



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

PREVALENCIA DE *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* EN COMUNIDADES DE PEQUEÑOS MAMÍFEROS EN PAISAJES FRAGMENTADOS A LO LARGO DEL RÍO CUITZMALA, JALISCO, MÉXICO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

OMAR GARCÍA SUÁREZ

ASESORES

DR. GERARDO SUZÁN AZPIRI

DRA. ANA CECILIA ESPINOSA

GARCÍA



MÉXICO, D. F., 2013



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.

**PREVALENCIA DE *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia*
EN COMUNIDADES DE PEQUEÑOS MAMIFEROS EN LA
CUENCA DEL RÍO CUITZMALA, JALISCO, MÉXICO.**

Dedicatoria:

Este trabajo está dedicado a mi familia todo el apoyo que recibí de ellos durante mi formación, el cual siempre me impulsa a superarme. A Felipe y Teresa, mis padres: por su esfuerzo y apoyo brindado en esta larga travesía y sobre todo por su empeño en guiarme siempre como mejor persona. A mis Hermanos: Diana, Eduardo y Felipe que siempre me apoyan en todos mis sueños y proyectos, gracias por el ejemplo y por consentirme tanto. A mis sobrinos Kevin, Jatziri, Balam, Lalo, Valeria, Itzae y Emanuel por las tantas alegrías y travesuras juntos, espero que sigan así, siempre llenos de dudas y energía.

Agradecimientos:

Al Dr. Gerardo Suzan Azpiri por haberme asesorado en la realización esta tesis; pero sobre todo por haberme brindado su amistad y la oportunidad de integrarme a este gran grupo de trabajo.

A la Dra. Ana Cecilia Espinoza García por su asesoría en la realización de este trabajo y su gran ayuda para resolver los problemas que se presentaron.

A la Dra. Marisa Mazari Hiriart por haberme dado la confianza para trabajar en este proyecto.

A PAPIIT-UNAM por el financiamiento del proyecto: IN215910 "Patógenos zoonóticos como indicadores de salud ambiental en un gradiente altitudinal y de perturbación, en una zona tropical de Jalisco, México".

A la Estación Biológica de Chamela por dejarnos disfrutar de sus instalaciones durante el trabajo de campo; a su personal que nos brindo su ayuda siempre que lo necesitábamos, en especial a doña Eva y doña Mago que siempre mantenían "lleno" de energía al equipo; a Abel y Don Francisco por su apoyo en el campo y su gran disposición a ayudarnos. Y a la gente de las comunidades que nos brindo su ayuda como "Don Buena Onda" y "El Dengue" que simplemente nos hicieron el viaje.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por haberme albergado todos estos años en sus instalaciones, sobre todo al Grupo de Estudio de Ecología de Enfermedades que afortunadamente son muchos como para mencionar a cada uno, gracias a todos por la ayuda, consejos y festejos, espero sigamos así y mejoremos como equipo. Agradezco especialmente a Juan Cortes por hacer más ameno el trabajo de campo, a Gabriel García y Rafael Ávila por su ayuda con la parte estadística de este trabajo en sus distintas etapas.

A mis compañeros del laboratorio de Ecología Química: Nallely, Diana, Dafne, Sac Bel, Patines, Emilio, Marlen, Juan, Erick, Alejandra y Rosa, incluso agradezco a Adriana por sus constantes regaños y es más, hasta a Jacqueline, gracias a todos por hacer más amena la estancia y en especial a Marco Antonio Tapia por ayudarme con la técnica de diagnóstico.

Al Dr. Raymundo Iturbe Ramírez del departamento de Microbiología e Inmunología de la FMVZ por facilitar el uso del equipo de microscopía de inmunofluorescencia en tiempos de crisis.

Además agradezco a todas las personas que voluntaria e involuntariamente me acompañaron durante el transcurso de mi formación, a la Familia Balderas Ruiz que siempre me brindo su apoyo; a mis amigos de la infancia Luis, David y Juanito que siempre están en la buenas y en las malas.

A mis compañeros de la FMVZ Raúl, Manu, Sofia, Majameok, Toño, Pelusa, Tania, Mariely, Liliana y al agregado CCI: Maria Luisa, Daniela, Isra y Carlos por compartir todos estos años en esta maravillosa institución.

Doy un agradecimiento especial a mis chavos: Arturo, Adrian, Moniquita, Daniela, Hugo, Isaura, Bicho, AnaVi, Nacho, Alex, Javier, Buky... y a todos los que faltan en esta larga lista, no por las experiencias pasadas; si no por las que vienen.

Y por ultimo agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme albergado desde hace tantos años y por ser pieza clave en mi formación, con todo lo que implica ser un “Universitario de corazón”, gracias por dejarme ser parte de esta, la máxima casa de estudios de México.

“Por mi raza hablara el espíritu”

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Objetivo principal.....	10
Objetivos específicos.....	10
MATERIALES Y MÉTODOS	11
Área de estudio:	11
Sitios de muestreo:	11
Captura de los roedores y análisis de comunidades:.....	12
Detección de <i>Cryptosporidium parvum</i> y <i>Giardia lamblia</i> en heces por inmunofluorescencia indirecta:.....	14
RESULTADOS:	15
Captura de roedores y análisis de la comunidad:	15
Detección de <i>Cryptosporidium parvum</i> y <i>Giardia lamblia</i> en heces por inmunofluorescencia indirecta:.....	16
DISCUSIÓN	21
Conclusiones	23
LITERATURA CITADA.....	24

RESUMEN

García Suárez Omar

Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en comunidades de pequeños mamíferos en paisajes fragmentados a lo largo del río Cuitzmala en la costa del estado de Jalisco
Bajo la dirección de Dr. Gerardo Suzán Azpiri y Dra. Ana Cecilia Espinosa García

Los protozoarios *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* están considerados dentro de las causas más comunes de diarrea en el mundo; han causado grandes brotes, principalmente por su alta resistencia a las condiciones medioambientales, su fácil dispersión y su capacidad de infectar a otros hospederos, tanto silvestres como domésticos. Se considera al ganado bovino como su principal diseminador; sumado a esto la constante perturbación humana sobre los ecosistemas, para dar paso a la ganadería, aumenta el potencial de riesgo de transmisión; sin embargo no se conoce como se afecta la dinámica de estos protozoarios, así como su impacto en los animales silvestres. El presente estudio tiene por objeto identificar por medio de inmunofluorescencia indirecta la presencia de *C. parvum* y *G. lamblia* en los roedores silvestres de la cuenca del Río Cuitzmala, Jalisco en un gradiente de perturbación. Para ello, se realizaron 3 muestreos entre septiembre de 2010 y diciembre de 2011, muestreando 10 sitios a lo largo de la cuenca, utilizando trampas Sherman. Se capturaron 171 individuos obteniendo una prevalencia de 15.88% *C. parvum* y 12.85% *G. lamblia*. No se encontró ninguna relación entre la presencia de estos parásitos con el grado de perturbación del hábitat, sin embargo hasta donde sabemos este es el primer reporte de estos protozoarios en mamíferos silvestres, en México. Además el haber determinado la presencia de éstos en animales silvestres, es un aporte al conocimiento de la diversidad de hospederos de ambos protozoarios; sin embargo, son necesarios estudios posteriores para conocer más a detalle la dinámica de ambos parásitos.

