inmunosupresión, asociada con hipertermia y leucopenia debido a la

replicación viral y depleción de células linfoides como las células T CD4+, CD8+ y células B CD21+ entre el día 4 y 6. Esta fase es conocida como viremia inicial o primer viremia (Weis et al.2009; Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Qeska 2013).

En ausencia de una respuesta inmune celular y humoral eficaz del animal, se presenta una segunda viremia entre el día 10 al 15, el virus se disemina de manera sistémica por vía hematógica a diversos tejidos epiteliales donde causan infección en células gastrointestinales, respiratorias, urinarias, fibroblastos y sistema endocrino; la manifestación dermatológica se relaciona con una infiltración en dermis de células T y células dendríticas (Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Rikula 2008: figura 3).

Las manifestaciones clínicas de enfermedad agrupan pirexia, anorexia, descarga serosa oculo-nasal, conjuntivitis, hiperqueratosis de almohadillas plantares y epitelio nasal, dermatitis pustular, signos gastrointestinales como vómito, diarrea, enteritis catarral, disminución de las placas de Peyer, signos respiratorios como la disnea, neumonía intersticial, rinitis mucopurulenta, bronconeumonía supurativa y bronquiolitis necrotizante; en este lapso el animal afectado es altamente susceptible a presentar infecciones bacterianas u oportunistas secundarias (Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012).

Después del día 16 post infección, la presentación de los signos clínicos dependen de la respuesta inmune humoral y celular del hospedero con la subsecuente producción de anticuerpos contra el virus, la cual depende de la especificidad de la inmunoglobulina contra las proteínas de la envoltura viral donde puede eliminarse el virus provocando la recuperación del animal, pero de no haber una adecuada respuesta humoral, el VDC puede permanecer en tejidos, manifestándose en el Sistema Nervioso Central (SNC) a las 2-3 semanas post infección el cual en la

mayoría de casos es fatal (Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Rikula 2008; Qeska 2013).

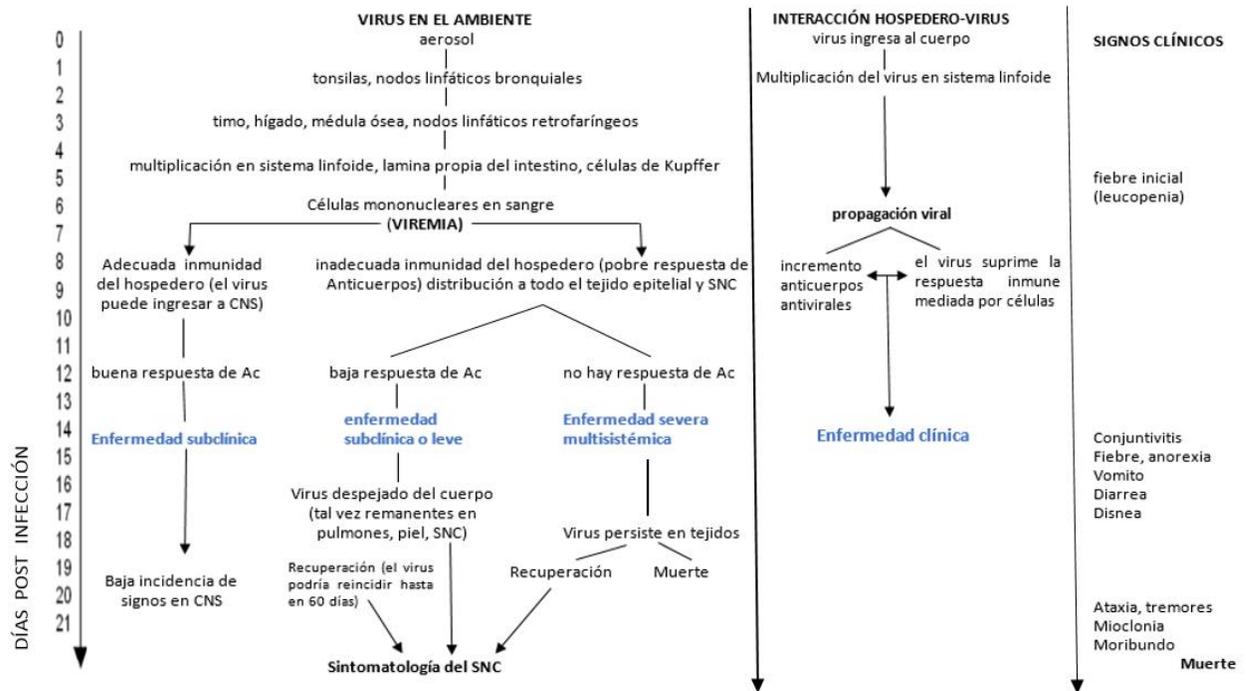


Figura 3. Patogénesis del VDC asociado a los signos clínicos. Modificado de Rikula (2008).

1.1.2.1. Neuropatogénesis

El grado de severidad y presentación de las lesiones en el SNC van sujetas al tipo de cepa viral, localización del virus en el SNC, estado inmune y edad del hospedero, en algunos animales los signos neurológicos pueden desarrollarse en la ausencia de signos sistémicos, o pueden no desarrollar las fases sistémica ni neurológica y se convierten en reservorios del virus (Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Schobesberger et al. 2005). Aproximadamente hacia el día 20-21 post infección, el virus después de replicarse en tejidos epiteliales ingresa al SNC, las rutas de neuro-invasión son la barrera hematoencefálica, el fluido cefalorraquídeo y epéndimos de

los ventrículos que tapizan el cerebro a través de las células mononucleares. Las células blanco del VDC son las células gliales, debido a la replicación en la sustancia blanca se genera una encefalitis y desmielinización (Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Greene & Vandeveld 2012; Lempp et al. 2014). Otras rutas como los linfocitos asociados al fluido cerebroespinal, plexo coroideo, el nervio y bulbo olfatorio han sido descritos en estudios realizados en hurones como modelo experimental en ciclo de infección del Distemper Canino (Beineke et al. 2009; Rudd et al. 2006), se conoce un proceso bifásico de la encefalitis:

La *fase aguda de la encefalitis* se presenta en animales jóvenes o inmunosuprimidos, caracterizada por una replicación viral directa en astrocitos y células de microglia, donde el ARNm y antígenos de VDC son detectados en lesiones multifocales que son causadas por el virus en la materia gris y blanca al generar una vacuolización que produce cambios espongiiformes, se presenta daño y necrosis en neuronas lo que puede conducir a una subsecuente polioencefalomalacia (Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Greene & Vandeveld 2012; Lempp et al. 2014). Esta fase va acompañada de depleción linfocitaria y apoptosis inducida por viremia principalmente las células CD4+, sin embargo, se presenta un aumento de células CD8+, moléculas del complejo mayor de Histocompatibilidad tipo II (CMH) y actividad de IL-8, de tal forma que se presenta una desmielinización no inflamatoria (Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Greene & Vandeveld 2012; Lempp et al. 2014). Los signos neurológicos asociados a esta fase pueden ser hipersalivación, mioclonías, temores, incoordinación, disminución de los reflejos pupilares, en las crías se ha descrito la presencia de manchas color marrón alrededor del esmalte dental conocida como hiperplasia del esmalte (Weis et al. 2007; Lempp et al. 2014).

En la fase *crónica* disminuye la expresión de antígenos de VDC y ARNm, con la presencia de una fuerte respuesta inflamatoria debido a una infiltración de células mononucleares perivasculares y un proceso inmunopatológico independiente del

virus; hay un aumento significativo de células B y T, predominan los linfocitos CD8+, citoquinas pro inflamatorias, metaloproteinasas, factor de necrosis tumoral TNF- α y anticuerpos antimielina, para inducir una fuerte respuesta humoral con un proceso inflamatorio que no implica un cuadro de enfermedad (Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Greene & Vandeveldel 2012; Lempp et al. 2014).

Los anticuerpos neutralizantes contra VDC interactúan con la actividad fagocítica de macrófagos/microglia activados en las lesiones que generó el virus causan la liberación de radicales libres de oxígeno, estos procesos pueden inducir astrogliosis e hiperplasia de las células de microglia inherente a una mayor expresión de CMH II, produciéndose una destrucción potencial de células gliales y mielina, proceso llamado espectadores inocentes “innocent bystander”. (Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Greene & Vandeveldel 2012). Este efecto se describe como una lesión directa sobre la mielina por las enzimas proteolíticas liberadas por los macrófagos/microglia y por una fuerte reacción inmune humoral sin una acción directa del virus el cual infecta y causa degeneración en los oligodendrocitos (Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Lempp et al. 2014).

Los signos neurológicos asociados a esta fase pueden variar pero son progresivos como hipersalivación, mioclonías, temores, incoordinación, disminución de los reflejos pupilares, nistagmo, deambulación compulsiva, marcha circular, paraparesis o tetraparesis y en ocasiones status epilépticos con vocalizaciones, estupor y coma; generalmente el animal muere, empero hay algunos casos, donde el animal sobrevive con secuelas persistentes como mioclonías locales o generalizadas (Weis et al. 2007; Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Lempp et al. 2014).

1.1.3. Epidemiología

El Virus del Distemper canino es un agente etiológico causante de alta morbilidad y mortalidad de distribución mundial, infecta a mamíferos silvestres entre los cuales destaca el orden carnívora y sus familias: Phocidae, Felidae, Mustelidae, Procyonidae, Ursidae, Viverridae, Odobenidae y mamíferos domésticos principalmente en el perro (*Canis familiaris*) y el gato (*Felis catus*) (Beineke et al. 2015; Viana et al. 2015; Martínez & Ruiz 2016). Además, se ha reportado en especies considerados hospederos no convencionales como el pecarí (Artiodactyla, Tayassuidae: *Tayassu tajacu*) (Noon et al. 2003); marmota (Rodentia, Sciuridae: *Marmota caudata*) (Origgi et al. 2013); macacos (Primates, Cercopithecidae: *Macaca fascicularis*, *Macaca mulatta*) (Sakai et al. 2013; Qiu et al. 2011; Martínez & Ruiz 2016). Asimismo, en especies como el elefante asiático (*Elephas maximus*) y el cerdo doméstico (*Sus domestica*) se ha encontrado la infección con el virus de forma subclínica (Oni et al. 2006; Greene & Vandeveld 2012; Martínez & Ruiz 2016).

La epizootia de Distemper Canino mejor conocida y documentada que se ha registrado, ha sido en la región del Serengeti -Tanzania en África. Durante 1978 el VDC circuló en un principio entre las poblaciones de canidos silvestres como el chacal de lomo negro (*Canis mesomelas*) y el zorro orejudo (*Otocyon megalotis*) (Roelke et al. 1996), años después para 1994 el virus afectó a la población de leones (*Panthera leo*) provocando que más del 30% de la población muriera (Roelke et al. 1996; Viana et al. 2015). En el ambiente marino y semiacuático, los pinnípedos son un grupo susceptible de contagio y se han visto afectados por el VDC en las últimas décadas (Kuiken et al. 2006; Butina et al. 2010; Greig et al. 2014).

1.1.5.1. Antecedentes en México

Se han documentado prevalencias de VDC en el lobo marino *Zalophus californianus* y el coyote *Canis latrans* en el Golfo de California por medio de pruebas de RT-PCR y seroneutralización (Rivera 2010; Suárez 2014); en el mapache endémico *Procyon pygmaeus* y la martucha *Potos flavus* en la Isla Cozumel por medio de seroneutralización e inmunofluorescencia (McFadden et al. 2005; Mena 2007) y en el coyote *C. latrans*, zorro norteño *Vulpes macrotis*, mapache *Procyon lotor*, gato montés *Lynx rufus*, mofeta rayada *Mephitis mephitis*, mofeta encapuchada *Mephitis macroura* en la Reserva de la Biosfera de Janos en Chihuahua a través de RT-PCR (Moreno 2016).

1.2. Problemática de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) como reserva urbana

La Ciudad de México es una de las metrópolis más importantes del mundo (Castillo *et al.* 2007) y capital de los Estados Unidos Mexicanos, tiene una población estimada de 8 millones de habitantes y se ubica en el Valle de México (INEGI 2016). En la Ciudad de México se encuentran diversos parques nacionales y reservas naturales, entre ellas destaca la Reserva del Pedregal de San Ángel (REPSA) por mantener uno de los ecosistemas característicos, el matorral xerófilo *Senecio praecox* (Castillo *et al.* 2007; Lot & Camarena 2009).

Esta reserva se considera como una de las zonas de mayor riqueza de fauna y flora de toda la cuenca de México. Se han registrado 337 especies de plantas vasculares, 148 de aves, 34 de mamíferos, 23 de reptiles y 7 de anfibios y se catalogado como la zona con mayor riqueza florística además de ofrecer numerosos servicios ecosistémicos en la cuenca de México.

