

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

**Presencia de anticuerpos contra el virus de distemper
canino en jaguares (*Panthera onca*) y pumas (*Puma
concolor*) de la Reserva Nacional Tambopata en Madre
de Dios**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Jose Leonardo ATAUJE SALCEDO

ASESOR

Mercy RAMÍREZ VELÁSQUEZ

Lima - Perú

2017

DEDICATORIA

Principalmente a mis padres y a todos los
que me apoyaron en realizar y concluir esta tesis.

AGRADECIMIENTOS

Para la Dra. Mercy Ramírez por aceptar realizar esta tesis bajo su supervisión. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación académica y las facilidades que siempre me brindó para culminar con éxito esta tesis.

Al Dr. Alfonso Zuñiga y la Dra. Paloma Alcázar por brindarme el apoyo y facilitarnos los sueros y de esta manera conocer más de esta especies de felinos.

Para Denis, Ana y Vicente que estuvieron apoyándome en el laboratorio en la realización de este trabajo, hasta lograr culminarlo con éxito. Para Micaela De la Puente, por sus consejos y orientación de este trabajo.

Un agradecimiento especial y sincero para Ruthy, gracias a su apoyo y palabras de aliento a no rendirme y darme siempre fuerzas para continuar a pesar de todas las desavenencias que encontramos en el camino, y así lograr culminar con éxito esta meta, y de la misma manera a sus padres Nelson y Elva por el apoyo brindado en este tiempo, muchas gracias.

Y, por supuesto, el agradecimiento más profundo y sentido va para mi familia; sin su apoyo, colaboración e inspiración habría sido imposible llevar a cabo esta tesis. A mis padres, Felicita y Rodolfo, por su ejemplo de lucha y perseverancia; a mis hermanas y a José por ser un ejemplo de capacidad y superación.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	PÁG
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS... ..	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	iv
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
ÍNDICE DE CUADROS... ..	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
Reserva Nacional Tambopata.....	3
Fauna.....	4
Factores de Riesgo que influyen en la Transmisión de enfermedades	4
Tamaño de población	4
Distribución espacial de las poblaciones huésped – densidad poblacional	5
Migración.....	5
Áreas urbanas	5
Acciones y medidas de conservación.....	6
El jaguar	6
Generalidades.....	6
Taxonomía	7
Distribución geográfica.....	7
Biología de la especie.....	9

Características morfológicas	9
Comportamiento.....	11
Alimentación.....	11
Reproducción	11
Conservación.....	12
El jaguar en Perú	13
Sanidad.....	13
El puma	14
Generalidades.....	14
Taxonomía	14
Distribución geográfica.....	15
Biología de la especie.....	15
Características morfológicas	15
Comportamiento.....	16
Alimentación.....	17
Reproducción	17
Conservación.....	18
Sanidad.....	19
El virus del distemper canino como amenaza para la conservación de felinos silvestres	
20	
Virus del distemper canino.....	22
Introducción	22
Etiología.....	22
Características	23

Estabilidad.....	24
Serotipos.....	24
Hospederos.....	24
Patogénesis.....	25
Respuesta inmune.....	26
Transmisión.....	28
Signos clínicos	28
Fase aguda.....	28
Fase subaguda	29
Fase crónica.....	29
Otros signos.....	30
Diagnostico	30
Clínico.....	30
Pruebas de laboratorio.....	31
a. Hematología.....	31
b. Radiología	31
c. Inmunofluorescencia.....	31
d. Citología	32
e. ELISA.....	32
f. PCR	32
g. Aislamiento viral	32
h. Virus neutralización (VN)	33
Hallazgos patológicos	33
Control y prevención.....	34

	Tratamiento	35
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	37
	Lugar de estudio.....	37
	Materiales de trabajo	39
	Animales	39
	Toma de muestra	40
	Materiales de laboratorio.....	41
	Equipos de laboratorio	41
	Metodología de trabajo	42
	Análisis de datos	43
IV.	RESULTADOS.....	44
V.	DISCUSIÓN	46
VI.	CONCLUSIÓN	50
VII.	BIBLIOGRAFÍA	51
VIII.	APÉNDICE.....	65

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de anticuerpos contra virus de distemper canino (VDC) en jaguares (*Panthera onca*) y pumas (*Puma concolor*) de vida libre de dos áreas: Concesión de Conservación Rio Los Amigos (n=2) y la Reserva Nacional Tambopata/Parque Nacional Bahuaja Sonene (n=17) en el departamento de Madre de Dios. La detección de anticuerpos contra el VDC fue realizada mediante la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) en las 19 muestras de felinos silvestres de vida libre, obtenidas como parte del trabajo realizado por la World Wildlife Fund (WWF) durante los años 2006-2008. Todos los felinos silvestres de vida libre resultaron negativos a anticuerpos contra VDC mediante la prueba de IFI. Se concluye que los felinos silvestres trabajados en este estudio durante los años 2006-2008 no estuvieron expuestos al VDC. Este es el primer trabajo sobre el VDC en jaguares (*Panthera onca*) y pumas (*Puma concolor*) de vida libre en el Perú.