INTRODUCCIÓN

El intercambio de parásitos es un acontecimiento que ocurre de manera natural entre las especies silvestres y el hombre en ambos sentidos.^{1,2} Sin embargo en la actualidad, este intercambio ha tenido un aumento considerable, atribuido en gran parte a los cambios ambientales generados por el hombre como: el incremento y expansión de las poblaciones humanas, la deforestación, cambio de uso de suelo, cambio y expansión de las actividades agrícolas y agropecuarias.^{3,4}

Estos cambios en el ambiente a su vez generan pérdida del hábitat, cambios en los microclimas, pérdida de la diversidad y contaminación del aire, suelo y agua entre otros problemas,^{3,4,5,6} lo que aumenta el riesgo de que se presenten brotes de Enfermedades Infecciosas Emergentes (EIE) y Re-emergentes (EI-R); las cuales se definen como: aquellas que han aumentado de rango de distribución, incidencia, hospederos, o son producidas por patógenos descubiertos recientemente.^{5,6}

Diferentes estudios sugieren que alrededor del 60% de las EIE y EI-R actuales son de origen zoonótico y el 70% de éstas tienen su origen en la vida silvestre.^{7,8} La mayoría de estas EIE y EI-R son producidas por bacterias y rickettsias (55%), seguidas por virus y priones (25%) y el resto es representado por los protozoarios (10%), hongos (6%) y helmintos (4%).⁷

Debido al impacto que tienen las EIE y EI-R en animales silvestres, domésticos y humanos en los últimos años, se les ha dado un seguimiento importante, sobre todo por el costo económico que representan a corto plazo.⁹ Sin embargo, en 1992 la Organización Mundial de la Salud OMS creó la “Iniciativa de las Enfermedades Olvidadas” debido a que hay un grupo de enfermedades, entre las que se encuentran Chagas, Dengue, Rabia, Teniasis/Cisticercosis y distintas Helmintiasis, que causan gran impacto tanto en la salud pública como en la economía a largo plazo en países en desarrollo y que no se les da la importancia necesaria.¹⁰

En el 2004 se incluyó en esta iniciativa a *Cryptosporidium* y *Giardia*, debido a la preocupación que han generado estos dos protozoarios,¹¹ por su amplia distribución, la cual se considera ubicua (no sólo se han presentado brotes en países en desarrollo);^{12,13} por otro lado, están considerados dentro de las causas más comunes de diarrea en el mundo, afectando sobre todo a niños y personas inmunodeprimidas,¹¹ son organismos capaces de sobrevivir a sistemas de desinfección y al ser enfermedades transmitidas por el agua, tienen un gran potencial de transmisión .^{13,14}

Giardia y *Cryptosporidium* se han reportado en un gran número de especies domésticas y silvestres.^{12,15} Hay distintas especies y genotipos, algunos de ellos con potencial zoonótico;^{12,16} actualmente mediante el diagnóstico molecular se reconocen a *Cryptosporidium parvum*^{12,15,17} y *Giardia lamblia*^{12,16,18} como las especies que tienen una relación más estrecha con los humanos y otros animales domésticos, principalmente el ganado bovino. Ya que dentro de las producciones ganaderas, las prevalencias son muy altas, sobre todo en los becerros, en los que la mayoría de las veces la infección tiende a ser autolimitante, unas semanas después del destete; por lo que no representa un fuerte riesgo para estos.^{19,20}

Sin embargo, se ha observado que estas especies de protozoarios tienen la habilidad de infectar a otros hospederos, tanto silvestres como domésticos, aumentando el riesgo de infección hacia los animales en vida libre cuando se encuentran en contacto con el ganado bovino,¹² o cuerpos de agua que están altamente influenciados por actividades agropecuarias; ya que es muy probable que aumente la concentración de estos protozoarios en estas superficies acuáticas.^{21,22}

Cryptosporidium parvum: descrito por Tyzzer en 1907, durante mucho tiempo se consideró como un agente patógeno que potencialmente podría causar diarrea;²¹ en los 80's, la preocupación aumentó cuando se comenzó a aislar de pacientes inmunodeprimidos,²³ pero fue hasta después de un gran brote en Milwaukee en 1993 que cambió el concepto que se tenía, considerando a la criptosporidiosis como una enfermedad emergente en los

animales silvestres y domésticos, con un gran potencial de riesgo para la salud pública.^{21,23}

Los grandes brotes de *C. parvum* se han originado por contaminación fecal, tanto humana como proveniente de producciones animales, sobre todo de ganado bovino^{21,24} estando presente *C. parvum* en el 60.3% de los brotes de enfermedades transmitidas por el agua, causadas por protozoarios, en el mundo.¹³ Además *C. parvum* se ha aislado en distintos tipos de suelo y matrices vegetales,^{23,24} lo cual demuestra su gran adaptabilidad al medio. Esto gracias a su estructura bioquímica y física la cual le permite soportar factores físicos como la irradiación, temperatura y algunos químicos, lo que hace ineficientes los sistemas de desinfección.²⁵

Además de ser adaptable al medio, también lo es a otros hospederos, ya que se ha aislado de una gran variedad de vertebrados silvestres,^{12,26} los cuales se consideran como reservorio de la enfermedad ya que al infectarse funcionan como una fuente importante de aporte de ooquistes hacia el ambiente, sobre todo en zonas prístinas o con un bajo nivel de perturbación.^{27,28} Lo cual hace que su ciclo biológico sea muy complejo, ya que en él tienen gran importancia las interacciones entre los animales silvestres, domésticos, el hombre y sobre todo, la fase ambiental del parásito (Figura 1).

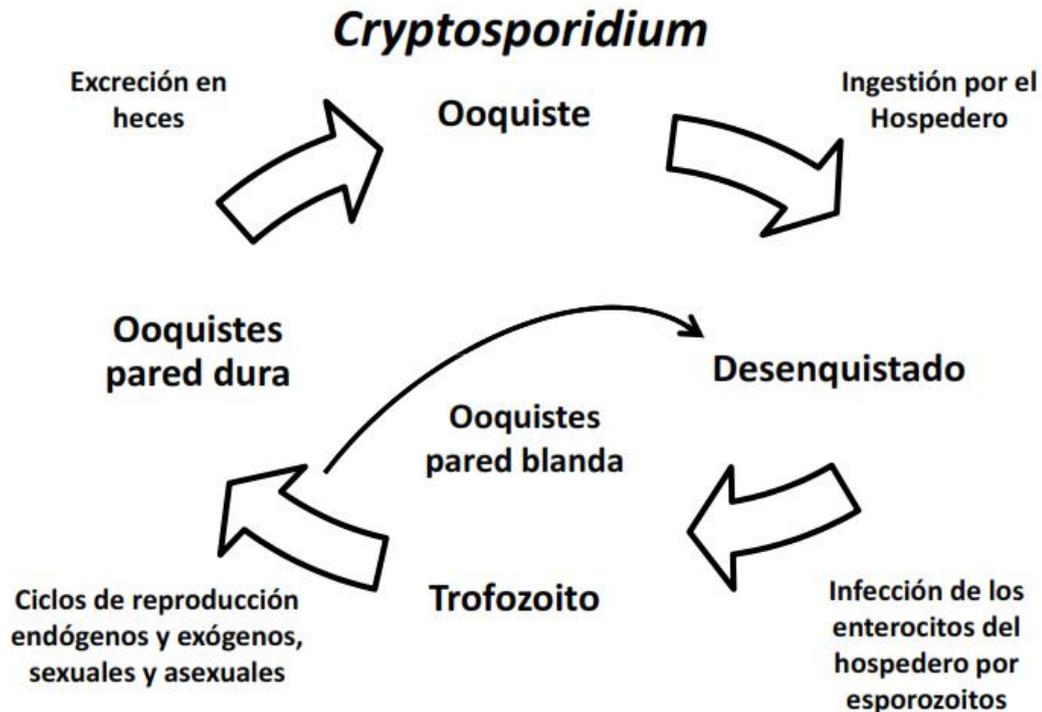


Figura 1: Ciclo biológico simplificado de *Cryptosporidium* modificado de Monis y Thompson²⁹

Giardia lamblia: fue descrito por primera vez por Leeuwenhock en 1681, se considera como la causa más común de diarrea en el mundo después de las causas virales,¹³ se ha reportado como causa primaria en el 35.1% de los brotes de enfermedades transmitidas por agua producidas por protozoarios; además que se ha detectado en gran parte de los brotes de enfermedades transmitidas por el agua como un agente secundario a nivel mundial.¹³ Tiene una distribución ubicua, con mayores prevalencias en países en desarrollo.^{12,14,26}

Al igual que *C. parvum* se considera que la mayor fuente de contaminación son los animales domésticos, sobre todo el ganado bovino, porcino y ovino.¹⁶ Se han reportado 7 genotipos (A, B, C, D, E, F, G) de los cuales tienen un mayor potencial zoonótico el A y B, los cuales se han encontrado en una gran variedad de vertebrados;^{16,26} sin embargo, en los últimos años se ha observado que todos los ensamblados, principalmente los genotipos

zoonóticos (A y B), se adaptan con mayor facilidad a nuevos hospederos.^{12,16,26}

