



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**INFLUENCIA DEL USO DEL SUELO SOBRE LA SEROPREVALENCIA
DEL VIRUS DE INFLUENZA A EN ROEDORES SILVESTRES EN
PAISAJES ANTROPIZADOS DE CAMPECHE**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICA VETERINARIA
ZOOTECNISTA**

PRESENTA

KAREN ELIZABETH RIVERA ROSAS

ASESORES:

DR. C. JOSÉ IVAN SÁNCHEZ BETANCOURT

C. a DC. M.C. MVZ BRENDA ALINE MAYA BADILLO

C. a DC. MVZ GUILLERMO ORTA PINEDA

Ciudad Universitaria, CDMX

2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A mis papás y hermana que sin ellos no sería la persona que soy hoy en día. A mi mamá, que me enseñó todo con paciencia, cariño y comprensión. Gracias por demostrarme todo tu amor. A mi papá, que siempre me apoyó en todas mis decisiones y me mostró que la dedicación es la clave del éxito. Gracias por inspirarme día a día. A mi hermana por su paciencia y apoyo a lo largo de mi vida. Gracias por mostrarme la importancia de la escritura y la lectura.

A Darío, que siempre apostó por mí y me comprendió en todo el camino con amor, risas y complicidad. Gracias por mostrarme lo que es la constancia y la disciplina. Siempre eres y serás mi persona favorita.

A los que ya no están, pero sé que siempre me apoyaron y apoyarán.

A mis asesores, Brenda y Memo por mostrarme el hermoso camino de la investigación, por sus consejos, apoyo y por hacer de mi titulación un proceso más divertido y lleno de enseñanzas. Gracias por toda su paciencia y por inspirarme.

Al Dr. Iván que siempre estuvo apoyándome y dándome una mano cuando más lo necesitaba. Gracias por su gran disponibilidad y enseñanzas.

A mis compañeros de campo, Diego, Adrián, Diana, José, Elvira y Jessi, que hicieron las madrugadas y pesadas noches de campo un momento divertido y de apoyo total. A toda la gente de Campeche, por apoyarnos siempre y cuidarnos en el camino.

A mis queridas amigas Fanny, Andrea, Yara y Karina por siempre alegrarme el corazón cada que nos veíamos y recordarme que la vida es más sencilla de lo que creo. Gracias a ustedes sé que las amistades son duraderas.

A mis amigas de carrera, Iris y Cinthya por hacer de la universidad un proceso de risas, dramas y chismes. Sin duda, la carrera no hubiese sido lo mismo sin su apoyo y cariño.

A los animales, por siempre inspirarme y darme una razón de vida. A Mani y Cathy, por ser mi más grande inspiración y demostrarme amor en su forma más pura e incondicional.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES Y PROFESIONALES

Al proyecto “Estudio eco-epidemiológico del virus de influenza A en la interfaz entre animales silvestres, domésticos y sinantrópicos, bajo un gradiente de perturbación antropogénica en la región de Laguna de Términos, Campeche” el cual estuvo financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), con número de proyecto IN224820. En especial al Dr. José Iván Sánchez Betancourt, a la C. a DC MC. MVZ Brenda Aline Maya Badillo y al C. a DC MVZ Guillermo Orta Pineda por permitirme ser parte del proyecto, por sus continuas enseñanzas y su gran disponibilidad desde el momento en el que ingresé a este equipo de trabajo.

Al proyecto PRONAI “Diversidad biológica, socio-ecosistemas y enfermedades virales emergentes en México” del Laboratorio Mixto de Investigación “ELDORADO” con número de proyecto 303002 a cargo del Dr. Gerardo Suzán Azpiri y en coordinación con la Dra. Ana Laura Viguera Galván. Gracias por su apoyo con material para el transporte de las muestras biológicas y por capacitarme en la técnica de elución de tiras de papel filtro para la obtención del suero de los ratones.

Al Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente al Dr. Ángel Rodríguez Moreno y al Dr. José Juan Flores Martínez por el préstamo de trampas para poder llevar a cabo este proyecto de tesis y por su ayuda en la determinación taxonómica de algunos ratones.

A Benjamín Vieyra por el préstamo de trampas para realizar este proyecto.

A la Unidad de Investigación de la FMVZ, por el apoyo con sus instalaciones y equipo para realizar la prueba serológica de esta tesis, en especial al Dr. René Álvaro Segura Velázquez por su apoyo y disponibilidad.

A todas las instituciones del Estado de Campeche que nos permitieron entrar a sus instalaciones para realizar el trabajo de campo de este proyecto y darnos oportunidad de obtener las muestras necesarias, en especial a la Comisión de Áreas Naturales Protegidas por permitirnos trabajar en la reserva de la biosfera Calakmul, a la Comisión Nacional Forestal y al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuarias por permitirnos trabajar y hospedarnos en el Centro de Investigación y Transferencia de Tecnología Forestal “El

Tormento” y al Instituto Nacional de Antropología e Historia por permitirnos trabajar en las zonas arqueológicas de El Hormiguero, Xpujil y Calakmul.

Al instituto de PLANALTO S.P.R. DE R.L, por hospedarnos en sus instalaciones y permitirnos trabajar en el rancho Santa Lucía y el rancho Villa Rosa y ser de gran ayuda, en especial al Ing. Juan Carlos García y a su familia por el apoyo incondicional y su gran disponibilidad.

A la UMA Eco-Ramón por alojarnos y siempre recibirnos de la mejor manera, así como permitirnos trabajar en uno de sus fragmentos de bosque tropical y por el apoyo logístico. En especial al Ing. Roberto Calzada y a toda la familia Uribe y Pujol por apoyarnos en todos los sentidos durante nuestra estancia y ser un gran soporte para nosotros.

A la UMA Nohan, los ejidos de Calakmul (Conhuas, Xpujil, Kilometro 120, Álvaro Obregón y Valentín), así como al servicio turístico de Garra de Jaguar y Zoh-Laguna por darnos oportunidad de realizar parte del trabajo de campo en sus instalaciones y de igual manera, por permitirnos alojarnos en sus instalaciones. En especial a Isabel McGregor por ayudarnos con la logística.

Al Departamento de Medicina y Zootecnia de Cerdos, por su apoyo durante el procesamiento de las muestras, en especial a todo el personal del departamento y al jefe del departamento Gerardo Ramírez por su gran disposición; al Sr. Inocente Lara por su gran amabilidad y siempre estar dispuesto a ayudarnos, así como a la señora Carmen.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México por ser mi casa de estudios y brindarme todos los conocimientos necesarios.

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
<i>Cambio de uso de suelo y emergencia de enfermedades infecciosas</i>	<i>2</i>
<i>Efectos del cambio de uso de suelo sobre las enfermedades transmitidas por roedores</i>	<i>6</i>
<i>Parásitos asociados con roedores en México</i>	<i>12</i>
<i>Roedores como hospederos de virus de influenza A</i>	<i>14</i>
JUSTIFICACIÓN	23
HIPÓTESIS	24
OBJETIVOS	25
<i>Objetivo general</i>	<i>25</i>
<i>Objetivos particulares</i>	<i>25</i>
MATERIALES Y MÉTODOS	26
<i>Área de estudio</i>	<i>26</i>
<i>Captura, determinación taxonómica y toma de muestras roedores silvestres</i>	<i>27</i>
<i>Consideraciones bioéticas</i>	<i>31</i>
<i>Análisis del paisaje</i>	<i>32</i>
<i>Análisis de datos</i>	<i>34</i>
RESULTADOS	35
<i>Abundancia, riqueza, variables morfométricas y fisiológicas de los roedores capturados</i>	<i>35</i>
<i>Detección de anticuerpos contra Influenza A</i>	<i>38</i>
<i>Análisis del paisaje</i>	<i>39</i>
<i>Análisis de datos</i>	<i>41</i>

DISCUSIÓN	42
CONCLUSIÓN	55
PERSPECTIVAS	55
REFERENCIAS	58
ANEXOS	68
<i>Anexo 1.- Distribución espacial de las trampas en los sitios de captura</i>	<i>75</i>
<i>Anexo 2.- Guía rápida para la identificación de roedores en campo</i>	<i>84</i>
<i>Anexo 3.- Listado potencial de especies registradas en la búsqueda sistemática de literatura científica con un total de 60 artículos revisados</i>	<i>85</i>
<i>Anexo 4.- Protocolo para la extracción del suero de las tiras de papel filtro</i>	<i>89</i>
<i>Anexo 5.- Protocolo del ensayo de ELISA</i>	<i>91</i>
FIGURAS	
<i>FIGURA 1.- REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA ESTRUCTURA DE UNA PARTÍCULA DE VIRUS DE INFLUENZA A O INFLUENZA B</i>	<i>15</i>
<i>FIGURA 2.- DIVERSIDAD DE HOSPEDEROS QUE ABARCAN LOS VIRUS DE INFLUENZA DE ACUERDO CON LA ESPECIE</i>	<i>16</i>
<i>FIGURA 3.- INFECCIONES EMERGENTES DE VIRUS DE INFLUENZA A AVIAR EN HUMANOS DEL 2013 AL 2022 EN CHINA</i>	<i>18</i>
<i>FIGURA 4.- MODELO DE LA BÚSQUEDA DE AGENTES ZONÓTICOS EN HUMANOS</i>	<i>22</i>
<i>FIGURA 5.- MAPA DE LOS SITIOS DE MUESTREO DEL ESTADO DE CAMPECHE</i>	<i>27</i>
<i>FIGURA 6.- MEDIDAS MORFOMÉTRICAS OBTENIDAS DURANTE EL MANEJO DE LOS ROEDORES</i>	<i>28</i>
<i>FIGURA 7.- PROTOTIPO DE CÁPSULA DE ANESTESIA INHALADA</i>	<i>31</i>
<i>FIGURA 8.- ABUNDANCIA Y RIQUEZA DE ROEDORES CAPTURADOS POR SITIO</i>	<i>36</i>
<i>FIGURA 9.- FAMILIAS Y ESPECIES DE ROEDORES CAPTURADAS EN CADA SITIO DE MUESTREO</i>	<i>38</i>
<i>FIGURA 10.- RESULTADOS DEL CÁLCULO DE LA RELACIÓN MUESTRA-CONTROL NEGATIVO PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE LOS ROEDORES</i>	<i>39</i>
<i>FIGURA 11.- COMPOSICIÓN DEL PAISAJE DE LOS SITIOS DE MUESTREO CON CAPTURA DE ROEDORES</i>	<i>40</i>

FIGURA 12.- CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES DE COBERTURA FORESTAL A 600 M Y RIQUEZA DE ESPECIES DE ROEDORES	42
--	----

TABLAS

TABLA 1.- ESPECIES Y NÚMERO DE ROEDORES DE ACUERDO CON SU SEXO Y ESTADO FISIOLÓGICO.	37
TABLA 2.- PROMEDIO DEL PESO Y LAS MEDIDAS MORFOMÉTRICAS OBTENIDAS DURANTE EL MANEJO DE LOS ROEDORES SILVESTRES POR ESPECIE Y SEXO.	37
TABLA 3.- CÁLCULO DE COEFICIENTES DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN CON CADA UNA DE LAS VARIABLES.	41

RESUMEN

RIVERA ROSAS KAREN ELIZABETH. Influencia del uso del suelo sobre la seroprevalencia de los virus de influenza A en roedores silvestres en paisajes antropizados de Campeche. Bajo la dirección de: Dr. C. José Iván Sánchez Betancourt, C. a DC MC. MVZ Brenda Ailine Maya Badillo y C. a DC MVZ Guillermo Orta Pineda.

El estudio de la ecología de los virus de influenza A es importante debido a la alta capacidad que tiene este virus de evolucionar y adaptarse a múltiples hospederos que podrían no estar considerados en los ciclos de transmisión más comunes/estudiados, como es el caso de los roedores silvestres. Los roedores adquieren relevancia en el estudio de los virus de influenza A por ser reservorios de diversos agentes infecciosos zoonóticos. Los principales objetivos de este estudio fueron identificar la exposición por virus de influenza A y el efecto que tiene el cambio de uso de suelo sobre su prevalencia en las comunidades de roedores silvestres. El estudio se realizó en Campeche, México. Se utilizaron 100 trampas Sherman colocadas en el interior de fragmentos de bosque tropical de 18 sitios que presentaban diferentes niveles de perturbación antropogénica. De cada sitio se evaluó la composición del paisaje a través de imágenes satelitales y se clasificó el tipo de matriz. Para conocer la seroprevalencia de los roedores a los virus de influenza A se utilizó una prueba ELISA comercial. Con un esfuerzo de muestreo total de 3600 trampas-noche se capturaron 130 roedores con una riqueza de ocho especies. Las especies más abundantes fueron la *Heteromys gaumeri* y la *Peromyscus yucatanicus*. En la serología, todos los resultados fueron negativos ante la presencia de anticuerpos contra virus de influenza A. Estadísticamente se obtuvo una correlación positiva y significativa de la riqueza de roedores en coberturas forestales a 600 m. Nuestros resultados permiten ampliar el conocimiento de la ecología de los virus de influenza A en hospederos silvestres que tienen interacciones ecológicas complejas y que habitan en ambientes tropicales perturbados por actividades antropogénicas.

INTRODUCCIÓN

Cambio de uso de suelo y emergencia de enfermedades infecciosas

El incremento poblacional de los seres humanos puede provocar cambios al nivel del paisaje debido al aumento de las actividades que permiten su subsistencia y desarrollo. Dichas transformaciones se ven reflejadas en gran medida en el cambio de uso de suelo que sufren los ecosistemas. De acuerdo con la Plataforma Intergubernamental Científico-Normativa sobre Diversidad Biológica y Servicios de los Ecosistemas (IPBES, 2020, p. 18), el cambio de uso de suelo se define como “la transformación total o parcial de un paisaje natural a un ecosistema agrícola, urbano o cualquier otro dominado por hábitats antropogénicos”. A pesar de que las actividades antropogénicas generan servicios, recursos y comodidades para la sociedad, el cambio de uso de suelo puede provocar efectos negativos sobre los ecosistemas y la salud de las comunidades de animales domésticos y silvestres, incluyendo a los seres humanos (Brearley *et al.*, 2013; IPBES, 2020; Glidden *et al.*, 2021).

Las consecuencias de la modificación del uso del suelo se pueden desencadenar de manera paulatina en una dinámica de causa y efecto. Uno de los principales efectos observables son las alteraciones en las interacciones ecológicas, lo cual implica modificaciones entre las relaciones de aquellas especies que solían vivir en un hábitat previo a la perturbación y que ya tenían una estructura establecida de comportamientos, movimientos y hábitos (Gottdenker *et al.*, 2014; Vinson *et al.*, 2022).

El aumento en la transmisión de enfermedades y el cambio de uso de suelo son de las principales causas de la pérdida de especies de fauna silvestre. Principalmente nos referimos a aquellas especies que no soportan la perturbación antropogénica debido a la destrucción y/o pérdida de su hábitat y a la consecuente falta de recursos, como la escasez de comida o

agua y la disminución de espacios de resguardo (Plowright *et al.*, 2017; Gibb *et al.*, 2020; Vinson *et al.*, 2022). De este modo, dependiendo de la intensidad y el tipo de cambio en el uso de suelo, se verán más afectadas aquellas especies que son especialistas de hábitat y que necesitan condiciones particulares para su supervivencia. Además, los patrones y procesos ecológicos que modifican el paisaje pueden afectar la diversidad genética de las poblaciones de animales silvestres que se adaptan a los ecosistemas antropizados, modificando su resistencia, supervivencia y susceptibilidad a ciertas enfermedades infecciosas (Plowright *et al.*, 2017; Gibb *et al.*, 2020). Sin embargo, las perturbaciones antropogénicas también pueden favorecer a algunas poblaciones de animales silvestres a tal grado que existen especies que son altamente resistentes al cambio de uso de suelo y que incluso se ven favorecidas a tal grado que aumentan su densidad poblacional (Gibb *et al.*, 2020). Dentro de las razones por las que ciertas especies logran proliferar se encuentran: 1) la disminución de otras especies que fungen como depredadores; 2) la eliminación de especies que funcionan como su competencia directa, provocando así un aumento de recursos como alimento, acceso a fuentes de agua y refugio; y 3) la capacidad de las poblaciones de ser generalistas de hábitat (Dirzo *et al.*, 2014; Young *et al.*, 2015; Arce-Peña *et al.*, 2019). Existen otras especies capaces de adaptarse a perturbaciones antropogénicas mayores como la urbanización y que, además, se ven favorecidas para obtener recursos como alimento, agua y refugio a partir del ser humano, a estas especies se les conoce como especies sinantrópicas (Hassell *et al.*, 2017). A las especies sinantrópicas se les asocia ecológicamente con el ser humano debido a su capacidad de adaptación a paisajes antropizados (McFarlane, Sleight y McMichael, 2012). Algunos grupos taxonómicos de aves y mamíferos tienen comportamiento sinantrópico y han sido evaluados ante los efectos del cambio de uso de suelo a diferentes intensidades; en esta valoración se concluyó que la

abundancia de algunas especies del orden de aves Passeriformes y de los órdenes de mamíferos Chiroptera y Rodentia suelen permanecer estables o incrementan dependiendo del grado de perturbación antropogénica, mientras que en el caso del orden de aves Psittaciformes y los órdenes de mamíferos Carnívora y Primates, su abundancia disminuye conforme aumenta la antropización del paisaje (Gibb *et al.*, 2020). Estos resultados indican que las perturbaciones antropogénicas pueden tener un efecto positivo o negativo dependiendo de cada grupo taxonómico y su capacidad de resiliencia.

Las especies que tienen la capacidad de sobrevivir a la antropización se han asociado con agentes infecciosos que generan enfermedades infecciosas emergentes. Aunque estas especies se consideran como una de las causas relacionadas con la proliferación de este tipo de enfermedades, se ha estudiado que el cambio de uso de suelo es la razón principal por la que las enfermedades infecciosas aparecen (Brearley *et al.*, 2013; Gibb *et al.*, 2020). Las enfermedades infecciosas emergentes son aquellas en las que el agente infeccioso involucrado es desconocido para el ser humano pero que, debido a un proceso evolutivo, dicho agente puede afectar a un nuevo hospedero y suele ser detectado debido a que su diseminación aumenta drásticamente en una población y área geográfica determinada (Hassell *et al.*, 2017; Holmes, 2022). Aquellos agentes infecciosos que generan enfermedades emergentes comienzan a ser un problema de salud de mayor interés cuando ocasionan epidemias que se convierten en pandemias para la población humana (IPBES, 2020). La mayoría de las enfermedades emergentes que afectan a los seres humanos son zoonóticas, es decir, el agente infeccioso que produce la enfermedad tiene su origen en animales, principalmente animales silvestres, y puede transmitirse a los seres humanos. No obstante, es importante aclarar que las zoonosis pueden suceder en sentido contrario: los seres humanos también pueden transmitir sus agentes infecciosos a otros animales, por lo

que las zoonosis se consideran un fenómeno bidireccional entre animales (silvestres y domésticos) y seres humanos (Olival *et al.*, 2017; Plowright *et al.*, 2017). A la transmisión de agentes infecciosos entre dos hospederos de diferentes grupos taxonómicos se le conoce como salto taxonómico o “*spillover*”. Mientras que cuando este agente infeccioso se establece en el ser humano y nuevamente se transmite a una comunidad de animales silvestres, diferente a la original, se le conoce como zoonosis inversa o “*spillback*” (Plowright *et al.*, 2017; Fagre *et al.*, 2022). En los últimos años, el estudio de estos fenómenos ha sido de gran importancia porque afectan tanto a la salud humana y animal, como a la conservación de especies silvestres y ecosistemas.

Los saltos taxonómicos se pueden originar por la alteración de factores ecológicos y evolutivos que favorecen la adaptación de los agentes infecciosos a nuevos hospederos (Lloyd-Smith *et al.*, 2009; Olival *et al.*, 2017). En el ámbito evolutivo, la cercanía filogenética entre los patógenos y los hospederos (hospederos originales y nuevos hospederos) es un factor clave que incrementa la probabilidad de transmisión del agente infeccioso (Hassell *et al.*, 2017; Plowright *et al.*, 2017). Esto quiere decir que, entre más similitud filogenética presente una especie con el ser humano, mayor será la probabilidad de compartir y contraer agentes infecciosos. Es así que existen grupos taxonómicos de mayor interés por la cercanía filogenética que tienen con el ser humano como es el caso de los primates (Olival *et al.*, 2017). Por otro lado, en el ámbito ecológico es importante considerar que, ante transformaciones drásticas en el ambiente, principalmente antropogénicas, se alteran los patrones de transmisión de enfermedades que comúnmente no se modificarían sin dichos cambios (Hassell *et al.*, 2017; Olival *et al.*, 2017; Plowright *et al.*, 2017). Las modificaciones en las interacciones entre el humano y los animales domésticos con los animales silvestres generan un aumento de la prevalencia de algún

patógeno, principalmente de origen zoonótico, lo cual también incrementa la probabilidad de que emerja una enfermedad infecciosa (Han *et al.*, 2015; Hassell *et al.*, 2017).

Conocer los principales impulsores que predisponen la emergencia de las enfermedades infecciosas es de gran relevancia debido al aumento en la ocurrencia de estos eventos en los últimos 100 años. La distribución espacial de casos de emergencia de enfermedades infecciosas registrados entre 1940 y 2008 permite que se reconozca a los bosques tropicales como los ecosistemas con mayor riesgo de presentar dichos eventos (Allen *et al.*, 2017). Esto se debe a los procesos de perturbación antropogénica que sufren los ecosistemas tropicales a causa del cambio de uso de suelo, las prácticas descontroladas de ganadería, agricultura que generan pérdida de hábitat, la alta densidad de animales domésticos que coexisten y tienen interacción con animales silvestres y la gran riqueza de mamíferos silvestres que se reconocen como hospederos de agentes infecciosos (Gibb *et al.*, 2020; Johnson *et al.*, 2020; Glidden *et al.*, 2021). Otro propulsor determinante es la participación de especies hospederas implicadas en la transmisión de agentes infecciosos zoonóticos como los murciélagos, primates no humanos y roedores por lo que es indispensable monitorear y determinar la capacidad de albergar y transmitir agentes infecciosos en hospederos silvestres que se distribuyen en ecosistemas tropicales modificados por actividades antropogénicas.

Efectos del cambio de uso de suelo sobre las enfermedades transmitidas por roedores

Los cambios en el uso de suelo generan alteraciones en la composición y estructura de las comunidades de animales silvestres, lo cual a su vez modifica la dinámica de transmisión de diversos agentes infecciosos. En general estos cambios incrementan la prevalencia de diversas enfermedades debido a la adaptación de especies consideradas como hospederos

reservorios; se considera hospedero reservorio a aquellos individuos que naturalmente tienen la capacidad de albergar al agente infeccioso y este último, a su vez, depende del hospedero reservorio para su multiplicación y transmisión a otro hospedero susceptible (Olival *et al.*, 2017; Plowright *et al.*, 2017; Gibb *et al.*, 2020; IPBES, 2020; García-Peña *et al.*, 2021). Un ejemplo claro de este fenómeno se encuentra en las comunidades de roedores, ya que tienen un efecto marcado ante los cambios antropogénicos debido a que modifican su abundancia, su estructura y la composición de sus comunidades lo cual genera que se vean favorecidas aquellas especies de roedores que se consideran como reservorios (Mendoza *et al.*, 2020; García-Peña *et al.*, 2021).

Ahora bien, para entender mejor el efecto del cambio en el uso del suelo sobre las comunidades de roedores es importante describirlos como grupo taxonómico. Se sabe que el orden de los roedores tiene una capacidad de adaptabilidad ante diversos tipos de ecosistemas tan alta que se ha reportado que se encuentran en todos los continentes a excepción de la Antártida (García-Peña *et al.*, 2021). Además, es el orden de mamíferos con mayor abundancia, pues representan el 42% de los mamíferos a nivel mundial con un total aproximado de 2600 especies, por lo que se ha considerado como el orden con mayor número de agentes infecciosos zoonóticos (Johnson *et al.*, 2020; García-Peña *et al.*, 2021; Lacher *et al.*, 2021). Al tener estas dos cualidades se ha observado que existen ciertas especies de roedores capaces de mantenerse cerca de las poblaciones humanas y, por ende, el cambio en el uso de suelo no repercute de manera adversa en algunas de ellas, principalmente en aquellas consideradas como reservorios de agentes infecciosos.