Debido a su característica como reserva urbana, REPSA es altamente susceptible en algunas de sus áreas a presentar un mayor contacto con actividades antropogénicas, urbanización, pérdida de hábitat y presencia de animales domésticos y ferales, lo cual genera la presentación de escenarios como

introducción de especies exóticas, fragmentación, asentamientos humanos, adaptación de las especies silvestres a zonas perturbadas donde actúan como oportunistas; estos factores ponen en riesgo su biodiversidad y disminución de la variabilidad genética y el riesgo de aparición de enfermedades infecciosas que van a alterar la estructura, tamaño y composición de las poblaciones de las especies animales silvestres que allí habitan (Suzán y Ceballos 2005; Granados 2008; Cruz 2009; Lot & Cano 2009; Arenas 2016). Entre los mayores riesgos que enfrenta la salud de los mamíferos silvestres en la REPSA es la presencia de fauna nociva en la cual se catalogan la ardilla gris, perros y gatos domésticos y ferales (Granados 2008; Cruz 2009; Lot et al. 2009; Lot et al. 2012) ya que estos transmiten o sirven de reservorios de enfermedades infecciosas, porque pueden favorecer los saltos taxonómicos entre especies silvestres y porque están en contacto tanto con humanos como con la fauna silvestre, donde actúan como un propagador de enfermedades zoonóticas (Suzán & Ceballos 2005; Castellanos 2006; Granados 2008; Cruz 2009; Lot et al. 2009; Lot et al. 2012). Por ejemplo, el Virus de la Rabia, Parvovirus y Distemper Canino son altamente contagiosos entre los mamíferos silvestres, domésticos y ferales.

Los animales ferales y/o exóticos matan o persiguen animales nativos, lo que provoca un aumento en sus niveles de estrés y un alto gasto de energía innecesario de la fauna además de impedir el uso del hábitat natural ya que se alojan en sus áreas de actividad; compiten por alimento con la fauna sinantrópica y nativa (Cruz 2009; Vanak et al. 2009; Young et al. 2011). Esta interacción causa un impacto negativo en los mamíferos silvestres y endémicos, lo que causa la disminución de su tamaño poblacional.

1.3. Historia natural y Ecología de los mamíferos silvestres de la REPSA

1.3.1. *Bassariscus astutus*

El cacomixtle se distribuye desde el Sur de Estados Unidos, parte del Golfo de California, Península de Baja California hasta Oaxaca. Vive en zonas montañosas, arbustivas y laderas, matorral xerófilo, bosque de coníferas, áreas desérticas y semiáridas. Su densidad se estima entre 7 y 20.5 individuos/Km² (Poglayen & Toweill 1988). Su aspecto físico se observa en la figura 4 y su clasificación taxonómica se describe en el cuadro 2.



Figura 4. Aspecto físico de *Bassariscus astutus*. Tomado de CONABIO (2016).

Esta especie tiene hábitos nocturnos y solitarios, forma sus madrigueras en árboles, rocas y raíces o en cavidades de estos, son animales muy ágiles y buenos trepadores. Su dieta es omnívora, se alimenta de roedores, lagartos, anfibios, aves, frutas, plantas e incluso de carroña. Su rango de peso se estima entre 825 a 1500 gramos. Su fórmula dentaria es I 3/3, C1/1, PM 4/4, M2/2 (Goldberg 2003). Alcanza su edad reproductiva alrededor de los 10 meses de edad, la época de reproducción se presenta de febrero a mayo; la gestación dura aproximadamente 51-55 días, con una camada de 1 a 5 crías altriciales, se destetan cerca de las 10 semanas. Tienen una longevidad de 7 años en vida libre y 16 en cautiverio (Goldberg 2003). No se encuentra en algún grado de peligro de extinción (Timm et al. 2008). Su clasificación taxonómica se describe en el cuadro 2.

1.3.2. *Didelphis virginiana*

El tlacuache se distribuye desde el sur de Canadá hasta Costa Rica (Gardner 1973). Posee una amplia plasticidad ecológica, debido a ello es posible encontrarla desde los ambientes semidesérticos hasta los ambientes tropicales húmedos. Es un animal que se ha adaptado con facilidad a las zonas suburbanas (Krause & Krause 2006). Su aspecto físico se observa en la figura 5 y su clasificación taxonómica se describe en el cuadro 2.



Figura 5. Aspecto físico de *Didelphis virginiana*. Tomado de (Aranda 2012).

Esta especie tiene hábitos nocturnos, acuáticos, terrestres y arborícolas, con un ámbito hogareño promedio de 20-28 ha. Con una densidad aproximada de 1 a 23 ind/ha (Ceballos & Galindo 1984). No son animales territoriales y tienden a ser nómadas y solitarios sin permanecer durante mucho tiempo en el mismo lugar. Su longevidad máxima es de 4 años (Garner & Sunskuit 2003).

La madurez sexual fluctúa los entre 6 y 7 meses, la época de reproducción va de diciembre-enero y junio-julio. El periodo de gestación es de 12-14 días, con un número de crías promedio de 9-17, las cuales al nacer miden entre 10-14 mm y pesan entre 0.3-0.16 gramos; recién nacidas las crías migran hacia el marsupio donde cada una se fija en un pezón y su desarrollo termina hacia los 60-77 días *a posteriori*, destetándose a los 4 meses (Garner & Sunskuit 2003; Krause & Krause 2006).

Son animales omnívoros y altamente oportunistas alimentándose incluso de carroña y basura. Forman sus madrigueras en troncos caídos, madrigueras abandonadas, entre rocas o huecos de árboles. Su fórmula dentaria es I 5/4, C 1/1, PM 3/3, M 4/4. Su rango de peso se encuentra entre 800 y 3000 gramos (Garner & Sunquist 2003). En algunas ocasiones como medida de defensa simulan estar muertos, lo cual se conoce como tanatosis, proceso por el cual liberan un almizcle de olor fuerte de color verdoso de las glándulas anales (Garner & Sunquist 2003). No se encuentra en algún grado de peligro de extinción (Cuarón et al. 2008).

1.3.3. *Sciurus aureogaster*

La ardilla gris se distribuye en México desde Nuevo León hasta Chiapas y Guatemala. Se encuentra en bosques de oyamel, matorrales espinosos, bosques tropicales, bosques caducifolios, áreas perturbadas como cultivos, vialidades, edificios y parques de ciudades (Edwards et al. 2003). Su aspecto físico se observa en la figura 6 y su clasificación taxonómica se describe en el cuadro 2. En la REPSA ésta especie se encuentra catalogada como parte de la fauna nociva (Lot et al. 2009).



Figura 6. Aspecto físico de *Sciurus aureogaster*. Tomado de (Aranda 2012).

Son arborícolas, construyen sus nidos en cavidades de árboles, son de hábitos diurnos, es característico una actividad bimodal crepuscular, matutina desde las 7 a 10 horas y vespertina de 15 a 17 horas. Son animales solitarios (Edwards et al.

2003). Su densidad poblacional promedio se calcula en 0.7 ind/ha (Cabrera 2013). Alcanzan la madurez sexual entre los 6 y 8 meses. Son especies diestricas anuales, predominantemente en primavera y verano esta actividad es influenciada por condiciones ambientales, edad, nutrición y densidad poblacional. Su periodo de gestación es aproximadamente de 44-45 días, tienen entre 2 y 4 crías, las cuales de destetan a los 8-10 semanas (Edwards et al. 2003). Su alimentación incluye brotes, semillas, frutas, huevos, polluelos de aves; es una especie que se ha adaptado muy bien en áreas suburbanas y tolera la presencia del ser humano, recibe alimento e incluso en ocasiones lo hurta (Edwards et al. 2003). Tienen un peso que oscila entre 400 hasta 700 gramos, formula dentaria es I 1/1, C 0/0, PM 2/2, M 3/3 (Edwards et al. 2003). Es una especie abundante, en algunas zonas es considerada como plaga, ya que fue introducida en la Ciudad de México hacia el siglo XX (Cabrera 2013).

1.3.4. *Spilogale angustifrons*

El zorrillo moteado se distribuye desde el Sur de Canadá hasta Costa Rica. Habita bosques caducifolios, matorral xerófilo, bosque de oyamel, bosque de pino, pradera de pastos altos, matorral espinoso y zonas periurbanas como cultivos (Rosatte & Larivière 2003). Su aspecto físico se observa en la figura 7 y su clasificación taxonómica se describe en el cuadro 2. Tiene hábitos completamente nocturnos, hacen sus madrigueras en cavidades de árboles, o bajo troncos, piedras, raíces de árboles o utilizan madrigueras abandonadas por otros animales, es un excelente trepador. Su densidad se ha estimado en 5 ind/ Km² (Rosatte & Larivière 2003). Se alimenta de invertebrados e insectos, pequeños vertebrados como anfibios y



Figura 7. Aspecto físico de *Spilogale angustifrons*. Tomado de (Aranda 2012).

ratones, además de frutas y plantas. También suele meterse a basureros para buscar alimento en áreas perturbadas. Como forma de defensa en forma de aerosol componentes volátiles con un fuerte olor a almizcle de la región anal (Rosatte & Larivière 2003). La época de reproducción ocurre en septiembre hasta el inicio de la primavera, su periodo de gestación de 210 días, con nacimientos en mayo cuyas camadas tienen entre 3 y 9 crías. Tienen una longevidad no mayor a cinco años (Rosatte & Larivière 2003). Tiene un peso entre 200- 750 gramos, su fórmula dentaria es I 3/3, C 1/1, PM 3/3, M 1/2. No se encuentra en algún grado de peligro de extinción (Reid et al. 2008).

1.3.5. *Otospermophilus variegatus*

El ardillón se distribuye desde el Suroeste de Estados Unidos hasta el Centro oriente de México. Habita bosques de encino, pino y deciduos, matorral xerófilo, selva baja, zonas ripariás, áreas perturbadas y cultivos. En general se puede adaptar en áreas naturales y perturbadas, considerándose en ocasiones como una plaga, su densidad se promedia en <20 animales/ha (Valdéz & Ceballos 2005; Yensen & Sherman 2003). Su aspecto físico se observa en la figura 8 y su clasificación taxonómica se describe en el cuadro 2. Este género se considera entre el grupo de ardillas de suelo o "ground squirrels", ya que no son buenas trepadoras y usualmente viven en áreas rocosas, tiene hábitos diurnos y crepusculares, construye sus madrigueras entre rocas y suelos blandos, alimentándose de insectos, plantas, pequeños vertebrados, semillas, frutos y ya que es una especie oportunista, puede alimentarse de desperdicios en basureros (Yensen & Sherman 2003).



Figura 8. Aspecto físico de *Otospermophilus variegatus*. Tomado de (Aranda 2012).

Pueden llegar a ser hibernadores facultativos en periodos largos de invierno o en altas temperaturas llegan a estivar, para sobrevivir a largas épocas de escasez de agua; su longevidad puede ser hasta <12 años. Su peso varía entre 600 y 850 gramos. Su fórmula dentaria es I 1/1, C 0/0, PM 2/1, M 3/3 (Yensen & Sherman 2003). La época de reproducción se presenta entre abril y agosto. Los machos y hembras alcanzan la madurez sexual a los 1 o 2 años de edad, el periodo de gestación es alrededor de 30 días, el número de crías varía entre 3 y 9, destetándose después de dos meses (Yensen & Sherman 2003). No se encuentra el algún grado de peligro de extinción (Linzey et al. 2008).

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de los mamíferos silvestres de la REPSA

Infraclase	Orden	Familia	Especie	Nombre común
Marsupialia	Didelphimorphia	Didelphidae	<i>Didelphis virginiana</i>	Tlacuache
Placentalia	Rodentia	Sciuridae	<i>Otospermophilus variegatus</i>	Ardillón
			<i>Sciurus aureogaster</i>	Ardilla gris, ardilla de las rocas
	Carnivora	Mephitidae	<i>Spilogale angustifrons</i>	Zorrillo moteado, mofeta rayada del Sur
		Procyonidae	<i>Bassariscus astutus</i>	Cacomixtle, mico rayado

Tomado de Koprowski et al. (2008); Linzey et al. (2008); Reid et al. (2008); Helgen et al. (2016); Pérez et al. (2016).

1.4. Justificación

El Virus del Distemper Canino es una enfermedad viral altamente contagiosa de distribución mundial que ha causado epizootias con altas tasas de mortalidad entre diferentes especies del orden carnívora (Beineke et al. 2009; Carvalho et al. 2012; Beineke 2015). Además de ser reportado en nuevas especies hospederas no convencionales, donde puede cursar de forma clínica y subclínica, de esta manera las poblaciones de mamíferos podrían también verse afectadas en su tamaño y dinámica poblacional además de jugar un papel crucial como reservorio de la enfermedad (Oni et al. 2006; Zachary & McGavin 2011; Greene & Vandeveld 2012; Ludlow et al. 2014; Origgi et al. 2013; Sakai et al. 2013).

La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) es un ecosistema con una gran riqueza de fauna y flora en toda la cuenca de México. Esta reserva urbana está formada por áreas fragmentadas y rodeada de ambientes urbanizados. Son estas condiciones las que facilitan que se presenten problemas a nivel de poblaciones entre las especies silvestres en la región, por ejemplo, la fragmentación impide el movimiento de los individuos lo que causa una baja variabilidad genética en la población, introducción de especies exóticas, incremento en la tasa de contacto de la fauna silvestre con animales domésticos y/o ferales y el humano. Los anteriores factores de manera individual o sinérgica tienen un impacto sobre el ecosistema y sobre las poblaciones de mamíferos silvestres de la REPSA a nivel de transmisión de enfermedades (SEREPSA 2008; Lot & Camarena 2009; Cabrera 2013). Debido a su ubicación, la REPSA es un lugar ideal para desarrollar estudios científicos con el fin de promover la conservación de fauna y flora y preservación como paisaje cultural (SEREPSA 2008; Lot & Camarena 2009; Nava et al. 2009).