A pesar de que el ciclo biológico de *G. lamblia* es muy sencillo, ya que sólo consta de dos estadios^{29,30} (Figura 2) y es resistente a distintas condiciones medioambientales;¹⁴ se considera como su mayor estrategia adaptativa que no tiene ninguna fase de maduración en el ambiente, por lo que, desde que es excretado tiene el potencial de infectar a otros hospederos.²⁹

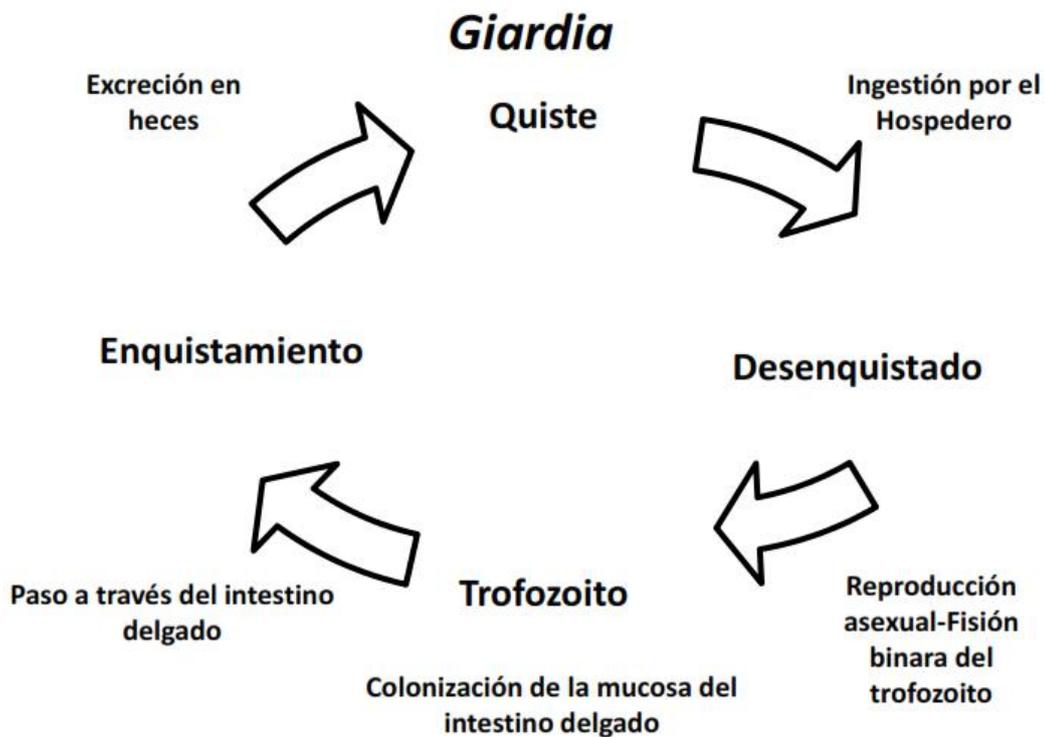


Figura 2: Ciclo biológico de *Giardia* modificado de Monis y Thompson²⁹

Sin embargo, la mejor estrategia de supervivencia que tienen ambos parásitos es la biomagnificación,^{12,14,25} ya que las concentraciones de oquistes y quistes que llegan a producir los individuos infectados son muy altas, beneficiándose de su disseminación por medio del ambiente (Figura 3).

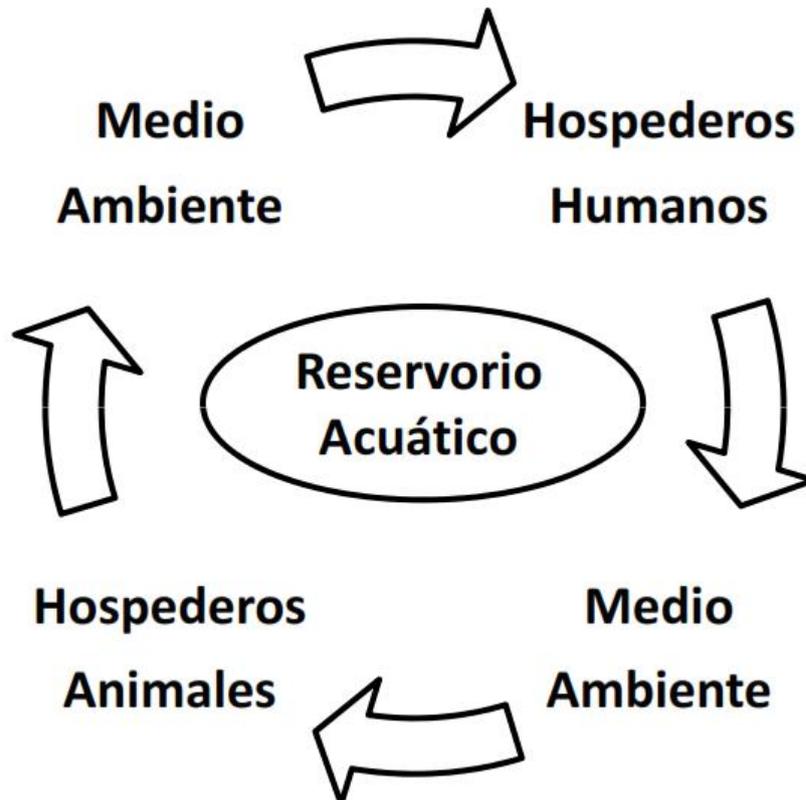


Figura 3. Fase de transmisión ambiental de ambos parásitos, en esta juega un papel muy importante el agua ya que es un medio de transmisión tanto para humanos como animales domésticos y silvestres. Modificado de Putigniani y Menichela.³¹

Esta forma de diseminación hacia el ambiente aumenta el riesgo de infección, sobre todo cuando hay densidades tan elevadas de individuos infectados, como en el caso de las producciones pecuarias.¹⁶ Por ello, el riesgo de un brote es mucho mayor en zonas rurales que en las ciudades, por la facilidad que tienen ambos parásitos de acceder a los cuerpos de agua y diseminarse por medio de esta.^{14,16,19,20,26} Además, en estas zonas se incrementan las tasas de contacto entre animales silvestres y los domésticos habiendo mayor riesgo de infección en la vida silvestre.^{11,12,15,17}

Por esta facilidad que tienen de diseminación el Centro de Control de Enfermedades (CDC) de E.E.U.U. ha clasificado a *C. parvum* y *G. lamblia* en la segunda categoría más alta de agentes biológicos capaces de producir epidemias y epizootias en poblaciones de animales silvestres, domésticos y

humanos;¹⁴ además al igual que la OMS hace énfasis en que la ineficacia del diagnóstico morfológico de ambos microorganismos hace difícil afrontar un brote, por lo que recomiendan utilizar otras herramientas, como marcadores moleculares específicos o diagnóstico molecular, los cuales dan mayor certeza al diagnóstico y ayudan a conocer el rango de hospederos, que es cada vez más grande.^{11,14,26}

En América Latina hay pocos estudios sobre *C. parvum* y *G. lamblia* en animales silvestres, como el de Sogayar y Yoshida de 1995, que describe la prevalencia de *Giardia* en distintas especies de mamíferos silvestres en distintas zonas de Sao Paulo, Brasil;³² por lo que es muy poca la información que se tiene de estos dos protozoarios en los animales de vida libre, lo que es muy preocupante por la gran diversidad biológica que albergan los países latinoamericanos. Como es el caso de México, que es de los países más ricos en distintos grupos taxonómicos; entre ellos los mamíferos.³³ Que gracias a la gran diversidad taxonómica que presentan y amplia variedad de nichos que ocupan, pueden servir como indicadores de lo que pasa en el resto del ecosistema;³⁴ sobre todo en familias tan amplias como los roedores, debido a la dinámica de sus poblaciones, diversidad de hábitats, nichos y gremios tróficos. Además también pueden considerarse indicadores en lo que se refiere a la presencia de EIE y EI-R, ya que es muy grande la cantidad de patógenos compartidos entre éstos y los humanos debido a la gran cantidad de interacciones que existen entre ambos.³⁵