Las especies de roedores reconocidas como reservorios presentan características que permiten su adaptabilidad ante perturbaciones en su hábitat; por ejemplo, tienen un ciclo de vida mucho más acelerado en comparación con aquellos roedores que no son considerados

como especies reservorias (García-Peña *et al.*, 2021). Esto quiere decir que alcanzan la madurez sexual a edades tempranas, lo cual les permite reproducirse y, como tienen períodos de gestación cortos, logran aumentar drásticamente la densidad de sus poblaciones, ya que, además, sus camadas suelen ser numerosas (Han *et al.*, 2015; Mendoza *et al.*, 2020). Un dato interesante sobre las especies que tienen un ciclo de vida rápido es que no suelen invertir muchos recursos energéticos en su sistema inmune por lo que éste no es tan especializado en sus respuestas inflamatorias ante un agente infeccioso; sin embargo, evolutivamente les ha permitido tener un sistema inmune más efectivo, el cual, además, les ha dado la oportunidad de sobrevivir en diferentes tipos de hábitats con una distribución global. También se ha detectado que el sistema inmune de aquellas especies con un periodo de vida más rápido monta una respuesta inmune innata más eficiente y esto les permite ser transmisores de una mayor cantidad de agentes infecciosos (Plourde *et al.*, 2017; Keesing y Ostfeld, 2021). Esto convierte a los roedores reservorios de agentes infecciosos en elementos importantes en el ciclo de transmisión de enfermedades, principalmente en ambientes de interfaz entre el ser humano, los animales domésticos y la fauna silvestre.

Asimismo, existen estudios más específicos que evalúan la capacidad de especies de roedores reservorios junto con los no-reservorios ante los efectos del cambio y uso de suelo. Ellos indican que el cambio de uso de suelo tiene un efecto positivo en la abundancia y densidad de especies de roedores reservorios. Sin embargo, esto depende mucho del tipo de impacto antropogénico y del agente infeccioso que se esté evaluando (Morand *et al.*, 2015; Young *et al.*, 2017; Mendoza *et al.*, 2020). Es importante hacer hincapié en que existen muchos otros factores a considerar para hacer esta evaluación, por ejemplo, se podrían considerar factores como el tipo de estudio (longitudinal o transversal), el clima en el que se esté trabajando, las interacciones entre poblaciones y comunidades que se generen en la

modificación del hábitat, el tipo de ecosistema, y cómo todos estos factores afectarían a las comunidades de roedores (Young *et al.*, 2017; Arce-Peña *et al.*, 2019; Mendoza *et al.*, 2020). Los estudios realizados a través de un meta-análisis han buscado responder cómo son los efectos del cambio en el uso de suelo en las comunidades de roedores y han llegado a una conclusión clara y positiva en el aumento de las densidades poblacionales de estos roedores reservorios (Mendoza *et al.*, 2020). Aun así, siempre es importante mantener en observación a los roedores, pues, a pesar de ser un orden de mamíferos tan resiliente y adaptable, factores como las aceleradas y severas modificaciones de los ecosistemas, la escasez de los recursos, el cambio climático, y los múltiples cambios generados por el humano en los últimos años pueden hacer que aquellas especies de roedores que aparentemente están libres de cierto patógeno puedan dejar de estarlo, ocasionando que lo que antes era algo “predecible”, ya no lo sea en la actualidad. No se puede generalizar ideas y teorías cuando tratamos con variables tan cambiantes y poco estables como lo son las que se consideran en este estudio, por lo que se debe mantener monitoreos constantes que incluyan sujetos de estudio tan relevantes como los roedores para así evitar omitir un evento importante para la salud humana y animal.

La evaluación de la cantidad de agentes infecciosos que albergan las especies de roedores consideradas como reservorios ha arrojado datos interesantes que enfatizan la razón por la que en los últimos años ha sido tan relevante enfocarse en este grupo de estudio. Dentro de los posibles agentes infecciosos que pueden transmitir los roedores se encuentran virus, bacterias, hongos, helmintos y protozoarios; se han detectado más de 60 posibles zoonosis, entre las cuales existen enfermedades que han tenido gran relevancia en la salud pública como la salmonelosis, la peste bubónica, leptospirosis, leishmaniasis, toxoplasmosis, babesiosis, fiebre de Lassa, síndrome pulmonar por hantavirus y enfermedad de Lyme (Han

et al., 2015; Dahmana *et al.*, 2020). Aunado a esto, existen algunas especies de roedores que se conocen como “*super-host*” porque pueden albergar de dos a once agentes infecciosos con potencial zoonótico; es decir, los roedores “*super-host*” tienen la capacidad de mantener más de un agente infeccioso capaz de dar un salto taxonómico que afecte a la salud humana (Han *et al.*, 2015). Debido a esto, en el estudio específico de los virus zoonóticos, el Orden Rodentia es primordial, pues incluso se ha registrado que, más que otro grupo taxonómico, ellos son la fuente de más de la mitad de los virus zoonóticos que se originan en los mamíferos (Johnson *et al.*, 2020; Keesing y Ostfeld, 2021).

Los estudios recientes que se enfocan en las enfermedades emergentes y en las zoonosis se orientan al estudio de los virus. En ellos se ha identificado que los virus son los agentes infecciosos que mayor número de enfermedades emergentes ha causado debido a la gran cantidad de virus que existen en los roedores en comparación con las bacterias o los hongos (Han *et al.*, 2015). Existen diversas interfaces entre los seres humanos y los roedores en las cuales los ciclos de transmisión de los virus se pueden ver favorecidos. La mayoría de los brotes generados por estos virus se deben al contacto directo o indirecto con los roedores reservorios (Williams *et al.*, 2021). Dentro de los posibles ciclos de transmisión que existen en las poblaciones de roedores y los humanos se encuentran: 1) a través del contacto indirecto con los roedores a partir de partículas secretadas como orina, heces y saliva que pueden permanecer en superficies, aerosoles o líquidos por lo que pueden ser aspiradas o consumidas (agua o alimentos contaminados) por los seres humanos; y 2) a través de contacto directo con el roedor como lo sería una mordedura, o incluso en algunos estados de México se ha reportado la transmisión por medio del consumo de la carne de los roedores (Barragán, Retana y Naranjo, 2007; Williams *et al.*, 2021). Al identificar los ciclos de transmisión de los diversos agentes virales es posible tener más información sobre los virus

zoonóticos, las especies de roedores silvestres con las que se les asocia para así establecer medidas de prevención.

Esto es fundamental ya que existen virus que, dentro de su patogenicidad, no afectan la salud de los roedores, pero persisten en los individuos, y podemos determinar que son una fuente importante de transmisión de enfermedades de origen viral (Williams *et al.*, 2021). El hantavirus es un ejemplo de virus zoonótico muy estudiado debido a la gravedad de la enfermedad que provoca. Se estima que existen al menos diez especies de hantavirus provenientes de los roedores capaces de producir enfermedades graves en el humano como lo es el síndrome pulmonar por hantavirus en América (Eastwood *et al.*, 2018). Se sabe que se transmite al humano cuando éste aspira partículas infecciosas de las heces u orina del roedor reservorio por lo que su ciclo de transmisión se genera a partir del aumento de la interacción entre el humano y los roedores reservorios (Langlois *et al.*, 2001). Se han reportado brotes de esta enfermedad en hábitats modificados por el humano, principalmente en diversas zonas de bosques en América, en donde los cambios en el uso de suelo han ido en aumento debido a las producciones agrícolas y ganaderas, provocando así el aumento de la interacción entre el ser humano con los roedores reservorios, los cuales incrementan sus poblaciones al ser favorecidos por las modificaciones antropogénicas. Muchos de estos estudios se han realizado en diversos países en donde se han registrado brotes importantes de hantavirus como es el caso de Estados Unidos, Canadá, Panamá, Paraguay, Brasil, Chile y México (Langlois *et al.*, 2001; Suzán *et al.*, 2008; Milazzo *et al.*, 2012; Rubio, Ávila-Flores y Suzán, 2014; Eastwood *et al.*, 2018; Curtis *et al.*, 2019). Este ejemplo nos ayuda a demostrar la importancia del estudio del efecto del cambio en el uso del suelo sobre las enfermedades transmitidas por los roedores.

Al integrar todas las características anteriormente descritas sobre los roedores queda

claro que aquellos que son reservorios pueden tener la capacidad de sobrevivir a diversos gradientes de perturbación antropogénica debido a sus ciclos de vida rápidos, a sus hábitos generalistas de hábitat y a su afinidad sinantrópica (Mendoza *et al.*, 2020). Esto es significativo porque el aumento de las poblaciones de especies de roedores reservorios trae consigo el incremento de la prevalencia de agentes infecciosos con los que se les asocia, y, junto a su cualidad sinantrópica, los convierten en el puente por excelencia entre el ser humano, algunos vectores, la fauna silvestre y la fauna doméstica (Han *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2018). Por todas estas características y la gran riqueza de agentes infecciosos zoonóticos que poseen, los roedores silvestres son un excelente modelo de estudio para comprender la ecología de diversas enfermedades infecciosas, principalmente de aquellos agentes involucrados en ciclos de transmisión multi-hospedero, los cuales no han sido tan explorados desde un enfoque eco-epidemiológico en nuestro país.

Parásitos asociados con roedores en México

En el área de ecología de enfermedades, el estudio de las asociaciones parásitos-roedores silvestres aún se encuentra en desarrollo y presenta diversos vacíos y oportunidades de investigación. Se han realizado pocas investigaciones en los últimos veinte años y las que se han hecho se concentran en grupos particulares de agentes infecciosos (Colunga *et al.*, 2019). La mayoría de los estudios de enfermedades en roedores en nuestro país se concentra en ciertas enfermedades zoonóticas relacionadas con las bacterias *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Leptospira interrogans*, *Rickettsia typhi* y *Borrelia burgdorferi* (Torres-Castro *et al.*, 2018; Rodríguez-Rojas *et al.*, 2020; del Carmen Gutiérrez-Castillo, Henri Paasch-Martínez y Leticia Calderón-Apodaca, 2022). Algunos protozoarios como *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp. (Orduña-Mayares *et al.*, 2022; Torres-Castro *et al.*, 2022). Pocos helmintos *Hymenolepis* spp. y

Hydatigera taeniaeformis (Panti-May, Torres-Castro y Hernández-Betancourt, 2021) y ciertos virus como Hantavirus y Flavivirus (Milazzo *et al.*, 2012; Baak-Baak *et al.*, 2018; Colunga *et al.*, 2019). Son pocos los estudios que se enfocan en la relación entre los virus y los roedores silvestres, y son aún más escasos los estudios que relacionan la prevalencia de agentes zoonóticos en roedores silvestres con los cambios en el uso de suelo. Con excepción de los hantavirus, en donde sí se ha relacionado la disminución de los bosques en México con el aumento en la prevalencia de esta enfermedad, en la mayoría de los estudios no se ha explorado lo suficiente la relación en la detección de los agentes infecciosos con el cambio en el uso de suelo de los paisajes y ecosistemas mexicanos, dejando de lado la posibilidad de relacionar a otros agentes infecciosos de los roedores con los cambios antropogénicos que han ido en aumento en los últimos años y que en un futuro pueden llegar a afectar la salud pública.

Este vacío de información y falta de estudios es motivo suficiente para comenzar a realizar una vigilancia constante de otras familias de virus que comparten características genéticas y ecológicas similares a las de aquellos que generan enfermedades zoonóticas en los seres humanos, lo cual también es fundamental para prevenir enfermedades emergentes futuras. Dentro de estas características genéticas relevantes se encuentran los virus con material genético RNA y con genoma segmentado, ya que pueden generar reordenamientos en algunos genes que, junto con la disminución de la corrección de errores durante la replicación del genoma viral, dan la oportunidad de generar mutaciones. Esto, a su vez, evolutivamente ha permitido que estos virus se adapten a muchos hospederos y persistan en el ambiente (Woolhouse, Adair y Brierley, 2013; Carrasco-Hernandez *et al.*, 2017). Además, los factores ambientales como el cambio y uso de suelo en los sitios donde se establecen estos virus pueden generar cambios en su dinámica de transmisión junto con sus

hospederos reservorios permitiendo que estos virus se adapten a nuevos hospederos susceptibles (Carrasco-Hernandez *et al.*, 2017). Considerando lo anterior, podemos mencionar algunas familias virales que cumplen con características que les permiten infectar a diversos hospederos y ser de importancia en la salud pública y en la salud animal, tal es el caso de los coronavirus y los influenzavirus (Yang *et al.*, 2022).

Roedores como hospederos de virus de influenza A

Los virus de influenza tienen características particulares que permiten comprender mejor su alta adaptabilidad, su capacidad multi-hospedera y cómo estas singularidades favorecen que se conviertan en un agente infeccioso de gran importancia en el área eco-epidemiológica. Los virus de influenza pertenecen a la familia *Orthomyxoviridae* y debido a la gran diversidad de virus de influenza se han clasificado de acuerdo con su género, especie, tipo y subtipo. De acuerdo con esta clasificación, los virus de influenza cuentan con cinco géneros: *Alphainfluenzavirus*, *Betainfluenzavirus*, *Gammainfluenzavirus*, y *Delatinfluenzavirus*, cada uno con sus respectivas especies, virus de influenza A, virus de influenza B, virus de influenza C y virus de influenza D. Los virus de influenza cuentan con un genoma que se compone de segmentos de RNA de cadena sencilla con polaridad negativa; los virus de influenza A y B cuentan con ocho segmentos de genoma RNA, mientras que los virus C y D cuentan con siete (Krammer *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2022). Los virus de mayor importancia en la salud pública y animal son los de influenza A debido a su capacidad multi-hospedera. Estos virus están envueltos en una capa lipídica en la que se encuentran tres glicoproteínas virales integrales, la hemaglutinina (HA), la neuraminidasa (NA) y la proteína de membrana (M2), las cuales rodean a la proteína de matriz (M1) que es la que contiene los ocho segmentos de RNA viral (Krammer *et al.*, 2018). El genoma viral está rodeado por la nucleoproteína (NP) asociada a un complejo

proteico constituido por tres proteínas llamadas polimerasa básica 1 (PB1), polimerasa básica 2 (PB2) y polimerasa ácida (PA), que componen la RNA polimerasa viral, por último, se encuentra la proteína de exportación viral (NEP), también conocida como la proteína no estructural 2 (NS2) (Krammer *et al.*, 2018) (Fig. 1).

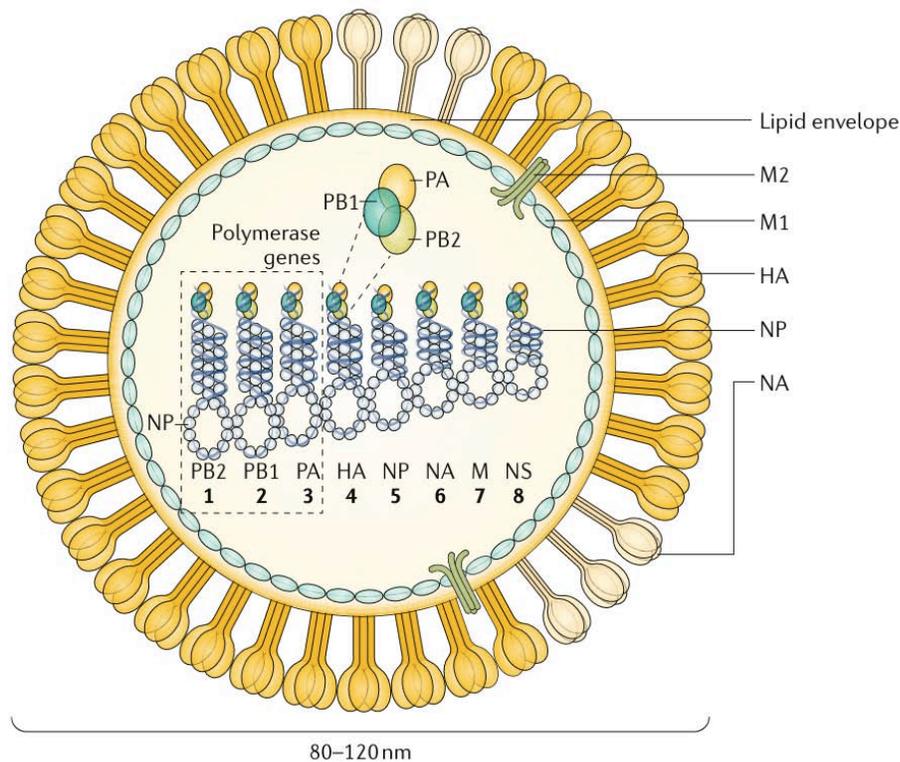


Figura 1.- Representación gráfica de la estructura de una partícula de virus de influenza A o influenza B. Se señalan los elementos del exterior hacia el interior: la envoltura lipídica (*lipid enveloped*) junto a las glicoproteínas (HA, NA, M2), y la proteína matriz (M1) que cubre a los 8 segmentos del genoma RNA rodeado por su nucleoproteína (NP) y su complejo proteico (PB1, PB2, PA). Tomado de: Krammer *et al.*, 2018.

Las dos glicoproteínas virales HA y NA que se encuentran en la superficie de la partícula viral son las principales determinantes de patogenicidad de los virus y se utilizan para la clasificación del subtipo de virus (Krammer *et al.*, 2018). Existen 18 tipos diferentes de HA

y 11 de NA que se han identificado en diversos hospederos que van desde animales domésticos hasta animales silvestres y seres humanos. Además, se ha identificado que cada especie de virus de influenza (A, B, C y D) tiene la capacidad de infectar a diversos hospederos, pero sin duda, los virus de influenza A abarcan a un mayor número de hospederos en comparación con otras especies (Fig. 2).

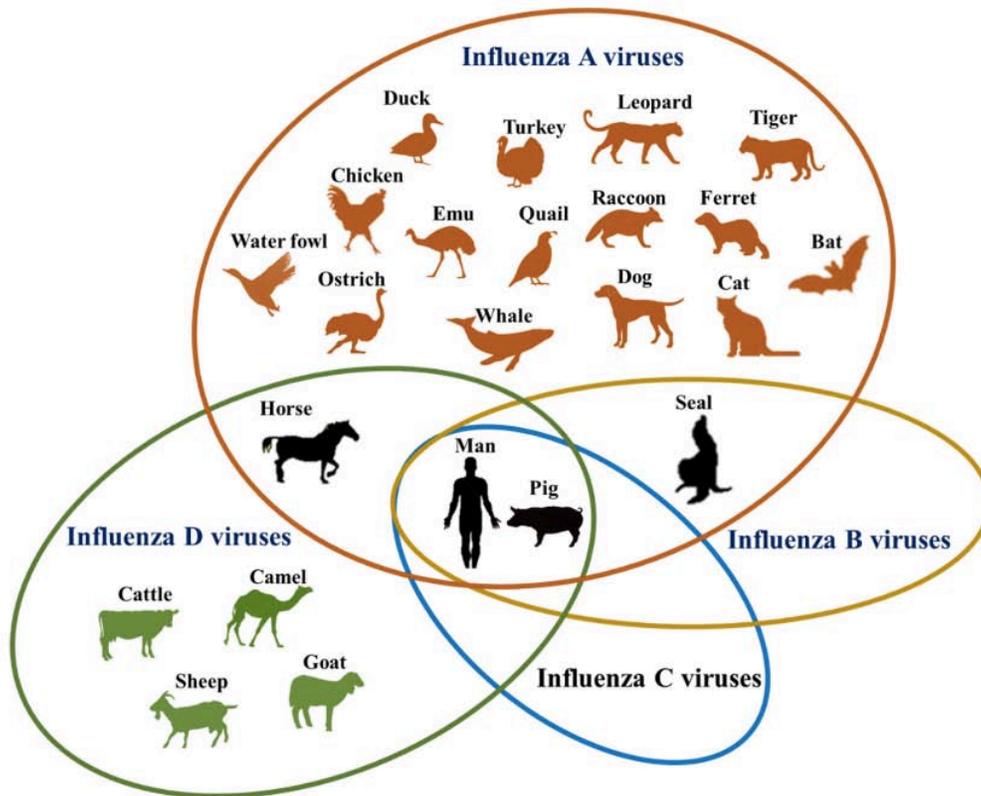


Figura 2.- Diversidad de hospederos que abarcan los virus de influenza de acuerdo con la especie. Aquellos hospederos que se superponen en más de un óvalo pueden llegar a ser susceptibles a más de una especie de virus. Tomado de: Kuchipudi y Nissly, 2018.

La capacidad de infectar a una gran cantidad de hospederos que van desde el ser humano y animales domésticos hasta aves y mamíferos silvestres hace que el monitoreo de los virus de influenza A sea más relevante para evaluar así tanto la salud humana como la animal (Kuchipudi y Nissly, 2018). A pesar del estudio constante de los virus de influenza A en

diversos hospederos se siguen reportando brotes y serovariedades nuevas. Algunos ejemplos que han causado gran interés en la última década son los virus de influenza A en una nueva especie de aves: los pingüinos africanos (*Spheniscus demersus*) en Namibia, África con la serovariedad H5N8 del 2020, así como el reporte de nuevas HA (H17 y H18) y NA (N10 y N11) en murciélagos de Centroamérica en el 2011 y 2013 (Tong *et al.*, 2013; Molini *et al.*, 2020). Estos ejemplos permiten comprender que a pesar de la gran cantidad de estudios que existen sobre los virus de influenza A, se siguen encontrando casos y serovariedades no descritas debido a las características ecológicas y evolutivas de estos virus que les permiten ser tener un sistema multi-hospedero y generar saltos taxonómicos relevantes para la salud pública y la animal.

Los virus de influenza A pueden dar saltos taxonómicos de sus reservorios principales, las aves silvestres, hacia otros hospederos como las aves de producción, los mamíferos silvestres y domésticos o incluso el ser humano. Algo que ha permitido que los virus de influenza A den estos saltos taxonómicos, además de su alto rango de mutación por su genoma RNA segmentado y la falta de mecanismos de corrección de errores durante la replicación del genoma viral, es la deriva y el cambio antigénicos (Kuchipudi y Nissly, 2018). La deriva antigénica es el proceso evolutivo y adaptativo de los virus en el que mutan sus proteínas de superficie, es decir, los sitios antigénicos para que el sistema inmune del hospedero no logre reconocerlos (Kuchipudi y Nissly, 2018). Por otro lado, el cambio antigénico es el proceso a partir del cual dos virus de influenza se combinan generando un virus nuevo y diferente (Kuchipudi y Nissly, 2018). A pesar de que estos mecanismos evolutivos raramente tienen éxito para lograr infectar a nuevos hospederos, existen ejemplos de virus de influenza A en donde han resultado efectivos y han provocado importantes epidemias y pandemias (Kuriakose, 2017; Bi, Li y Shi, 2022).

A lo largo de la historia de la humanidad se han descrito varias pandemias producidas por virus de influenza A. Algunas que podemos mencionar son la gripe rusa en 1889-1890 (H1N1), la gripe española en 1918-1920 (H1N1), la gripe asiática en 1957-1958 (H2N2), la gripe de Hong Kong en 1968-1969 (H3N2), y la pandemia H1N1 en 2009-2010 (Kuriakose, 2017; Bi, Li y Shi, 2022). Se ha confirmado con análisis filogenéticos que la causa de estas pandemias es el reordenamiento del genoma viral entre virus de origen animal y virus de origen humano (Bi, Li y Shi, 2022). En años recientes se han registrado infecciones en humanos con virus emergentes de influenza A de origen aviar de diversas serovariedades en China (Bi, Li y Shi, 2022) (Fig. 3). Estos brotes resaltan el riesgo actual y constante de que se origine una pandemia a raíz de los virus de influenza A si no se mantiene un monitoreo epidemiológico riguroso, sobre todo en hospederos poco estudiados.