El VDC no ha sido reportado en especies de mamíferos silvestres en la Ciudad de México, debido a ello, identificar la presencia del virus del Distemper Canino en la REPSA contribuye a conocer el estado de salud de las poblaciones de mamíferos silvestres, lo cual sirve para establecer una línea base para futuros estudios de monitoreo y vigilancia epidemiológica de EIE en esta zona.

1.5. Hipótesis

Los ambientes naturales fragmentados y urbanizados son más susceptibles a la pérdida de especies debido a la reducción del hábitat y al incremento de su borde facilitando el contacto entre la fauna doméstica y/o feral, especialmente la presencia de perros, con la fauna silvestre. Debido a ello, se podría esperar que dentro de la reserva se detecte la presencia del virus del Distemper Canino entre los mamíferos silvestres en las zonas más expuestas y con un potencial mayor contacto con perros, en comparación con las zonas altamente conservadas y alejadas del borde.

1.6. Objetivos

1.6.1. Objetivo general

Detectar la presencia del Virus del Distemper Canino en mamíferos silvestres de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel.

1.6.2. Objetivos específicos

- Determinar la presencia del virus en los mamíferos silvestres y mamíferos de fauna nociva de la REPSA mediante la técnica RT- PCR.
- Analizar la frecuencia del virus en función de variables ambientales y poblacionales.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio

La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) de Ciudad Universitaria, es una reserva de carácter urbano, ubicada al sur de Ciudad de México, en la delegación Coyoacán, dentro del campus principal de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). La REPSA posee una extensión de 237 hectáreas, la cual está conformada por 26 fragmentos agrupados en tres Zonas Núcleo y 13 Zonas de amortiguamiento. La REPSA comprende la tercera parte del campus universitario. Las coordenadas del polígono que comprende al área fragmentada de la Reserva son: 19°19'46.73" - 19°18'28.91" latitud Norte y 99°11'59.86" - 99°10'18.91" longitud Oeste. Presenta una elevación de 2311 msnm (SEREPSA 2008). El clima es templado subhúmedo, con una temperatura media anual de 16° C, la precipitación promedio anual es de 833 mm y se presentan dos temporadas bien definidas: lluvias (de junio a noviembre) y secas (de diciembre a mayo) (Castillo *et al.* 2007).

El tipo de vegetación dominante es el matorral xerófilo predominando el crecimiento de herbáceas, arbustos y cactáceas y cuenta con una reducida presencia de especies arbóreas (Castillo *et al.* 2007; SEREPSA 2008).

Las **tres zonas Núcleo** son áreas con un alto grado de conservación ya que no se permite el paso de transeúntes, se realizan jornadas de limpieza y control de especies invasoras de fauna y flora, están alejadas de las fuentes de perturbación para preservar su biodiversidad en la mayor medida posible, se distribuyen en: zona núcleo Poniente, zona núcleo Oriente, zona núcleo Sur Oriente, en total comprenden una superficie de 171 hectáreas (SEREPSA 2008: Figura 11).

Las **zonas de amortiguamiento**, clasificadas de A1 – A13, separan las zonas núcleo de las zonas exteriores a la reserva, lo que permite mitigar el impacto

antropogénico sobre las zonas núcleo, en estas zonas se permite el paso a transeúntes. Aquí están incluidos el jardín botánico, el espacio escultórico, Vivero alto, senda ecológica, cantera oriente, estadio de prácticas, circuito exterior y las áreas de restauración adyacentes; constituyen 66 hectáreas. (SEREPSA 2008: Figura 9).

Además de la zona de la Reserva Ecológica, dentro de CU se encuentran los **pedregales remanentes**, los cuales son pequeñas zonas del Pedregal sin protección (SEREPSA 2008: Figura 9). De esta zona se tomaron muestras del Geopedregal y Programas Universitarios.

En este estudio se clasificaron los resultados en dos áreas, las zonas conservadas que hacen referencia a las zonas núcleo y las zonas perturbadas que hacen referencia a las zonas de amortiguamiento y los pedregales remanentes.

2.2. Capturas y toma de muestras

Se realizaron cuatro muestreos, entre los cuales se tomaron muestras de los mamíferos en todas las zonas núcleo, dos zonas de amortiguamiento y dos zonas de pedregal remanente (Cuadro 3).

Cuadro 3. Zona y fecha programadas para los muestreos

# Muestreo	Zona	Fecha
1	Cantera, Geopedregal y Programas Universitarios	Octubre 22- noviembre 12/2015
2	Núcleo Poniente	Noviembre 17-20 /2015
3	Núcleo Oriente	Enero 26-29 /2016
4	Núcleo Sur Oriente y área de amortiguamiento A4	Marzo 29 - abril 6/2016

2.2.1. Obtención de las muestras

Las muestras para este estudio fueron donadas (convenio N° 360) por la Secretaría Ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (SEREPSA) la cual cuenta con el permiso para colecta científica de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). A continuación, se describe la técnica de obtención de muestras realizada por los médicos veterinarios autorizados en la REPSA para tal procedimiento; en cada muestreo el personal manipulaba los especímenes con guantes de carnaza, mantas para cubrir y una transportadora de plástico.

Los animales se capturaron vivos con trampas tipo Tomahawk®, de una sola puerta (largo 80 cms, ancho 30 cms y alto 25 cms), las cuales fueron colocadas en senderos y en lugares donde se habían reportado capturas previas y/o se observaban rastros como letrinas de los animales.

Se colocaron 9 trampas por noche, con un esfuerzo de captura total de 144 trampas/noche. Para los animales de hábitos nocturnos tlacuaches, cacomixtles y zorrillos, las trampas se activaban a las 17:00 horas, cebándolas con latas Whiskas® combinadas con sardinas, retazo de pollo fresco, fruta, avena y esencia de vainilla. Las trampas se revisaban al amanecer; durante una semana. Los animales de hábitos diurnos ardillas y ardillones; se cebaron con tortillas, cacahuete, esencia de vainilla y cajeta, las trampas fueron activadas desde las 10:00 horas para revisarse entre las 13:00 y 14:00 horas, durante una semana.

Para el manejo de los animales capturados se realizó contención química por inyección intramuscular con Ketamina-Xilacina para el caso de *B. astutus* (10-30mg/Kg – 1 mg/Kg), *S. angustifrons* (10-30mg/Kg – 1 mg/Kg); *O. variegatus* (25 mg/Kg – 2 mg/Kg); *S. aureogaster* (35 mg/Kg – 2 mg/Kg) y contención física en el caso de *D. virginiana* (Plumb 2010; Carpenter & Marion 2013). Posteriormente a la

contención química o física, se procedió a tomar una muestra sanguínea de 1 ml en ardillones y ardillas y 4 ml en los demás animales. La muestra se colectó en tubos activadores de la coagulación y tubos con anticoagulante EDTA. Las muestras se mantuvieron refrigeradas hasta poder separar el suero y posteriormente suero y sangre entera se mantenían en congelación a -20°C hasta su análisis en el Laboratorio de Virología de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Una vez tomada la muestra sanguínea, se realizó un examen clínico general de cada individuo, para registrar temperatura corporal, peso, sexo, edad, condición corporal, mucosas, tiempo de llenado capilar, cavidad oral, abdomen, miembros posteriores y anteriores, estado de piel y faneras; esto con el fin de proporcionar información a la base de datos de la REPSA y observar si algún animal presentaba alteraciones o signología de enfermedad. La condición corporal se determinó por apreciación visual y/o palpación del cuerpo de los mamíferos, basándose en las características descritas según Audigé et al. (1998) y catalogadas de 1 a 5 (Anexo 1).

La categoría de edad se determinó a través de observación de la coloración, desgaste natural de los dientes (cría: dientes pequeños y coloración blanca; juvenil; coloración blanca; adulto: Dentición completa, coloración amarilla y senil: pérdida de piezas dentales, coloración amarilla, desgaste de los dientes) y el desarrollo y tamaño de testículos y pezones (testículos desarrollados: macho adulto; pezones desarrollados: hembra adulta) (Schweigmann et al 1999; Rosatte & Larivière 2003; Yensen & Sherman 2003; Krause & Krause 2006).

Según la especie capturada de mamífero, se usaron diversas técnicas de marcaje, a los cacomixtles, ardillones y zorrillos se les insertó chip subescapular, en los tlacuaches se formaron muescas en las orejas. Los animales anestesiados se monitorearon desde el momento de la contención hasta su completa recuperación; cada ejemplar capturado se liberó cerca de la zona de captura.

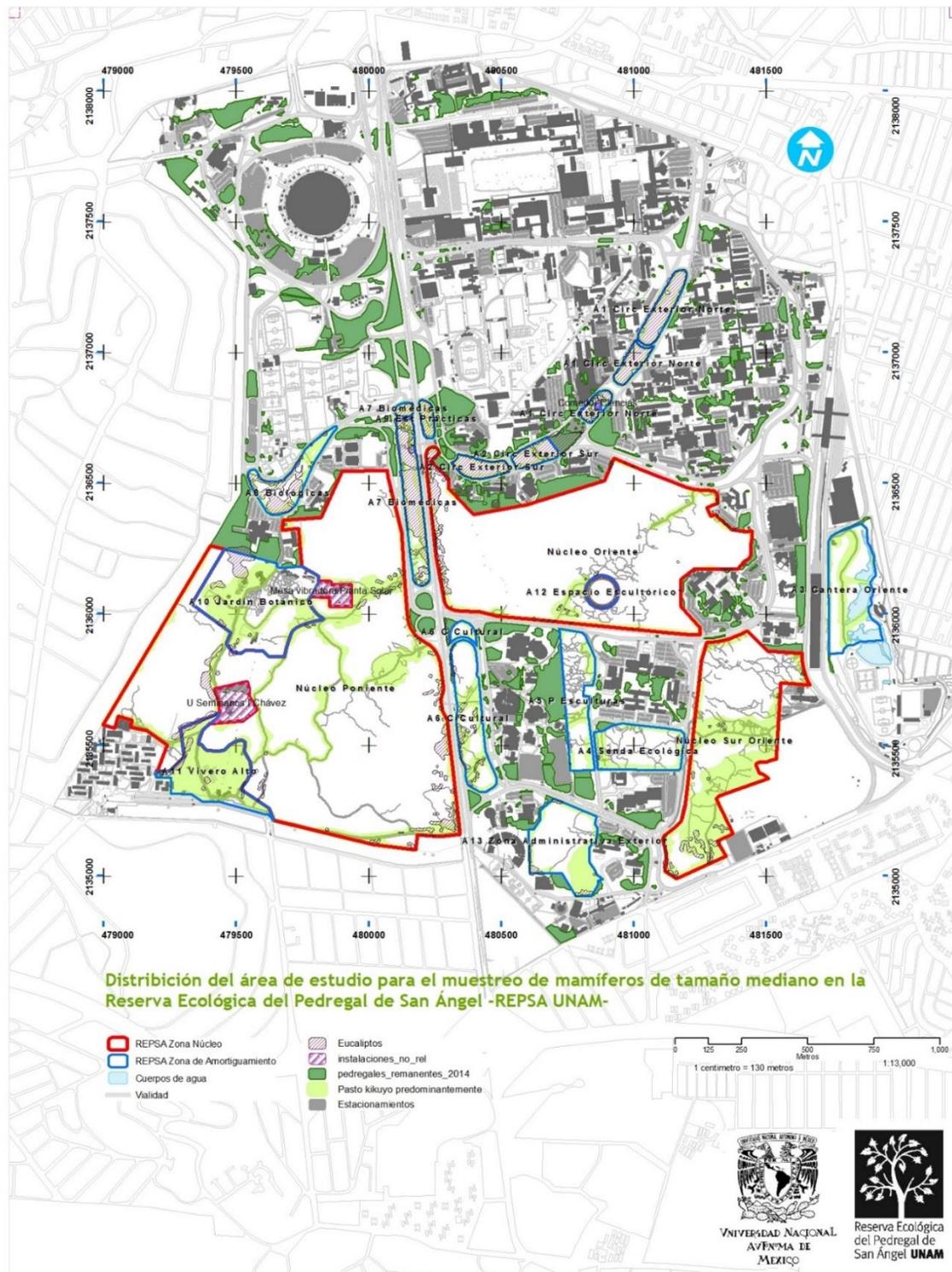


Figura 9. Mapa del área de estudio y distribución de la Reserva Ecológica el Pedregal de San Ángel. El área delimitada por color rojo corresponde a las zonas núcleo Poniente, Oriente y Sur Oriente; el color azul delimita los pedregales de amortiguamiento; y el área color verde corresponde a los pedregales remanentes. Las leyendas también describen áreas de estacionamientos y vialidades y algunos tipos de vegetación en toda la zona de Ciudad Universitaria (Rodríguez 2016).