Además de grupos taxonómicos, México también posee una gran diversidad de ecosistemas, entre los que destaca el bosque tropical seco (BTS), considerado como uno de los ecosistemas con mayor número de endemismos en el continente.³⁶ Su mayor distribución en México es en la costa del pacífico, dentro de la cual, en 1993 se creó la reserva de la biósfera Chamela-Cuixmala (RBCC), ésta se ubica específicamente en la costa del estado de Jalisco, abarca 13,142 Ha prístinas de BTS.³⁷ Dicha reserva se encuentra dentro de la cuenca del río Cuitzmala a lo largo de la cual se pueden encontrar una variedad de ecosistemas, como selva baja caducifolia o BTS, selva mediana subperennifolia y vegetación riparia;³⁷ sin

embargo, durante las últimas décadas las altas tasas de deforestación, para abrir paso a la ganadería, y el desarrollo turístico sin planeación en la zona ejercen una presión constante sobre el ecosistema.^{36,37,38}

Estas alteraciones al paisaje también conocidas como Perturbación, modifican la disponibilidad de recursos, afectando de manera directa la funcionalidad del ecosistema,³⁹ ya que generan cambios en la dinámica entre la morfología y la estructura del paisaje.⁴⁰ Y aunque pueden tener su origen en la misma dinámica del ecosistema, las que más impacto tienen sobre este, son las producidas por las actividades humanas que tienen consecuencias como: la simplificación de los ecosistemas, del paisaje, aumento en la presencia de especies invasoras, incremento de especies peridomésticas y por ello aumento de las tasas de contacto entre animales silvestres y domésticos, favoreciendo el aumento en las prevalencias de algunas enfermedades.^{40,41,42}

Para estimar el impacto del desarrollo de la sociedad humana sobre la funcionalidad de los ecosistemas, se han desarrollado distintas herramientas para su estudio, entre ellos el uso de métodos cuantitativos como los índices del paisaje que son herramientas muy utilizadas, ya que nos aportan datos numéricos sobre la composición y la configuración de este, que nos ayudan a comprender su funcionalidad y relacionarlo con otras variables de estudio.⁴⁰

Por sus características, la cuenca del río Cuitzmala es un sitio ideal para el monitoreo de *C. parvum* y *G. lamblia* ya que a lo largo de ésta se presentan distintos tipos de vegetación, gran abundancia de roedores y además es un sitio que, por los constantes cambios en el uso de suelo, propicia un aumento en la interacción entre animales silvestres, domésticos y el hombre, lo cual aumenta el potencial de riesgo de infecciones causadas por *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia*.

El presente trabajo tiene por objeto comprender, a nivel local, la relación que tienen *C. parvum* y *G. lamblia* con los roedores silvestres en la cuenca del

río Cuitzmala, así como, determinar si las actividades humanas como la ganadería es determinante para la presencia y el grado de infección de estos parásitos en los hospederos silvestres.

Objetivo principal

Identificar la presencia de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en un gradiente de perturbación en diferentes especies de roedores silvestres.

Objetivos específicos

- Realizar un análisis de la comunidad de roedores de la zona.
- Identificar la presencia de *C. parvum* y *G. lamblia* en heces de roedores y determinar su relación la comunidad de roedores.
- Determinar la relación de la presencia de *C. parvum* y *G. lamblia* así como de la diversidad en un gradiente de perturbación a lo largo de la cuenca de río Cuitzmala.
- Determinar la distribución estacional de *C. parvum* y *G. lamblia*.
- Determinar la posibilidad de la presencia de ambos protozoarios en un mismo individuo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio:

La cuenca del río Cuitzmala se localiza en la zona occidental del país, fisiográficamente se encuentra al Noreste de la sierra Madre del Sur y de las subprovincias de las Sierras de la costa de Jalisco y Colima, su punto más alto se localiza a una altura de 1700 msnm desembocando en el océano pacífico. Se localiza en los municipios de La Huerta y Purificación, Jalisco⁴³. Presenta un clima cálido-húmedo que se caracteriza por tener una marcada estacionalidad en cuanto a la precipitación pluvial; teniendo un periodo de lluvias que dura en promedio cuatro meses (julio-octubre) con una precipitación pluvial que varía de 748-1000 mm y una larga estación seca (noviembre-junio);^{40,44,45} con una temperatura que varía entre los 15° y los 35°C a lo largo del año; teniendo una temperatura media anual de 22°C.^{44,46} La vegetación dominante es el bosque tropical seco, bosque tropical caducifolio o selva baja caducifolia, que se encuentra distribuido principalmente en los lomeríos, pero también podemos encontrar selva mediana subperennifolia en zonas planas, de los arroyos permanentes y de temporal; en menor proporción también se encuentra vegetación riparia, manglar, matorral xerófilo, palmares, cultivos y pastizales inducidos.^{47,48,49}

Sitos de muestreo:

La selección de los sitios de muestreo se realizó tomando en cuenta los distintos tipos de vegetación nativa e introducida de la zona. A estos sitios se les cuantificó el grado de perturbación basado en el Índice de Urbanización (IU) ($IU = (100\% - \%cobertura\ vegetal + \%superficie\ impermeable) / 2$) utilizado por Gómez y colaboradores en 2008.⁴² Este índice se calculó a un radio de 500 m utilizando el programa GoogleEarth Pro utilizando las imágenes satelitales correspondientes a las fechas de muestreo, dicho índice nos aporta un referente en cuanto al estado de conservación del sitio, dando como resultado cero los sitios con mayor grado de conservación y uno los sitios completamente transformados.

Se seleccionaron un total de 10 sitios de muestreo, ubicando 2 en la zona alta, 4 en la zona media y 4 en la zona baja de la cuenca. En la zona alta sólo se seleccionaron 2 sitios debido al difícil acceso en esta parte de la cuenca. Los sitios presentaron un gran contraste en cuanto al índice de perturbación IU teniendo un rango entre el más conservado de 7.73 a 89.8 en el más modificado (Cuadro 1).

Cuadro 1: Sitios de muestreo, coordenadas e índice de perturbación IU.

Sitio	UTM X	UTM Y	IU
A/1	530285.89782	2186965.47636	25.85
A/2	529808.88913	2189548.47992	61.67
M/5	501359.63846	2142462.57130	13.96
M/6	502157.78275	2142974.30910	76.66
M/7	503856.50244	2145304.20369	27.94
M/8	504522.30411	2146144.39434	43.18
B/9	520246.71308	2164385.54185	13.92
B/10	520684.80403	2164386.83431	89.8
B/11	517449.31045	2165802.19040	7.73
B/12	516997.57272	2165714.75729	11.06

Captura de los roedores y análisis de comunidades:

La captura de los roedores se llevó a cabo cubriendo un ciclo anual basado en la estacionalidad de las lluvias tan marcada para la zona. Los muestreos se realizaron durante septiembre de 2010 correspondiente a la estación lluviosa, junio de 2011 que corresponde a la estación seca y además se agregó un tercer muestreo en diciembre de 2011 debido a que fue un año atípico en cual el periodo de lluvias se prolongó hasta el mes de noviembre terminando con un huracán en la zona.

Se utilizaron trampas tipo Sherman, con un diseño de 2 líneas independientes de 25 trampas c/u a una distancia de 50 m entre ellas, y con una distancia entre trampas de 15 m; sin embargo, el número de trampas varió entre cada muestreo por problemas de logística, utilizando 20 trampas por línea en el último muestreo. Las trampas se cebaron con una mezcla de avena, crema de cacahuete y esencia de vainilla durante 3 noches consecutivas para cada sitio. Los animales capturados se identificaron a nivel de especie conforme a la “Guía de campo de los mamíferos de la costa de Jalisco”,⁵⁰ se les tomaron medidas morfométricas, datos complementarios como sexo y estado reproductivo, marcando a los individuos capturados para su posterior liberación. A cada individuo capturado se le colectaron muestras de heces de manera directa, conservándolas en 500 μ L de solución bufferada de fosfatos (PBS) al 1% manteniéndolas en refrigeración en el campo, para posteriormente congelarlas hasta su análisis.