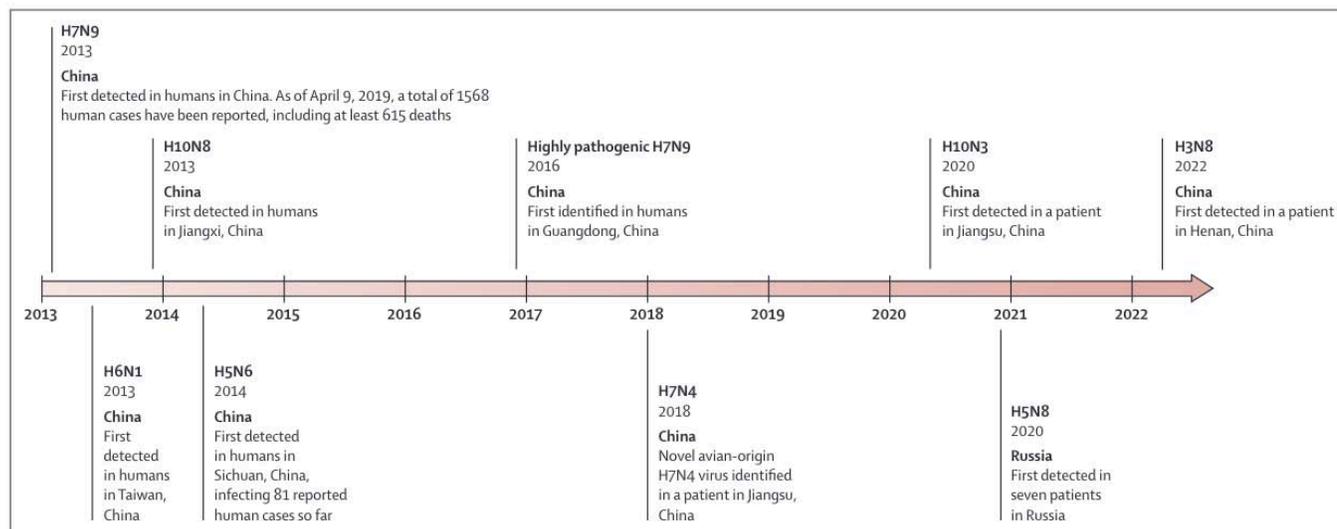


Figura 3.- Infecciones emergentes de virus de influenza A aviar en humanos del 2013 al 2022 en China. En esta línea del tiempo se representan los primeros reportes de infección en humanos de los virus de influenza A con las serovariedades H7N9, H6N1, H10N8, H5N6, H7N4, H10N3, H5N8 y H3N8. Tomado de: Bi, Li y Shi, 2022.

Además de las pandemias que han marcado la historia de la humanidad, en años recientes

se han realizado estudios de los virus de influenza A en mamíferos silvestres, principalmente en mamíferos sinantrópicos para comprender mejor los mecanismos de transmisión de estas especies hacia animales domésticos que puede ocasionar pérdidas económicas graves (Vandalen *et al.*, 2009; Choi *et al.*, 2015; Root y Shriner, 2020). Algunos grupos taxonómicos en los que se han encontrado virus de influenza A incluyen los lagomorfos, los cánidos, los félidos, los mustélidos, los artiodáctilos, los prociónidos y los roedores. Estos estudios se realizaron en una gran variedad de hábitats y países entre los cuales se encuentran Rusia, China, Egipto, Estados Unidos, Corea, España y México (Root y Shriner, 2020). Aunque es amplio el rango de hospederos en los que los virus de influenza A tienen éxito en replicarse, es evidente la falta de información que existe en muchos grupos de mamíferos silvestres y la importancia de seguir estudiando a aquellos que tienen gran potencial de mantener contacto con el ser humano, la fauna silvestre y los animales domésticos.

La asociación eco-epidemiológica de los roedores silvestres con los virus de influenza A ha sido explorada muy superficialmente bajo contextos muy específicos y en pocos países. Los Estados Unidos de América es uno de los países que ha comenzado a investigar más sobre esta asociación y han identificado que roedores *Mus musculus* y *Rattus norvegicus* que habitan en zonas cercanas a granjas avícolas o a áreas urbanas son capaces de infectarse con virus de influenza aviar H3N6, H3N8 y H4N6 asociados a las aves silvestres y con subtipos H4N8 y H6N2 asociados a aves domésticas (Shriner *et al.*, 2012; Cummings *et al.*, 2019). Además, de manera experimental han demostrado que estos virus son capaces de replicarse en algunas especies de roedores como el *Mus musculus*, considerado como un hospedero susceptible y permisible a la infección por virus de influenza (Shriner *et al.*, 2012; Cummings *et al.*, 2019). Estos resultados han permitido suponer que los

roedores con comportamiento sinantrópico podrían participar en la transmisión de los virus de diversas maneras, ya sea que funcionen como hospederos mecánicos o que en su búsqueda de alimento y fuentes de agua se infecten a través del consumo de cadáveres o cuerpos de agua contaminados y posteriormente, transmitan el virus a sus depredadores u otros hospederos (Shriner *et al.*, 2012; Velkers *et al.*, 2017). Otro país en donde algunos investigadores han hecho estudios al respecto, pero bajo un contexto diferente ha sido China que se ha enfocado en realizar análisis metagenómicos de diversos virus en roedores silvestres de los bosques del país y han tenido lecturas asociadas con la familia *Orthomyxoviridae* en las heces de roedores (Yin, Wan y Chen, 2022). Estos resultados sugieren que algunos virus de esa familia están infectando a esos ratones y también permite hipotetizar que podría tratarse de virus de influenza. Fuera de estos países y de estos modelos de estudio, la asociación de los roedores con los virus de influenza sigue sin ser explorada a profundidad a pesar de que estos resultados nos indican que existe la posibilidad de que los roedores formen parte de los ciclos de transmisión de los virus de influenza A.

En México es importante mantener una vigilancia epidemiológica constante de diversas enfermedades emergentes debido al aumento del cambio y uso de suelo en diferentes tipos de ecosistemas. Dentro de la gran diversidad de ecosistemas, los bosques tropicales cuentan con una gran diversidad de mamíferos que tienen el potencial de ser reservorios de enfermedades (Lorenzo-Monterrubio *et al.*, 2017). En los últimos años los bosques tropicales mexicanos se han visto afectados por actividades antropogénicas como la minería, la ganadería y la agricultura, lo que ha aumentado el contacto entre seres humanos y poblaciones de animales silvestres con el potencial de transmitir enfermedades zoonóticas, en particular los roedores (Lorenzo-Monterrubio *et al.*, 2017). Los principales bosques tropicales de México se encuentran al sureste del país, una región comprendida por los

estados de Yucatán, Quintana Roo y Campeche en donde las actividades antropogénicas, como la ganadería y la agricultura, y las actividades de turismo y ecoturismo han ido en aumento provocando que exista mayor interacción de los seres humanos y animales domésticos con los animales silvestres. Algunos estudios en el estado de Campeche vinculan la existencia de los virus de influenza A con animales silvestres. Se reportaron cerdos asilvestrados (*Sus scrofa*) positivos a influenza A por medio del aislamiento y secuenciación del virus H5N2 (Maya-Badillo *et al.*, 2020). Por otra parte, algunos cerdos asilvestrados fueron seropositivos a varios subtipos virales, H1N1, H3N2, H5N2 con orígenes humanos, porcinos y aviáres, lo cual sugiere que estos virus podrían circular en distintos hospederos silvestres y sinantrópicos en diversos ciclos de transmisión (Maya-Badillo *et al.*, 2020). Sin embargo, la información de la relación entre los virus de influenza A y los roedores silvestres en México es nula.

El entendimiento de las características ecológicas y evolutivas de los virus de influenza A junto con sus altos rangos de mutación debe considerar que existe la posibilidad de que se generen adaptaciones de estos virus en diversos hospederos poco estudiados y que son un riesgo latente de que exista un salto taxonómico que podría afectar la salud pública y animal y más si continúa la alteración de los ecosistemas para obtener un beneficio. Por ello se debe mantener un modelo de estudio en el que se abarquen diversos hospederos y que no sólo se centre en los más estudiados o conocidos (Fig. 4).

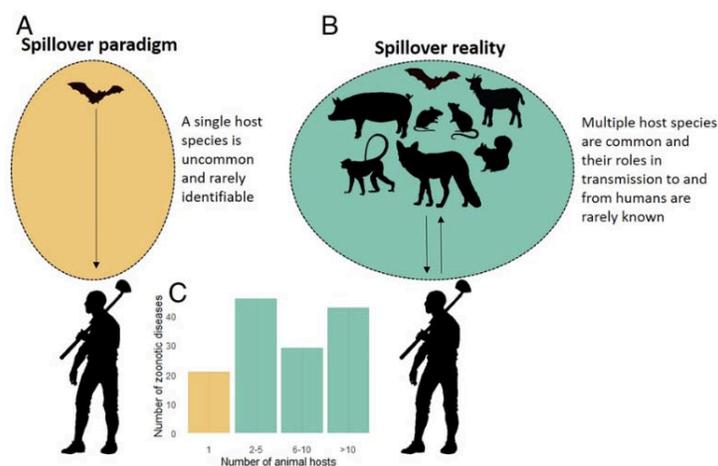


Figura 4.- Modelo de la búsqueda de agentes zoonóticos en humanos. (A) Enfatiza los saltos taxonómicos de una única especie reservorio hacia el humano, eventos raramente identificados y escasos. (B) La realidad de los eventos zoonóticos con múltiples especies hospederas cuyos papeles específicos en los mecanismos de transmisión hacia el humano son desconocidos. (C) Número de enfermedades virales zoonóticas que tienen varias especies de animales hospederas además del humano. Tomado de: Keesing y Ostfeld, 2021.

JUSTIFICACIÓN

Es posible que los roedores formen parte de la transmisión del virus de influenza A, ya que el virus tiene una amplia capacidad de adaptación a nuevos hospederos debido a su evolución continua. Sin embargo, no se especifica si los roedores son capaces o no de transmitir el virus a otras especies o si dentro de la misma especie existe algún tipo de contagio. Debido a esto, resulta de suma importancia reconocer el papel eco-epidemiológico de los roedores en la transmisión y el mantenimiento de virus de influenza A en ambientes en los que podrían tener interacciones con los seres humanos, animales silvestres y domésticos.

HIPÓTESIS

La exposición de virus de influenza A en roedores silvestres de Campeche se podrá ver favorecida en ambientes con diferente grado de perturbación antropogénica causada por la modificación del paisaje generada por las producciones pecuarias, las producciones agrícolas y el desarrollo de asentamientos humanos. Esto en función de que el cambio de uso de suelo genera cambios en la estructura de las comunidades de roedores silvestres y variaciones en la ecología de las enfermedades infecciosas con las que se asocian.

OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar la exposición de los virus de influenza A en roedores silvestres de Campeche, así como la relación que pueden tener las perturbaciones antropogénicas a través del cambio de uso de suelo sobre la prevalencia de estos virus en las comunidades de roedores silvestres.

Objetivos particulares

1. Conocer la riqueza de especies y abundancia de roedores silvestres en ambientes antropizados de Campeche.
2. Identificar la relación que puede tener el cambio de uso de suelo sobre las comunidades de roedores.
3. Identificar la relación que puede tener el cambio de uso de suelo sobre la seroprevalencia de los virus de influenza A.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El trabajo de campo se llevó a cabo en 18 sitios de muestreo distribuidos en los municipios de Carmen, Palizada, Champotón, Escárcega y Calakmul, pertenecientes al estado de Campeche, región del sureste de México (Fig. 5). El estado colinda al norte con Yucatán, al este con Quintana Roo y Belice, al sur con Tabasco y Guatemala, al oeste con Tabasco y el Golfo de México. Debido a su posición geográfica y al tener un frente costero, su clima se ve altamente influenciado por los mares y cuencas hídricas que lo circundan. De manera general, los climas que predominan en el estado son cálidos y semicálidos con lluvias en verano y presencia estacional de la canícula (CONABIO, 2021). La temperatura promedio anual es de 26.6 °C con una precipitación promedio anual de 1272.8 mm (CONABIO, 2021). De acuerdo con la Secretaría de Economía y datos obtenidos del Censo Económico 2019 (INEGI, 2019), las actividades económicas que concentraron mayor número de unidades económicas de los cinco municipios son el comercio al por menor y los servicios de alojamiento temporal y de preparación de alimentos y bebidas. Dentro de las actividades de agricultura, producción animal, aprovechamiento forestal, pesca y caza a nivel nacional, los municipios de Carmen y Champotón son los que tienen mayor número de unidades económicas por parte del estado de Campeche (INEGI, 2019).

Los municipios donde se realizó el estudio presentan diversos grados de perturbación antropogénica del paisaje, por lo que los sitios de muestreo se seleccionaron a través de los siguientes criterios: (i) sitios con fragmentos de bosque tropical en diferentes etapas de desarrollo, (ii) sitios con bosque tropical continuo y (iii) sitios asociados a la presencia de

actividades antropogénicas como ganadería, agricultura, aprovechamiento forestal, carreteras, caminos o asentamientos humanos.

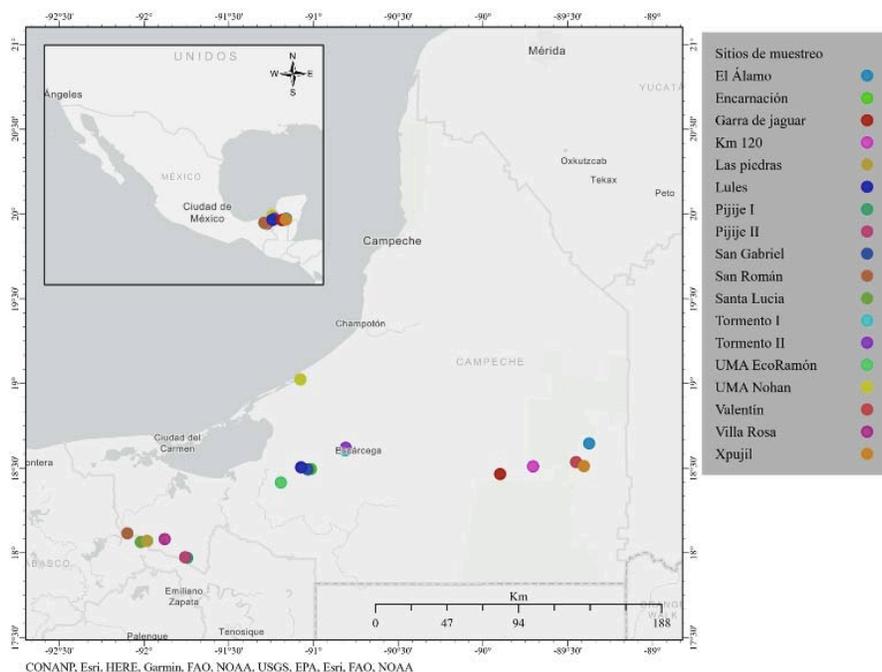


Figura 5.- Mapa de los sitios de muestreo del estado de Campeche. Los puntos de colores representan los 18 sitios donde se realizó el muestreo en los diferentes municipios.

Captura, determinación taxonómica y toma de muestras roedores silvestres

El trabajo de campo se realizó durante los meses de abril, mayo, octubre y noviembre del año 2021. Para capturar a los roedores silvestres se utilizaron 100 trampas Sherman por sitio de muestreo. Se establecieron entre uno y cuatro transectos para colocar las trampas conforme a las dimensiones y la estructura de la vegetación del sotobosque de cada sitio. Para disminuir la competencia entre trampas y el efecto de borde, las trampas se colocaron con ayuda de un flexómetro al menos a 20 metros de distancia de los bordes del bosque y 10 metros de distancia entre cada una de las trampas (Arce-Peña *et al.*, 2019). Se utilizó un GPS

(GARMIN ETREX 32x) para registrar la ubicación espacial de los puntos geográficos en los que se colocaron las trampas (Anexo 1).

Al activar las trampas se utilizó como cebo una mezcla de plátano maduro, avena rolada, crema de cacahuete y esencia de vainilla, la cual se presentó en forma de bola (Rendón-Franco *et al.*, 2014; Torres-Castro *et al.*, 2018). Las trampas se colocaron antes del atardecer y se revisaron tres horas después del amanecer del día siguiente durante dos noches consecutivas por cada sitio de muestreo. Para aumentar el éxito de captura, las trampas en las que se capturó algún roedor fueron colocadas nuevamente sin lavarse con la finalidad de que el olor actuara como atrayente para un nuevo roedor de la misma especie (Brouard *et al.*, 2015). Para evitar la contaminación con otros olores en las trampas y el cebo se utilizaron guantes de nitrilo durante la preparación del cebo, la colocación y activación de las trampas. Se registró el peso, el sexo, la edad (adulto o juvenil), el estado reproductivo (reproductivo, no reproductivo, gestante, lactante o postlactante) y variables morfométricas de los individuos capturados (Fig. 6).

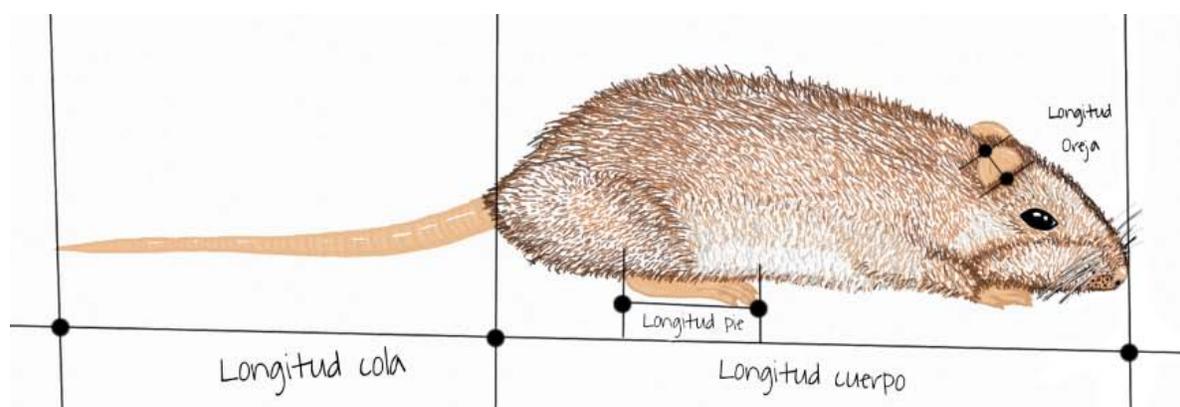


Figura 6.- Medidas morfométricas obtenidas durante el manejo de los roedores. Se observan las siguientes medidas: longitud de la oreja derecha, longitud del cuerpo, longitud del pie derecho y longitud de la cola. Esquema realizado por: pMVZ Karen E. Rivera Rosas.

Para determinar el estado reproductivo de los roedores se utilizaron las variables morfométricas obtenidas durante el manejo de los animales. Se consideraron juveniles no reproductivos a todos los individuos que presentaron valores por debajo de los rangos de las variables morfométricas de los adultos de cada especie. Además, en el caso de las hembras la vulva se observó completamente fusionada y las glándulas mamarias poco desarrolladas. Por otro lado, en el caso de los machos no se observó el descenso de los testículos (Gockel y Ruf, 2001; Massawe *et al.*, 2011).

Se consideraron como adultos reproductivos a aquellos individuos que presentaron medidas morfométricas dentro de los rangos establecidos para cada especie. En el caso de los machos, los testículos se observaron completamente descendidos y en el caso de las hembras se observó la perforación de la vulva (Gockel y Ruf, 2001; Massawe *et al.*, 2011). Para el caso de las hembras adultas se utilizaron las siguientes categorías referentes al estado reproductivo (Gockel y Ruf, 2001; Massawe *et al.*, 2011):

- Hembra gestante: el ejemplar presenta desarrollo evidente de la glándula mamaria y al realizar la palpación abdominal se alcanzan a palpar los fetos.
- Hembra lactante: el desarrollo de la glándula mamaria es evidente y al realizar un ligero masaje en la misma se genera una expulsión de leche.
- Hembra postlactante: los pezones se observan alargados, desprovistos de pelo en los alrededores y al realizar un masaje de la glándula mamaria no existe expulsión de leche.

La identificación de las especies se realizó con apoyo de la guía de campo *A field guide to the mammals of Central America and southeast Mexico* (Reid, 2009) junto con una guía rápida realizada por el C. a DC. MVZ Guillermo Orta Pineda y la pMVZ Karen Elizabeth Rivera

Rosas con apoyo de fotos obtenidas durante el trabajo de campo (Anexo 2). Además, se realizó un listado potencial de las especies registradas en la región, el cual se generó a partir de la revisión sistemática de la literatura científica con la siguiente ecuación de búsqueda: “(rodents) AND (Campeche OR Tabasco OR Chiapas OR Yucatán) AND (Mexico)” entre el año 1980 y el año 2021 a través de la colección principal de la *Web of Science* y *Google Scholar* (Anexo 3).

Para obtener las muestras de sangre de los roedores se realizó una punción intraocular en el plexo retro-orbital (Sikes and the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists, 2016) con el uso de tubos capilares con heparina, y la sangre se depositó en las tiras de papel filtro cubriendo la mayor parte posible de la superficie del papel filtro (Advantec® Nobuto Strips, item # EW-06644-40) (Dusek *et al.*, 2011; Sotomayor-Bonilla *et al.*, 2018; Curtis *et al.*, 2019). Una vez que las tiras de papel filtro estuvieran completamente secas, se colocaron en sobres de papel acomodadas de tal manera que no estuvieran encima unas con otras y se fijaron con cinta adhesiva. Los sobres de papel se almacenaron en bolsas de plástico para evitar que se humedecieran, y se transportaron en un congelador portátil (Astro AI) a -20 °C. Cabe mencionar que no se obtuvieron muestras de sangre de individuos con un peso menor o igual a 10 g para no comprometer la vida del animal (Ott-Joslin, 2009). Para los ejemplares que se mostraron estresados por el manejo y cuya manipulación fue complicada, se utilizó la técnica conocida como “*Open-drop*” para su correcto manejo, así como para evitar fugas o accidentes de mordeduras. La técnica consiste en humedecer un algodón o gaza con isoflurano y colocarlo cerca del ejemplar dentro de un prototipo de cápsula diseñada para animales silvestres de talla pequeña (Fig. 7), evitando así el contacto directo del anestésico para no ocasionar daño en las mucosas del roedor permitiendo la inducción anestésica a través de los vapores que

desprende el anestésico (Leary and American Veterinary Medical Association, 2020). A estos ejemplares posteriormente se les dio eutanasia con una sobredosis de anestésicos para realizar la necropsia y tomar muestras para otros proyectos.

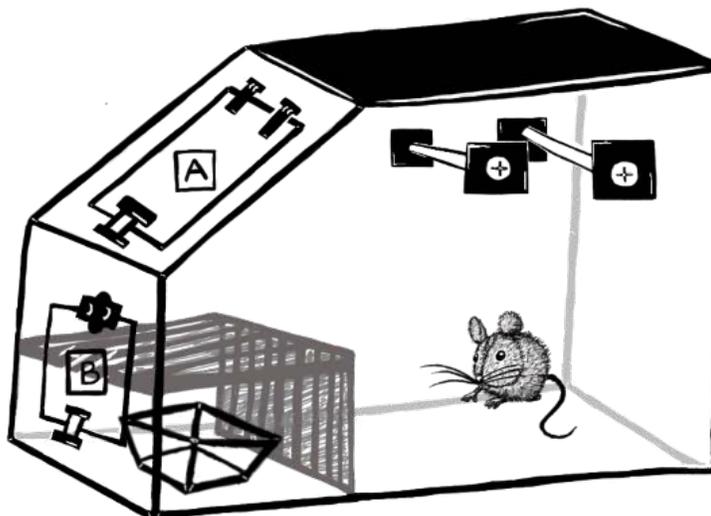


Figura 7.- Prototipo de cámara de anestesia inhalada. Se marcan los accesos como “A” y “B” por donde se ingresa a los roedores y por donde se accede a un recipiente de cristal en donde se coloca el isoflurano en un algodón, respectivamente. La rejilla gris impide que los roedores estén en contacto directo con el isoflurano, pero permite que el gas se distribuya por toda la cámara. Esquema realizado por: pMVZ Karen E. Rivera Rosas.

Consideraciones bioéticas

Este proyecto cuenta con una licencia de colecta científica emitida por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) con número de licencia **SGPA/DGVS/04241/19** a cargo del Dr. Gerardo Suzán Azpiri. Además, cuenta con el protocolo aprobado por el Subcomité Institucional para el cuidado y uso de animales experimentales (SICUAE), con el título de proyecto “Fragmentación del paisaje y ecología de los virus de influenza A en aves silvestres y murciélagos del sureste de México” con el número de protocolo: **SICUAE DC-2021/3-2** de la estudiante de doctorado M. en C. MVZ

Brenda Aline Maya Badillo del cual se deriva este proyecto de investigación.

Detección de anticuerpos contra Influenza A

El suero se obtuvo a partir de las muestras de sangre en las tiras de papel filtro (Sotomayor-Bonilla *et al.*, 2018; Curtis *et al.*, 2019). Para estandarizar la técnica de elución del suero se realizó una adaptación de diferentes protocolos (Anexo 4). Para realizar la elución del suero se colocaron las tiras de papel filtro cortadas en pedazos más pequeños en microtubos con 400 μ l de PBS para lograr obtener una dilución 1:10 de la muestra de sangre original (Dusek *et al.*, 2011). Se dejaron eluyendo las tiras de papel filtro en refrigeración (4 °C) durante 24 h, posteriormente, las muestras se sometieron a baño María a 56°C durante 30 minutos. Finalizado el baño María, las muestras se centrifugaron a 3000 revoluciones por minuto (rpm) durante 5 minutos para obtener el suero del sobrenadante y traspasarlo a un nuevo microtubotubo (Dusek *et al.*, 2011). Los sueros fueron preservados en congelación hasta su posterior procesamiento.