Palabras clave: jaguar (*Panthera onca*), puma (*Puma concolor*), inmunofluorescencia indirecta, virus del distemper canino, Madre de Dios

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the presence of antibodies against canine distemper virus (CDV) in jaguars (*Panthera onca*) and pumas (*Puma concolor*) of free life of two areas: “Concesión de Conservación Rio Los Amigos” (n = 2) and of Tambopata National Reserve/Bahuaja Sonene National Park (n = 17) in the department of Madre de Dios. The detection of antibodies against the CDV was carried out by means of the indirect Immunofluorescence test (IFI) in the 19 samples of wild felines of free life, obtained as part of the work carried out by the World Wildlife Fund (WWF) during the years 2006-2008. All free-living wild cats were negative for antibodies to VDC by the IFI test. It is concluded that the wild cats worked in this study during the years 2006-2008 were not exposed to CDV. This is the first work on CDV in jaguars (*Panthera onca*) and pumas (*Puma concolor*) of free life in Peru.

Key words: jaguar (*Panthera onca*), puma (*Puma concolor*), indirect immunofluorescence, canine distemper virus, Madre de Dios

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de subespecies del <i>Puma concolor</i> según su distribución.....	15
Cuadro 2. Relación de muestras de suero de <i>Puma concolor</i> (<i>P. concolor</i>) y <i>Panthera onca</i> (<i>P. onca</i>) procedentes de los dos sitios en estudio (Madre de Dios, Perú).....	40
Cuadro 3. Resultados de la prueba de IFI por animal, lugar, sexo y especie.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución del jaguar (<i>Panthera onca</i>) en América.....	9
Figura 2. Individuo de jaguar (<i>Panthera onca</i>) de vida libre.....	10
Figura 3. Individuo de puma (<i>Puma concolor</i>) de vida libre	16
Figura 4. Mapa que muestra la ubicación de los dos sitios en estudios (Madre de Dios, Perú). Las áreas sombreadas son áreas protegidas; la línea oscura muestra la carretera interoceánica	38

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Relación de los reactivos utilizados en la prueba de IFI	65
---	----

I. INTRODUCCIÓN

El jaguar (*Panthera onca*) tiene un rango de distribución desde el Norte de México hacia el norte de Argentina, pero ha desaparecido aproximadamente el 40% de su rango original debido a la pérdida de su hábitat. Sin embargo, la Amazonia permanece por ser el bloque continuo más largo de hábitat del jaguar y es considerada una fortaleza para la especie con una alta probabilidad de supervivencia (Sanderson *et al.*, 2002).

El jaguar (*Panthera onca*) se clasifica como una especie casi amenazada por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Caso *et al.*, 2008) (Carrillo-Percastegui y Maffei, comunicación personal) y por el Ministerio de Agricultura y riego (MINAGRI). El puma (*Puma concolor*) es considerado por la UICN como una especie de menor preocupación y por el MINAGRI una especie casi amenazada.

Para estas especies se considera a la caza y la deforestación como las principales causas de amenaza para su conservación, debido a la expansión de la agricultura y de las actividades mineras. Además, la presencia del factor humano en áreas naturales permite el contacto de especies de vida silvestre con múltiples hospederos incluyendo animales de compañía como el gato y el perro doméstico, siendo este último la especie que trasmite el mayor número de patógenos virales a los animales silvestres, lo que podría conllevar a la aparición de enfermedades infecciosas emergentes (Schloegel *et al.*, 2005).