Con los registros obtenidos de las capturas, se hizo un análisis de la comunidad de roedores, determinando la riqueza y abundancia absoluta de especies. Además se estimaron los siguientes índices de diversidad: equidad de Shanon-Weiner el cual se expresa como $H' = -\sum p_i \log_{10} p_i$ y asume que todos los individuos son seleccionados al azar y que todas las especies están representadas en la muestra, este índice destaca a las especies poco comunes de la comunidad, lo cual ayuda a resaltar los cambios en la composición de las especies con respecto al hábitat. Y el índice de dominancia de Simpson expresado como $\frac{1}{\sum p_i^2}$ el cual resalta a las especies comunes, por lo que sólo toma en cuenta la representatividad de las especies con mayor valor de importancia, sin tomar en cuenta el resto de las especies.⁵¹ Para la estimación de ambos índices se utilizó el programa PAST 1.81⁵²

Para el análisis estadístico de los datos se realizaron análisis de varianza para comparar los índices de diversidad, IU y las prevalencias entre sitios, para comparar las relaciones entre éstas se realizaron pruebas de t, correlaciones de Pearson, y pruebas de χ^2 utilizando el programa “R versión 2.15.2”⁵³

Detección de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en heces por inmunofluorescencia indirecta:

Para el análisis de las heces se utilizó microscopía de inmunofluorescencia indirecta, con la técnica modificada de Tapia-Palacios 2012⁵⁴ en la cual se diluyeron entre 0.01g y 0.17g de heces en 500µL previamente a su análisis, ya que esta técnica está diseñada para procesar muestras de agua; de esta dilución se tomó la mitad de la muestra la cual fue utilizada para el análisis de otros patógenos aforando las muestras a 500µL. Para la técnica de diagnóstico se utilizaron anticuerpos (A'c) monoclonales: mouse monoclonal IgG Anti-*Cryptosporidium parvum*7631 y mouse monoclonal IgG₃ Anti-*Giardia lamblia*BDI27, de (Santa Cruz Biotechnology) combinados con un anticuerpo conjugado con fluoresceína, AffiniPureRabbit Anti-mouse IgG, (Jackson InmunoResearch) para la identificación de los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* y quistes de *Giardia lamblia*. Además se utilizó un control positivo y uno negativo Merifluor *Cryptosporidium/Giardia* MeridiamBioscience, Inc. para la corroboración del diagnóstico.

A los individuos positivos a uno o ambos protozoarios, se les cuantificaron la Intensidad/Abundancia de la infección expresada en el número de quistes-ooquistes/ml de sedimento concentrado.⁵⁵ A los que tuvieron cargas bajas, el resultado se multiplicó por dos para obtener el número de quistes-ooquistes/ml ya las muestras que tenían Intensidad/Abundancias incuantificables se diluyeron con un factor de dilución 1:100, para después multiplicar el resultado del diagnóstico por el factor de dilución por dos, para obtener el número de quistes-ooquistes/ml. Para el análisis estadístico las cargas se transformaron a logaritmos en base 10 para facilitar su estudio.

RESULTADOS:

Captura de roedores y análisis de la comunidad:

Se realizó un esfuerzo de muestreo de 3150 noches/trampa, de las cuales se obtuvo un total de 171 capturas, obteniendo un éxito de captura del 5.39%. La riqueza específica varió entre 3 y 7 especies por sitio. Los 171 individuos capturados representan a 7 géneros y 8 especies, la especie más abundante fue *Liomys pictus* (36.4%), seguido de *Osgodomys banderanus* (18.2%) y *Peromyscus perfulvus* (16.74%) y las demás especies (*Baiomys musculus*, *Reithrodontomys fulvescens*, *Sigmodon mascotensis*, *Oryzomys cuesi* y *O. melanotis*) se mantuvieron en un rango entre el 9.4% y 1.7% siendo *O. melanotis* la especie menos frecuente; además que los pocos ejemplares capturados de *Sigmodon mascotensis*, *Oryzomys cuesi* y *O. melanotis* se encontraron principalmente en sitios donde la vegetación dominante eran los pastizales introducidos. Y en el sitio M/8 que también corresponde a un pastizal introducido en la zona media de la cuenca, no se obtuvo ninguna captura durante los 3 muestreos.

En cuanto a los índices de diversidad, el índice de Shanon-Weiner (H) no se encontró una diferencia significativa entre los sitios; sin embargo, el sitio 8 al no haber capturas el índice fue de 0 y para el sitio B/9 $H=0.592$ ya que su riqueza específica fue de 3, siendo por mucho la especie más capturada *Liomys pictus* (85.7%) contra *Osgodomys banderanus* y *Baiomys musculus* que tuvieron una representación del 7.14% c/u. Por el contrario, en cuanto al índice de Simpson(S) el sitio B/9 es el sitio con el índice más alto $S=0.7449$, manteniéndose los otros sitios entre $S=0.25-0.37$ a excepción del sitio M/8 el cual no tuvo capturas.

Detección de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en heces por inmunofluorescencia indirecta:

Se detectó la presencia de ambos protozoarios en los roedores de la cuenca del río Cuitzmala (Figura 4); de los 171 individuos capturados se obtuvo un total de 27 individuos positivos a *C. parvum* obteniendo una prevalencia de 15.88% con un rango de Intensidad/Abundancia de la infección entre los 2-191600 ooquistes/ml con un promedio de 12599.33 ooquistes/ml para todas las estaciones. Por su parte, para *G. lamblia* se encontraron un total de 22 individuos positivos obteniendo una prevalencia de 12.85% con un rango en Intensidad/Abundancia de la infección entre los 2-23000 quistes/ml con un promedio de 3926.13 quistes/ml para todos los muestreos.

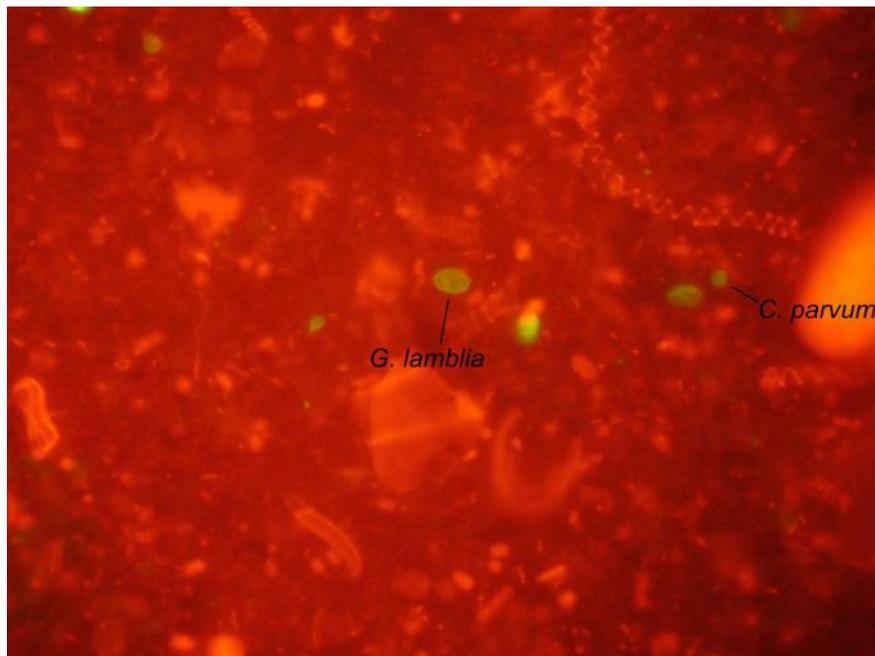


Figura 4 *C. parvum* y *G. lamblia* (Inmunofluorescencia indirecta 40x).

De las 8 especies capturadas todas fueron positivas al menos para uno de los 2 protozoarios; *Orizomys cuesi* y *O. melanotis* fueron sólo positivos a *C. parvum* mientras que *Reithrodontomys fulvescens* sólo fue positivo a *G. lamblia*. La mayor prevalencia para *C. parvum* se encontró en *O. melanotis* (66.66%) 2/3 sin embargo, solo se capturaron 3 individuos de esta especie;

para *G. lamblia* la mayor prevalencia se encontró en *Baiomys musculus* (29.411%) 5/17 como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2: Listado de especies capturadas, individuos positivos y prevalencia de *C. parvum* y *G. lamblia*.