En algunos casos en las trampas se encontraron gatos o se capturaron perros ferales que viven en la zona de muestreo, estos también fueron anestesiados con Ketamina-xilacina (perro 6-22 mg/Kg – 2 mg/Kg y gato 5-20 mg/ Kg – 0.5 -1 mg/Kg) (Plumb 2010; Carpenter & Marion. 2013) y se tomaron muestras de sangre. Según el protocolo de Remediación de problemas asociados a ejemplares o poblaciones que se tornen perjudiciales de la REPSA (autorización SEMARNAT-08-041), los animales ferales se entregaban al personal del programa de Control de la Fauna Feral en Ciudad Universitaria y la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel en Apoyo a la Conservación de Fauna Silvestre de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

2.3. Análisis de laboratorio

2.3.1. Extracción del material genético

Las muestras de sangre completa con EDTA y suero se mantuvieron congeladas a -20°C hasta su el día de su análisis. Se descongelaron, en un tubo cónico de polipropileno de 2 ml, se mezclaron 400 μL de muestra con 600 μL de Trizol® Reagent (Invitrogen), se agitó hasta formar una mezcla homogénea. Se agregó a la mezcla 250 μL de cloroformo y se agitó de nuevo; se centrifugó durante 15 minutos a 12000 rpm, donde posteriormente se recuperó el sobrenadante o fase acuosa 450 μL , el cual se mezcló con 600 μL de isopropanol, esta mezcla se congeló a -20°C y se dejó precipitar durante dos noches. Después de este tiempo se centrifugó a 12000 rpm durante 15 minutos, el sobrenadante se descartó y el sedimento se cubrió con 1 ml de etanol al 75% en cada tubo eppendorf, se mezcló y se centrifugó de nuevo a 12000 rpm durante 15 minutos. Se eliminó el etanol y se dejó secar el sedimento formado a temperatura ambiente durante 15 minutos. Posteriormente se volvió a suspender este sedimento en 40 μL de agua DEPC (Rio et al. 2010a; Rio et al. 2010b).

2.3.2. Técnica RT-PCR

La retro transcripción se realiza para obtener ADNc a partir de ARN. En un microtubo cónico de polipropileno se mezclaron 3 µL de la extracción del RNA con 9.5 µL de la mezcla de reacción para PCR elaborada con el kit comercial OneStep RT-PCR Enzyme Mix QIAGEN®, según el protocolo de QIAGEN OneStep RT-PCR Handbook 2012 se ajustaron las cantidades utilizadas en cada mezcla por reactivo para obtener un volumen final de 12.5 µL (Cuadro 4).

Posteriormente se realiza una PCR para la amplificación donde la cantidad de ADN se duplica por cada ciclo, quiere decir que por n ciclos se obtiene 2^N copias del fragmento. Se amplificó un fragmento del gen N por ser uno de los genes mayor conservados en el genoma del VDC (Frisk et al. 1999; Muñoz 2013) con un peso molecular de 650 pb a partir de las secuencias de los oligonucleótidos pertenecientes al laboratorio de Virología de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UNAM y como control positivo se usó encéfalo de perro positivo a VDC por inmunofluorescencia (Martínez & Rincón 2004; QIAGEN OneStep RT-PCR Handbook 2012).

Posteriormente las muestras obtenidas de la extracción de ARN mezcladas con el kit comercial OneStep RT-PCR Enzyme Mix QIAGEN®, se acomodaron en el termociclador Mastercycler® gradient EPPENDORF, ajustándolo al protocolo usado por el laboratorio de virología para el Diagnóstico de Distemper Canino por RT-PCR, el número de ciclos y tiempo por cada fase se describen en la figura 10 (Martínez & Rincón 2004; QIAGEN OneStep RT-PCR Handbook 2012).

2.3.3. Electroforesis

Se preparó un gel de agarosa al 2% (1 gramo) con 50 mL de solución TAE y se separó por celdas antes de solidificarse, mientras que se mezclaron 3 µL del buffer

de carga con 5 µL de muestra, se cargó cada celda con el siguiente orden: marcador de peso molecular de 100 pb control negativo, muestras y control positivo. Se corrió

Cuadro 4. Mezcla de reacción para la RT-PCR. Descripción de las cantidades utilizadas en cada mezcla por reactivo para obtener un volumen final de 12.5 µL, estas cantidades se ajustaron según el protocolo QIAGEN OneStep RT-PCR Handbook 2012. (Primer Forward y Reverse hacen referencia a los oligonucleótidos utilizados.)

Reactivo	Volumen
5 X buffer	2.5
DNTPs	0.5
Primer <i>Forward</i>	0.5
Primer <i>Reverse</i>	0.5
Taq	0.5
Inhibidor de RNasa	0.2
H ₂ O	4.8
RNA	3 µL
TOTAL	12.5 ml

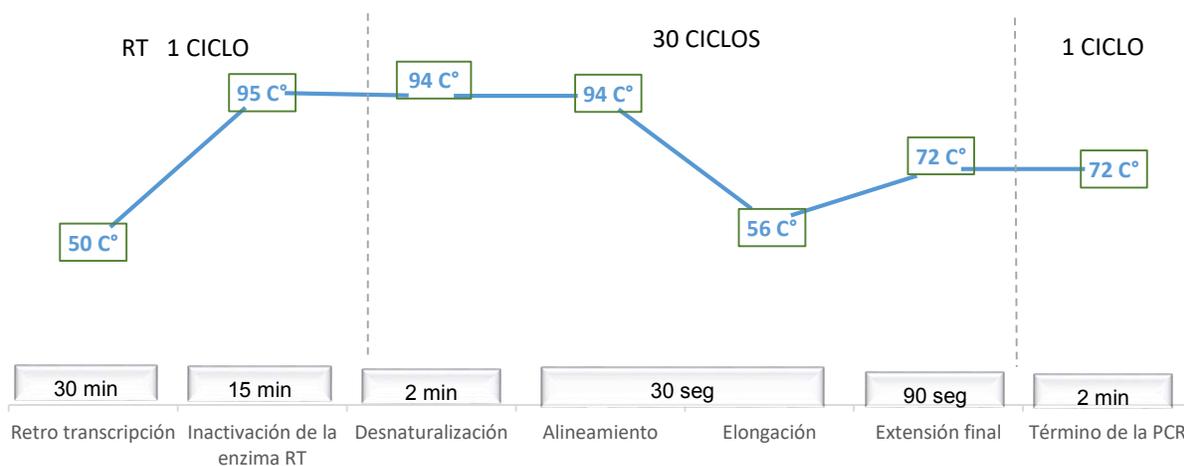


Figura 10. Protocolo utilizado para la técnica RT-PCR para amplificar un fragmento del gen N. El peso molecular de este fragmento fue de 650 pb a partir de los oligonucleótidos iniciadores del laboratorio de Virología. Las temperaturas, ciclos y tiempo se rigen al protocolo del laboratorio de Virología FMVZ –UNAM para el diagnóstico de Distemper Canino por RT-PCR.

el gel en una cámara de electroforesis horizontal a 90 voltios durante 60 minutos. Finalmente, se sacó el gel y se suspendió en Bromuro de etidio durante 15 minutos para observar posteriormente en una cámara ultravioleta los productos de la RT-PCR (Fierro 2014).

2.3. Análisis de resultados

2.4.1. Determinación de la frecuencia del virus en función de variables ambientales y poblacionales

Para hallar la frecuencia de VDC según las variables ambientales, en este caso el tipo de zona conservada y perturbada y las variables poblacionales órdenes, familias, especies, edad y sexo, se utilizó la fórmula:

$$f = \frac{\# \text{ de muestras positivas de animales}}{\# \text{ total de muestras obtenidas}} \times 100$$

2.4.2. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se basaron en una prueba no paramétrica del test exacto de Fisher para analizar si existe asociación entre las variables: presencia del virus con el tipo de zona, la edad y el sexo, ya que en más de dos celdas se registraron valores menores a 5, bajo la hipótesis nula de que las variables no son independientes siempre que el valor obtenido de $p < 0.05$ con un índice de confianza del 95%, la prueba estadística se corrió en el programa STATA 9 (Pértega & Pita 2004).

3. RESULTADOS

3.1. Número de muestras obtenidas y animales capturados

Se capturaron cuatro especies de mamíferos silvestres y tres especies de fauna nociva en la cual se catalogan los animales ferales domésticos y exóticos (Figura 11). En su totalidad se obtuvieron 74 muestras sanguíneas durante el período de octubre 2015 – abril 2016, de las cuales 49 pertenecen a las zonas conservadas (zonas núcleo) y 25 muestras a las zonas perturbadas (zonas de amortiguamiento y pedregales remanentes). Cada muestra se enumeró en orden desde el #1 hasta la # 74 una por cada animal capturado. En el cuadro 5 se describen el número total de machos, hembras y edad por cada especie. Se capturaron 39 hembras (4 crías, 3 juveniles, 31 adultos, 1 senil) y 35 machos (4 crías, 8 juveniles, 23 adultos).

Cuadro 5. Descripción del número total de animales, sexo y edad por cada especie de la cual se obtuvo muestra sanguínea.

Especie	Nombre común	Edad				Sexo		Total Ejemplares
		Cría	Juvenil	Adulto	Senil	Machos	Hembras	
<i>D. virginiana</i>	Tlacuache		10	32	1	19	24	43
<i>B. astutus</i>	Cacomixtle			3		1	2	3
<i>S. aureogaster</i>	Ardilla gris			3		2	1	3
<i>O. variegatus</i>	Ardillón	1		5		2	4	6
<i>S. angustifrons</i>	Zorrillo moteado			1		1		1
<i>F. silvestris catus</i>	Gato			5		3	2	5
<i>C. familiaris</i>	Perro	7		6		7	6	13
	Total	8	10	55	1	36	38	74

3.2. Número de animales positivos a VDC por medio de RT-PCR

De las 74 muestras obtenidas, el Virus del Distemper Canino se detectó en 5 muestras.

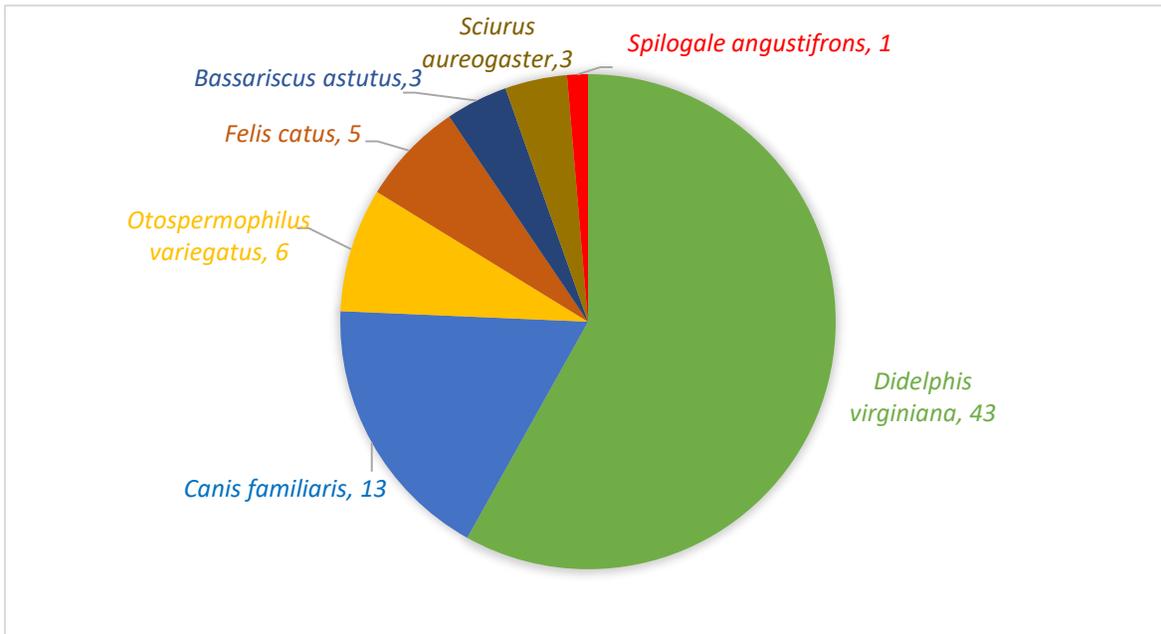


Figura 11. Número de muestras obtenidas por cada especie en la REPSA.

Las muestras positivas corresponden al primer muestreo en las zonas de cantera, Geopedregal y programas universitarios, de las 5 muestras positivas 3 corresponden a *D. virginiana* (2 de Cantera y 1 de programas universitarios) y dos de *O. variegatus* (1 en Cantera y 1 en el Geopedregal) (Figura 12).

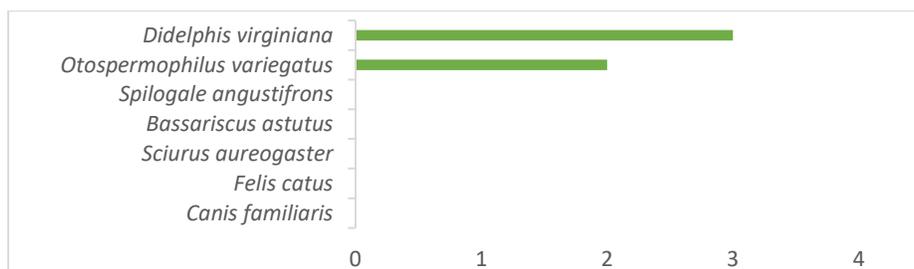


Figura 12. Número de muestras positivas a VDC por medio de RT-PCR en la REPSA según la especie.