La difusión de patógenos desde animales domésticos a poblaciones silvestres ha sido una fuente de numerosos brotes con desastrosas consecuencias que podrían, incluso, conllevar a su extinción (Daszak *et al.*, 2000). En este sentido, es el virus de distemper canino (VDC) el agente viral con mayor impacto en la salud de las poblaciones de carnívoros silvestres y que puede ocasionar una alta tasa de mortalidad en poblaciones inmunológicamente nuevas (Quigley *et al.*,

2010). Es así, el caso del brote de distemper canino (DC) en perros silvestres africanos (*Lycaon pictus*) en Tanzania que mató a 49 de 52 perros en dos meses (Van de Bildt *et al.*, 2002) y el conocido brote de DC que mató a 23 leones (*Panthera leo*) en el Parque Nacional de Serengeti en Tanzania en 1994 (Roelke-Parer *et al.*, 1996). Además, existen reportes de la exposición de felinos silvestres al VDC sin casos de mortalidad, como el estudio realizado por Nava *et al.*, (2008) en Brasil, en donde encontraron una prevalencia de 31.5% al VDC en jaguares y 11.28% en pumas. Así como Fiorello *et al.*, (2007) encontraron anticuerpos contra VDC en Ocelotes (*Leopardus pardalis*) y zorros gris de las pampas (*Lycalopex gymnocercus*).

Evaluar el riesgo de la diseminación de estas enfermedades en poblaciones de vida silvestre en nuestro país es complicado por falta de un estudio base que permita determinar primero si las especies de felinos silvestres de vida libre están expuestos a un patógeno como el VDC y luego, evaluar si su presencia constituye una potencial amenaza para estas poblaciones. Por esta razón el objetivo del trabajo fue identificar si todas las muestras de pumas (*P. concolor*) y jaguares (*P. onca*) obtenidas como parte del trabajo de campo de la WWF- Perú estaban a expuestas al VDC.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Reserva Nacional Tambopata

La Reserva Nacional Tambopata (RNTMB) es una área natural protegida del Perú que busca conservar la fauna, la flora y los procesos ecológicos de la selva húmeda tropical; la cual está ubicada al sur del río Madre de Dios en los distritos de Tambopata e Inambari de la provincia de Tambopata, departamento de Madre de Dios; y su extensión es de 274,690 hectáreas, limitando por el norte con la provincia de Tambopata del departamento de Madre de Dios; por el este con Bolivia; por el sur con el Parque Nacional Bahuaja Sonene; y por el oeste con la Comunidad Nativa de Kotsimba; además se ubica de manera contigua al Parque Nacional Bahuaja Sonene que la rodea íntegramente por el sur, formando con este una unidad de protección de alta importancia para el país; esta conexión entre las áreas naturales protegidas del departamento (la Reserva Comunal Amarakaeri y los parques nacionales Alto Purús y Manu) y los de la vecina Bolivia, sustenta la existencia del propuesto corredor biológico Vilcabamba-Amboró (SERNANP, 2017). El clima en la región se divide en una estación seca de Junio a Octubre y una estación lluviosa de Noviembre a Mayo, con una precipitación media anual entre 2,500 y 3,500 mm. La temperatura media anual es de 26° C con un intervalo de 10 a 38° C (SENAMHI, 2017).

En Madre de Dios existen tres zonas de amortiguamiento (Bahuaja Tambopata, Amarakaeri y Manu). En la zona de amortiguamiento Buhaja Tambopata se encuentran las comunidades nativas de Palma Real, Sonene e Infierno pertenecientes al grupo etnolingüístico Ese Eja; y la comunidad nativa Kotsimba del grupo etnolingüístico Puquirieri (Kirkby, 2002; SERNANP, 2017).

Fauna

En la RNTMB, existen numerosas especies que aún mantienen poblaciones saludables, como son el lobo de río (*Pteronura brasiliensis*), la nutria (*Lontra longicaudis*), jaguar (*Panthera onca*), jaguarundi (*Herpailurus yaguarundi*), tigrillo (*Leopardus pardalis*), margay (*Leopardus wiedii*), lobo de crin (*Chrisocyon brachirus*), perros de monte (*Speothus venaticus* y *Atelocynus microtis*), ciervo de pantano (*Blastocerus dichotomus*), oso hormiguero gigante (*Myrmecophaga tridactyla*), armadillo gigante (*Priodontes maximus*), así como el águila harpia (*Harpia harpyja*), águila crestado (*Morphous guianensis*), caimán negro (*Melanosuchus niger*), caimán blanco (*Caiman crocodilus*), y la taricaya (*Podocnemis unifilis*) (Kirkby, 2002; SERNANP, 2017).

Factores de Riesgo que influyen en la Transmisión de enfermedades

Básicamente; la interacción entre agentes infecciosos, el huésped y el medio ambiente puede conducir a la aparición de enfermedades infecciosas (Thrusfield, 2005), por lo que es fundamental conocer los factores que originan y colaboran con la propagación y persistencia de los agentes patógenos en poblaciones susceptibles.