Especie	<i>Cryptosporidium parvum</i>		<i>Giardia lamblia</i>		N
	Positivos	Prev %	Positivos	Prev %	
<i>Baiomys musculus</i>	7	41.176	5	29.411	17
<i>Liomys pictus</i>	6	9.677	3	4.838	62
<i>Orizomys melanotis</i>	2	66.666	0	0	3
<i>Oryzomys cuesi</i>	1	20	0	0	5
<i>Osgoodomys banderanus</i>	4	12.5	5	15.625	32
<i>Peromyscus perfulvus</i>	4	14.285	4	14.285	28
<i>Reithrodontomys fulvescens</i>	0	0	1	12.5	8
<i>Sigmodon mascotensis</i>	3	18.75	4	25	16

No se encontró relación entre la prevalencia de ambos parásitos así como la diversidad de roedores (Shanon-Weiner y Simpson) con el grado de perturbación de los sitios de muestreo IU obteniendo para el índice de Shanon-Weiner = -0.0084, df = 7, p-value = 0.9936 con un coeficiente de correlación de -0.003164108 (Figura 6), y para el índice de Simpson t = -0.0845, df = 7, p-value = 0.935 con un coeficiente de correlación de -0.03191315 (Figura 6 y 7).

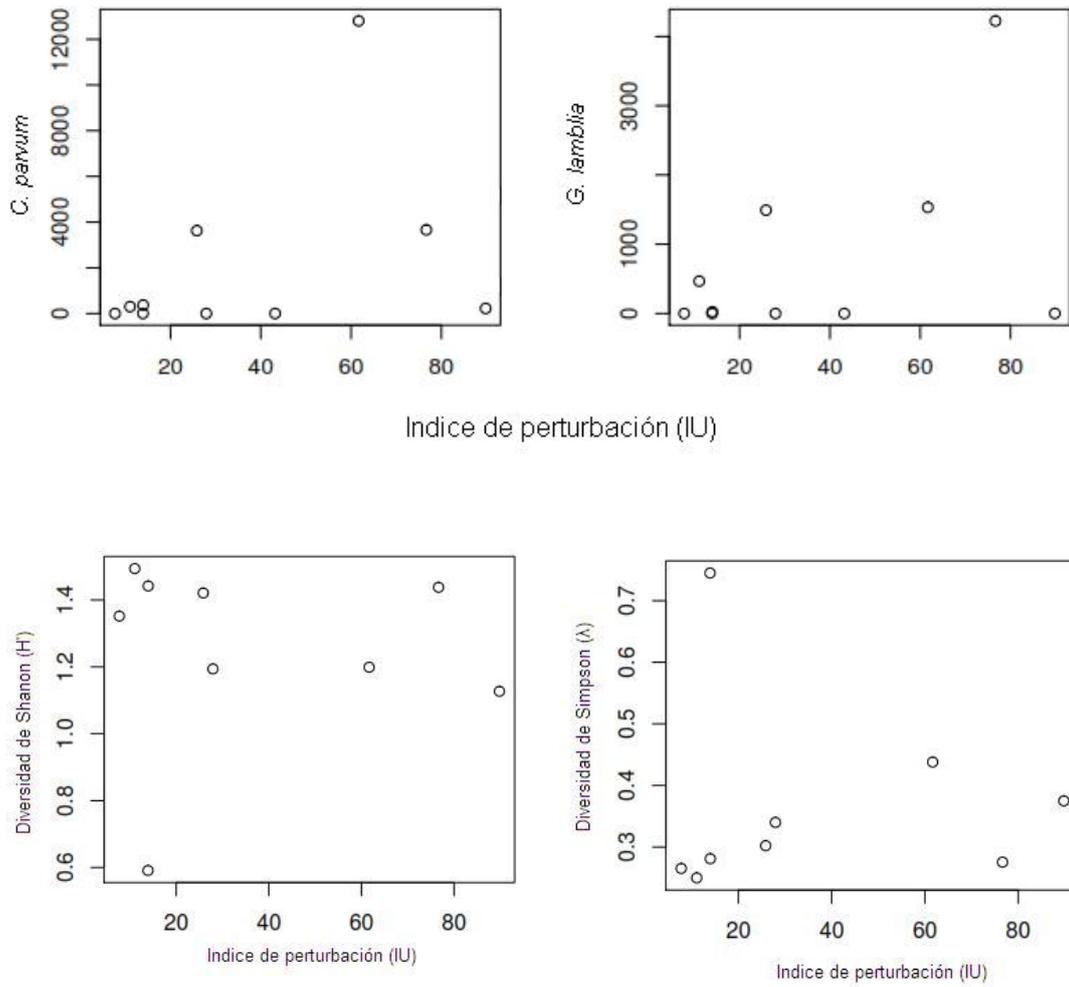


Figura 6 y 7: Presencia de *C. parvum* y *G. lamblia* y su relación con el Índice de perturbación, Índices de diversidad Shannon-Weiner, Simpson y su relación con el Índice de Urbanización (IU)

La mayor prevalencia de ambos protozoarios ocurrió durante la estación lluviosa 19.753% (16/81) para *C. parvum* y 17.283% (14/81) para *G. lamblia* mientras que para los otros muestreos la prevalencias fueron menores sin haber una diferencia significativa (X-squared=1.2641, p-value=0.7546) (Figura 5). De los 171 individuos, 14 fueron positivos para *C. parvum*, 8 positivos para *G. lamblia*, y en 13 fueron positivos a ambos parásitos (Cuadro 3).

Cuadro 3: individuos infectados por *C. parvum* y *G. lamblia*.

	+ <i>C. parvum</i>	- <i>C. parvum</i>	
+ <i>G. lamblia</i>	13	8	21
- <i>G. lamblia</i>	14	136	150
	27	144	171

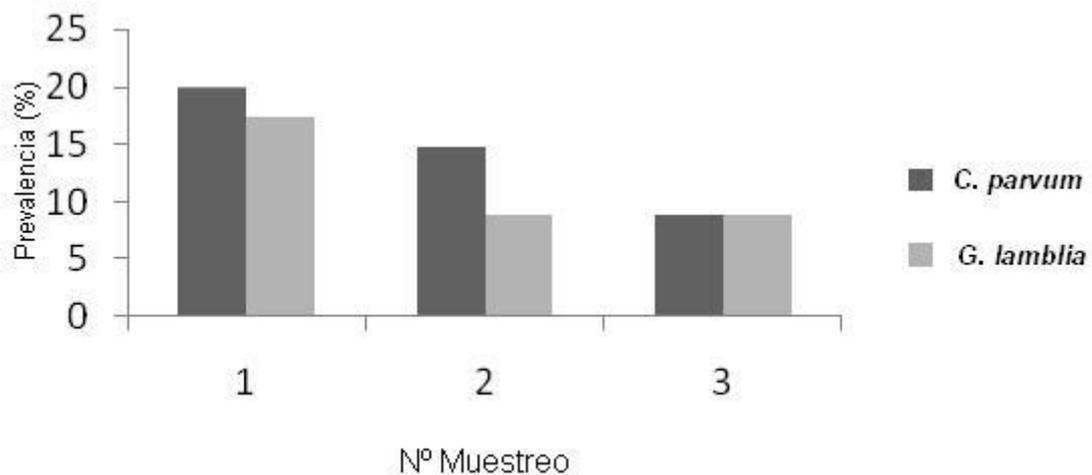


Figura 5: Prevalencia de *C. parvum* y *G. lamblia* por cada muestreo.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la riqueza de especies es similar en la región aún con distintos grados de perturbación en el paisaje, sumado a esto, se puede observar que la diversidad de especies obtenida con el índice de Sanon-Weiner y Simpson entre los distintos sitios de captura no tuvo una diferencia significativa, lo cual puede ser el reflejo de que la composición de especies y las abundancias relativas fueron muy similares para todos los sitios. Comparado con otros estudios como el de Ceballos⁵⁶ la composición de las especies es muy similar, sin embargo en estos estudios no se tomaron en cuenta paisajes con algún grado de perturbación, solo con vegetación nativa. Además un hallazgo notable fue que especies como *Sigmodon mascotensis* y *Oryzomys cuesi* tuvieron mayor presencia en sitios con un IU más alto lo cual nos sugiere que el paisaje si puede tener un efecto en la composición de la comunidad, sin embargo las capturas de estas especies fueron muy pocas.