3.3. Frecuencia de VDC en mamíferos de la REPSA

La frecuencia del virus detectada en mamíferos en la reserva fue del 7% (IC 95%: 1-12) (cuadro 6) entre ellos fueron 2 hembras y 1 macho de *D. virginiana* y dos machos de *O. variegatus*. En ninguna especie de fauna nociva se detectó el virus en algunas de las dos zonas comparadas.

Cuadro 6. Frecuencia total de VDC detectada en la REPSA

Presencia	N	Positivos	Frecuencia %	IC 95%	
				Menor	mayor
VDC	74	5	7	1	12

La inferencia estadística por medio del test de Fisher mostró que la presencia de VDC y el tipo de zona no son independientes, lo que señala una asociación significativa entre las zonas perturbadas y la presencia del virus ($p < 0.05$).

3.4. Frecuencia de VDC en mamíferos de zonas conservadas en la REPSA

En estas zonas correspondientes a las zonas núcleo, no hubo casos positivos a VDC, se obtuvieron 49 muestras, 24 hembras (4 crías, 2 juveniles, 17 adultos, 1 senil) y 25 machos (3 crías, 5 juveniles, 17 adultos) (Cuadro 7).

3.5. Frecuencia de VDC en mamíferos de zonas perturbadas en la REPSA

En estas zonas están consideradas programas universitarios, cantera, geopedregal y área de amortiguamiento A4. Se obtuvieron 25 muestras en total, 11 machos (1 cría, 3 juvenil, 7 adultos) y 14 hembras (14 adultos) (cuadro 8, 12 y 13). La frecuencia total detectada fue del 20% (IC 95%: 4 - 36) (Cuadro 9). La frecuencia

por órdenes fue para el orden Rodentia del 22.2% (IC 95%: 5–49), seguida del orden Didelphimorphia 7% (IC 95%: 1-15) (Cuadro 10). A nivel de especie, la mayor frecuencia se observó en *O. variegatus* 33.3% (IC 95%:4-71), seguida de *D. virginiana* 25% (IC 95%: 1-49), para las demás especies la frecuencia de VDC fue de 0% (Cuadro 11). De los 5 ejemplares positivos, dos ejemplares de *O. variegatus* mostraron signología nerviosa: ataxia, incoordinación y mioclonías de cabeza se encontraron divagando, capturándose a los mismos con bastante facilidad, ambos ejemplares murieron. Un ejemplar de *D. virginiana* presentaba síndrome vestibular, el otro ejemplar positivo de *D. virginiana* no mostró ninguna signología o alteración.

Cuadro 7. Descripción de la población de los mamíferos capturados en las zonas conservadas

Especie	N	Edad			
		Cría	Juvenil	Adulto	Senil
<i>D. virginiana</i>	31	0	7	23	1
<i>S. aureogaster</i>	1	0	0	1	0
<i>B. astutus</i>	2	0	0	2	0
<i>F. catus</i>	3	0	0	3	0
<i>C. familiaris</i>	12	7	0	5	0
<i>Total</i>	49	7	7	34	1
		Machos (25)		Hembras (24)	

La frecuencia detectada en las zonas perturbadas por sexo fue de 27% (IC 95%: 1-54) en machos y 14% (IC 95%: 4- 33) en hembras (Cuadro 12), no se observaron diferencias estadísticas entre la presencia de VDC en las zonas fragmentadas con el sexo de los animales ($p > 0.05$ con IC 95%); respecto a la edad, la frecuencia en los rangos de juvenil y senil fue 0%, mientras en la categoría de cría fue del 100% (IC 95%: 100-100) y en los adultos 19% (IC 95%: 2-36) (Cuadro 13). La inferencia estadística mostró que la presencia de VDC en zonas fragmentadas y la edad de

los animales ($p > 0.05$ con 95%) son independientes y por lo tanto no hay asociación entre ellas.

Cuadro 8. Descripción de la población de los mamíferos capturados en las zonas perturbadas

Especie	N	Categoría edad			
		Cría	juvenil	adulto	senil
<i>Otospermophilus variegatus</i>	6	1	0	5	0
<i>Didelphis virginiana</i>	12	0	3	9	0
<i>Sciurus aureogaster</i>	2	0	0	2	0
<i>Bassariscus astutus</i>	1	0	0	1	0
<i>Spilogale angustifrons</i>	1	0	0	1	0
<i>Felis catus</i>	2	0	0	2	0
<i>Canis familiaris</i>	1	0	0	1	0
Total	25	1	3	21	0

Machos (11), hembras (14)

Cuadro 9. Frecuencia de VDC detectada en las zonas conservadas y perturbadas de la REPSA

Tipo zona	n	Positivos	Frecuencia %	IC 95%	
				Menor	mayor
Conservada	49	0	0	0	0
Perturbada	25	5	20	4	36
Total	74				

Cuadro 10. Frecuencia total de VDC detectada en la REPSA por cada tipo de orden

Orden	n	Positivos	Frecuencia %	IC 95%	
				menor	mayor
Rodentia	9	2	22.2	5	49
Didelphimorphia	43	3	7	1	15
Total	52	5			

Cuadro 11. Frecuencia de VDC por cada especie de mamífero capturado en las zonas que se encuentran perturbadas en la reserva, diagnosticadas por medio de RT-PCR

Especie	N	Positivos	Frecuencia %	IC 95%	
				menor	mayor
<i>Otospermophilus variegatus</i>	6	2	33.3	4	71
<i>Didelphis virginiana</i>	12	3	25	1	49
<i>Sciurus aureogaster</i>	2	0	0	0	0
<i>Bassariscus astutus</i>	1	0	0	0	0
<i>Spilogale angustifrons</i>	1	0	0	0	0
<i>Felis catus</i>	2	0	0	0	0
<i>Canis familiaris</i>	1	0	0	0	0
Total	25	5			

Cuadro 12. Frecuencia de VDC en *Didelphis virginiana* y *Otospermophilus variegatus* según el sexo en las zonas perturbadas de la REPSA

Sexo	N	Positivos	Frecuencia %	IC 95%	
				menor	mayor
Machos	11	3	27	1	54
Hembras	14	2	14	4	33
Total	25	5			

Cuadro 13. Frecuencia de VDC en *Didelphis virginiana* y *Otospermophilus variegatus* según rango de edad en las zonas perturbadas de la REPSA

Edad	N	Positivos	Frecuencia %	IC 95%	
				menor	mayor
Cría	1	1	100	100	100
Adulto	21	4	19	2	36
Total	22	5			

4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este estudio se detecta la presencia del virus del Distemper Canino en los mamíferos silvestres en las zonas más expuestas y con potencial de mayor contacto con fauna feral y/o doméstica, en comparación con las zonas conservadas y alejadas del borde de la REPSA.

La frecuencia de VDC en la REPSA fue de 7% donde los casos positivos (5/74) corresponden a muestras obtenidas en las zonas perturbadas (frecuencia 20%, 5/25). Estos resultados de frecuencia oscilan entre los valores de frecuencia reportadas en México del 4% en mapaches pigmeos por McFadden (2005) en la Isla de Cozumel; por Suárez (2014) con una prevalencia del 2.12% en el lobo marino, 10% en perro doméstico y 100% en el coyote del Golfo de California; por Mena (2007) una prevalencia del 4% en martuchas, 12% en mapaches y 16% en perros callejeros en la Isla Cozumel, en estos dos estudios la presencia del virus del Distemper Canino se asoció con la influencia humana y presencia de perros callejeros a través de infecciones de tipo enzoótico y por Moreno (2016) quien reportó una prevalencia total de anticuerpos de 47.6% donde detectó el virus en seis muestras de carnívoros silvestres y domésticos en la Reserva de la Biosfera de Janos en Chihuahua y consideró que especies como el coyote y el perro doméstico son una fuente potencial de infección con Distemper canino para otras especies de carnívoros que se encuentran en algún grado de riesgo. La frecuencia de este estudio es baja comparada con estudios realizados en otros países, como en el Sur de Korea por Cha et al. (2012) en el perro mapache (*Nyctereutes procyonoides*) con una prevalencia del 44.1%, por Gese et al. (1991) y Gese et al. (1997) en el coyote (*Canis latrans*) 62% en Estados Unidos, por Roelke et al. (1996) en el Serengeti, Tanzania con una prevalencia de 85% en el león (*Panthera leo*) y por Gilbert et al. (2014) en el tigre siberiano (*Panthera tigris altaica*) del 6.8% al 55% en Rusia.

En comparación con la seroprevalencia de otras enfermedades infecciosas reportadas en reservas con presencia de animales invasores, la frecuencia total VDC en este estudio es baja, por ejemplo Suzán & Ceballos (2005) reportaron en el Desierto de los Leones (Toxoplasmosis 29.4%; parvovirus 94.1%; rabia 17.6%) y en la REPSA (Toxoplasmosis 22%; parvovirus 84%; rabia 18%) en pequeños mamíferos, donde sugieren que las altas prevalencias se asocian con una alta densidad de perros y gatos ferales; en otro estudio Arenas-Pérez (2016) reportó en perros de libre rango (Leptospirosis 25%; rabia 75%) y en *D. virginiana* (Leptospirosis 7%; rabia 33.3%) en la REPSA y en la Reserva de la Biosfera los Petenes, donde concluye que los perros mantienen un contacto directo con los mamíferos silvestres urbanos como el tlacuache lo que puede favorecer la transmisión de enfermedades zoonóticas y convertirse en un problema de salud pública. El resultado de la baja frecuencia total en este estudio, puede deberse al control de la fauna nociva ejercida en la REPSA, acción que genera la disminución de la población de fauna nociva como los perros y gatos ferales. Por parte del diagnóstico con técnicas moleculares se tiene en cuenta que se detectó la presencia de VDC en la fase de viremia porque sólo se analizaron muestras sanguíneas y no muestras de tejido.

La frecuencia de VDC según el orden de los ejemplares, fue del 7% (3/43) para Didelphimorphia y 22.2% (2/9) para el orden Rodentia, esta frecuencia del virus es baja comparada con el estudio donde reportaron mortalidad en ejemplares de *Marmota caudata* importadas de Asia central a un zoológico de Suiza (100%; 3/3) (Origgi et al. 2013) y que presentaban co infección con *Orthopoxvirus*; mientras que en el orden Didelphimorphia no se conocen reportes previos de casos de infección con VDC ni en México ni a nivel mundial.

La frecuencia de VDC por especie fue de 33.3% (2/6) en *O. variegatus* y 25% (3/12) en *D. virginiana*, los casos positivos en tlacuaches pueden relacionarse con el hecho de que esta especie puede servir como reservorio de la enfermedad ya que al igual

que los ardillones, tienen mayor posibilidad de interacción con fauna feral y el humano por estar altamente adaptados a los ambientes perturbados (Garner & Sunquist 2003; Yensen & Sherman 2003; Cruz 2009).

La frecuencia de VDC fue mayor en la familia Sciuridae del orden Rodentia y la más alta en este estudio, lo cual coincide con las frecuencias de VDC en roedores después del orden Carnivora, descrita en el meta-análisis de Martínez y Ruiz (2016), donde las especies de mamíferos no convencionales han sido infectadas con VDC de forma natural o experimental, entre los cuales se encuentran de mayor a menor prevalencia los órdenes y sus familias: Carnivora (Canidae, Felidae, Mestelidae, Procyonidae, Ursidae, Phocidae, Viverridae, Hyanidae, Ailuridae, Mephitidae, Odobenidae y Otariidae); Rodentia (Muridae, Cricetidae, Sciuridae, Caviidae); Primates (Cercopithecidae y Cebidae); Artiodactyla (Suidae, Tayassuidae y Cervidae) y Proboscidea (Elephantidae).

Estudios recientes confirman el papel que tienen los roedores en la transmisión de enfermedades como reservorio, por ejemplo, se ha documentado la presencia de varias especies de Paramyxovirus en este orden, lo que facilita la dinámica y propagación del virus, e incluso cursando con el cuadro clínico de la enfermedad, específicamente con el VDC (Sasaki et al. 2014; Wilkinson et al. 2014). Respecto a los signos clínicos de los dos ejemplares positivos de *O. variegatus*, presentaban déficit neurológico, incoordinación y mioclonía cervical, se encontraron en un estado de desorientación dejándose capturar con bastante facilidad sin intentar huir ni defenderse, con ausencia de signos sistémicos, los dos ejemplares murieron. De los dos ejemplares de *D. virginiana* sólo uno presentaba síndrome vestibular, el otro ejemplar se encontró en buen estado de salud. Las mioclonías se han reportado como el signo neurológico con más prevalencia en perros domésticos que cursan con la infección de VDC, algunos autores sugieren que son un signo patognomónico de encefalomiелitis causada por este virus, seguido por incoordinación motora y desorientación (Koutinas et al. 2002; Headley et al. 2012; Amude et al. 2012).