Para conocer la seroprevalencia de los virus de influenza A se utilizó el kit comercial IDEXX Swine Influenza Virus Ab Test siguiendo todas las indicaciones del fabricante para la obtención del diagnóstico serológico de influenza A en los roedores silvestres (IDEXX Laboratories, Inc. Westbrook, ME, USA, modelo: 99-0000900) (Houston *et al.*, 2017; Measures y Fouchier, 2021). Para un mayor detalle de las especificaciones del kit se puede consultar el Anexo 5.

Análisis del paisaje

Para conocer la composición del paisaje de los sitios de muestreo se realizó una clasificación supervisada de las coberturas del paisaje de cada sitio de muestreo. Se utilizaron imágenes satelitales Sentinel-2, obtenidas a través del portal Copernicus Open

Access Hub de acuerdo con las fechas del trabajo de campo. Se utilizaron imágenes multi-espectrales con una resolución de 10 metros por píxel con una configuración de bandas infrarrojo (Red: band 4, Green: band 1 y Blue: band 2) (Orta-Pineda *et al.*, 2021). Se utilizó la clasificación basada en segmentos seleccionando el 80 % de los objetos con apoyo de puntos georreferenciados en campo y se utilizó el método de clasificación de Árboles de Decisión con ArcGIS Pro-3.0. Las coberturas del paisaje clasificadas para el estudio fueron las siguientes:

- Asentamientos humanos: aquellos espacios abiertos que están dominados por actividades humanas como carreteras, casas, comercios y zonas arqueológicas.
- Zonas de agricultura: aquellos espacios en donde hubo una modificación del paisaje y predominan cultivos para consumo del ganado y seres humanos.
- Zonas de pastizales ganaderos: aquellos espacios donde hubo una modificación del paisaje para establecer potreros para el ganado.
- Bosque maduro: aquel bosque que no presenta modificaciones o perturbaciones humanas drásticas en su cobertura en los últimos 100 años o más de acuerdo con los habitantes de la zona y propietarios de los predios. Se caracteriza por una vegetación de lento crecimiento con un periodo de vida larga y especies tolerantes a la sombras (Corlett, 1994; Guariguata y Ostertag, 2001; Bowen *et al.*, 2007; Albrecht, Stallard y Kalko, 2017).
- Bosque joven: aquellos bosques que presentan una alteración drástica de su composición y cobertura en los últimos 100 años, a causa de las actividades humanas o por desastres naturales. Generalmente son áreas que han tenido un periodo de tiempo en desuso y, por lo tanto, la vegetación se encuentra en un proceso de

restauración. Se caracteriza por una vegetación de corto periodo de vida, con especies pioneras de rápido crecimiento y alta demanda de luz solar (Corlett, 1994; Guariguata y Ostertag, 2001; Bowen *et al.*, 2007; Albrecht, Stallard y Kalko, 2017).

Partiendo del desconocimiento sobre cuál escala es la más adecuada para realizar el análisis del paisaje y encontrar un efecto estadístico en las variables de los roedores (riqueza y abundancia) y la seroprevalencia del virus de Influenza A, se decidió analizar las variables a diferentes escalas (Jackson y Fahrig, 2015). Para decidir dichas escalas se investigaron las áreas de actividad y las distancias máximas registradas de las especies capturadas durante el estudio y a partir de ellas se establecieron varios rangos (Wolff, Dueser y Berry, 1985; Medellín, 1992; Sáenz, 1999; Betancourt y López-Wilchis, 2003; Hernández-Betancourt, Cimé Pool y Medina-Peralta, 2008; Hernández-Betancourt *et al.*, 2008). Por último, basándonos en el estudio de Arce-Peña y colaboradores (2019), realizado en un ecosistema similar y con especies de roedores similares, se encontró que hubo una mayor respuesta estadística a ciertas escalas: 400 m, 500 m y 600 m. Es así como, el análisis del paisaje de los sitios de muestreo se decidió hacer en tres escalas diferentes: 400 m, 500 m, y 600 m. Para conocer y clasificar la matriz del paisaje de cada sitio se calculó la proporción de superficie de las coberturas del paisaje en las diferentes escalas.

Análisis de datos

Todos los análisis se realizaron a través de lenguaje de programación R con la interfaz del software RStudio (R versión 4.2.0 (2022-04-22)). Para conocer los valores de diversidad de especies de roedores se tomó como medida la riqueza de especies presentes en cada sitio.

RESULTADOS

Abundancia, riqueza, variables morfométricas y fisiológicas de los roedores capturados.

Con un esfuerzo de muestreo total de 3600 trampas-noche, se capturaron 130 roedores en 15 de los 18 sitios de muestreo; en el sitio de Santa Lucía (s1) y Pijije II (s12) ubicados en el municipio de Palizada y en el sitio Valentín (s10) ubicado en Calakmul no hubo captura de roedores. Por lo que el éxito de captura del muestreo fue de 3.6%. La mayor abundancia de roedores fue en el Tormento I (s14) con un total de 37 individuos, seguido por Xpujil (s18) con 36 (Fig. 8a). De los 130 roedores capturados 66 fueron machos y los 64 restantes fueron hembras. Para el caso de las hembras capturadas, la mayor cantidad de individuos fueron hembras adultas y el estado fisiológico registrado con mayor frecuencia fue de hembras gestantes (Tabla 1). En el caso de los machos, la mayoría de los individuos capturados fueron adultos reproductivos (Tabla 1). No se logró determinar el estado reproductivo de dos individuos de la especie *Peromyscus leucopus*. Se obtuvieron las variables morfométricas y el peso de los roedores, los promedios de métricas de los machos de cada una de las especies fueron mayores en comparación con los valores promedio de las hembras, con la excepción de la especie *Ototylomys phyllotis* (Tabla 2).

Los sitios que presentaron los valores más altos de riqueza de especies fueron Encarnación (s6), Tormento I (s14), Garra de jaguar (s17) y Xpujil (s18) (Fig. 8b). Se pudo observar que la abundancia de cada una de las especies fue muy diferente a pesar de que la riqueza fuera similar en estos sitios. (Fig. 9). En total la riqueza fue de ocho especies diferentes de las cuales las más abundantes fueron *Heteromys gaumeri* (34/130), *Peromyscus yucatanicus* (31/130) y *Ototylomys phyllotis* (21/130) (Fig. 9). Además, la mayoría de las

especies capturadas pertenecieron a la familia Cricetidae y únicamente la especie *Heteromys gaumeri* perteneció a la familia Heteromyidae (Fig. 9).

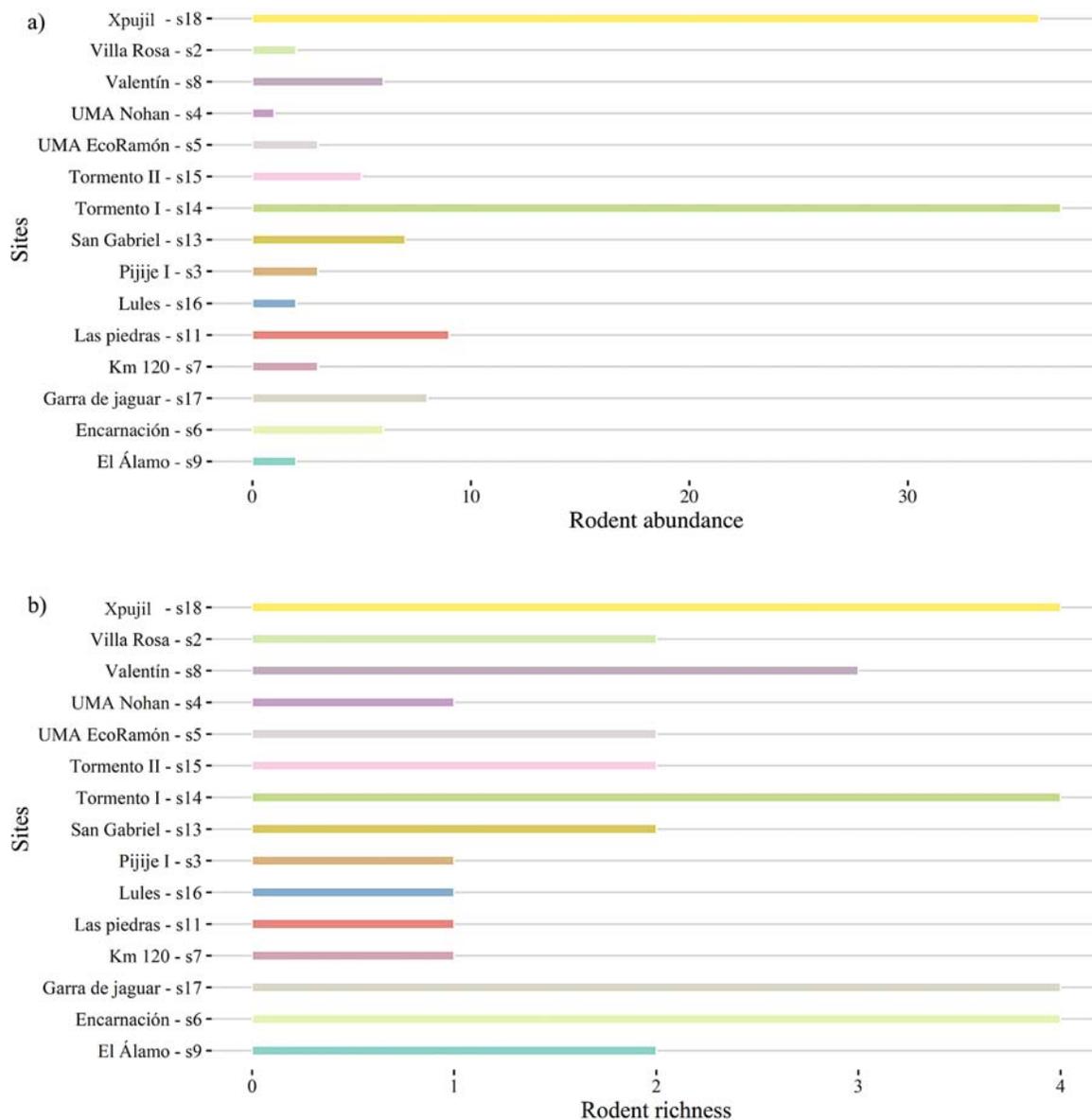


Figura 8.- Abundancia y riqueza de roedores capturados por sitio. **a)** Abundancia de los roedores en cada uno de los sitios donde se obtuvieron capturas. **b)** Riqueza de roedores en cada uno de los sitios donde se obtuvieron capturas.

Tabla 1.- Especies y número de roedores de acuerdo con su sexo y estado fisiológico.

Especie	Hembras					Machos	
	AR	G	J	PL	L	AR	J
<i>Handleyomys rostratus</i>	0	6	0	0	0	4	1
<i>Heteromys gaumeri</i>	18	6	1	0	0	9	0
<i>Oligoryzomys fulvencens</i>	1	1	0	0	0	1	0
<i>Oryzomys couesi</i>	1	0	0	0	0	2	0
<i>Ototylomys phyllotis</i>	1	7	0	1	0	14	5
<i>Peromyscus leucopus</i>	1	3	1	2	0	6	4
<i>Peromyscus yucatanicus</i>	6	5	1	0	1	16	2
<i>Sigmodon hispidus</i>	0	0	0	0	0	1	0
Total	28	28	3	3	1	53	12

Abreviaciones: AR: Adulto reproductivo; G: Gestante; J: Juvenil; PL: Post-lactante; L: Lactante

Tabla 2.- Promedio del peso y las medidas morfométricas obtenidas durante el manejo de los roedores silvestres por especie y sexo.

Especie	Peso (g)		LCu (mm)		LCo (mm)		LO (mm)		LP (mm)	
	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H
<i>Handleyomys rostratus</i>	44	35.3	99.2	92.2	122.4	108.3	14.2	13.7	26.6	25.7
<i>Heteromys gaumeri</i>	60	52.8	125.7	115.4	137.5	122.5	15.2	14.7	31.8	31.8
<i>Oligoryzomys fulvencens</i>	11	12	62	63.5	96	102	12.5	11.5	21	17
<i>Oryzomys couesi</i>	37.7	35	97.5	104	116	109	15	11	28.2	25
<i>Ototylomys phyllotis</i>	52.6	74.7	132.3	143.4	108.8	125.7	20.1	21.1	24	23.8
<i>Peromyscus leucopus</i>	24.3	23.8	90.9	89.34	87.5	87.6	13.6	13.4	20.9	20.4
<i>Peromyscus yucatanicus</i>	24.4	22.2	91.6	89.8	93.5	94.8	15.8	15.5	20.4	20
<i>Sigmodon hispidus*</i>	53	0	114	0	76	0	13	0	18	0

Abreviaciones: LCu: Longitud de cuerpo; LCo: Longitud de cola; LO: Longitud de oreja; LP: Longitud de pie; M: Macho; H: Hembra. *: Especie cuya captura fue sólo de 1 individuo por lo que los valores obtenidos son exclusivos del macho capturado.

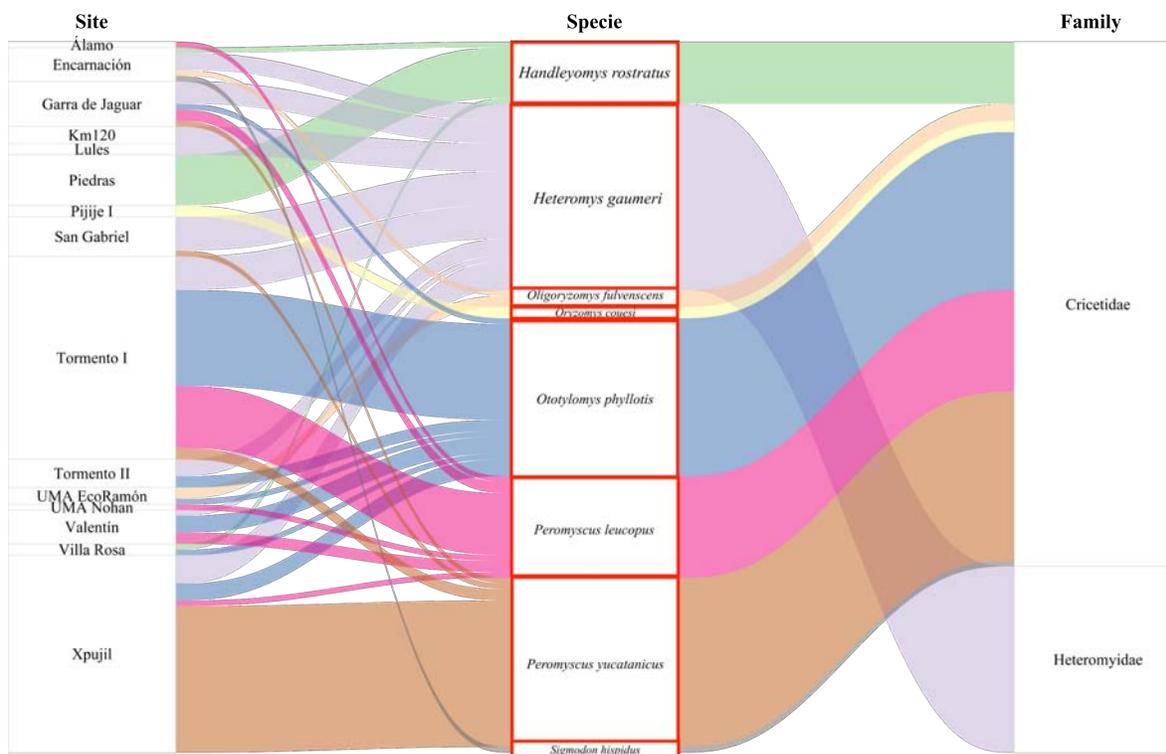


Figura 9.- Familias y especies de roedores capturadas en cada sitio de muestreo. La primera columna muestra el sitio de muestreo; la segunda, enmarcada en rojo, indica las especies de roedores capturados; y la tercera corresponde a las familias a las que pertenecen dichas especies de roedores. Cada color de las barras corresponde a una especie en particular y se entrecruzan con la familia y los sitios donde hubo capturas de dicha especie. El ancho de las barras representa la abundancia de los individuos capturados. El diagrama aluvial permite rastrear e identificar qué especies fueron capturadas en cada uno de los sitios de muestreo al mismo tiempo que muestra la abundancia de dichas especies en los diferentes sitios.

Detección de anticuerpos contra Influenza A

Se obtuvieron 125 muestras de sangre para la obtención de suero que fueron utilizadas para la detección de anticuerpos contra virus de influenza A. Con los valores obtenidos de la espectrofotometría se calculó la relación muestra-control negativo para cada una de las muestras de suero analizadas en el kit de IDEXX Swine Influenza Virus Ab Test. A partir de esta relación se consideraron a los valores $<0.6nm$ como positivos a la presencia de anticuerpos frente a los virus de influenza A y aquellas muestras con valores $\geq 0.6nm$ se

consideraron negativas a la presencia de anticuerpos frente a los virus de influenza A. Todas las muestras de suero presentaron valores mayores a 0.6nm por lo que se consideraron negativas a la detección de anticuerpos contra virus de influenza A (Fig. 10).

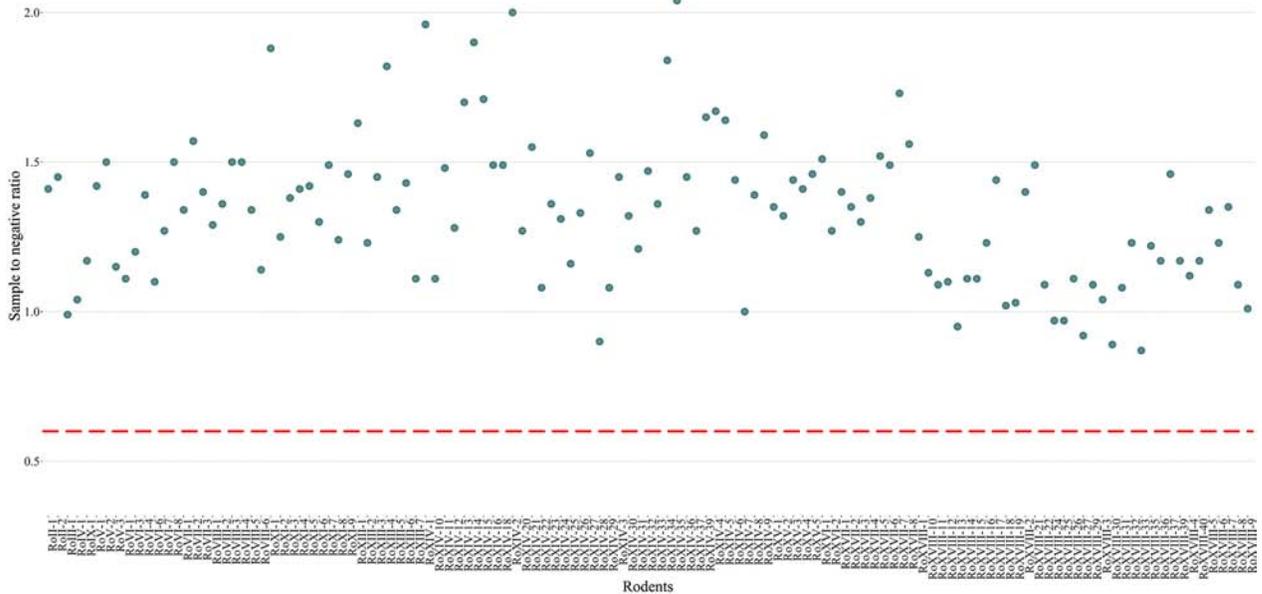


Figura 10.- Resultados del cálculo de la relación muestra-control negativo para cada una de las muestras de los roedores. En el eje de las X se encuentra la identificación de cada uno de los roedores cuyo suero se evaluó ante la prueba de ELISA. El eje de la Y representa el rango de los valores calculados de la relación muestra-control negativo considerándose como punto de corte 0.6 nm marcado con la línea punteada roja.

Análisis del paisaje

La composición del paisaje de los 15 sitios en los que se tuvo éxito de captura, con las coberturas establecidas y a las diferentes escalas, demostró que aquellos sitios con mayor cobertura de bosque maduro fueron el Tormento I (s14), Tormento II (s15) ubicados en el municipio de Escárcega y Garra de Jaguar (s17) ubicado en el municipio de Calakmul. En el caso de los sitios con mayor cobertura de bosque joven se registraron los sitios Villa Rosa (s2) y San Gabriel (s13) en todas las escalas, el primero ubicado en el municipio de Palizada y el segundo en Carmen, también se registró gran cobertura de bosque joven en Piedras (s11)

a los 600 m y 500 m, pero en la escala de 400 m fue mayor el porcentaje de cobertura de Nohan (s4) ubicados en Palizada y Champotón, respectivamente. Por otro lado, los sitios que tuvieron mayor cobertura de pastizales de ganado se ubican en Carmen y fueron Encarnación (s6) y Lules (s16) en todas las escalas, el Pijije (s3) ubicado en Palizada, tuvo gran porcentaje de cobertura de pastizales para ganado, pero sólo en las escalas de 600 m y 500 m. Por último, el sitio que tuvo mayor cobertura de zona agrícola fue el Km120 (s7) y el que tuvo mayor porcentaje de asentamientos humanos fue el Xpujil (s18) ambos ubicados en Calakmul (Fig. 11).

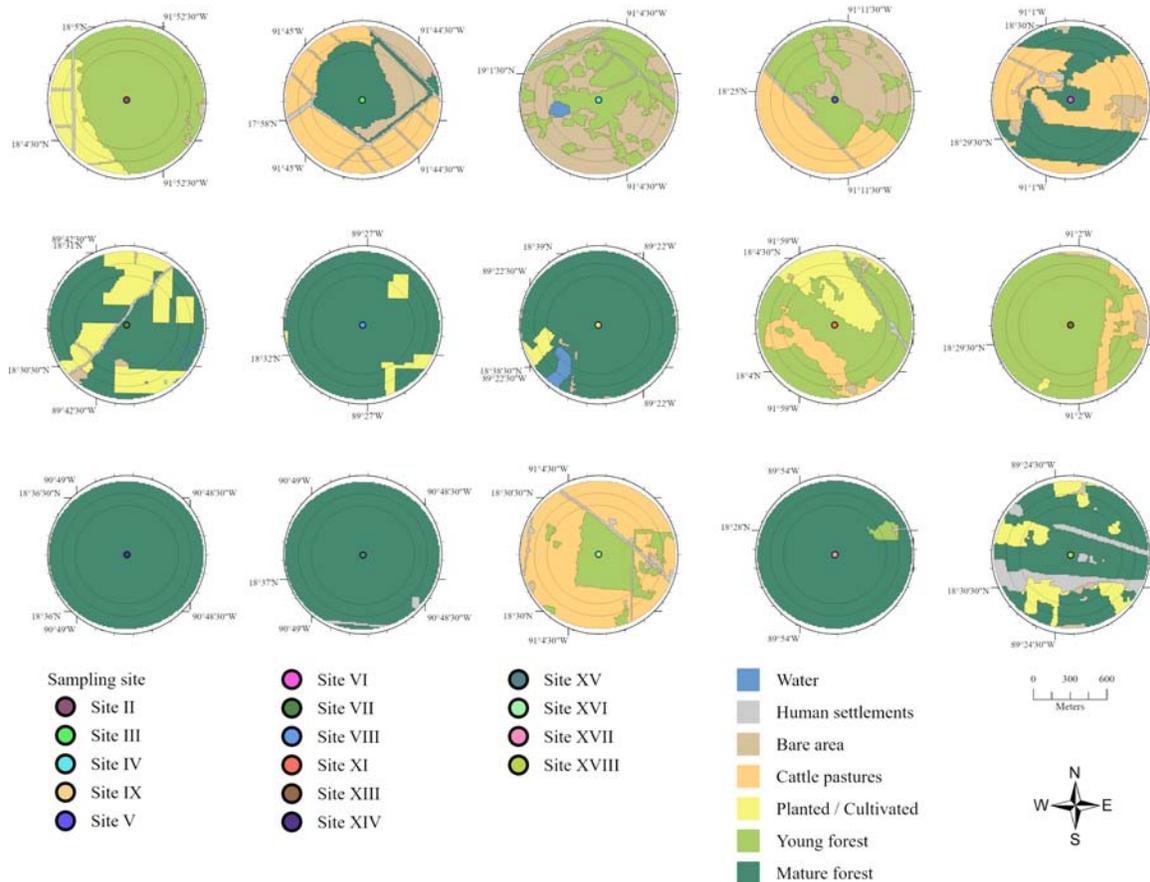


Figura 11.- Composición del paisaje de los sitios de muestreo con captura de roedores. El punto central en cada sitio corresponde a la trampa más central que obtuvo captura de algún roedor y a partir de ahí se establecieron las escalas de 400 m, 500 m y 600 m en cada uno de los sitios que corresponden a los círculos que van convergentes al punto central.