Tanto la riqueza de especies, las abundancias y los índices de diversidad obtenidos, demuestran que es un ecosistema que se caracteriza por tener especies dominantes, que en este caso fue por mucho *L. pictus* seguido de *O. banderanus* y *P. perfulvus*. Esto se atribuye a que en general el bosque tropical seco es mucho menos diverso comparándolo con otros ecosistemas como la selva alta.⁵⁷ Debido a que la marcada estacionalidad hace que las distintas especies manifiesten estrategias mucho más específicas para enfrentar estas condiciones ambientales. Lo que hace que distintos grupos entre ellos los roedores sean mucho menos diversos; pero con un alto índice de endemismos; por eso a esta región se le considera como una zona prioritaria para la conservación.⁵⁸

De las 8 especies capturadas 5 fueron positivas a *C. parvum* y *G. lamblia*, las 3 menos abundantes fueron positivas sólo a uno de los 2 parásitos: *Reithrodontomys fulvescens* no fue positiva a *C. parvum* y las 2 especies del género *Oryzomys* fueron negativas para *G. lamblia*; esto no descarta que sean susceptibles a ambos protozoarios ya que tal vez el número de

capturas de estas especies fue muy pequeño, sin embargo, *O. cuesi* y *O. melanotis* se consideran con afinidad a los sistemas acuáticos^{50,56,59} y al ser positivas a *C. parvum* pueden tener un papel muy importante en la dinámica de la enfermedad.

La mayor prevalencia obtenida para ambos parásitos ocurrió durante la estación lluviosa (19.75% *C. parvum* y 17.28% *G. lamblia*), al igual que en otros estudios se observó la marcada estacionalidad que tienen estos protozoarios, ya que en esta época del año los quistes y ooquistes tienen las mejores condiciones ambientales para sobrevivir y poder infectar a otros organismos^{14,20,24} La prevalencia de *C. parvum* siempre fue mayor que la de *G. lamblia* al contrario que en los trabajos de Bajer y colaboradores⁵⁵, esto demuestra que por sus características estructurales *C. parvum* es mucho más resistente a las condiciones ambientales, sobre todo a las fuertes sequías²⁴ como las que se presentan en la zona.

No se encontró ninguna relación entre la diversidad y las prevalencias de ambos protozoarios con el índice de urbanización (IU) tal vez por la subjetividad de este índice, ya que al basarse principalmente en la cobertura vegetal no toma en cuenta otros elementos de la morfología y estructura del paisaje; además la escala espacial a la cual se calculó este índice pudo no ser la correcta y no ser representativo del ecosistema, por eso, para futuros estudios recomendamos utilizar otros índices más completos, que demuestren otros aspectos del paisaje como la conectividad, forma y diversidad de parches que son muy importantes para la conservación, que además se ha documentado pueden influir en la emergencia de enfermedades.^{40,60} Además de incrementar el esfuerzo de muestreo para obtener mayor número de muestras y así poder obtener datos mucho más concretos en cuanto a estos aspectos ya que para algunas especies fueron muy pocas las capturas.

En cuanto a la relación encontrada en la presencia de ambos parásitos en un mismo individuo es difícil determinar cuál es el factor determinante que favorece esta co-infección, ya que puede estar favorecida por factores

intrínsecos de cada especie (sexo, edad, estado reproductivo e inmunológico, etc.),^{55,61} además que estos protozoarios viven en un microhábitat distinto dentro del intestino por lo que no compiten por un nicho; sin embargo estos factores pueden estar fuertemente influenciados por factores ambientales,^{61,62,63} ya que la similitud entre las fases ambientales de sus ciclos biológicos pueden favorecer la presencia y por ende la co-infección de estos protozoarios. Aunque con los resultados obtenidos no queda muy claro que mecanismos favorece la co-infección, por lo que hacen falta más estudios para poder determinar el papel que tiene el ambiente sobre la dinámica de estos protozoarios.

Sin embargo, la detección de estos 2 parásitos en la vida silvestre de la región es un tema que hay investigar a detalle, debido a la gran importancia que tiene esta por la gran diversidad biológica que alberga,^{33,34} para ello es recomendable continuar con otros estudios que integren otros aspectos ecológicos de la transmisión de estos protozoarios, así como extender el muestreo a otros grupos para así comprender mejor la dinámica de estos protozoarios.

Conclusiones

Los resultados obtenidos confirmaron la presencia de *C. parvum* y *G. lamblia* en los roedores de la cuenca del río Cuitzmala, Jalisco; hasta donde sabemos, este es el primer reporte de estos dos protozoarios en animales silvestres, en México. Y debido a su alto potencial zoonótico, su hallazgo en la vida silvestre es de gran importancia tanto para la salud pública y la conservación, así como para las actividades ganaderas de la región ya que pueden llegar a tener un gran impacto en ellas; generando así un conflicto de intereses entre las actividades agropecuarias, el sector salud y las entidades académicas que fomentan la conservación de la región. Además, con el presente estudio se contribuye al conocimiento de la diversidad de hospederos para ambos protozoarios, lo cual es de gran importancia para el comprender la dinámica de estos parásitos en cuanto a su transmisión y su potencial zoonótico.

LITERATURA CITADA

1. Macdonald DW, Laurenson KM. Infectious disease: Inextricable linkages between human and ecosystem health, *Biological Conservation* 2006;131:143-150.
2. McMichael A. Environmental and social influences on emerging infectious diseases: past, present and future, *Phil. Trans. R. Soc.* 2004;359:1040-1058.
3. Semenza JC, Menne B, Climate change and infectious diseases in Europe, *Lancet Infect Dis* 2009; 9: 365-375.
4. Patz, JA, P. Daszak, Tabor GM, Aguirre AA, Pearl M, Epstein J, Wolfe ND, Kilpatrick AM, Foutopoulos J, Molyneux D, Bradley DJ, and Members of the Working Group on Land Use Change and Disease Emergence. Unhealthy landscapes: policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environmental Health Perspectives*; 2004; 112:1092-8.
5. Daszak P, Cunningham A, Hyatt A, Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife; *Acta Tropica*; 2001; 78:103-116.
6. Dobson A, Foutopoulos J. Emerging Infectious Pathogens of Wildlife, *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 2001;356:1001-1012.
7. Jones, KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, y Daszak P. Global Trends in emerging infectious diseases, *Nature* 2008;451:990-U4.
8. Taylor LH, Latham SM y Whoolhouse ME. Risk factors for human disease emergence, *Phil Trans R Soc* 2001;356:983-989.
9. Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD, Emerging Infectious Diseases of Wildlife-Threats to Biodiversity and Human Health. *Science* 2000;287:443-449.
10. WHO /CDS /IPI /92.2. WHO/PAHO informal consultation on intestinal protozoal infections, Mexico, Octubre 1991.
11. Savioli L, Smith H y Thompson A. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the "Neglected Diseases Initiative", *TRENDS in Parasitology* 2006;22:203-208.

12. Appelbee AJ, Thompson RCA, Olson ME, *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wildlife – current status and future needs, *Trends in Parasitology* 2005;21; 370-376.
13. Baldurson S, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2004-2010. *Water Research* 2011;45;6603-6614.
14. Gajadhar AA, Allen JR. Factors contributing to the public health and economic importance of waterborne zoonotic parasites, *Veterinary Parasitology* 2004;123:3-14.
15. Xiao L, Morgan MU, Limor J, Escalante A, Shulaw W, Thompson RCA, Fayer R, Lal A.A, Genetic Diversity within *Cryptosporidium parvum* and Related *Cryptosporidium* Species. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999;65;3386-3391.
16. Plutzer J, Ongert J. y Karanis P. *Giardia* taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions, *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2010;213:321-333.
17. Feng Y. *Cryptosporidium* in wild placental mammals, *Experimental Parasitology* 2010;124; 128-137.
18. Lebbad M, Mattsson J, Crhistensson B, Ljungstom B, Backhans A, Andersson JO, Svard SG. From mouse to moose: Multilocus genotyping of *Giardia* isolates from various animal species, *Veterinary Parasitology* 2010;168:231-239.
19. Sicho WM, Atwill ER, Lanyon EN, Geroge J. *Cryptosporidia* on dairy farms and the role these farms may have in contaminating surface water supplies in the northeastern United States, *Preventive Veterinary Medicine*, 2000; 43; 253-267.
20. Brett AB, Kandulu J, Deere DA, White M, Frinzenschaf J, Crossman ND. Adaptive management for mitigating *Cryptosporidium* risk in source water: A case study in an agricultural catchment in South Australia; *Journal of Environmental Management*, 2009; 90; 3122-3134.
21. Ramirez N, Ward L, Srevaatsan S. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals, *Microbes and infection*, 2004;6;773-783.