Aunque la fisiopatogenia de las mioclonías no se conoce muy bien, algunas teorías argumentan que su origen puede asociarse con una lesión en la materia gris, en la medula espinal o en el tronco encefálico dentro de circuitos neuronales intrínsecos (Koutinas et al. 2002; Amude et al. 2012). Los signos vestibulares relacionados con VDC pueden ser ocasionados porque las lesiones que genera el virus en el SNC pueden extenderse hasta el ángulo pontocerebeloso, daños en la sustancia gris y sustancia blanca y lesión en neuronas localizadas en los núcleos vestibulares o en el lóbulo flocculonodular del cerebelo (Pellegrino 2014; Pellegrino 2015); sin embargo, no puede asociarse el síndrome vestibular encontrado en el tlacuache positivo, ya que no se realizó un examen histológico del ejemplar.

La inferencia estadística demostró en este estudio que no hubo asociación entre la presencia de VDC con el sexo, cuya frecuencia fue de 27% (3/11) en machos y del 14% (2/14) en hembras y no hubo asociación entre la presencia de VDC con la edad, cuya frecuencia fue del 100% (1/1) en categoría de cría y del 19% (4/21) en adultos de las zonas perturbadas. La presencia del virus en animales adultos machos puede relacionarse con su mayor rango de actividad y capacidad de adaptación de estas especies a los asentamientos humanos, aunque sólo hubo un caso positivo en crías en las zonas perturbadas coincide con el hecho de que los animales menores de seis meses son más susceptibles a la infección con VDC (Garner & Sunquist 2003; Yensen & Sherman 2003; Cruz 2009; Wyllie et al 2016).

Los resultados sugieren que en algún momento los casos positivos estuvieron en contacto con secreciones y excreciones que contenían el virus. El VDC puede permanecer activo y ser infeccioso en un rango 9 a 30 días en saliva, secreción nasal, heces y orina en condiciones óptimas de humedad y temperatura, su alta infectividad y constante eliminación a partir del día 7 post infección incluso en hospederos con enfermedad subclínica, ayuda al virus a mantener sus altas tasas de transmisión (Pinotti et al. 2009; Gilbert et al. 2015; Martínez & Ruiz 2016).

A pesar de que en ninguna especie feral y doméstica capturadas se detectó casos positivos de VDC, estos animales podrían ser la fuente de transmisión del virus en la REPSA donde se ha estimado una población de aproximadamente 500 individuos entre perros y gatos (Granados 2008); los cuales pueden estar infectados de forma subclínica o encontrarse en el periodo de diseminación del virus a tejidos, teniendo en cuenta que el tiempo que el virus circula en el organismo es de 18 a 22 días, en algunos casos puede extenderse la infección hasta 90 días (Pinotti et al. 2009; Ludlow et al. 2014; Martínez et al. 2016). Las zonas de amortiguamiento permiten el paso a transeúntes que circulan con perros domésticos, los cuales podrían estar eliminando el virus convirtiéndose en una fuente de transmisión potencial del VDC en la REPSA.

No se halló la presencia de VDC en especies del Orden Carnivora, caso contrario a los estudios previos en México y a nivel mundial donde este orden ha sido documentado con el mayor número de casos (Mena 2007; Suárez 2014; Martínez y Ruiz 2016). Sin embargo, en este estudio sólo se capturó un zorrillo y tres cacomixtles, es un tamaño de muestra pequeño, por lo que se recomienda incrementar el tamaño de muestra a lo largo de las diferentes zonas de la REPSA. Se observó que estas dos especies son las que tienen menor contacto en las zonas de asentamiento humano, aunque se han reportado zorrillos en botes de basura de algunas zonas de amortiguamiento.

La frecuencia de este estudio coincide con otras investigaciones donde se asocian enfermedades infecciosas con ambientes perturbados, lo cual respalda la teoría sobre la facilidad y diseminación de enfermedades infecciosas en ecosistemas afectados por la influencia humana –(McCallum & Dobson 2002; Mena 2007; Rivera 2010; Suzán et al. 2012; Rubio et al. 2014; Suárez 2014). La teoría de que hay una mayor exposición y prevalencia de VDC en mamíferos silvestres ha sido demostrada en diversos estudios que han asociado la presencia de VDC con el incremento de asentamientos humanos, el cambio de uso de suelo para agricultura

y destrucción del hábitat (Roscoe 1993; Riley et al. 2004; Bischof & Rogers 2005; Daoust et al. 2009; Quinn et al. 2012; Malmlov et al. 2014).

La transmisión e infección con VDC se ve favorecida por la capacidad de transmisión cruzada entre especies “cross-species” que ha desarrollado el virus en especies de diversos ordenes además de Carnivora (Elena y Sanjuán 2005; Beineke et al. 2015). Por otra parte, las polimerasas de los virus ARN poseen un margen de error en la replicación entre 1.000 a 10.000 veces superior a las polimerasas de los virus ADN, no poseen una actividad de corrección de nucleótidos incorrectos adicionados durante su síntesis lo que genera una mutación por cada replicación del genoma, además los virus ARN con sentido negativo poseen un genoma más extenso y codifican un mayor número de proteínas, a estas características se atribuye la alta variedad genética y de mutación y una mayor adaptación dentro del proceso evolutivo lo que permite una mayor tasa de transmisión en el proceso “cross species” lo que favorece su capacidad de infectar nuevos hospederos y de adaptarse a cambios de las condiciones ambientales (Elena y Sanjuán 2005; Furtado 2007).

Aunque la frecuencia total de Distemper Canino fue baja en la REPSA, el hecho de detectar el virus en hospederos no habituales expone claramente un caso de enfermedad emergente, cuya presentación podría deberse a cambios o modificaciones en los factores ecológicos, comportamentales, evolutivos y biológicos tanto del virus como de los hospederos, de las cinco especies del estudio, cuatro de ellas a excepción de *B. astutus*, son altamente tolerables a ambientes perturbados y han modificado sus hábitos alimenticios y horarios de actividad. Los casos positivos de este estudio son los primeros reportados en el país y en nuevas especies hospederas, representando una amenaza potencial para la conservación de los mamíferos silvestres de la REPSA, debido a ello, se sugiere realizar un monitoreo constante de esta enfermedad y diseñar un programa de vigilancia epidemiológica para evitar futuros brotes de VDC.

Se recomiendan estudios posteriores con análisis filogenéticos para indicar las cepas virales en las especies positivas a VDC para identificar si el receptor y el genotipo del virus son los mismos presentes en las especies hospederas habituales y de esta manera conocer en mayor medida el comportamiento del virus en la zona y poder establecer medidas de conservación para evitar la propagación de enfermedades infecciosas en animales de la reserva. El uso de la RT-PCR con la amplificación del gen de la nucleoproteína viral (N) ha sido usado y recomendado en muchos estudios ya que este gen se encuentra muy conservado y se considera un método específico, sensible y rápido para el diagnóstico de VDC (Castilho et al. 2007; Frisk et al. 2009; Muñoz 2016). De igual manera se sugiere para próximos estudios donde se desea detectar el VDC a través de pruebas moleculares y con ejemplares que presentan signología nerviosa, la toma de muestras, en el caso de ser posible de: encéfalo, saliva, hisopados nasales, orina y líquido cefalorraquídeo, además de las muestras sanguíneas ya que son una herramienta imprescindible como complemento de un diagnóstico rápido y seguro del Distemper Canino (Frisk et al. 1999; Shin et al. 2004). Igualmente, de ser posible, contemplar en los muestreos la variable de estacionalidad para detectar VDC y conocer si el patrón de casos positivos se reflejan en los periodos de invierno o si el comportamiento del virus ha cambiado (Headley & Graça 2000; Kadaba 2011); en la REPSA la época de lluvias transcurre de junio a octubre, los casos positivos de este estudio corresponden a las muestras obtenidas en el mes de octubre, lo anterior coincide con la ocurrencia de VDC en época de invierno citado en la literatura (Headley & Graça 2000; Kadaba 2011) en este estudio sólo se obtuvieron muestras al final del periodo de invierno y la mayoría de muestras corresponden a la época seca en la REPSA.

Una caracterización más precisa de las zonas que podría incluir análisis espaciales con un mayor número de muestreos y un tamaño de muestra más grande son herramientas imprescindibles que pueden ayudar a comprender de una manera

más concisa la relación entre la presencia del virus del Distemper Canino y las variables ambientales o paisajísticas.

Estos estudios cobran relevancia cuando observamos que diferentes agentes infecciosos como el virus del Distemper Canino puede poner en riesgo la conservación de las poblaciones de mamíferos hacia el interior de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, tomando en cuenta que es un área relictas de un ecosistema dominante en el Valle de México, además por sus implicaciones ecológicas y como proveedor de servicios ambientales a la Ciudad de México.

REFERENCIAS

- Aguilar, HC; Lee, B. 2011. Emerging paramyxoviruses: molecular mechanisms and antiviral strategies. *Expert Reviews in Molecular Medicine*: doi:10.1017/S1462399410001754.
- Alvisi, G. 2013. Paramyxovirus evasion of innate immunity: Diverse strategies for common target. *World Journal of Virology*, 2: 57-70.
- Amude, AA; Alfieri, AA; Bahr, MV; Alfieri, AF. 2012. Clinical syndromes of nervous distemper in dogs initially presented without conventional evidences of CDV infection. *Ciências Agrárias, Londrina*, 33: 2347-2358.
- Aranda, JM. 2012. Manual para el rastreo de mamíferos silvestres de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad CONABIO. Ciudad de México, México.
- Arenas-Pérez, P. 2016. Seroprevalencia de rabia y *Leptospira* en poblaciones de perros de libre rango (*Canis familiaris*) y tlacuaches (*Didelphis spp.*) que habitan dos reservas ecológicas. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de México. Ciudad de México, México.
- Audigé, L; Wilson, PR; Morris, RS. 1998. A body condition score system and its use for farmed red deer hinds. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 41: 545 – 553.
- Battisti, A; Meng, G; Wincler, DC; McGinnes, LW; Plevka, P; Steven, AC; Morrison, TG; Rossmann MG. 2012. Structure and assembly of a paramyxovirus matrix protein. *PNAS*: doi: 10.1073/pnas.1210275109.
- Beineke, A; Puff, C; Seehusen, F; Baumgärtner, W. 2009. Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 127: 1–18.
- Beineke, A; Baumgärtner, W; Wohlsein, P. 2015. Cross-species transmission of Canine Distemper Virus an update. *One Health*, 1: 49-59.
- Bischof, R; Rogers, DG. 2005. Serologic Survey of Select Infectious Diseases in

- Coyotes and Raccoons in Nebraska. *Journal of Wildlife Diseases*, 41:787-791.
- Butina, TV; Denikina NN; Belikov, SI. 2010. Canine Distemper virus diversity in Lake Baikal seal (*Phoca sibirica*) population. *Veterinary Microbiology*: doi: 10.1016/j.vetmic.2009.12.027.
- Cabrera, JJ. 2013. Densidad poblacional de la ardilla gris (*Sciurus aureogaster*) en el Distrito Federal. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- Carpenter, JW; Marion, C. 2013. *Exotic Animal Formulary*, fourth edition. Kansas, USA.
- Carvalho, OV; Vieira, B; Torres, CG; Scherer, P; Pinheiro, JÁ; Almeida, M; Silva, A. 2012. Immunopathogenic and neurological mechanisms of canine distemper virus. *Advances in virology*, doi:10.1155/2012/163860.
- Castilho, J; Brandão, P; Carnieli, P; Oliveira, R; Macedo, C; Peixoto, Z.; Carrieri, M.; Kotait, I. 2007. Molecular analysis of the N gene of canine Distemper virus in dogs in Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 59: 654-659.
- Castillo, S; Martínez, Y; Romero, MA; Guadarrama, P; Nuñez, O; Sánchez, I; Meave, JA. 2007. La reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel: aspectos florísticos y ecológicos. Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México UNAM, México D.F. 294 pp.
- Ceballos, G; Galindo, C. 1984. *Mamíferos silvestres de la Cuenca de México*. Limusa, México D.F.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad CONABIO. 2016. Enciclopedia. Cacomixtle norteño (*Bassariscus astutus*). Disponible en <http://bios.conabio.gob.mx/especies/8011189>.
- Cruz, A. 2009. Fauna feral, fauna nociva y zoonosis. En: Lot. A; Cano-Santana, Z., (Eds). *Biodiversidad del Pedregal de San Ángel*. UNAM, Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel y Coordinación de la Investigación Científica, D.F.