Tamaño de población

La epidemiología nos explica cómo estas enfermedades infecciosas se transmiten y permanecen en una población, mediante dos teorías la del umbral y la de “fade-out”. La teoría de umbral nos dice que el tamaño de la población o densidad de acogida debe ser lo suficientemente alta para garantizar casos primarios, o casos secundarios causados por el primer individuo infeccioso en una población susceptible, en la que la infección puede invadir con éxito una población. (Anderson y May, 1991). Por otra parte, la teoría del “fade-out” o de la desaparición determina que si después de una epidemia el patógeno logra infectar a todos los miembros susceptibles de la población, el agente infeccioso tenderá a la extinción (Grenfell *et al.*, 2002).

Por lo mencionado anteriormente, el “tamaño de la población huésped” es un factor demográfico importante que influencia en la persistencia de la enfermedad. Estudios previos determinaron que existe un “tamaño crítico de comunidad”, el cual es el tamaño mínimo de población en el que puede persistir una enfermedad, y por cuyo debajo la enfermedad perecerá (Keeling y Grenfell, 1997).

Si bien la densidad de los animales silvestres es demasiado baja como para mantener una enfermedad y luego de un brote el patógeno puede desaparecer; es posible que si existe una población de perros de alta densidad, una infección esporádica puede volverse persistente, reapareciendo cuando es conveniente (Cleaveland *et al.*, 2002).

Distribución espacial de las poblaciones huésped – densidad poblacional

Para comprender la persistencia de un determinado patógeno en un ambiente heterogéneo de tamaño de poblaciones variables es indispensable comprender las sub-poblaciones, esto nos da una respuesta a la transmisión de enfermedades (Hess *et al.*, 2002).

Las sub-poblaciones son conjuntos de diferentes especies dónde un agente infeccioso puede permanecer gracias al contagio dentro de una sub-población, como entre las sub-poblaciones (Hess *et al.*, 2002).

Migración

Una enfermedad emergente o reemergente se presenta por mutaciones o cambios de distribución geográfica y sobre todo, por saltos taxonómicos que ocurren cuando un patógeno se transmite desde una población reservorio a otra que no es reservorio. A este fenómeno se le denomina “spill-over”. Por lo que los perros domésticos (*Canis familiaris*) representan un riesgo significativo como reservorios de enfermedades infecciosas, como el DC, especialmente para carnívoros silvestres (Aguirre, 2009).

La migración de animales infectados a áreas rurales es en función de la distancia a la población fuente se deben esperar más casos de infección si el lugar se encuentra más cercano a la población huésped (Grenfell *et al.*, 2001; Keeling *et al.*, 2004).

Áreas urbanas

En estudios demográficos de áreas urbanas se observó que los factores como la alta densidad de mascotas, alta cantidad de perros callejeros y bajos niveles de vacunación son lugares óptimos para que los patógenos de los perros puedan permanecer (Acosta-Jamett, 2009).

Además se indica que menos del 30% de los perros había sido vacunados contra VDC y que los resultados del estudio sugieren que en áreas urbanas es más probable que se presenten las condiciones adecuadas para que los perros actúen como reservorios de infecciones patógenas (Acosta-Jamett *et al.*, 2010).

Factores como el tamaño de la población de perros que deambulan libres, la disponibilidad de alimento para los carnívoros silvestres, épocas de reproducción y el tamaño de la población de carnívoros silvestres; pueden influenciar en la probabilidad de contacto entre carnívoros silvestres y domésticos (Acosta-Jamett, 2009). La transmisión de patógenos altamente

virulentos desde carnívoros domésticos a silvestres, requiere de contacto cercano entre los individuos de diferentes especies (Dobson y Hudson, 1995).

Acciones y medidas de conservación

La evaluación del riesgo de las enfermedades infecciosas emergentes en animales silvestres en un ecosistema específico, debe enfocarse en los patógenos que tengan la capacidad de causar altas mortalidades, que permanecen por más tiempo en el medio silvestre y que además pueden causar disminuciones poblacionales al afectar las tasas de fecundidad y reclutamiento (Cleaveland *et al.*, 2002).

La administración de tratamientos se puede realizar en escasas ocasiones, debido a los innumerables problemas logísticos que esto conlleva, cuando se trata de la dosificación por periodos relativamente largos; además de la inexistencia de un tratamiento específico en caso de enfermedades virales o de tratamientos comprobados en especies silvestres justifican su poco uso (Laurenson *et al.*, 2004).

La vacunación como método de protección de las especies objetivo ha sido utilizada con una alta oportunidad de éxito (Woodroffe *et al.*, 2004). La vacunación se realiza en la especie silvestre bajo protección; sólo al administrarle la vacuna a un 20-40% de la población podría ser suficiente para proteger a la población de una caída de la densidad, con grandes riesgos de extinción (Medina-Vogel, 2010). Seimon *et al.*, (2013) menciona que la vacunación con vacunas recombinantes vectorizadas contra el VDC han sido utilizadas sin problemas y es la recomendación para tigres cautivos en zoológicos, lo que podría otorgar una opción para las estrategias de vacunación en tigres Amur de vida libre.