Análisis de datos

Se comprobaron los supuestos estadísticos de normalidad y homocedasticidad entre las variables respuesta (riqueza y abundancia de especies de roedores) y las variables explicativas (coberturas del paisaje a diferentes escalas). Al comprobar que la variable de riqueza de especies no contaba con una distribución normal, se utilizó el coeficiente de correlación Spearman con cada una de las variables (Tabla 3) y se obtuvo una correlación positiva ($r = 0.59$) y significativa ($p = 0.02$) entre la riqueza de especies y la proporción de la cobertura de bosque a una escala espacial de 600 m (Fig.12). A partir de esto se realizó un modelo de regresión lineal simple para comprobar el efecto de la correlación entre estas variables en donde se obtuvo un valor de $R^2 = 0.34$ y un valor de $p = 0.077$.

Tabla 3.- Cálculo de coeficientes de correlación de Spearman con cada una de las variables.

Variable explicativa	Variables respuesta	
	Riqueza	Abundancia
Cobertura de paisaje		
Fc 600m	0.5862102*	0.4774899
Al 600m	-0.4659295	-0.2142285
Fc 500m	0.4972486	0.4252363
Al 500m	-0.3755116	-0.1207239
Fc 400m	0.4300441	0.3017194
Al 400m	-0.2892	-0.04155417

Abreviaciones: Fc: Forest cover; Al: Anthropogenic landscape; 600m, 500m y 400m se refiere a las escalas que se utilizaron en el estudio para realizar el análisis del paisaje. *Único valor de coeficiente de correlación >0.5

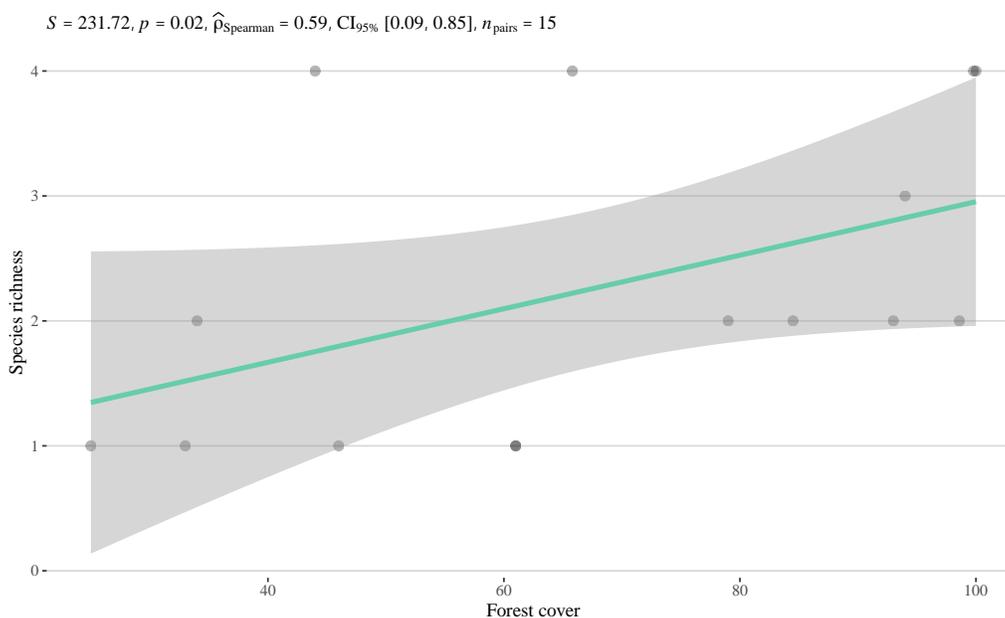


Figura 12.- Correlación entre las variables de cobertura forestal a 600 m y riqueza de especies de roedores. La línea verde representa cómo se comporta la riqueza de especies conforme aumenta la cobertura forestal a 600 m, es decir, a mayor cobertura forestal existirá una mayor riqueza de especies de roedores silvestres.

DISCUSIÓN

El cambio en el uso de suelo es una de las principales causas del aumento en la prevalencia de las enfermedades emergentes infecciosas, pues genera variaciones de la biodiversidad, modificaciones en las dinámicas de las comunidades de fauna silvestre y aumenta la interacción de los hospederos reservorios de enfermedades con los hospederos susceptibles generando el intercambio de agentes infecciosos entre los animales silvestres y los seres humanos. Los cambios en el uso de suelo se han visto implicados con el aumento en la prevalencia de ciertas enfermedades transmitidas por roedores, ya que se crean condiciones ecológicas adecuadas para la supervivencia de las especies de roedores hospederas de ciertos agentes infecciosos (Morand *et al.*, 2015). Las enfermedades emergentes zoonóticas de mayor preocupación son aquellas en las que se ven involucrados

los virus con material genético de RNA y con capacidades multi-hospederas debido a la constante amenaza que implican en la salud pública y animal, tal es el caso de los virus de influenza A. Este estudio presenta dos resultados principales. Primero, no existe evidencia que demuestre que los roedores silvestres capturados en distintos municipios del estado de Campeche, México estuvieran expuestos a infecciones por virus de influenza A. Segundo, se demostró una correlación positiva entre la riqueza de especies de roedores y la proporción de cobertura forestal a una escala espacial de 600 m.

Los sueros de todos los individuos no presentaron evidencia de anticuerpos detectables contra los virus de influenza A en el momento en que se tomaron las muestras. Estos resultados podrían explicarse a partir de consideraciones de la respuesta inmune de los roedores silvestres a la infección viral. En primer lugar, existe poco conocimiento sobre el sistema inmune de los roedores silvestres y no está del todo claro los niveles de anticuerpos y la duración de estos para ser detectables en el suero. De igual forma se desconoce si los anticuerpos se producen a partir de una única exposición del roedor ante los virus de influenza A o si debe de tener una exposición constante ante las partículas virales infecciosas para producir títulos de anticuerpos detectables (Houston *et al.*, 2017).

Dentro de los pocos estudios que evalúan el sistema inmune de los roedores silvestres se encuentra un estudio experimental que evaluó la respuesta humoral de roedores silvestres capturados (*Mus musculus*) comparado con roedores de laboratorio (cepa C57BL/6). En este estudio se optó por inmunizar a ambos grupos de roedores con hemocianinas (KHL) y se valoraron las diferencias inmunológicas que hubo entre ambos (Abolins *et al.*, 2011). De acuerdo con sus resultados, se concluyó que los roedores silvestres tuvieron una mayor concentración de anticuerpos (IgG e IgE) en menor tiempo (2 semanas) que la cepa de roedores de laboratorio (4 semanas) (Abolins *et al.*, 2011). A partir de esto, se determinó que

las concentraciones de anticuerpos eran mucho mayores en los roedores silvestres a consecuencia de su historia de vida y de su constante exposición ante diversos estímulos antigénicos, generando que tengan una mayor reacción y efectividad ante estos en menor tiempo que los roedores de laboratorio (Abolins *et al.*, 2011; Viney y Riley, 2017). Si consideramos esta información aplicada a nuestro estudio podríamos inferir que ante la primera exposición de los virus de influenza A, los roedores silvestres podrían presentar una alta concentración de anticuerpos contra estos virus. No obstante, el tiempo que permanecen viables los anticuerpos en el organismo de los roedores es desconocido y éste podría ser un factor clave que puede explicar por qué en nuestro estudio no logramos detectar individuos seropositivos. En el estudio de Abolin y colaboradores, se dio eutanasia a los roedores y no fue posible determinar la duración de los anticuerpos en el organismo de los roedores. Otro punto clave a considerar del estudio de Abolin y colaboradores es que ambos grupos de roedores tuvieron las mismas condiciones ambientales y físicas, así como el tiempo que duró la evaluación. En nuestro caso no se pueden establecer estas mismas condiciones, ya que cada uno de los individuos capturados se encuentran sometidos a condiciones ambientales distintas a pesar de distribuirse en los mismos sitios de muestreo y la historia de vida de cada especie los compromete a comportamientos y hábitos distintos que los exponen a condiciones ambientales diversas.

Otro aspecto clave del sistema inmune a considerar es que, como cualquier otro mecanismo biológico, requiere cantidades de energía suficientes y demandas fisiológicas particulares para responder de la manera más adecuada a desafíos internos y externos (Viney y Riley, 2017). Si partimos desde un punto en el que los roedores silvestres van a tener fuentes de energía limitadas por la complejidad de las condiciones que existen en los bosques tropicales, podemos hipotetizar que sus sistemas inmunes van a rendir por debajo de su

capacidad máxima debido a la falta de energía (Viney y Riley, 2017). Considerando esto con nuestros resultados podemos suponer que, en caso de que los roedores que capturamos hayan estado expuestos a los virus de influenza A, no necesariamente van a responder ante el agente infeccioso generando anticuerpos en su máximo potencial o a niveles detectables por cuestiones fisiológicas de los individuos. Esto probablemente pueda responder por qué en los estudios de los roedores sinantrópicos y urbanos sí se han encontrado evidencias de prevalencias de los virus de influenza A, pues estos roedores suelen obtener sus recursos a partir de las actividades antropogénicas y no suelen estar continuamente expuestos a factores estresantes como la competencia por recursos alimenticios, agua, refugio, ni expuestos a la depredación por otros animales, permitiendo que logren desarrollar anticuerpos en niveles elevados y adecuados para ser detectados en las pruebas serológicas, además de que pueden tener mayor contacto con animales domésticos o humanos infectados (Shriner *et al.*, 2012; Cummings *et al.*, 2019). Sin embargo, a pesar de los resultados negativos obtenidos en nuestro estudio, no podemos descartar la posibilidad de encontrar roedores silvestres del sureste de México seropositivos a virus de influenza A porque existen evidencias en roedores silvestres como la ardilla de tierra Daurian (*Spermophilus dauricus*), el campañol de Brandt (*Lasiopodomys brandtii*), el gerbil de Mongolia (*Meriones unguiculatus*), el hámster Transbaikal (*Cricetulus pseudogriseus*) y el hámster enano de Campbell (*Phodopus campbelli*) en los cuales se encontraron prevalencias serológicas de los virus de influenza A en una región árida al sur de Rusia (Pavlova, Kirilyuk y Naidenko, 2016; Root y Shriner, 2020). Este hallazgo se hizo para corroborar si las presas del gato de Pallas (*Otocolobus manul*) estaban involucradas en las prevalencias de diferentes agentes infecciosos que presentaba el felino silvestre y se determinó que estos roedores estaban expuestos a estos virus de influenza A debido a la posible interacción con aves silvestres acuáticas (Pavlova,

Kirilyuk y Naidenko, 2016). Este estudio corrobora así la gran probabilidad de transmisión de virus de influenza A en mamíferos silvestres que no son considerados dentro de la ecoepidemiología de los virus de influenza A.

Otro factor importante se encuentra relacionado con la estimulación antigénica constante del sistema inmune de los roedores silvestres en donde se genera una autorregulación inmunológica (Viney y Riley, 2017; Seal, Dharmarajan y Khan, 2021). Este tipo de respuesta inmunológica también se ha observado en otros animales considerados como hospederos reservorios. Una de las características que más llama la atención de los hospederos reservorios es su capacidad de albergar agentes infecciosos sin presentar signos de enfermedad (Seal, Dharmarajan y Khan, 2021; Williams *et al.*, 2021). Ante este hallazgo, en los últimos años se ha buscado comprender cuáles son los factores inmunológicos determinantes para que se lleve a cabo este proceso y los roedores silvestres junto con los murciélagos han sido un modelo clave para evaluarlo, ya que están considerados como los mayores reservorios de agentes infecciosos con potencial zoonótico (Seal, Dharmarajan y Khan, 2021; Williams *et al.*, 2021). Dentro de estos estudios se ha descubierto que cuando estos hospederos reservorios están constantemente expuestos a un agente infeccioso en particular, en lugar de que exista una resistencia y se trate de erradicar y eliminar al agente infeccioso, en realidad se crea una tolerancia al mismo (Viney y Riley, 2017; Seal, Dharmarajan y Khan, 2021). Esto quiere decir que la respuesta inmediata del sistema inmune ante estos agentes infecciosos es disminuir los factores proinflamatorios que pueden eliminar a los agentes infecciosos, ya que cuando el sistema inmune opta por eliminar al agente infeccioso, al mismo tiempo, ataca a los tejidos y a las células aledañas a las infectadas, lo cual muchas veces causa mayores repercusiones en el organismo del hospedero reservorio que el mismo agente infeccioso (Seal, Dharmarajan y Khan, 2021). Este tipo de respuestas

antigénico-tolerantes del sistema inmune es considerada una estrategia evolutiva que genera menor daño al organismo, de tal forma que se establece la relación hospedero-agente infeccioso y su coevolución (Seal, Dharmarajan y Khan, 2021). Hay algunos ejemplos reportados en la literatura de roedores que están presentando este tipo de respuestas inmuno-tolerantes ante algunos agentes virales como es el caso de los Hantavirus y los *Peromyscus maniculatus* en los que se ha observado que con el Virus Sin Nombre (SNV), estos roedores son capaces de regular las citoquinas que corresponden a las respuestas regulatorias de las células T, suprimiendo la inflamación y las respuestas de citotoxicidad que, por ende, permiten la prevalencia del SNV en el roedor (Seal, Dharmarajan y Khan, 2021). Otro ejemplo es en *Rattus norvegicus* con el virus Seoul (SEOV), las cuales reducen los mediadores pro-inflamatorios como la interleucina 6 (IL-6) o el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e incrementa la expresión de la regulación de otros factores como el factor de crecimiento transformante beta (TGN- β) y escurfinas (FoxP3) que ayudan a prevenir la patología relacionada con la inflamación en los sitios donde se aumenta la replicación de SEOV (Seal, Dharmarajan y Khan, 2021). Con estos ejemplos del funcionamiento inmunológico que presentan los roedores ante agentes virales, podemos hipotetizar que los roedores silvestres cuentan con este tipo de estrategia inmunológica ante los virus de influenza A debido a una exposición constante causada por la diversidad de las interacciones que presentan con diversos animales ya considerados como reservorios silvestres, principalmente las aves, así como los diversos nichos ecológicos en los que los roedores pueden distribuirse dentro de los bosques tropicales, lo que puede ocasionar que no se observe una respuesta humoral exacerbada como para detectarla en las pruebas serológicas sino que, al contrario, exista un mecanismo compensatorio que mitigue los efectos negativos de la inflamación.

En el caso particular de los virus de influenza A con los roedores silvestres y su posible co-evolución, no existe gran historial sobre la evaluación de esta relación que nos permita comprender su interacción. Pese a ello, podemos considerar algunos puntos importantes para evaluar esta relación con los pocos estudios que existen. Por una parte sabemos que de manera experimental los subtipos de virus de influenza A con origen en aves silvestres (H3N6, H3N8 y H4N6) fueron más eficaces en su replicación sin previa adaptación en los tejidos pulmonares de roedores de laboratorio (BALB/c) comparados con los subtipos de origen de aves domésticas (H4N8 y H6N2) (Shriner *et al.*, 2012). Considerando que no se necesitó de una adaptación previa de los virus a los tejidos, podemos hipotetizar que es debido a que estos virus ya han tenido la oportunidad anteriormente de generar esta adaptación y, por ende, ya presentan los receptores adecuados para lograr la replicación en los tejidos diana, pues se sabe que la ausencia de estos receptores es una de las primeras barreras físicas que tiene el organismo para impedir que exista una replicación del agente viral (Plowright *et al.*, 2017). Además de la replicación viral en los tejidos de los roedores, se ha comprobado que existe una exposición y relación de los virus de influenza A con los roedores silvestres gracias a un análisis genómico realizado en China. A partir de las secuencias obtenidas en sus muestras fecales, en el estudio de Yin y colaboradores (2022) se realizó un análisis metagenómico de las comunidades virales con las que seis especies de roedores forestales de China habían estado en contacto. Sus resultados reportan que una de las familias más abundantes fue la familia Orthomyxoviridae, especialmente los virus de influenza A (Yin, Wan y Chen, 2022). En los análisis filogenéticos se encontró que la secuencia obtenida tiene similitud de más del 95% con el virus A/environment/ Dongting Lake/Hunan/3-9/2007(H10N8) el cual, en un estudio anterior al de Yin y colaboradores, fue replicado exitosamente y sin adaptación previa, en los pulmones de ratones de laboratorio

(BALB/c) y cuya virulencia fue en aumento durante su adaptación al tejido (Zhang *et al.*, 2011; Yin, Wan y Chen, 2022). Estos resultados nos dan un indicio de que probablemente la clave para encontrar prevalencias, específicamente en los roedores silvestres, sean las pruebas moleculares y los análisis filogenéticos, pues quizás existe una co-evolución más amplia de lo que se ha considerado entre la relación de los virus de influenza A y los roedores silvestres.

En nuestro estudio, la captura de los roedores se realizó en sitios con altas proporciones de coberturas de bosque maduro y de bosque joven. Esto podría explicar la ausencia de exposición a los subtipos de virus de influenza A de origen humano y de animales domésticos. Sin embargo, no podríamos explicar la ausencia de exposición con subtipos virales de influenza A de origen silvestre. Por lo tanto, es importante considerar hipótesis ecológicas que ayuden a comprender la ausencia de anticuerpos para un grupo viral diverso y multi-hospedero en roedores de los bosques tropicales. De acuerdo con IPBES (2020), el efecto de dilución implica que en aquellos lugares donde existe una mayor diversidad de especies se genera una disminución en la prevalencia de una infección en un hospedero susceptible. Existen dos posibles explicaciones de por qué sucede este fenómeno, la primera explicación nos indica que existe una regulación de los hospederos susceptibles principalmente debido a los depredadores, lo cual permite la disminución de la prevalencia; la segunda explicación nos dice que debido a la competencia con otras especies se genera un cambio en el comportamiento de los hospederos susceptibles que interrumpe los mecanismos de transmisión de los agentes infecciosos disminuyendo de igual forma su prevalencia en los hospederos susceptibles (Civitello *et al.*, 2015; IPBES, 2020). Si consideramos que nuestro diseño experimental involucró sitios con grandes proporciones de bosque tropical en donde las interacciones de las especies que lo habitan son mucho más complejas y diversas que en

una producción avícola o en una ciudad, podríamos asociarlo con la seronegatividad que encontramos en nuestro estudio. Por lo tanto, la seroprevalencia de virus de influenza A en roedores del estado de Campeche podría estar diluida y las especies de roedores de este estudio podrían no participar en los ciclos de transmisión de dichos virus. En el caso particular de los roedores se ha observado el efecto de dilución con otros agentes infecciosos como Hantavirus (Luis, Kuenzi y Mills, 2018; IPBES, 2020).

Por otra parte, los resultados del cálculo de los coeficientes de correlación sugieren que conforme aumenta la cobertura forestal a una escala espacial de 600 m la riqueza de especies tiende a aumentar. En nuestros resultados, los sitios que presentaron una mayor riqueza de especies fueron algunos de los sitios con mayor cobertura forestal, tal es el caso de Garra de Jaguar (s17) y el Tormento I (s14), ambos sitios cuentan con gran cantidad de cobertura forestal en todas las escalas. En contraste, tenemos el caso de los sitios de Encarnación (s6) y Xpujil (s18), en donde de manera visual se muestra que la configuración de los fragmentos de bosque es más reducida y se encuentra rodeada por una matriz de cultivos para ganado y asentamientos humanos. Sin embargo, estos sitios también fueron de los sitios con mayor riqueza de especies a pesar de sus características espaciales. En ambos sitios existe conectividad con otros fragmentos de bosque maduro que puede facilitar el movimiento de los animales silvestres especialistas de hábitat, permitiendo el flujo genético y evitando las áreas abiertas que favorecen la depredación de los pequeños mamíferos, provocando así que se mantenga la riqueza de especies (Magioli *et al.*, 2016). San José y colaboradores (2014) indican que el área basal de árboles es un buen predictor para conocer la riqueza de diversos mamíferos silvestres como los roedores, ya que, al ser en su mayoría especies granívoras, funcionan como especies indicadoras de la disponibilidad de recursos en el bosque. En nuestro estudio no calculamos este parámetro, pero observamos que los

sitios con mayor riqueza de especies fueron aquellos con coberturas forestales de bosque maduro, independientemente de la matriz del paisaje que los rodeaba, lo cual nos puede indicar que las áreas basales de los árboles podrían estar relacionadas con los cambios que observamos en las comunidades de los roedores.

Xpujil (s18) también fue uno de los sitios con mayor abundancia de roedores. Este sitio estuvo rodeado en su mayoría por asentamientos humanos que podrían favorecer la disminución de los depredadores de roedores silvestres permitiéndoles aumentar considerablemente su abundancia (San-José, Arroyo-Rodríguez y Sánchez-Cordero, 2014). Sin embargo, esa teoría se contrasta con otro de los sitios en donde hubo gran riqueza de especies y abundancia, pero a la vez tuvo una de las mayores coberturas de bosque continuo, que fue el caso de el Tormento I (s14). Ahora bien, si analizamos la composición de las especies que tuvieron cada uno de los sitios podemos analizar que existe una gran diferencia, pues mientras en Xpujil (s18) la mayoría de las capturas fueron de *Peromyscus yucatanicus*, un roedor considerado generalista de bosque, en el caso de el Tormento I (s14) se observó mayor heterogeneidad de las especies capturadas y además, *Otodylomys phyllotis* y *Heteromys gaumeri* son especies asociadas con ecosistemas de bosque tropical en comparación con los *Peromyscus* spp. (Medellín y Equihua, 1998; Suzán *et al.*, 2008; San-José, Arroyo-Rodríguez y Sánchez-Cordero, 2014; Arce-Peña *et al.*, 2019).

El sitio Encarnación (s6) fue el único sitio donde se capturo a *Sigmodon hispidus*, un roedor con hábitos generalistas de hábitat que es comúnmente vinculado a las zonas de cultivo y se considera como una especie plaga debido a los daños económicos que produce en las producciones agrícolas (Suzán *et al.*, 2008; Arce-Peña *et al.*, 2019). La distribución de esta especie en este sitio probablemente se deba a la matriz del paisaje que rodea el fragmento de bosque, la cual se encuentra dominada por áreas de cultivo para la ganadería. La situación

de este fragmento de bosque en particular es interesante y preocupante porque con el paso del tiempo podría comenzar a verse afectado por las perturbaciones antropogénicas que lo rodean y, poco a poco, el aumento de las especies más generalistas podría ir desplazando a las especies especialistas de hábitat (Arce-Peña *et al.*, 2019). Además, en este mismo sitio, encontramos otro roedor poco capturado, el cual fue el *Oligoryzomys fulvescens* considerado también como una especie generalista, lo que apoya la hipótesis de que en este sitio estén aumentando las especies generalistas de hábitat; sin embargo, se tendría que hacer un monitoreo más profundo para determinarlo (Suzán *et al.*, 2008).

Otra especie poco capturada fue el *Oryzomys couesi*, la cual se reporta como una especie herbívora que puede habitar zonas de campo y agricultura, algo que correspondió con el sitio donde lo encontramos, pues el sitio el Pijije 1 (s2) está rodeado de una matriz de cultivo de arroz, permitiendo que este roedor obtenga los recursos necesarios (Medellín, 1992). Por último, tenemos a la especie *Ototylomys phyllotis*, la cual fue la única especie arborícola capturada y de la cual capturamos gran cantidad de individuos en la mayoría de los sitios a pesar de que las trampas fueron colocadas a nivel de sotobosque (Medellín, 1992). Esta especie en particular suele ser considerada como una especie especialista de bosque y el hecho de haberla encontrado en la mayoría de los sitios del muestreo es un buen indicador de lo que está sucediendo en las comunidades de roedores y los sitios de captura a pesar de las matrices del paisaje que rodean los fragmentos de bosque, en algunos casos contrastantes. Sin embargo, como se mencionó con anterioridad, existen algunos sitios que tienen individuos generalistas de hábitat o aumento en la abundancia de una única especie, por lo que estos sitios comienzan a verse afectados por estos cambios en el uso de suelo y si no se hace algo al respecto podría transformar completamente las comunidades e interacciones que habitan estos sitios, así como aumentar la prevalencia de algunos agentes infecciosos.