22. Taang J, McDonald S, Peng X, Samadder S, Murphy T, Holden N. Modelling *Cryptosporidium* oocysts transport in small ungauged agricultural catchments. *Water Research*, 2011;45:3665-3680.
23. Carey CM, Lee H, Trevors JT. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst, *Water Research*, 2004; 38, 818-862.
24. King BJ. Critical processes affecting *Cryptosporidium* oocyst survival in the environment, *Parasitology* 2007;134:309-323.
25. Robertson L, y Gjerde B. *Cryptosporidium* oocysts: challenging adversaries?. *Trends in Parasitology*, 2007;23:344-347.
26. Fayer R. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Veterinary Parasitology*, 2004;126:37-56.
27. Thompson RCA, Smith A. Zoonotic enteric protozoa, *Veterinary Parasitology*, 2011;182:70-78.
28. Samra NA, Jori F, Samie A, Thompson P. The prevalence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in wild mammals in the Kruger National Park, South Africa
29. Monis PT, Thompson RCA. *Cryptosporidium* and *Giardia*-zoonoses: Fact or Fiction? *Infection, Genetics and Evolution* 2003;3:233–244.
30. Caccio S, Thompson RCA, McLauchlin J, Smith HV, Unravellin *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends in Parasitology*, 2001;21;400;437.
31. Putigniani L y Menichela D. Global Distribution, Global Health and Clinical Impact of the Protozoan Pathogen *Cryptosporidium*. *Interdisciplinary Perspective of Infectious Diseases* 2010;2010:753512.
32. Sogayar MI, y Yoshida EL. *Giardia* survey in live-trapped small domestic and wild mammals in four regions in the southwest region of the state of Sao Paulo, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1995;90:675–678.
33. Ceballos G, Brown J. Global Patterns of Mammalian Diversity, Endemism, and Endangerment, *Conservation Biology* 1995;9:559-568.
34. Ceballos G, Ehrlich P, Mammal Population Losses and the Extinction Crisis, *Science* 2002;296:904-907.

35. Donskow K, Bajer A, Bednarska M, Sinski E. Experimental transmission of *Cryptosporidium parvum* isolates from wild rodents and calves to laboratory bred common voles (*Microtus arvalis*). *Acta Parasitologica*, 2005;50:149-24.
36. Ceballos G, Rodriguez P, Medellin RA. Assessing conservation priorities in megadiverse México: Mammalian diversity, endemism and endangerment, *Ecological Applications* 1998;8:8-17.
37. Lott EJ, Bullock SH, Solis-Magallanes AJ. Floristic diversity and Structure of Upland and Arroyo Forest of Coastal of Jalisco, *Biotropica* 1987;19:228-235.
38. Sánchez-Asofeifa GA, Quesada M, Cuevas-Reyes P, Castillo A, Sánchez-Montoya G. Land cover and conservation in the area of influence of the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve, México, *Forest Ecology and Management* 2009;258:907-912.
39. Martínez-Duque P. Influencia de actividades antropogénicas y características del paisaje en la seroprevalencia de *Ortopoxvirus* en poblaciones de ardilla gris (*Sciurus aureogaster*) del Distrito Federal. Universidad Nacional Autónoma de México (tesis de licenciatura), México 2013.
40. Vila J, Varga D, Llausas A, Ribas A. Conceptos Fundamentales en Ecología del Paisaje (landscape ecology). Una Interpretación desde la Geografía, *Doc Anal Geogr.* 2006;48:151-156.
41. Suzán G. y Ceballos G. The role of feral mammals on wildlife infectious disease prevalence in two nature reserves withing México City limits, *Zoo and Wildlife Medicine*, 2005;36:479-484.
42. Gómez A, Kilpatrick AM, Kramer LD, Dupuis AP, Maffei JG, Goetz SJ, Marra PP, Daszack P. Aguirre A. Land Use and West Nile Virus Seroprevalence in Wild Mammals. *Emerging Infectious Diseases* 2008;14:962-965.
43. López-Tapia DM. Elaboración de Criterios para la Restauración de la Cuenca del Río Cuitzmala, Jalisco con Base en un Análisis de Agua. Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México. (tesis de maestría) México 2008.

44. Bullock SH. Climate of Chamela, Jalisco and Trends in the South Coastal Region of México. Archives for Meteorology Geophysics, and Bioclimatology. 1986;36:297-316.
45. Ceballos GA, Szekely A, García A, Rodríguez P, Noguera F. Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala. Instituto Nacional de Ecología. Semarnat, México. 1999.
46. Bullock SH. Descripción del Ambiente Físico y Biológico de Chamela. Folia Entomológica Mexicana. 1988;77:6-17.
47. Lott EJ, Bullock SH, Solis-Magallanes AJ. Floristic diversity and Structure of Upland and Arroyo Forest of Coastal of Jalisco, Biotropica 1987;19:228-235.
48. Duran E, Balvanera P, Lott E, Segura G, Pérez-Jiménez A, Islas A, Franco M. Estructura, Composición y Dinámica de la Vegetación. 443-472. In: Noguera FA, Vega-Rivera JH, García-Aldrete AN, y Quesada-Avendaño (Eds) Historia Natural de Chamela. Instituto de biología UNAM, México D.F. 2002.
49. García A, Ceballos G. Guía de campo de los reptiles y anfibios de la costa de Jalisco, México. Fundación ecológica de Cuixmala, A.C. Instituto de Biología, UNAM, México. 1994.
50. Ceballos G, Miranda A. Guía de Campo de los Mamíferos de la Costa de Jalisco, México. Instituto de Ecología/Instituto de Biología, México 2000.
51. Moreno C. Manual de Métodos para Medir Diversidad, Zaragoza, M&T-Manuales y Tesis SA. 2001
52. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD, 2001. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica, vol. 4, issue 1, art. 4: 9pp., 178kb. Available in http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.
53. R Development Core Team 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, Available in URL <http://www.R-project.org>.
54. Tapia-Palacios MA. Detección de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en agua del Río Cuitzmala, Jalisco. Universidad Nacional Autónoma de México (tesis de licenciatura) México 2012.

55. Bajer A. Between-year variation and spatial dynamics of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. infections in naturally infected rodent populations. *Parasitology* 2008;135:1629-1649.
56. Ceballos G. Comparative Natural History of Small Mammals from the Tropical Forest in Western México. *The Journal of Mammalogy* 1990;71:263-266.
57. Ceballos G, Bullock SH, Mooney HA, Medina E. eds. Vertebrate diversity, ecology, and conservation in neotropical dry forests. Seasonally dry tropical forests. Cambridge (RU). Cambridge University Press. 1995.
58. Ceballos G. y García A. Conserving Neotropical Biodiversity: The Role of The Dry Forest in Western México. *Conservation Biology* 1995; 9:1349-1357.
59. Poindexter CJ, Schnell GD, Sánchez-Hernández C, Romero-Almaraz ML, Kennedy ML, Best TL, Wooten MC, Owen R. Co-occurrence of small mammals in tropical dry deciduous forest: comparison of communities and individual species in Colima, México. *Journal of Tropical Ecology*, 2012;28:65-72.
60. Suzán G, Giermakowski JT, Marcé E, Suzán-Azpiri H, Armién B, Yates T. Modeling Hantavirus reservoir species dominance in high seroprevalence areas on the Azuero Peninsula of Panama. *American Tropical Medicine and Hygiene*, 2006;74:1103-1110.
61. Bajer A, Bednarska M, Pawelczyk A, Behnke JM, Gilbert FS. Prevalence and abundance of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia* spp. in wild rural rodents from the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology* 2002 125;21-34.
62. Begon M, Hazel SM, Baxby D, Brown K, Cavanagh R, Chantrey J, Jhones T, Bennett M. Transmission dynamics of a zoonotic pathogen within and between wildlife host species. *Proceedings of the Royal Society*, 1999;266:1939-1945.
63. Behnke JM. Structure in parasite component communities in wild rodents: predictability, stability, associations and interactions or pure randomness? *Parasitology* 2008;135;751-766.