- México. 455-463 pp.
- Cuarón, AD; Emmons, L; Helgen, K; Reid, F; Lew, D; Patterson, B; Delgado, C; Solari, S. 2008. *Didelphis virginiana*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T40502A10319531. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T40502A10319531>. Acceso en febrero/2016.
- Daoust, PY; McBurney, SR; Godson, DL; van de Bildt, MW; Osterhaus, AD. 2009. Canine Distemper Virus – associated encephalitis in free-living lynx (*Lynx canadensis*) and bobcats (*Lynx rufus*) of Eastern Canada. *Journal of wildlife diseases*, 45: 611–624.
- Daszak, P; Cunningham, AA; Hyatt, AD. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife - threats to biodiversity and human health. *Science*, 287: 443–449.
- Delahay, RJ; Smith, GC; Hutchings, MR. 2009. Chapter 1: The Science of Wildlife Disease Management - What is Disease. En Delahay, RJ; Smith, GC; Hutchings, MR., (eds). *Management of Disease in Wild Mammals*. Disponible en: <http://www.springer.com/la/book/9784431771333>.
- Elena, SF; Sanjuán, R. 2005. Adaptive value of high mutation rates of RNA viruses: separating causes from consequences. *Journal of Virology*, 79: 11555 - 11558.
- Fierro, F. 2014. Electroforesis de ADN. En Cornejo, A; Serrato, A; Rendón, B; Rocha, M. *Herramientas moleculares aplicadas en Ecología: aspectos prácticos y teóricos*. México, SEMARNAT.
- Frisk, AL; Köning, M; Moritz, A; Baumgärtner, W. 1999. Detection of Canine Distemper Virus Nucleoprotein RNA by Reverse Transcription-PCR using serum, whole blood and cerebrospinal fluid from dogs with Distemper *Journal of clinical microbiology*, 37: 3634-3643.
- Edwards, J; Ford, M; Guynn, D. 2003. Section III: Rodents, Chapter 12: fox and gray squirrels. En Feldhamer, GA; Thompson, BC. & Chapman, JA., (eds). *Wild Mammals of North America: Biology, management and Conservation*. Second edition. The Johns Hopkins University Press. United States of America.
- El Najjar, F; Schmitt, AP; Dutch, RE. 2014. Paramyxovirus glycoprotein

- incorporation, assembly and budding: A three way dance for infectious particle production. *Viruses*, 6: 3019–3054.
- Gardner, AL. 1973. The systematics of the genus *Didelphis* in North and Middle America. Special Publications of The Museum of the Texas University, 4: 1-81.
- Gardner, AL; Sunquist, ME. 2003. Section I: Opossum, moles, bats and armadillo, Chapter 1: Opossum *Didelphis virginiana*. En Feldhamer, G.A; Thompson, B.C; Chapman, J.A., (eds). *Wild Mammals of North America: Biology, management and Conservation*. Second edition. The Johns Hopkins University Press. United States of America.
- Gese, EM; Schultz, RD; Rongstad, J; Andersen, DE. 1991. Prevalence of antibodies against canine parvovirus and canine distemper virus in wild coyotes in southeastern Colorado. *Journal of Wildlife Diseases*, 27:320- 323.
- Gese, EM; Schultz, RD; Johnson, MR; Williams, ES; Crabtree, RL; & Ruff, RL. 1997. Serological survey for diseases in free-ranging coyotes (*Canis latrans*) in Yellowstone National Park, Wyoming. *Journal of Wildlife Diseases*, 33:47–56.
- Gilbert, M; Miquelle, DG; Goodrich, JM; Reeve, R; Cleaveland, S; Matthews, L; Joly, DO. 2014. Estimating the Potential Impact of Canine Distemper Virus on the Amur Tiger Population (*Panthera tigris altaica*) in Russia. *PlosOne*, doi: 10.1371/journal.pone.0110811.
- Gilbert, M; Soutyrina, SV; Seryodkin, IV; Sulikhan, N; Uphyrkina, OV; Goncharuk, M; Matthews, L; Cleaveland, S; Miquell, DG. 2015. Canine distemper virus as a threat to wild tigers in Russia and across their range. *Integrative Zoology*, 10: 329–343.
- Goldberg, J. 2003. "*Bassariscus astutus*" (On-line), Animal Diversity Web. http://animaldiversity.org/accounts/Bassariscus_astutus/. Acceso en febrero/2016.
- Granados, Y. 2008. *Ecología de mamíferos silvestres y ferales de la Reserva Ecológica El Pedregal: hacia una propuesta de manejo*. Maestría en Biología. Facultad de Ciencias, UNAM. 74 pp. SEREPSA 81.

- Greene, CE; Vandeveld, M. 2012. Canine Distemper in Section: Viral, Rickettsial and Chlamydial Diseases. En Greene, CE. Infectious Diseases of the dog and cat. Fourth edition. Elsevier Saunder. United States of America.
- Greig, DJ; Gulland, FM; Smith WA; Conrad PA; Field CL; Fleetwood M; Harvey JT; Ip HS; Jang S; Packham A; Wheeler E; Hall AJ. 2014. Surveillance for zoonotic and selected pathogens in harbor seals *Phoca vitulina* from central California. *Diseases of aquatic organisms*, 111: 93–106.
- Harrison, MS; Sakaguchi, T; Schmitt, AP. 2010. Paramyxovirus Assembly and Budding: Building Particles that Transmit Infections. *International Journal of Biochemistry*, 42: 1416–1429.
- Headley, SA; Graça, DL. 2000. Canine Distemper: epidemiological findings of 250 cases. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-95962000000200009>.
- Headley, SA; Amude, AM; Alfieri, AF; Bracarense, A; Alfieri, AA. 2012. Epidemiological features and the neuropathological manifestations of canine distemper virus-induced infections in Brazil: a review. *Ciências Agrárias, Londrina*, 33: 1945-1978.
- Helgen, K., Reid, F; Timm, R. 2016. *Spilogale angustifrons*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T136636A45221538. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20161.RLTS.T136636A45221538>. Acceso en diciembre/2015.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). México en cifras: Ciudad de México. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=15>. Acceso en octubre/2016.
- International Committee on Taxonomy of Viruses ICTV. Current taxonomy release. Disponible en: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>. Acceso septiembre/2014.
- Ip, HS; Torchetti, MK; Crespo, R; Kohrs, P; DeBruyn, P; Mansfield, KG; Baszler, T; Badcoe, L; Bodenstein, B; et al. 2014. Novel Eurasian highly pathogenic

- influenza A H5 viruses in wild birds, Washington, USA. *Emerging Infectious Diseases*, doi: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2105.142020>.
- Jones, KE; Patel, NG; Levy, MA; Storeygard, A; Balk, D; Gittleman, GL; Daszak P. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451: 990-994.
- Jones, KE; Safi, K. 2011. Ecology and evolution of mammalian biodiversity. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 366: 2451–2461.
- Kadaba, D. 2011. An epidemiological study of Canine Distemper in Mumbai: Bridging the Gap between Human and animal Health. *Epidemiology*, doi: [10.1097/01.ede.0000392014.34259.86](http://dx.doi.org/10.1097/01.ede.0000392014.34259.86).
- Koprowski, J; Roth, L; Reid, F; Woodman, N; Timm, R; Emmons, L. 2008. *Sciurus aureogaster*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T20006A9131109.<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T20006A9131109>. Acceso en diciembre/2015.
- Koutinas, AF; Polizopoulou, ZS; Baumgaertner, W; Lekkas,S; Kontos, V. 2002. Relation of clinical signs to pathological changes in 19 cases of canine distemper encephalomyelitis. *Journal of Comparative Pathology*, 126: 47 – 56.
- Krause, WJ; Krause, WA. 2006. The Opossum: It's amazing story. Department of Pathology and Anatomical Sciences, School of Medicine, University of Missouri. Columbia, Missouri.
- Kuiken, T; Kennedy, S; Barrett, T; Van de Bildt, MWG; Borgsteede, FH; Brew, SD; Codd, GA; Duck, C; Deavile, R; Eybatov, T; Forsyth, MA; Foster, G; Jepson, PD; Kydyrmanov, A; Mitrofanov, I; Ward, CJ; Wilson, S; Osterhaus, ADME. 2006. The 2000 Canine Distemper Epidemic in Caspian Seals (*Phoca caspica*): Pathology and Analysis of Contributory Factors. *Veterinary Pathology*, 43: 321-338.
- Lempp, C; Spitzbarth, I; Puff, C; Cana, A; Kegler, K; Techangamsuwan, S; BaumgÄrtner, W; Seehusen, F. 2014. New aspects of the pathogenesis of Canine Distemper Leukoencephalitis. *Viruses*, 6: 2571 – 2601.

- Linzey, AV; Timm, R; Álvarez, ST; Castro, I; Lacher, T. 2008. *Spermophilus variegatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T20495A9208710. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T20495A9208710.en>. Acceso en febrero/2016.
- Lot, A; Pérez-Escobedo, M; Gil-Alarcón, G; Rodríguez-Palacios, S; Camarena, P. 2012. La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel: Atlas de riesgos. 30 aniversario 1983-2013. Secretaría Ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, UNAM, ICyT. 52 pp.
- Lot, A; Camarena, P. 2009. El Pedregal de San Ángel de la ciudad de México: reserva ecológica urbana de la Universidad Nacional. En Lot, A; Cano, Z. (Eds). Biodiversidad del ecosistema del Pedregal de San Ángel. Libro Conmemorativo del 25 aniversario de la Reserva Ecológica de Ciudad Universitaria (1983-2008). Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. Coordinación de la Investigación Científica, UNAM., México, D.F. 538 pp.
- Lot, A; Cano, Z. 2009. Biodiversidad del ecosistema del Pedregal de San Ángel. Libro Conmemorativo del 25 aniversario de la Reserva Ecológica de Ciudad Universitaria (1983-2008). Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. Coordinación de la Investigación Científica, UNAM., México, D.F. 538 pp
- Ludlow, M; Rennick, LJ; Nambulli, S; de Swart, R; Duprex, WP. 2014. ScienceDirect Using the ferret model to study morbillivirus entry , spread , transmission and cross-species infection. *Current Opinion in Virology*, 4: 15–23.
- MacArthur, RH; Wilson, EO. 1967. The theory of island biogeography. Princeton University Press. Princeton, New Jersey.
- Malmlov, A; Breck, S; Fry T; Duncan, C. 2014. Serologic Survey for Cross-Species Pathogens in Urban Coyotes (*Canis latrans*), Colorado, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 50: 946–950.
- Martínez, C; Rincón, S. 2004. Métodos físico-químicos en Biotecnología. Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en

- <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/pcr.pdf>. Acceso en febrero/2016.
- Martínez, M; Ruiz, J. 2016. Diversity of susceptible hosts in Canine Distemper Virus infection: a systematic review and data synthesis. *BMC Veterinary Research*, 12: 1-11.
- McCallum, H; Dobson, A. 2002. Disease, habitat fragmentation and conservation. *Proceedings the Royal Society London B*, 269: 2041-2049.
- McFadden, KW; Wade, SE; Dubovi, EJ; Gompper, ME. 2005. A serological and fecal parasitologic survey of the critically endangered pygmy raccoon (*Procyon pygmaeus*). *Journal of wildlife diseases*, 41: 615–617.
- Mena, H. 2007. Presencia de *Leptospira* spp. y moquillo canino en poblaciones de perros y carnívoros silvestres en la Isla Cozumel. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- Moreno, K. 2016. Estudio serológico y molecular de Distemper y Parvovirus Canino en comunidades de carnívoros de la Reserva de la Biósfera de Janos, Chihuahua. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- Muñoz, CA. 2013. Diagnóstico molecular del virus del Distemper Canino mediante la reacción en cadena de la polimerasa asociada a transcripción inversa del gen de la proteína de la nucleocápside viral. Memomoria para optar al título de medico veterinario. Facultad de ciencias veterinarias y pecuarias. Universidad de Chile. Santiago, Chile.
- Nava, M; Jujnovsky, J; Salinas, R; Álvarez, J; Almeida, L. 2009. Servicios ecosistémicos. En Lot, A; Cano, Z., (eds). Biodiversidad del ecosistema del Pedregal de San Ángel. Libro Conmemorativo del 25 aniversario de la Reserva Ecológica de Ciudad Universitaria (1983-2008). Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. Coordinación de la Investigación Científica, UNAM., México, D.F.

- Noon, TH; Heffelfinger, JR; Olding, RJ; Wesche, SL; Reggiardo, C. 2003. Serologic survey for antibodies to canine distemper virus in collared peccary (*Tayassu tajacu*) populations in Arizona. *Journal of Wildlife diseases*, 39: 221-223.
- Oni, O; Wajjwalku, W; Boodde, O; Chumsing, W. 2006. Canine distemper virus antibodies in the Asian elephant (*Elaphas maximus*). *Veterinary Record*, 159: 420–421.
- Origgi, FC; Sattler, U; Pilo, P; Waldvogel, AS. 2013. Fatal combined infection with canine distemper virus and orthopoxvirus in a group of Asian marmots (*Marmota caudata*). *Veterinary pathology*, 50: 914–920.
- Pellegrino, FC. 2015. Neuropatología y síndromes clínicos del virus del moquillo canino: estado actual del conocimiento. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.
- Pellegrino, FC. 2014. Las claves del diagnóstico neurológico para el veterinario clínico. Sección 3: nociones básicas de neurofisiopatología. Intermédica ed. Buenos Aires. Argentina. 456 pp.
- Pérez, R; Lew, D; Solari, S. 2016. *Didelphis virginiana*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T40502A22176259. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20161.RLTS.T40502A22176259>. Acceso en diciembre/2015.
- Pértega, S; Pita, S. 2004. Asociación de variables cualitativas: El test exacto de Fisher y el test de McNemar. *Cadernos de atención primaria*, 11: 304-308.
- Piccone, ME; Furtado, E. 2007. Capítulo 7: Replicação dos vírus RNA. En Furtado, E., (organizador). *Virologia veterinária*. Editorial ufsm. Santa Maria, Brasil. 888 p.
- Pinotti, M; Gollan, A; Delgado, A; Passeggi, C; Occhi, H; Blainq, L; Canavesio, M. 2009. Distemper canino. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*, 8: 29–45.
- Plumb, DC. 2010. *Veterinary Drug Handbook*. Wisconsin. USA
- Poglayen, I; Towell, D. 1988. Mammalian species: *Bassariscus astutus*. *The American Society of mammalogists*, 327: 1-8. Disponible en:

<http://www.science.smith.edu/resources/msi/pdfs/i0076-3519-327-00001.pdf>.