Para nuestro conocimiento, este es el primer estudio en el que se evalúan los efectos de los cambios en el uso de suelo sobre las comunidades de roedores silvestres en bosques tropicales de Campeche. A pesar de ello, se han hecho estudios similares en los estados aledaños de Yucatán y Chiapas (San-José, Arroyo-Rodríguez y Sánchez-Cordero, 2014; Arce-Peña *et al.*, 2019) en donde se han obtenido resultados que podemos comparar con lo que está sucediendo en Campeche y ver ciertas similitudes entre ellos. Nuestros hallazgos sugieren que existe una correlación positiva y significativa entre las coberturas forestales a 600 m y la riqueza de especies. A pesar de que la regresión lineal tuvo una tendencia a ser significativa, no tenemos la confiabilidad estadística necesaria para asegurarlo.

Como parte de las limitaciones de este estudio, tenemos que considerar el tipo de prueba diagnóstica que se utilizó. Las pruebas de ELISA están elaboradas para la detección de anticuerpos contra los virus de influenza A. Sin embargo, su estandarización está probada en animales domésticos, principalmente aves y cerdos, lo cual podría sesgar el resultado en roedores silvestres. En general trabajar con animales silvestres tiene el inconveniente de que no existen pruebas serológicas validadas y estandarizadas particularmente para ellos, pero siempre se pueden adaptar las metodologías de laboratorio existentes (Arce-Peña *et al.*, 2019). En diversos artículos se recomienda que para realizar el análisis serológico de los virus de influenza A en mamíferos silvestres lo mejor es utilizar las pruebas de ELISA de bloqueo que fue la que utilizamos en este estudio (Sullivan *et al.*, 2009; Vandalen *et al.*, 2009; Goodell *et al.*, 2016; Spackman, 2020). Esto se debe a que la prueba está dirigida a una proteína altamente conservada en los virus de influenza A, la nucleoproteína, y que a diferencia de otras pruebas de laboratorio de serología, las pruebas de ELISA de bloqueo no son subtipo-específicas por lo tanto se consideran como la mejor opción dentro de las pruebas serológicas cuando se evalúa a mamíferos silvestres (Vandalen *et al.*, 2009; Goodell *et al.*,

2016). Otra ventaja que tiene esta prueba es que requiere pocas cantidades de suero para su realización, una característica importante a considerar debido a que muchos de estos roedores silvestres presentan tamaños pequeños y pesos por debajo de 75g (Vandalen *et al.*, 2009). Existe evidencia de que utilizando estos kits comerciales de ELISA, a pesar de estar dirigidos hacia algún animal doméstico en particular, se han obtenido resultados positivos en otros mamíferos silvestres, lo cual nos da una buena perspectiva de la función del kit al momento de evaluar a los roedores silvestres (Sullivan *et al.*, 2009; Root *et al.*, 2014; Romero Tejeda *et al.*, 2015). Por lo que a pesar de que las pruebas no están estandarizadas para mamíferos silvestres podemos considerar que es una alternativa confiable para obtener resultados preliminares.

Nuestros resultados principales fueron negativos en comparación con otros estudios, lo cual nos permite refutar nuestra hipótesis pues no tenemos evidencia de laboratorio que nos ayude a corroborarla. Es importante que se recalque que para nuestro conocimiento este es el primer estudio en el que se evalúa la asociación de los virus de influenza A con los roedores silvestres en bosques tropicales mexicanos. Por lo que no existe un antecedente que nos ayude a corroborar que estos resultados han permanecido por un largo periodo de tiempo o ante diferentes temporadas del año y en zonas con mayor o menor actividad antropogénica, por ende, consideramos que sería muy pronto descartar esta idea. Además, es importante complementar estos resultados con pruebas moleculares que nos permitan establecer un panorama más amplio de la posible relación entre los roedores silvestres y los virus de influenza A.

CONCLUSIÓN

Debido a nuestros resultados negativos ante la presencia de anticuerpos contra los virus de influenza A podemos determinar que los individuos muestreados se encontraban sanos y que no están teniendo repercusiones en la salud de las comunidades de especies de los sitios de estudio con la presencia de estos virus. Lo anterior es un buen indicador ya que, si consideramos que la mayoría de las especies capturadas fueron especies especialistas de bosque, podemos determinar que estos fragmentos de bosque no se han visto tan afectados por las actividades humanas que han creado matrices antropogénicas que los rodean.

Por último, se logró capturar una gran riqueza de especies de roedores y principalmente de especies especialistas de bosque, sin ninguna especie invasora. Este hallazgo es interesante y grato ya que a pesar de que el estado de Campeche se encuentra en constante cambio por el desarrollo agrícola, ganadero y turístico, generando grandes cambios en el uso de suelo de los bosques tropicales, las comunidades de roedores silvestres se han mantenido estables y estos pequeños fragmentos de bosque aparentemente saludables.

PERSPECTIVAS

Al ser los roedores silvestres uno de los órdenes de mamíferos más abundantes, diversos y con una amplia distribución a nivel mundial, tienen un papel fundamental en el ecosistema, ya que ayudan a la regeneración de bosques a partir de la dispersión y consumo de semillas y granos. Por lo que tampoco se debe considerar que tienen un papel antagonista en la salud pública, sino se debe considerar que, debido a las características propias y adaptativas del orden taxonómico, los roedores forman parte de diversos ciclos de transmisión, evolución y mantenimiento de varios agentes infecciosos que pueden o no tener un gran potencial zoonótico. Ante esta constante perturbación antropogénica que están

presentando los bosques tropicales de Campeche, es importante mantener monitoreos pasivos y activos de las comunidades de roedores debido a su importancia como reservorios de agentes infecciosos zoonóticos.

El presente estudio únicamente se basó en la detección serológica pero aún se podría indagar más y buscar con pruebas moleculares si los roedores capturados estaban infectados con virus de influenza A. Consideramos que aún queda un largo camino de investigación para poder llegar a un panorama que nos permita generar conclusiones precisas. Por la falta de información existente y la constante perturbación en los bosques tropicales del sureste de México, es importante continuar con los monitoreos y las investigaciones en el área de ecología de enfermedades para el monitoreo de futuros saltos taxonómicos de virus altamente patógenos en comunidades de animales silvestres y eventualmente afectar la salud animal de animales domésticos y la salud pública de nuestro país. Considerando los modelos de estudio en donde sí se encontraron prevalencias de los virus de influenza A en roedores podemos considerar que sería óptimo realizar un diseño de estudio que evalúe a los roedores sinantrópicos que se logren capturar en los asentamientos humanos de los sitios aledaños a estos fragmentos de bosque para verificar si los virus de influenza A no se encuentran circulando en los sitios donde hay mayor actividad antropogénica. Esto para ampliar el conocimiento de lo que está sucediendo en estos mismos sitios, pero con roedores sinantrópicos capaces de tener una mayor conexión con la interfaz entre el ser humano, los animales domésticos y los silvestres, permitiéndoles ser parte de un ciclo de transmisión en el que se involucre un mayor grado de perturbación antropogénica. De esta manera, se podría comprender mejor el rol de los roedores en la transmisión con los virus de influenza A. Es evidente que estos virus tienen la capacidad de replicarse de manera exitosa y sin necesidad de tener una adaptación previa a los tejidos de los roedores por lo que consideramos que

nuestros resultados quedan como un buen antecedente de información, pero no como una conclusión definitiva de lo que está sucediendo en la ecología de estos virus y su relación con los roedores silvestres. Los virus de influenza A tienen una gran capacidad de adaptación y mutación que les permite distribuirse en un gran número de hospederos, y si agregamos que existen múltiples artículos que nos indican que los virus de influenza A se logran replicar en diversos mamíferos silvestres, podríamos inferir que estos virus no tardan en adaptarse y en lograr afectar a las comunidades de roedores silvestres que llegan a entrar en contacto los virus, ya sea de origen doméstico o silvestre.

REFERENCIAS

Abolins, S.R. *et al.* (2011) ‘Measures of immune function of wild mice, *Mus musculus*: IMMUNE FUNCTION OF WILD MICE’, *Molecular Ecology*, 20(5), pp. 881–892. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04910.x>.

Albrecht, L., Stallard, R.F. and Kalko, E.K.V. (2017) ‘Land use history and population dynamics of free-standing figs in a maturing forest’, *PLOS ONE*. Edited by R. Zang, 12(5), p. e0177060. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177060>.

Allen, T. *et al.* (2017) ‘Global hotspots and correlates of emerging zoonotic diseases’, *Nature Communications*, 8(1), p. 1124. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00923-8>.

Arce-Peña, N.P. *et al.* (2019) ‘Landscape predictors of rodent dynamics in fragmented rainforests’, *Biodiversity and Conservation*, 28(3), pp. 655–669. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10531-018-1682-z>.

Baak-Baak, C.M. *et al.* (2018) ‘Mites and Lice of Peri-Domestic Rodents Captured at a Mayan Community of Yucatán State, México’, *Southwestern Entomologist*, 43(4), pp. 911–918. Available at: <https://doi.org/10.3958/059.043.0409>.

Barragán, F., Retana, O.G. and Naranjo, E.J. (2007) ‘The Rodent Trade of Tzeltal Indians of Oxchuc, Chiapas, Mexico’, *Human Ecology*, 35(6), pp. 769–773. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10745-007-9116-7>.

Betancourt, S.F.H. and López-Wilchis, R. (2003) ‘Área de actividad, movimiento y organización social de *Heteromys gaumeri* Allen y Chapman, 1897 (rodentia: heteromyidae) en una selva mediana subcaducifolia de Yucatán, México’, p. 16.

Bi, Y., Li, J. and Shi, W. (2022) ‘The time is now: a call to contain H9N2 avian influenza viruses’, *The Lancet Microbe*, p. S2666524722002324. Available at: [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(22\)00232-4](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(22)00232-4).

Bowen, M.E. *et al.* (2007) ‘Regrowth forests on abandoned agricultural land: A review of their habitat values for recovering forest fauna’, *Biological Conservation*, 140(3–4), pp. 273–296. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.08.012>.

Brearley, G. *et al.* (2013) ‘Wildlife disease prevalence in human-modified landscapes: Wildlife disease in human-modified landscapes’, *Biological Reviews*, 88(2), pp. 427–442. Available at: <https://doi.org/10.1111/brv.12009>.

Brouard, M.J. *et al.* (2015) 'Analysis on Population Level Reveals Trappability of Wild Rodents Is Determined by Previous Trap Occupant', *PLOS ONE*. Edited by A.W. Reed, 10(12), p. e0145006. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145006>.

del Carmen Gutiérrez-Castillo, A., Henri Paasch-Martínez, L. and Leticia Calderón-Apodaca, N. (2022) 'Salmonellosis and Campylobacteriosis, Emerging Zoonosis in the World and Current Situation in Mexico', in G. Tellez-Isaias and S. El-Ashram (eds) *Campylobacter*. IntechOpen. Available at: <https://doi.org/10.5772/intechopen.101875>.

Carrasco-Hernandez, R. *et al.* (2017) 'Are RNA Viruses Candidate Agents for the Next Global Pandemic? A Review', *ILAR Journal*, 58(3), pp. 343–358. Available at: <https://doi.org/10.1093/ilar/ilx026>.

Choi, M.J. *et al.* (2015) 'Live Animal Markets in Minnesota: A Potential Source for Emergence of Novel Influenza A Viruses and Interspecies Transmission', *Clinical Infectious Diseases*, 61(9), pp. 1355–1362. Available at: <https://doi.org/10.1093/cid/civ618>.

Civitello, D.J. *et al.* (2015) 'Biodiversity inhibits parasites: Broad evidence for the dilution effect', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(28), pp. 8667–8671. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1506279112>.

Coordinación de Estrategias de Biodiversidad y Cooperación-CONABIO. 2021. *La biodiversidad en Campeche. Estudio de Estado*. CONABIO, México. Disponible en: https://www.biodiversidad.gob.mx/region/EEB/estudios/ee_campeche. Consultado: 20-septiembre-2022.

Colunga, P. *et al.* (2019) 'What do studies in wild mammals tell us about human emerging viral diseases in Mexico?', p. 13. Available at: <https://doi.org/10.1111/tbed.13336>.

Corlett, R.T. (1994) 'What is secondary forest?', *Journal of Tropical Ecology*, 10(3), pp. 445–447. Available at: <https://doi.org/10.1017/S0266467400008129>.

Cummings, C.O. *et al.* (2019) 'Evidence of Influenza A in Wild Norway Rats (*Rattus norvegicus*) in Boston, Massachusetts', *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7, p. 36. Available at: <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00036>.

Curtis, J.L. *et al.* (2019) 'Detection of New World Hantavirus Antibodies in Rodents of Eastern New Mexico, USA', *Journal of Wildlife Diseases*, 55(4), p. 986. Available at: <https://doi.org/10.7589/2018-11-272>.

Dahmana, H. *et al.* (2020) 'Rodents as Hosts of Pathogens and Related Zoonotic

Disease Risk’, *Pathogens*, 9(3), p. 202. Available at: <https://doi.org/10.3390/pathogens9030202>.

Dirzo, R. *et al.* (2014) ‘Defaunation in the Anthropocene’, *Science*, 345(6195), pp. 401–406. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1251817>.

Dusek, R.J. *et al.* (2011) ‘Evaluation of Nobuto Filter Paper Strips for the Detection of Avian Influenza Virus Antibody in Waterfowl’, *Avian Diseases*, 55(4), pp. 674–676. Available at: <https://doi.org/10.1637/9687-021511-ResNote.1>.

Eastwood, G. *et al.* (2018) ‘Habitat, species richness and hantaviruses of sigmodontine rodents within the Interior Atlantic Forest, Paraguay’, *PLOS ONE*. Edited by C.E. Rupprecht, 13(8), p. e0201307. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201307>.

Fagre, A.C. *et al.* (2022) ‘Assessing the risk of human-to-wildlife pathogen transmission for conservation and public health’, *Ecology Letters*. Edited by R. Ostfeld, 25(6), pp. 1534–1549. Available at: <https://doi.org/10.1111/ele.14003>.

García-Peña, G.E. *et al.* (2021) ‘Land-use change and rodent-borne diseases: hazards on the shared socioeconomic pathways’, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 376(1837), p. 20200362. Available at: <https://doi.org/10.1098/rstb.2020.0362>.

Gibb, R. *et al.* (2020) ‘Zoonotic host diversity increases in human-dominated ecosystems’, *Nature*, 584(7821), pp. 398–402. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2562-8>.

Glidden, C.K. *et al.* (2021) ‘Human-mediated impacts on biodiversity and the consequences for zoonotic disease spillover’, *Current Biology*, 31(19), pp. R1342–R1361. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.08.070>.

Gockel, J. and Ruf, T. (2001) ‘Alternative seasonal reproductive strategies in wild rodent populations’, *Journal of Mammalogy*, 82(4), pp. 1034–1046. Available at: [https://doi.org/10.1644/1545-1542\(2001\)082<1034:ASRSIW>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2001)082<1034:ASRSIW>2.0.CO;2).

Goodell, C.K. *et al.* (2016) ‘Evaluation of Screening Assays for the Detection of Influenza A Virus Serum Antibodies in Swine’, *Transboundary and Emerging Diseases*, 63(1), pp. 24–35. Available at: <https://doi.org/10.1111/tbed.12214>.

Guariguata, M.R. and Ostertag, R. (2001) ‘Neotropical secondary forest succession:

changes in structural and functional characteristics’, *Forest Ecology and Management*, 148(1–3), pp. 185–206. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(00\)00535-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(00)00535-1).

Han, B.A. *et al.* (2015) ‘Rodent reservoirs of future zoonotic diseases’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(22), pp. 7039–7044. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1501598112>.

Hassell, J.M. *et al.* (2017) ‘Urbanization and Disease Emergence: Dynamics at the Wildlife–Livestock–Human Interface’, *Trends in Ecology & Evolution*, 32(1), pp. 55–67. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.09.012>.

Hernández-Betancourt, S.F. *et al.* (2008) ‘Fluctuación poblacional de *Ototylomys phyllotis* Merriam, 1901 (rodentia: muridae) en una selva mediana subcaducifolia del Sur de Yucatán, México’, *ACTA ZOOLOGICA MEXICANA (N.S.)*, 24(2). Available at: <https://doi.org/10.21829/azm.2008.242711>.

Hernández-Betancourt, S.F., Cimé Pool, J.A. and Medina-Peralta, S. (2008) ‘Ecología poblacional de *Heteromys gaumeri* en la selva del sur de Yucatán, México .pdf’, *Avances en los estudios de los mamíferos en México II*, Vol. II.

Holmes, E.C. (2022) ‘The Ecology of Viral Emergence’, *Annual Review of Virology*, 9(1), p. annurev-virology-100120-015057. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100120-015057>.

Houston, D.D. *et al.* (2017) ‘Evaluating the role of wild songbirds or rodents in spreading avian influenza virus across an agricultural landscape’, *PeerJ*, 5, p. e4060. Available at: <https://doi.org/10.7717/peerj.4060>.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Censos Económicos 2019. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/programas/ce/2019/#Tabulados>. Consultado: 20-septiembre- 2022

Intergovernmental Science-Policy Platform On Biodiversity And Ecosystem Services (IPBES) (2020) *Workshop Report on Biodiversity and Pandemics of the Intergovernmental Platform on Biodiversity and Ecosystem Services (IPBES)*. Zenodo. Available at: <https://doi.org/10.5281/ZENODO.4147317>.

Jackson, H.B. and Fahrig, L. (2015) ‘Are ecologists conducting research at the optimal scale?: Is research conducted at optimal scales?’, *Global Ecology and Biogeography*, 24(1), pp. 52–63. Available at: <https://doi.org/10.1111/geb.12233>.

Johnson, C.K. *et al.* (2020) ‘Global shifts in mammalian population trends reveal key predictors of virus spillover risk’, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1924), p. 20192736. Available at: <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2736>.

Keesing, F. and Ostfeld, R.S. (2021) ‘Impacts of biodiversity and biodiversity loss on zoonotic diseases’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(17), p. e2023540118. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.2023540118>.

Krammer, F. *et al.* (2018) ‘Influenza’, *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), p. 3. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y>.

Kuchipudi, S. and Nissly, R. (2018) ‘Novel Flu Viruses in Bats and Cattle: “Pushing the Envelope” of Influenza Infection’, *Veterinary Sciences*, 5(3), p. 71. Available at: <https://doi.org/10.3390/vetsci5030071>.

Kuriakose, T. (2017) ‘Influenza virus: biology and public health significance.pdf’, 48, 1, pp. 1–5.

Lacher, T.E. *et al.* (2021) ‘Support for rodent ecology and conservation to advance zoonotic disease research’, *Conservation Biology*, 35(4), pp. 1061–1062. Available at: <https://doi.org/10.1111/cobi.13763>.

Langlois, J.P. *et al.* (2001) ‘Landscape structure influences continental distribution of hantavirus in deer mice’, p. 12.

Leary, S.L. and American Veterinary Medical Association (2020) *AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2020 edition*. Available at: <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf> (Accessed: 15 July 2022).

Lloyd-Smith, J.O. *et al.* (2009) ‘Epidemic Dynamics at the Human-Animal Interface’, *Science*, 326(5958), pp. 1362–1367. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1177345>.

Lorenzo Monterrubio, C. *et al.* (2017) ‘Enfermedades zoonóticas virales emergentes. Importancia ecológica y su evaluación en el sureste de México’, *Sociedad y Ambiente*, (15), pp. 131–146. Available at: <https://doi.org/10.31840/sya.v0i15.1791>.

Luis, A.D., Kuenzi, A.J. and Mills, J.N. (2018) ‘Species diversity concurrently dilutes and amplifies transmission in a zoonotic host–pathogen system through competing mechanisms’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(31), pp. 7979–7984. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1807106115>.

Magioli, M. *et al.* (2016) 'Connectivity maintain mammal assemblages functional diversity within agricultural and fragmented landscapes', *European Journal of Wildlife Research*, 62(4), pp. 431–446. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10344-016-1017-x>.

Massawe, A.W. *et al.* (2011) 'Spatial and temporal population dynamics of rodents in three geographically different regions in Africa: Implication for ecologically-based rodent management', *African Zoology*, 46(2), pp. 393–405. Available at: <https://doi.org/10.1080/15627020.2011.11407513>.

Maya-Badillo, B.A. *et al.* (2020) 'Eco-Epidemiological Evidence of the Transmission of Avian and Human Influenza A Viruses in Wild Pigs in Campeche, Mexico', *Viruses*, 12(5), p. 528. Available at: <https://doi.org/10.3390/v12050528>.

McFarlane, R., Sleight, A. and McMichael, T. (2012) 'Synanthropy of Wild Mammals as a Determinant of Emerging Infectious Diseases in the Asian–Australasian Region', *EcoHealth*, 9(1), pp. 24–35. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10393-012-0763-9>.

Measures, L.N. and Fouchier, R.A.M. (2021) 'Antibodies against influenza virus types A and B in canadian seals', *Journal of Wildlife Diseases*, 57(4). Available at: <https://doi.org/10.7589/JWD-D-20-00175>.

Medellín, R.A. (1992) *Community ecology and conservation of mammals in a Mayan Tropical reforest and abandoned agricultural field.pdf*. University of Florida.

Medellín, R.A. and Equihua, M. (1998) 'Mammal species richness and habitat use in rainforest and abandoned agricultural fields in Chiapas, Mexico', *Journal of Applied Ecology*, 35(1), pp. 13–23. Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.1998.00272.x>.

Mendoza, H. *et al.* (2020) 'Does land-use change increase the abundance of zoonotic reservoirs? Rodents say yes', *European Journal of Wildlife Research*, 66(1), p. 6. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10344-019-1344-9>.

Milazzo, M.L. *et al.* (2012) 'Geographic Distribution of Hantaviruses Associated with Neotomine and Sigmodontine Rodents, Mexico', *Emerging Infectious Diseases*, 18(4). Available at: <https://doi.org/10.3201/eid1804.111028>.

Molini, U. *et al.* (2020) 'Avian Influenza H5N8 Outbreak in African Penguins (*Spheniscus demersus*), Namibia, 2019', *Journal of Wildlife Diseases*, 56(1), p. 214. Available at: <https://doi.org/10.7589/2019-03-067>.

Morand, S. *et al.* (2015) 'Assessing the distribution of disease-bearing rodents in

human-modified tropical landscapes’, *Journal of Applied Ecology*. Edited by H. McCallum, 52(3), pp. 784–794. Available at: <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12414>.

Olival, K.J. *et al.* (2017) ‘Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals’, *Nature*, 546(7660), pp. 646–650. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature22975>.

Orduña-Mayares, D. *et al.* (2022) ‘*Trypanosoma cruzi* and *Leishmania spp.* in rodents in a peri-urban area of Central Mexico’, *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 35, p. 100779. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2022.100779>.

Orta-Pineda, G. *et al.* (2021) ‘Effects of landscape anthropization on sylvatic mosquito assemblages in a rainforest in Chiapas, Mexico’, *Acta Tropica*, 216, p. 105849. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105849>.

Ott Joslin, J. (2009) ‘Blood Collection Techniques in Exotic Small Mammals’, *Journal of Exotic Pet Medicine*, 18(2), pp. 117–139. Available at: <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2009.04.002>.

Panti-May, J.A., Torres-Castro, M.A. and Hernández-Betancourt, S.F. (2021) ‘Parásitos zoonóticos y micromamíferos en la península de Yucatán, México: contribuciones del CCBA-UADY’, p. 11.

Pavlova, E.V., Kirilyuk, E.V. and Naidenko, S.V. (2016) ‘Occurrence Pattern of Influenza A Virus, *Coxiella burnetii*, *Toxoplasma gondii*, and *Trichinella sp.* in the Pallas Cat and Domestic Cat and Their Potential Prey Under Arid Climate Conditions’, *Arid Ecosystems*, 6(4), pp. 277–283. Available at: <https://doi.org/10.1134/S2079096116040089>.

Plourde, B.T. *et al.* (2017) ‘Are disease reservoirs special? Taxonomic and life history characteristics’, *PLOS ONE*. Edited by M.L. Baker, 12(7), p. e0180716. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180716>.

Plowright, R.K. *et al.* (2017) ‘Pathways to zoonotic spillover’, *Nature Reviews Microbiology*, 15(8), pp. 502–510. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.45>.

Reid, F.A. (2009) *A Field Guide To The Mammals Of Central America & Southeast Mexico.pdf*. 2nd edn. New York, USA: Oxford University Press.

Rendón-Franco, E. *et al.* (2014) ‘Toxoplasmosis seroprevalence in wild small rodents, potentially preys of ocelots in north-eastern Mexico’, *Parasite*, 21, p. 57. Available at: <https://doi.org/10.1051/parasite/2014058>.

Rodríguez-Rojas, J.J. *et al.* (2020) ‘Molecular Detection of *Leptospira interrogans* and *Borrelia burgdorferi* in Wild Rodents from Mexico’, *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 20(11), pp. 860–863. Available at: <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2600>.