Acceso en septiembre/2015.

Qeska, V. 2013. Investigation of immunomodulatory properties of neurovirulent viruses – *in vitro* and *in vivo* effects of canine distemper virus. Tesis de doctorado. Departamento de Patología. Universidad de Medicina Veterinaria de Hannover. Alemania.

QIAGEN OneStep RT-PCR Handbook 2012. 44 p.

Qiu, W; Zheng, Y; Zhang, S; Fan, Q; Liu, H; Zhang, F; Wang, W; Liao, G; Hu, R. 2011. Canine Distemper Outbreak in Rhesus Monkeys, China. *Emerging Infectious Diseases*, 17: 1541-1543.

Quinn, JH; Girard, YA; Gilardi, K; Hernández, Y; Poppenga, R; Chomel, B; Foley, JE. & Johnson, CK. 2012. Pathogen and Rodenticide Exposure in American Badgers (*Taxidea taxus*) in California. *Journal of Wildlife Diseases*, 48: 467-472.

Reid, F; Timm, R; Helgen, K. 2008. *Spilogale angustifrons*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T136636A4320941.en>. Acceso en febrero/2016.

Riley, S; Foley, J; Chomel, B. 2004. Exposure to feline and canine pathogens in bobcats and gray foxes in urban and rural zones of a national park in California. *Journal of Wildlife Diseases*, 40:11-22.

Rio, D; Ares, M; Hannon, GJ; Nielsen, TW. 2010a. Removal of DNA from RNA. CSHL Press, Cold Spring Harbor, NY, USA. doi:10.1101/pdb.prot5443.

Rio, D; Ares, M; Hannon, GJ; Nielsen, TW. 2010b. Purification of RNA Using Trizol (TRI Reagent). CSHL Press, Cold Spring Harbor, doi:10.1101/pdb.prot5439.

Rikula, UK. 2008. Canine distemper in Finland: vaccination and epidemiology. Disertación Académica. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Helsinki. Finlandia.

Rivera, NY. 2010. Identificación por técnicas de biología molecular de Morbillivirus

- en lobos marinos (*Zalophus californianus*) del Golfo de California. Tesis de Maestría. Escuela Superior de Medicina, sección de Estudios de Posgrado e Investigación. Instituto Politécnico Nacional. Distrito Federal. México.
- Rodríguez, S. 2016. Mapa del área de estudio, Distribución de la Reserva Ecológica el Pedregal de San Ángel. Diseño específico para esta tesis.
- Roelke, M; Munson, L; Packer C; Kock, R; Cleaveland, S; Carpenter, M; O'Brien, SJ; Pospischil, A; Hofmann, R; Lutz, H; Mwamengele, GL; Mgasas, MN; Machange, GA; Summers, BA; Appel, MJ. 1996. A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature*, 379: 441–445.
- Roscoe, E. 1993. Epizootiology of Canine Distemper in New Jersey Raccoons. *Journal of wildlife diseases*, 29: 390–395.
- Rosatte, R; Larivière, S. 2003. Section V: Carnivores, Chapter 34: Skunks. En Feldhamer, GA; Thompson, BC; Chapman, JA., (eds), *Wild Mammals of North America: Biology, management and Conservation*. Second edition. The Johns Hopkins University Press. United States of America.
- Rubio, AV; Ávila, R; Suzán, G. 2014. Responses of Small Mammals to Habitat Fragmentation: Epidemiological Considerations for Rodent-Borne Hantaviruses in the Americas. *EcoHealth*, 11: 526-533.
- SAG. (Servicio Agrícola y Ganadero). Criterios técnicos para la mantención y manejo de fauna silvestres en cautiverio. Chile. 100 pp. Disponible en http://www.sag.cl/sites/default/files/criterios_tec_mantencion_fauna_silv_cautiverio.pdf. Acceso en junio/ 2016.
- Sakai, K; Nagata, N; Ami, Y; Seki, F; Suzaki, Y; Iwata-Yoshikawa, N; Suzuki, T; Fukushi, S; Mizutani, T; Yoshikawa, T; Otsuki, N; Kurane, I; Komase, K; Yamaguchi, R; Hasegawa, H; Saijo, M; Takeda, M; Morikawa, S. 2013. Lethal Canine Distemper Virus Outbreak in Cynomolgus Monkeys in Japan in 2008. *Journal of Virology*, 87: 1105–1114.
- Schobesberger, M; Summerfield, A; Doherr, MG; Zurbriggen, A; Griot, C. 2005. Canine Distemper virus-induced depletion of uninfected lymphocytes is associated with apoptosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 104:

33 -44.

- Schweigmann, NJ; Pietrokovsky, S; Bottazzi, V; Conti, O; Bujas. MA; Wisnivesky-Colli, C. 1999. Estudio de la prevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en zarigüeyas (*Didelphis albiventris*) en Santiago del Estero, Argentina. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 6: 371-377.
- Cha, SY; Kim, EJ; Kanga, M; Janga, SH; Lee, HB; Jang, HK. 2012. Epidemiology of canine distemper virus in wild raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) from South Korea. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35: 497-504.
- SEMARNAT 08-041, S. 2015. Autorización para el Manejo, Control y Remediación de Problemas Asociados a Ejemplares o Poblaciones que se tornen Perjudiciales. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental SEMARNAT. Dirección General de Vida Silvestre. Disponible en <http://www.semarnat.gob.mx/sites/default/files/documentos/documentos/tramites/ff/FF-SEMARNAT-018.pdf>.
- SEREPSA (Secretaría Ejecutiva de la Reserva Ecológica Pedregal de San Ángel). 2008. Manual de procedimientos del Programa de Adopción de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (PROREPSA). Secretaría Ejecutiva REPSA, Coordinación de la Investigación Científica, UNAM, México, D.F. 107.
- Shin, YJ; Cho, KO; Cho, HS; Kng, SK; Kim, HJ; Ki, YH; Park, HS; Park, NY. 2004. Comparison of one-step RT-PCR and a nested PCR for the detection of canine distemper virus in clinical samples. *Australian Veterinary Journal*, 82: 83-86.
- Sips, G; Chesik, D; Glazenburg, L; Wilschut, J; De Keyser, J; Wilczak N. 2007. Involvement of morbilliviruses in the pathogenesis of demyelinating disease. *Reviews in Medical Virology*, 17: 223–244.
- Smith, KF; Sax, DF; Lafferty, KD. 2006. Evidence for the role of infectious disease in species extinction and endangerment. *Conservation Biology*, 20; 1349–1357.

- Suárez, L. 2014. Identificación molecular y serológica de Morbillivirus en mamíferos marinos y carnívoros terrestres de las costas de la Península de Baja California, México. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal. México.
- Suzán, G; Ceballos, G. 2005. The role of feral mammals on wildlife infectious disease prevalence in two natural reserves within Mexico City limits. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*,36: 479-484.
- Suzán, G; Marcé, E; Giermakowski, GT; Mills, JN; Ceballos, G; Ostfeld, RS; Armién, B; Pascale, JM; Yates, TL. 2009. Experimental evidence for reduced rodent diversity causing increased Hantavirus prevalence. *PLoS ONE* 4: e5461.doi:10.1371/journal.pone.0005461
- Suzán, G; Esponda, F; Carrasco-Hernández, R; Aguirre, AA. 2012. Chapter: Habitat fragmentation and infectious disease ecology. En Aguirre, AA; Ostfeld, RS; Daszak, P., (eds). *New Directions in Conservation Medicine: Applied Cases of Ecological Health*. Publisher: Oxford. 135-150 pp.
- Timm, R; Reid, F; Helgen, K. 2008. *Bassariscus astutus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T41680A10508712. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T41680A10508712>. Acceso en febrero/ 2016.
- Tompkins, DM; Carver, S; Jones, ME; Krkošek, M; Skerratt, LF. 2015. Emerging infectious diseases of wildlife: a critical perspective. *Trends of Parasitology*, 31: 49-159.
- Valdéz, M; Ceballos, G. 2005. Orden Rodentia: *Spermophilus variegatus*. En Ceballos, G. & Oliva, G., coordinadores. *Los mamíferos silvestres de México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Fondo de Cultura económica. Ciudad de México. México.
- Vanak, AT; Thaker, M; Gompper, ME. 2009. Experimental examination of behavioural interactions between free-ranging wild and domestic canids. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 64: 279-287.

- Viana, M; Cleaveland, S; Matthiopoulos J; Halliday, J; Packer, C; Craft, ME; Hampson, K; Czupryna, A; Dobson, AP; Dubovi, EJ; Ernest, E; Fyumagwa, R; Hoare, R; Hopcraft, JG; Horton, DL; Kaare, MT; Kanellos, T; Lankester, F; Mentzel, C; Mlengeya, T; Mzimiri, I; Takahashi, E; Willett, B; Haydon, DT; Lembo, T. 2015. Dynamics of a morbillivirus at the domestic–wildlife interface: Canine distemper virus in domestic dogs and lions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112: 1464 - 1469.
- Weis, C; Spilki, F; Servan de Almeida, R. 2007. Capítulo: Paramyxoviridae. En Furtado, E., organizador. *Virologia veterinária*. Ed. Da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. Brasil.
- Wiethoelter, K; Beltrán, D; Kock, R. & Mora, SM. 2015. Global trends in infectious diseases at the wildlife–livestock interface. *PNAS*, 112: 9662–9667.
- Wilkinson, DA; Mélade, J; Dietrich, M; Ramasindrazana, B; Soarimalala, V; Lagadec, E; le Minter, G; Tortosa, P; Heraud, JM; de Lamballerie, X; Goodman, SM; Dellagi, K; Pascalisa, H. 2014. Highly diverse morbillivirus-related paramyxoviruses in wild fauna of the Southwestern Indian Ocean Islands: Evidence of exchange between introduced and endemic small mammals. *Journal of Virology*, 88: 8268–8277.
- Williams, ES; Yuill, T; Artois, M; Fischer, J; Haigh SA. 2002. Emerging infectious diseases of wildlife. *Revue scientifique et technique International Office of Epizootics*, 21:139-157.
- Wyllie, SE; Kelman, M; Ward MP. 2016. Epidemiology and clinical presentation of Canine Distemper disease in dogs and ferrets in Australia, 2006-2014. *Australian Veterinarian Journal*, 94: 215-222.
- Yensen, E; Sherman, PW. 2003. Section III: Rodents, Chapter 10: Ground squirrels. En Feldhamer, GA; Thompson, BC; Chapman, JA.,(eds). *Wild Mammals of North America: Biology, management and Conservation*. Second edition. The Johns Hopkins University Press. United States of America.
- Young, JE; Olson, KA; Reading, RP; Amgalanbaatar, S; Berger J. 2011. Is Wildlife Going to the Dogs? Impacts of Feral and Free-roaming Dogs on Wildlife

Populations. *BioScience*, 61: 125-132.

Zachary, JF; McGavin, MD. 2011. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5 ed. St. Louis, United States. 1344 pp.

ANEXOS

Anexo 1. Valoración de la condición corporal en mamíferos. Tomado y modificado de Audigé et al. 1998 y SAG.

Grado	Característica corporal
1: Muy delgado	<ul style="list-style-type: none">• No tiene cubierta de grasa• Pérdida de masa muscular• Las costillas y las cubiertas óseas son visibles• En decúbito dorsal el vientre se ve retraído• La base de la cola tiene una estructura ósea prominente.
2: Bajo de peso	<ul style="list-style-type: none">• Similar al Grado 1, en la base de la cola huesos prominentes, pero con una fina capa adiposa.
3: Peso ideal	<ul style="list-style-type: none">• Cubierta adiposa leve• Las costillas y vértebras se palpan, pero no se ven• Hay una capa adiposa fina en el pecho• La base de la cola tiene un contorno liso o cierto engrosamiento.• Cintura bien proporcionada
4: Sobrepeso	<ul style="list-style-type: none">• Poseen una capa grasa moderada• Las costillas y vértebras no se pueden palpar ni ver• La espalda está ensanchada• Se nota una capa moderada de grasa abdominal• La base de la cola tiene cierto engrosamiento con cantidades moderadas de tejido entre la piel y el hueso.
5: Obesidad	<ul style="list-style-type: none">• Posee una capa grasa gruesa• Prominencias óseas cubiertas por una capa gruesa de grasa.• No se aprecia la cintura y hay una capa de grasa colgante abdominal.• La espalda está ensanchada.