Romero Tejeda, A. *et al.* (2015) ‘Susceptibility to and transmission of H5N1 and H7N1 highly pathogenic avian influenza viruses in bank voles (*Myodes glareolus*)’, *Veterinary Research*, 46(1), p. 51. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0184-1>.

Root, J.J. *et al.* (2014) ‘Ecological Routes of Avian Influenza Virus Transmission to a Common Mesopredator: An Experimental Evaluation of Alternatives’, *PLoS ONE*. Edited by H. Hotta, 9(8), p. e102964. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102964>.

Root, J.J. and Shriner, S.A. (2020) ‘Avian Influenza A Virus Associations in Wild, Terrestrial Mammals: A Review of Potential Synanthropic Vectors to Poultry Facilities’, *Viruses*, 12(12), p. 1352. Available at: <https://doi.org/10.3390/v12121352>.

Rubio, A.V., Ávila-Flores, R. and Suzán, G. (2014) ‘Responses of Small Mammals to Habitat Fragmentation: Epidemiological Considerations for Rodent-Borne Hantaviruses in the Americas’, *EcoHealth*, 11(4), pp. 526–533. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10393-014-0944-9>.

Sáenz, J.C. (1999) ‘Arboricola *Ototylomys phyllotis* (Rodentia: Muridae) en un bosque’, p. 4.

San-José, M., Arroyo-Rodríguez, V. and Sánchez-Cordero, V. (2014) ‘Association between Small Rodents and Forest Patch and Landscape Structure in the Fragmented Lacandona Rainforest, Mexico’, *Tropical Conservation Science*, 7(3), pp. 403–422. Available at: <https://doi.org/10.1177/194008291400700304>.

Seal, S., Dharmarajan, G. and Khan, I. (2021) ‘Evolution of pathogen tolerance and emerging infections: A missing experimental paradigm’, *eLife*, 10, p. e68874. Available at: <https://doi.org/10.7554/eLife.68874>.

Shriner, S.A. *et al.* (2012) ‘Low-Pathogenic Avian Influenza Viruses in Wild House Mice’, *PLoS ONE*. Edited by T. Davis, 7(6), p. e39206. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039206>.

Sikes, R.S. and the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists (2016) ‘2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education’, *Journal of Mammalogy*, 97(3), pp. 663–

688. Available at: <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyw078>.

Sotomayor-Bonilla, J. *et al.* (2018) ‘Survey of mosquito-borne flaviviruses in the Cuitzmala River Basin, Mexico: do they circulate in rodents and bats?’, *Tropical Medicine and Health*, 46(1), p. 35. Available at: <https://doi.org/10.1186/s41182-018-0117-6>.

Spackman, E. (ed.) (2020) *Animal Influenza Virus: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer US (Methods in Molecular Biology). Available at: <https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0346-8>.

Sullivan, H.J. *et al.* (2009) ‘Evaluation of an epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to influenza A virus in domestic and wild avian and mammalian species’, *Journal of Virological Methods*, 161(1), pp. 141–146. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2009.06.001>.

Suzán, G. *et al.* (2008) ‘Epidemiological considerations of rodent community composition in fragmented landscapes in Panama’, *Journal of Mammalogy*, 89(3), pp. 684–690. Available at: <https://doi.org/10.1644/07-MAMM-A-015R1.1>.

Tong, S. *et al.* (2013) ‘New World Bats Harbor Diverse Influenza A Viruses’, *PLoS Pathogens*. Edited by K. Subbarao, 9(10), p. e1003657. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003657>.

Torres-Castro, M. *et al.* (2018) ‘Detección molecular de leptospiras patógenas en roedores sinantrópicos y silvestres capturados en Yucatán, México’, *Biomédica*, 38, pp. 51–58. Available at: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3938>.

Torres-Castro, M. *et al.* (2022) ‘Búsqueda de *Toxoplasma gondii* (Eucoccidiorida: Sarcocystidae) en roedores silvestres de la península de Yucatán, México’, *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 33(3), p. e21273. Available at: <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i3.21273>.

Vandalen, K.K. *et al.* (2009) ‘Monitoring exposure to avian influenza viruses in wild mammals’, *Mammal Review*, 39(3), pp. 167–177. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2009.00144.x>.

Velkers, F.C. *et al.* (2017) ‘The role of rodents in avian influenza outbreaks in poultry farms: a review’, *Veterinary Quarterly*, 37(1), pp. 182–194. Available at: <https://doi.org/10.1080/01652176.2017.1325537>.

Viney, M. and Riley, E.M. (2017) ‘The Immunology of Wild Rodents: Current Status

and Future Prospects’, *Frontiers in Immunology*, 8, p. 1481. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01481>.

Vinson, J.E. *et al.* (2022) ‘Land reversion and zoonotic spillover risk’, *Royal Society Open Science*, 9(6), p. 220582. Available at: <https://doi.org/10.1098/rsos.220582>.

Williams, E.P. *et al.* (2021) ‘Common Themes in Zoonotic Spillover and Disease Emergence: Lessons Learned from Bat- and Rodent-Borne RNA Viruses’, *Viruses*, 13(8), p. 1509. Available at: <https://doi.org/10.3390/v13081509>.

Wolff, J.O., Dueser, R.D. and Berry, K.S. (1985) ‘Food Habits of Sympatric *Peromyscus leucopus* and *Peromyscus maniculatus*’, *Journal of Mammalogy*, 66(4), pp. 795–798. Available at: <https://doi.org/10.2307/1380812>.

Woolhouse, M.E.J., Adair, K. and Brierley, L. (2013) ‘RNA Viruses: A Case Study of the Biology of Emerging Infectious Diseases’, *Microbiol Spectrum*, p. 11.

Wu, Z. *et al.* (2018) ‘Comparative analysis of rodent and small mammal viromes to better understand the wildlife origin of emerging infectious diseases’, *Microbiome*, 6(1), p. 178. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0554-9>.

Yang, J. *et al.* (2022) ‘Co-existence and co-infection of influenza A viruses and coronaviruses: Public health challenges’, *The Innovation*, 3(5), p. 100306. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2022.100306>.

Yin, H., Wan, D. and Chen, H. (2022) ‘Metagenomic analysis of viral diversity and a novel astrovirus of forest rodent’, *Virology Journal*, 19(1), p. 138. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01847-6>.

Young, H.S. *et al.* (2015) ‘Context-dependent effects of large-wildlife declines on small-mammal communities in central Kenya’, *Ecological Applications*, 25(2), pp. 348–360. Available at: <https://doi.org/10.1890/14-0995.1>.

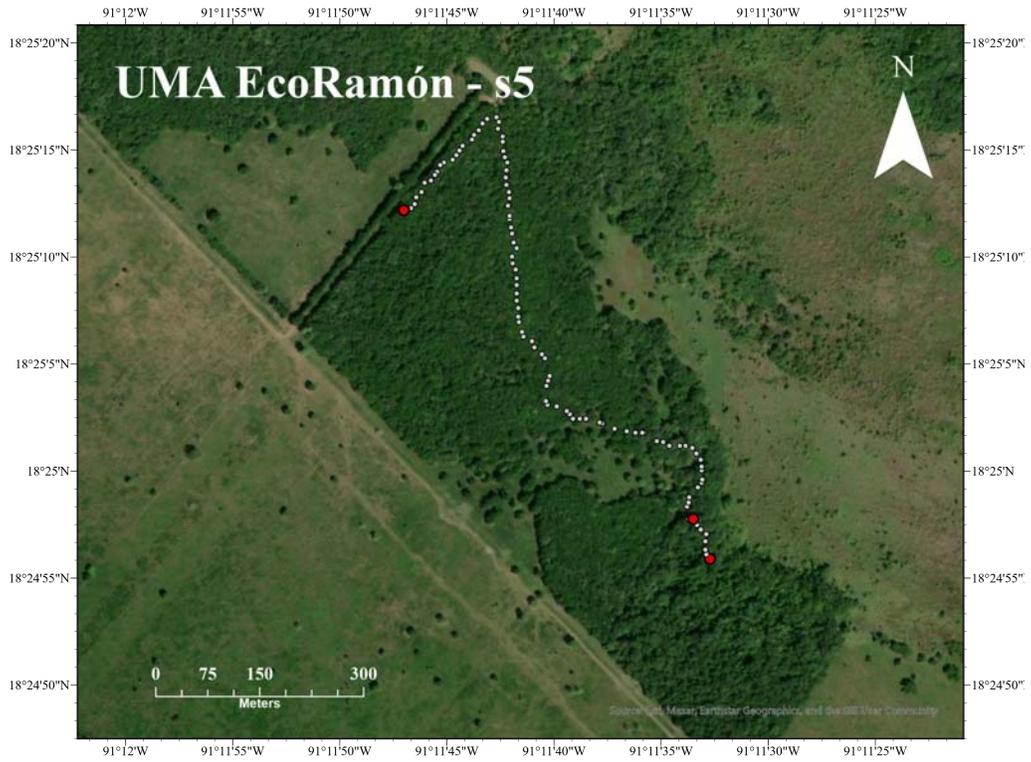
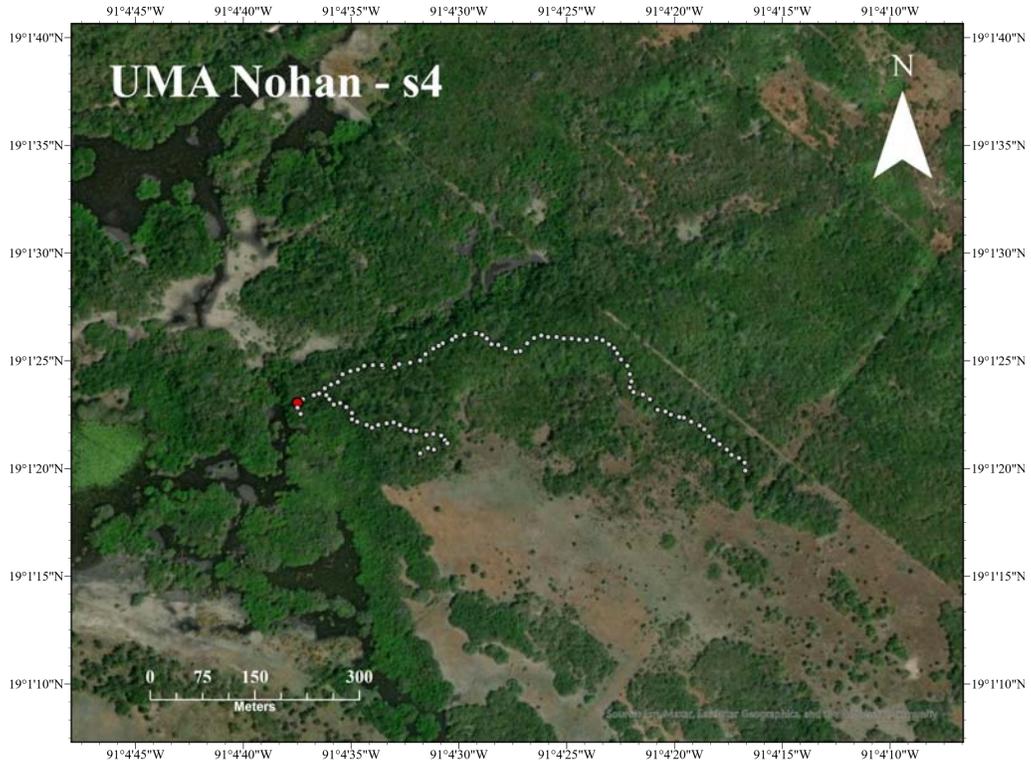
Young, H.S. *et al.* (2017) ‘Interacting effects of land use and climate on rodent-borne pathogens in central Kenya’, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1722), p. 20160116. Available at: <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0116>.

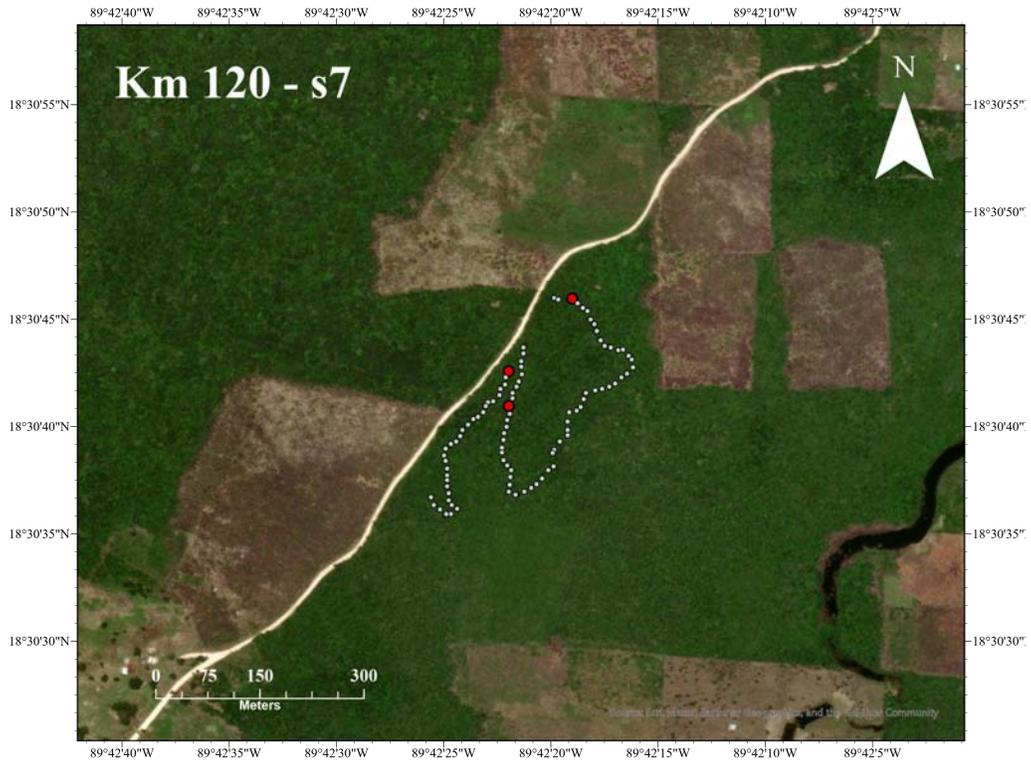
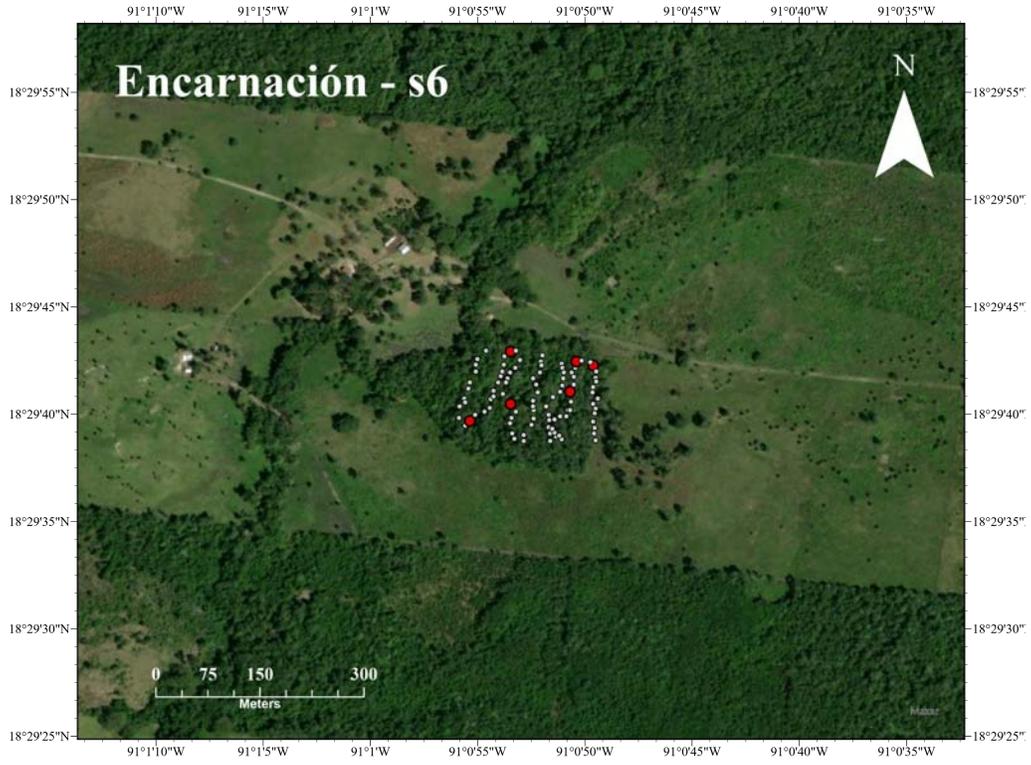
Zhang, H. *et al.* (2011) ‘Characterization of an H10N8 influenza virus isolated from Dongting lake wetland’, *Virology Journal*, 8(1), p. 42. Available at: <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-42>.

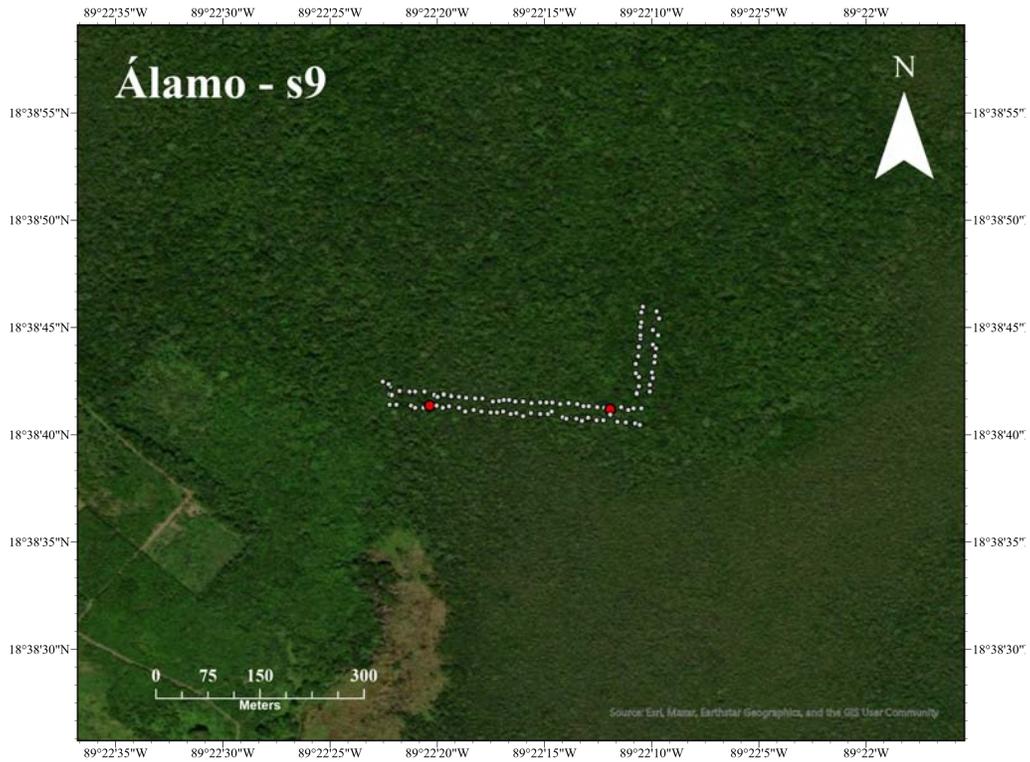
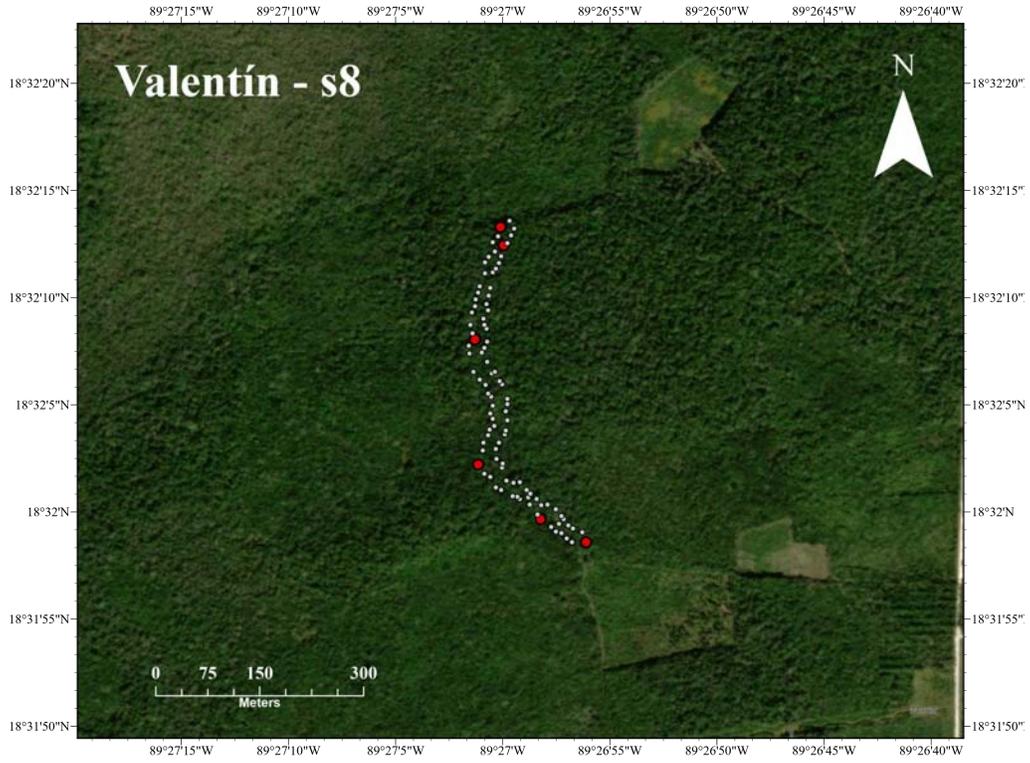
ANEXOS

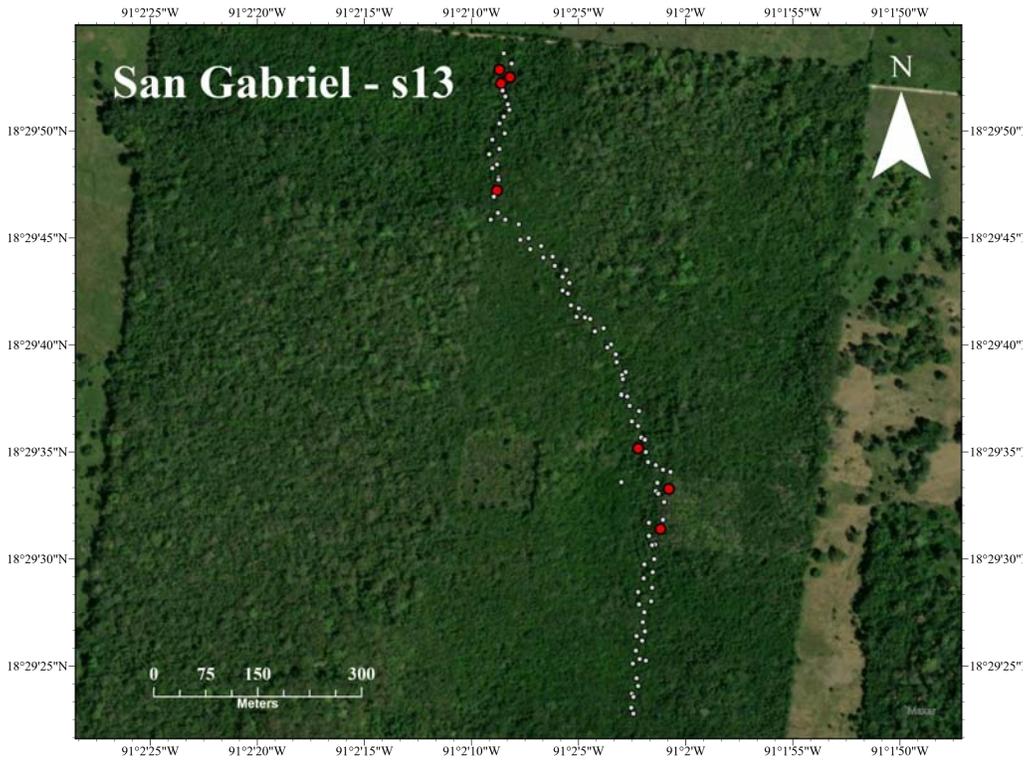
Anexo 1

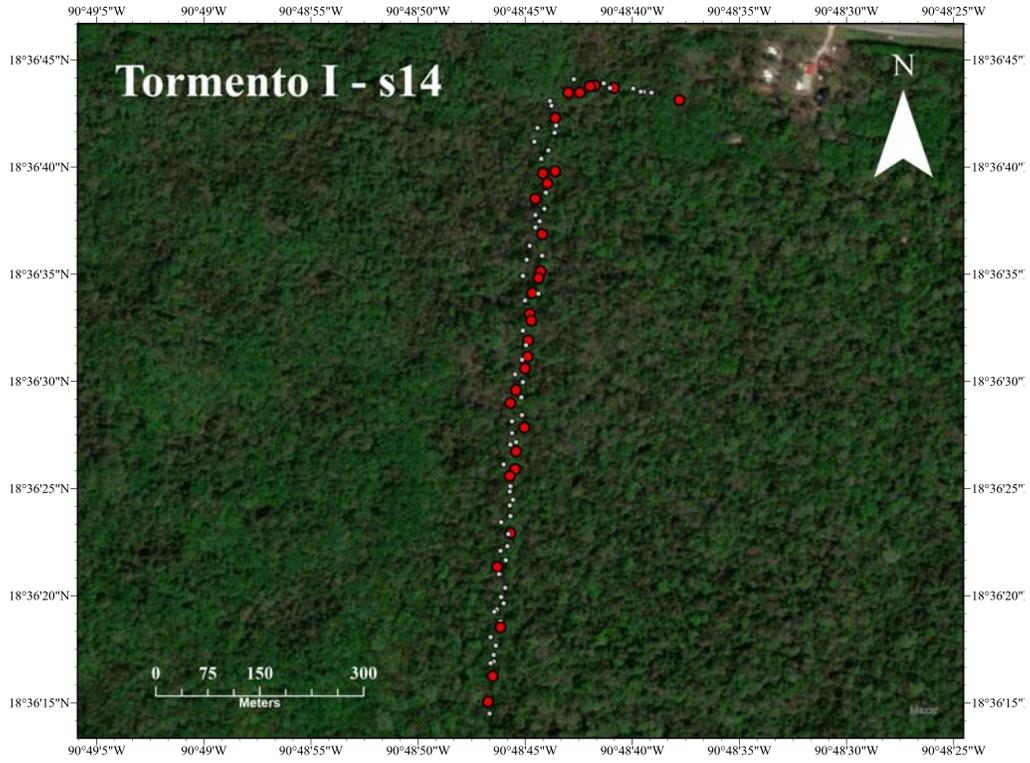




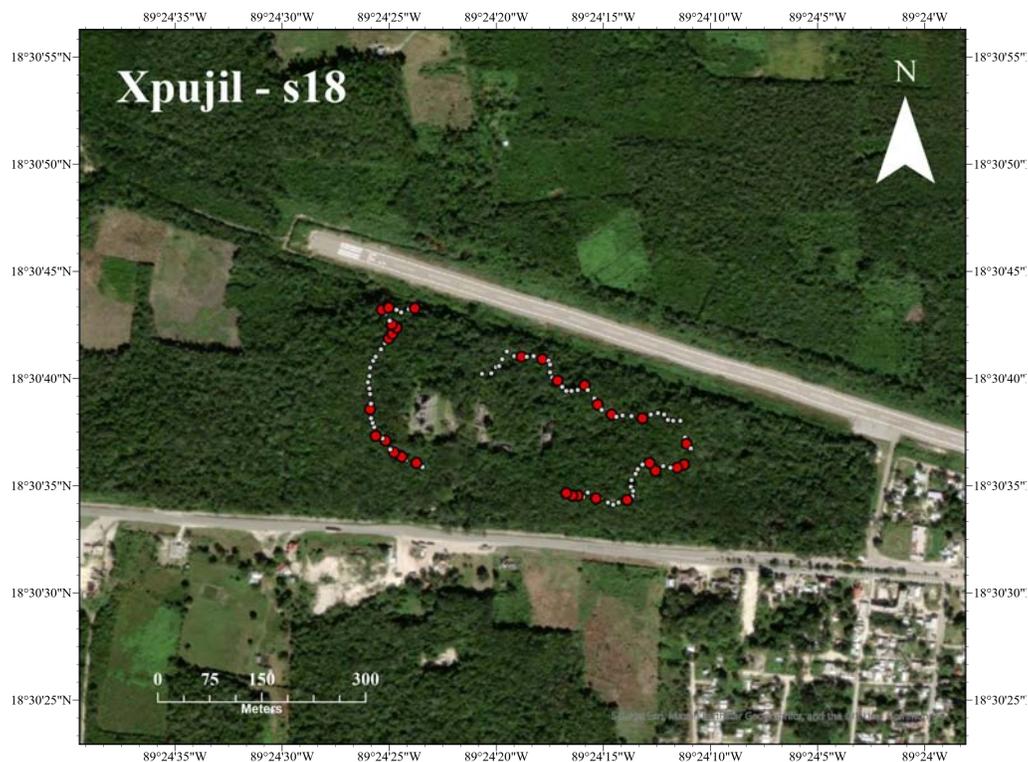












Anexo 1.- Distribución espacial de las trampas tipo Sherman en los sitios donde se obtuvieron capturas de roedores. Los puntos grises representan las trampas que se colocaron y los puntos rojos representan las trampas que obtuvieron captura de roedor. La distancia mínima entre cada trampa es de 10 m. La morfología del transecto dependió de las condiciones de acceso y tipo de vegetación de cada sitio de muestreo.

Anexo 2

Guía de campo
para la
identificación de
ratones de
Campeche



Elaborada por:
Karen Rivera Rosas
Guillermo Orta Pineda



Mus musculus

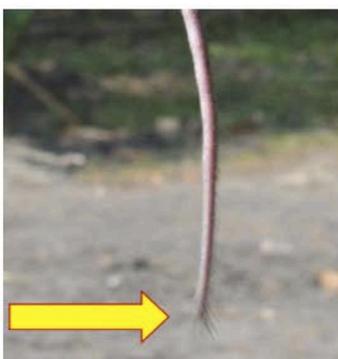
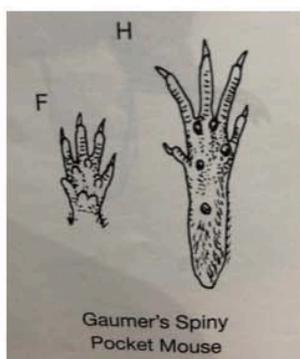
- De los ratones más pequeños. Su cuerpo y su cola miden lo mismo.
- El color del pelaje puede variar mucho. El patrón clásico es dorso gris-café y la parte ventral un poco más clara, aunque no es evidente.
- Todos los individuos capturados, no importa edad, sexo o estado reproductivo pasarán a la cámara de anestesia.



3

Heteromys gaumeri

- Abazones
- Macho: pelaje café-rojizo
- Patrón de coloración lateral del pelo blanco-anaranjado-café
- Cola con pelaje en la punta



OJO: Cuidado durante el manejo con sus pies traseros. Tienden a patear y se pueden lastimar gravemente su piel con sus garras.

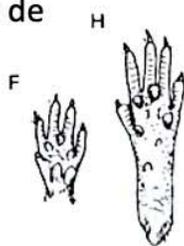
4



5

Heteromys desmarestianus

- Pelaje oscuro: café-gris, en ocasiones con una franja naranja a los lados. Puede ocasionar confusión con *H. gaumeri*
- Zona plantar de pies traseros de coloración oscura
- Cola **sin** pelaje en la punta



Forest Spiny
Pocket Mouse



Foto de: Enciclovida.mx

6

- Parche blanco en la base de las orejas (se nota mejor en individuos de gran tamaño).
- La piel de manos y pies es de color rosa claro-blanco en la parte dorsal.
- Pelaje muy suave.

Ototylomis phillotis



- Pelo blanco brillante en la parte ventral del cuerpo.
- Cola mayormente de color gris oscuro a negro con anillos bien marcados y sin pelo. En ocasiones la cola puede tener un patrón bicolor no tan marcado que se acentúa en la punta.
- Orejas de mayor tamaño en comparación con las demás especies. Desprovistas de pelo.
- El tamaño de los adultos varía.

Peromyscus yucatanicus

- Color del pelaje dorsal variable (café, marrón, ocre, gris)
- Cola bicolor y **más larga** que *P.leucopus* ($T > HB$)
- **Anillo ocular** estrecho de color **oscuro** y muy evidente
- **Orejas más largas** que *P. leucopus*



Foto de: Enciclovida.mx



9

Peromyscus leucopus

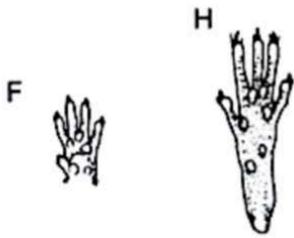
- Cola bicolor, $T < HB$ con pocos pelos.
- Pelaje gris en el dorso, ocre en los lados y en la parte ventral un pelaje blanco definido.
- Anillo ocular estrecho o ausente. No es evidente.
- Manos y pies de color blanco.



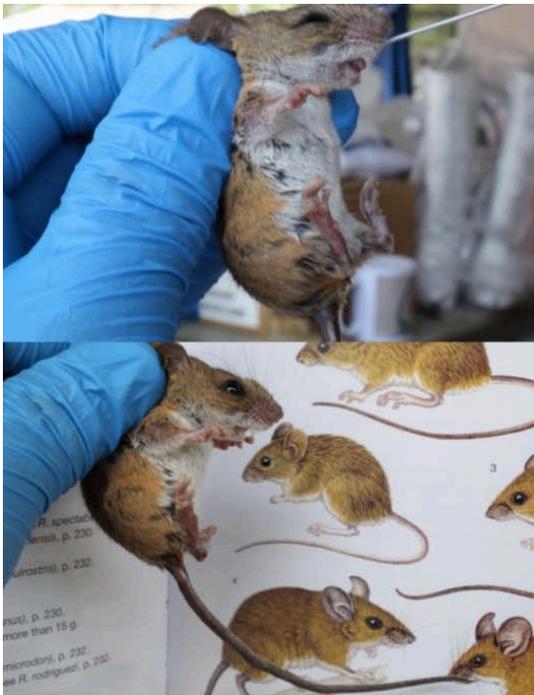
10

Oligoryzomys fulvescens

- Pies largos y estrechos, dedos internos más largos que los externos.
- Incisivos superiores sin surcos.
- Orejas pequeñas con pelaje anaranjado.
- Cola larga y angosta (aprox. 120% de HB), ligeramente bicolor.



11



- Importante: Esto podría ser subjetivo, pero es la especie de ratón más güera registrada durante el muestreo de secas. Noten sus tonos amarillos-anaranjados intensos.

- Importante: Podría confundirse con algunos *M. musculus*. Sin embargo, el tamaño de la cola y la coloración ventral ayudarían a confirmar.

12

Reithrodontomys gracilis

- Pelaje naranja-café en dorso con gradiente ocre a los lados
- Cola muy larga de color oscuro irregular o levemente bicolor
- Orejas medianas, color café
- Anillo ocular oscuro. No tan evidente
- Tobillo de color oscuro
- **Suelen pesar < 15 gr**



Foto de: Enciclovida.mx

13

Oryzomys rostratus

(Handleyomys rostratus)

- Pelaje del dorso anaranjado-rojizo-café, los costados oscuros o anaranjados
- Orejas peludas de tamaño medio con algunos pelos anaranjados aislados en el borde interno.
- Cola desnuda, ligeramente bicolor o enrojecida.
- Pies traseros con pelos largos sobre las garras, planta ligeramente negruzca.



14

Oryzomys couesi

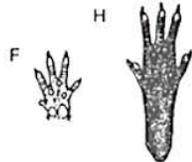
- Orejas pequeñas casi ocultas por el pelaje, orejas con pelaje.
- Pelaje grueso (shaggy-looking).
- Pies sin pelos sobre las garras.
- Cola larga y claramente bicolor.



15

*Sigmodon hispidus**

- Pelaje con patrón canoso.
- La planta de los pies es muy oscuro, casi negro.
- Cola muy corta (88-160mm).
- Orejas cortas con borde redondeado y abundante pelo.
- Anillo ocular muy evidente, formado por pelo de color beige o café claro.
- Muy resistente al manejo.



Hispid
Cotton Rat

*NOTA: Nombre científico en debate, revisar constantemente la literatura científica para actualizar.



16



Anexo 2.- Guía rápida para la identificación de roedores en campo. Cada una de las páginas contienen características particulares de cada especie para su identificación junto con fotografías de referencia las cuales fueron obtenidas durante las salidas de campo, algunas otras obtenidas en la página oficial de CONABIO (enciclovida.mx) y los esquemas de los bulbos plantares fueron obtenidos de Reid, 2009.

Anexo 3.- Listado potencial de especies registradas en la búsqueda sistemática de literatura científica con un total de 60 artículos revisados

Estado	Familia	Especies	Referencias (DOI/URL)	Campos de investigación		
Campeche	Heteromyidae	<i>Heteromys gaumeri</i> <i>Heteromys desmarestianus</i> <i>Heteromys pictus</i>	1. http://doi.org/10.1089/vbz.2019.2600 2. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.7589/2016-11-249	Community ecology Disease ecology Macroecology Population ecology		
	Cricetidae	<i>Handleyomys rostratus</i> <i>Oligoryzomys fulvescens</i> <i>Oryzomys couesi</i> <i>Oryzomys melanotis</i> <i>Otodylomys phyllotis</i> <i>Otonyctomys hatti</i> <i>Peromyscus yucatanicus</i> <i>Peromyscus leucopus</i> <i>Reithrodontomys gracilis</i> <i>Sigmodon toltecus</i> <i>Sigmodon hispidus</i>	3. https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000200015 4. https://doi.org/10.1590/S0074-02761999000300005 5. http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762000000500001 6. http://dx.doi.org/10.1590/0074-0276108022013008 7. http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652009000200006 8. http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762003000800002 9. https://doi.org/10.1179/136485905X16390 10. https://doi.org/10.4269/ajtmh.1995.53.141			
		Muridae	<i>Rattus rattus</i>		11. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/j.1095-8312.2012.01966.x	
		Sciuridae	<i>Sciurus aureogaster</i> <i>Sciurus deppei</i> <i>Sciurus yucatanensis</i>		12. https://doi.org/10.1016/j.yampe.v.2005.07.021	
		Geomyidae	<i>Heterogeomys hispidus</i>		13. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.cvto.2016.04.016	
		Erethizontidae	<i>Coendou mexicanus</i>		14. https://doi.org/10.21829/azm.2013.291389	
		Dasyproctidae	<i>Dasyprocta punctata</i>			
		Cuniculidae	<i>Cuniculus paca</i>			
	Chiapas	Heteromyidae	<i>Heteromys desmarestianus</i> <i>Heteromys goldmani</i> <i>Heteromys nelsoni</i> <i>Heteromys pictus</i> <i>Heteromys salvini</i>		1. https://doi.org/10.1007/s10980-020-00999-6 2. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.7589/2016-11-249 3. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s10980-006-9020-3	Community ecology Disease ecology Macroecology
Cricetidae			<i>Baiomys musculus</i> <i>Habromys lophurus</i> <i>Handleyomys alfaroi</i> <i>Microtus guatemalensis</i> <i>Neotoma mexicana</i> <i>Nyctomys sumichrasti</i> <i>Oligoryzomys fulvescens</i> <i>Oryzomys couesi</i> <i>Oryzomys rhabdops</i> <i>Oryzomys rostratus</i> <i>Oryzomys saturatior</i>	4. http://dx.doi.org/10.1016/j.rmb.2017.06.003 5. http://dx.doi.org/10.1016/j.rmb.2016.07.009 6. https://doi.org/10.1076/snfe.36.3.169.2130 7. https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2020.91.2971 8. https://doi.org/10.3398/064.079.0413 9. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/j.1095-8312.2012.01966.x 10. https://doi.org/10.4269/ajtmh	Population ecology Landscape ecology	

		<i>Otodylomys phyllotis</i> <i>Peromyscus aztecus</i> <i>Peromyscus guatemalensis</i> <i>Peromyscus gymnotis</i> <i>Peromyscus levipes</i> <i>Peromyscus leucopus</i> <i>Peromyscus melanophrys</i> <i>Peromyscus mexicanus</i> <i>Peromyscus zarhyncus</i> <i>Reithrodontomys fulvescens</i> <i>Reithrodontomys gracilis</i> <i>Reithrodontomys megalotis</i> <i>Reithrodontomys mexicanus</i> <i>Reithrodontomys microdon</i> <i>Reithrodontomys sumichrasti</i> <i>Reithrodontomys tenuirostris</i> <i>Rheomys thomasi</i> <i>Scotinomys teguina</i> <i>Sigmodon hispidus</i> <i>Sigmodon hirsutus</i> <i>Sigmodon mascotensis</i> <i>Sigmodon toltecus</i> <i>Sigmodon zanjonensis</i> <i>Tylomys bullaris</i> <i>Tylomys nudicaudus</i> <i>Tylomys tumbalensis</i>	.2011.11-0094 11. https://doi.org/10.3201/eid1504.081008 12. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s10745-007-9116-7 13. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s11284-004-0016-7 14. https://doi.org/10.1177/194008291400700304 15. https://doi.org/10.1016/j.ymp.ev.2005.07.021	
	Muridae	<i>Rattus rattus</i>		
	Sciuridae	<i>Glaucomys volans</i> <i>Sciurus aureogaster</i> <i>Sciurus deppei</i> <i>Sciurus variegatoides</i> <i>Sciurus yucatanensis</i>		
	Geomyidae	<i>Orthogeomys grandis</i> <i>Orthogeomys hispidus</i>		
	Erethizontidae	<i>Coendou mexicanus</i>		
	Dasyproctidae	<i>Dasyprocta mexicana</i> <i>Dasyprocta punctata</i>		
	Cuniculidae	<i>Cuniculus paca</i>		
Tabasco	Cricetidae	<i>Oryzomys couesi</i> <i>Otodylomys phyllotis</i>	1. https://doi.org/10.15517/rbt.v60i3.1812	

		<i>Sigmodon toltecus</i>	2. https://doi.org/10.1515/helm-2017-0014	Disease ecology
	Muridae	<i>Mus musculus</i> <i>Rattus norvegicus</i> <i>Rattus rattus</i>	3. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/j.1095-8312.2012.01966.x	Macroecology
	Cuniculidae	<i>Cuniculus paca</i>	4. https://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/783	Population ecology
Yucatán	Heteromyidae	<i>Heteromys gaumeri</i>	1. https://doi.org/10.1016/j.pari.2019.102042	Disease ecology Macroecology Population ecology Community ecology Landscape ecology
	Cricetidae	<i>Peromyscus leucopus</i> <i>Peromyscus yucatanicus</i> <i>Reithrodontomys gracilis</i> <i>Sigmodon toltecus</i> <i>Sigmodon hispidus</i> <i>Oligoryzomys sp.</i> <i>Oligoryzomys fulvescens</i> <i>Oryzomys couesi</i> <i>Ototylomys phyllotis</i>	2. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.08.003	
		Muridae	<i>Mus musculus</i> <i>Rattus rattus</i>	
	Sciuridae		<i>Sciurus yucatanensis</i>	
			5. https://doi.org/10.1515/mammalia-2018-0083	
			6. https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i3.4192	
			7. http://dx.doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2019.1.511	
			8. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.10.006	
			9. https://doi.org/10.21897/rmvz.1420	
			10. https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3938	
			11. http://dx.doi.org/10.1007/s11252-017-0651-8	
			12. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s10393-014-1003-2	
			13. http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2014.0224	
			14. http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652015000200005	
			15. https://doi.org/10.1017/S002149X10000817	
			16. https://doi.org/10.11646/zootaxa.4403.3.4	
			17. https://doi.org/10.11646/zootaxa.4403.3.4	
			18. http://www.revista.ccba.uady.mx/urn:ISSN:1870-0462-tsaes.v21i2.2480	
			19. https://doi.org/10.12933/therya-19-740	
			20. http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3343	
			21. https://doi.org/10.32776/revbiomed.v28i3.566	
			22. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/j.1095-8312.2012.01966.x	
			23. https://doi.org/10.1016/j.ymp.2005.07.021	
			24. https://doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2019.2.590	
			25. https://doi.org/10.1111/btp.12482	
			26. https://doi.org/10.1515/helm-2017-0030	
			27. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1089/vbz.2016.1981	

			<p>28. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s11230-016-9656-6</p> <p>29. http://dx.doi.org/10.22201/ie.20074484e.2002.6.1.103</p> <p>30. https://doi.org/10.32776/revbiomed.v14i4.360</p> <p>31. https://doi.org/10.21829/azm.2006.2211967</p> <p>32. https://doi.org/10.21829/azm.2006.2211967</p>	
--	--	--	--	--

Anexo 4.- Protocolo para la extracción del suero de las tiras de papel filtro

1. Validar la tira de papel filtro de acuerdo con su saturación, su viabilidad y si hay o no presencia de elementos secundarios.

Buena validación: las dos caras de la tira están llenas al igual que el contorno y las orillas = 100 μ l.

2. Cortar la tira de papel filtro con tijeras (desinfectar las tijeras entre cada tira de papel filtro).
3. Colocar los pedazos del papel filtro dentro de un microtubo de 1.5 ml.
4. Agregar 400 μ l de medio (PBS) comprobando que la tira de papel filtro se cubra por completo.
5. Dejar eluir la tira de papel filtro entre 12 a 24 horas en muestras tomadas recientemente (menos de un año). En caso de que las muestras sean más antiguas se pueden dejar reposar de una hasta tres semanas. La tira de papel filtro debe tornarse lo más blanca posible para sacarla del tubo pasando el tiempo de la elución.
6. Extraer la tira de papel filtro e inactivarla en un bote con agua y cloro. Posteriormente desechar la tira de papel filtro en los residuos biológico-infecciosos.
7. Colocar los sueros a baño María a 56°C durante 30 minutos. Este procedimiento se utiliza para inactivar todos los elementos o agentes patógenos que podrían permanecer en la elución. Cada 10 minutos sacar los sueros y darles un movimiento con el Vortex durante 10 segundos para evitar que se gelifiquen.
8. Centrifugar los sueros por 5 minutos a 3000 rpm para que descienda el sedimento.
9. Tomar el sobrenadante para obtener el suero. La muestra de suero está lista para ser utilizada.

10. En caso de que no se vaya a trabajar inmediatamente con la muestra, se debe dejar atemperar a temperatura ambiente para posteriormente guardarla en congelación.

Protocolo de la Dra. Ana Laura Viguera Galván adaptado por la pMVZ Karen Elizabeth Rivera Rosas y la M. en C. Brenda Aline Maya Badillo.

Anexo 5.- Protocolo del ensayo de ELISA

Los reactivos deben atemperarse a una temperatura de 18–26°C antes de usarlos, así como mezclarse invitriéndolos o agitándolos en un Vórtex suavemente.

1. Se toman la(s) placa(s) tapizada(s) con antígenos y se marca la posición de la muestra en una hoja de trabajo.
2. Se agrega 100 µl de control negativo NO DILUIDO en dos pocillos.
3. Se agrega 100 µl de control positivo NO DILUIDO en dos pocillos.
4. Se agrega 100 µl de muestra diluida en los pocillos correspondientes.
5. La placa se incuba durante 60 minutos (\pm 5 minutos) a 18–26°C.
6. Preparar la solución de lavado realizando una dilución (1:10), colocando 35 ml de la solución de lavado concentrada y 315ml de agua destilada para obtener la solución de lavado diluida.
7. Se lava cada pocillo con aproximadamente 300 µl de solución de lavado diluida de 3 a 5 veces.
8. Secar sobre papel absorbente.
9. Se agrega 100 µl de Conjugado en cada pocillo.
10. Se incuba durante 30 minutos (\pm 2 minutos) a 18–26°C.
11. Se repite el paso 7 y 8.
12. Se agrega 100 µl de Substrato TMB en cada pocillo.
13. Se incuba durante 15 minutos (\pm 1 minuto) a 18–26°C.
14. Se agrega 100 µl de Solución de Frenado en cada pocillo para detener la reacción.
15. Se calibra el lector en blanco con aire.
16. Finalmente, realizar la lectura y anotar los valores de la absorbencia a 650nm, A(650) en BioTek Synergy H1 microplate reader.

Resultados:

Para que el ensayo sea válido, la absorbancia media A(650) del control negativo debe ser superior o igual a 0,600, y la relación M/N del control positivo debe ser inferior a 0,50. En el caso de análisis no válidos, la técnica podría ser la causante y habría que repetir el ensayo. La presencia o ausencia de anticuerpos frente a la IA se determina por la relación muestra-control negativo (M/N) para cada muestra.

Interpretación de los resultados:

- Las muestras con valores $M/N < 0,60$ deberán considerarse positivas a la presencia de anticuerpos frente a la Influenza A.
- Las muestras con una relación $M/N \geq 0,60$ se consideran negativas a la presencia de anticuerpos frente a la Influenza A.