El jaguar

Generalidades

El jaguar es el felino de mayor tamaño en América y el tercero en el mundo (después del tigre y el león), el color del pelaje varía de amarillo pálido a café rojizo y cambia a blanco en el pecho y en la parte interna de las extremidades. En todo el cuerpo presenta manchas negras, que en los costados cambian en rosetas, dentro de estas puede haber una o más manchas pequeñas (Ceballos *et al.*, 2005; CONANP, 2010).

El jaguar es conocido como Otorongo o uturuncu (Quechua) en Perú; tigre, yaguá o yaguareté en Bolivia; yaguareté en Argentina; chiví (Mbya guaraní); jaguar (USA), onça pintada (Brazil), Nahuel (Mapuche), overo (Salta y Jujuuy) (Rumiz, 2015).

Taxonomía

Reino	:	Animalia
Phylum	:	Chordata
Clase	:	Mammalia
Orden	:	Carnívora
Familia	:	Felidae
Subfamilia	:	Pantherinae
Género	:	Panthera
Especie	:	<i>Panthera onca</i>

(Wozencraft, 2005)

Distribución geográfica

El jaguar (*Panthera onca*) tiene una amplia distribución que va desde el norte de México hasta el norte de Argentina (Figura 1), pero ha desaparecido en más del 40% de su área de distribución original en el último siglo en gran parte por pérdida de su hábitat. En el Perú la Amazonia sigue siendo el mayor bloque continuo de hábitat dentro del territorio del jaguar y es considerado una fortaleza de la especie con una muy alta probabilidad de supervivencia a largo plazo (Sanderson *et al.*, 2002; Zeller, 2007; Tobler *et al.*, 2013).

Dentro de la Amazonía el bosque húmedo tropical de tierras bajas del Amazonas superior constituye la mayor región ecológica (eco-región), que abarca cinco países, entre ellos Brasil, Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú. En Perú el jaguar se encuentra en las tierras bajas de la cuenca del Amazonas al este de los Andes hasta una altura de unos 1,500 a 2,000 metros sobre el nivel del mar (msnm), y aproximadamente el 23% de su territorio cae dentro de las áreas protegidas (Carrillo-Percastegui y Maffei, Madre de Dios, comunicación personal; Tobler *et al.*, 2013).

La parte sur de la Amazonía peruana en el departamento de Madre de Dios todavía se compone de bosques continuos (Asner *et al.*, 2010). La región incluye tres áreas protegidas de más de un millón de hectáreas cada uno: Alto Purús, Manu, y el Parque Nacional Bahuaja-Sonene; así como la Reserva Nacional de Tambopata; existen varias grandes reservas indígenas y una serie

de concesiones privadas de conservación. El paisaje se conecta a Manuripi-Heath reserva de la fauna amazónica y el Parque Nacional Madidi, en Bolivia (Zeller, 2007; Tobler *et al.*, 2013).

Los jaguares abarcan una extensión de 19.1 millones de km² de los cuales el 83% es conocido y el 17% desconocido, en la actualidad se extienden sobre aproximadamente 8.75 millones de km² o el 46% de su área de distribución histórica. La mayor parte del área en la que falta información sobre el jaguar se encuentra en varias grandes regiones de México (más de 848,000 km²) y en América del Sur (más de 2.3 millones de km² sólo en Brasil). La mayor área contigua de jaguar se centra en la Cuenca Amazónica (88% de área ocupada) e incluye áreas contiguas en el Cerrado, Pantanal y Chaco del sur, extendiéndose a la costa caribeña de Venezuela y las Guayanas; continuando por toda América Central desde el Darién hasta la Selva Maya en Belice, Guatemala y México. En el extremo norte de la cordillera a través de México, el rango de jaguares conocido se limita a una franja a lo largo de la costa occidental y tres observaciones aisladas en el suroeste de los Estados Unidos (Sanderson *et al.*, 2002; Tobler *et al.*, 2013).

La mayor parte de la pérdida de área ocupada del jaguar se ha producido en el norte de México, el sur de los Estados Unidos, el norte de Brasil y el sur de Argentina. Los jaguares han sido extirpados completamente de las praderas argentinas de Monte y Pampas en el sur de América del Sur y las praderas costeras del golfo occidental en los Estados Unidos (Sanderson *et al.*, 2002).

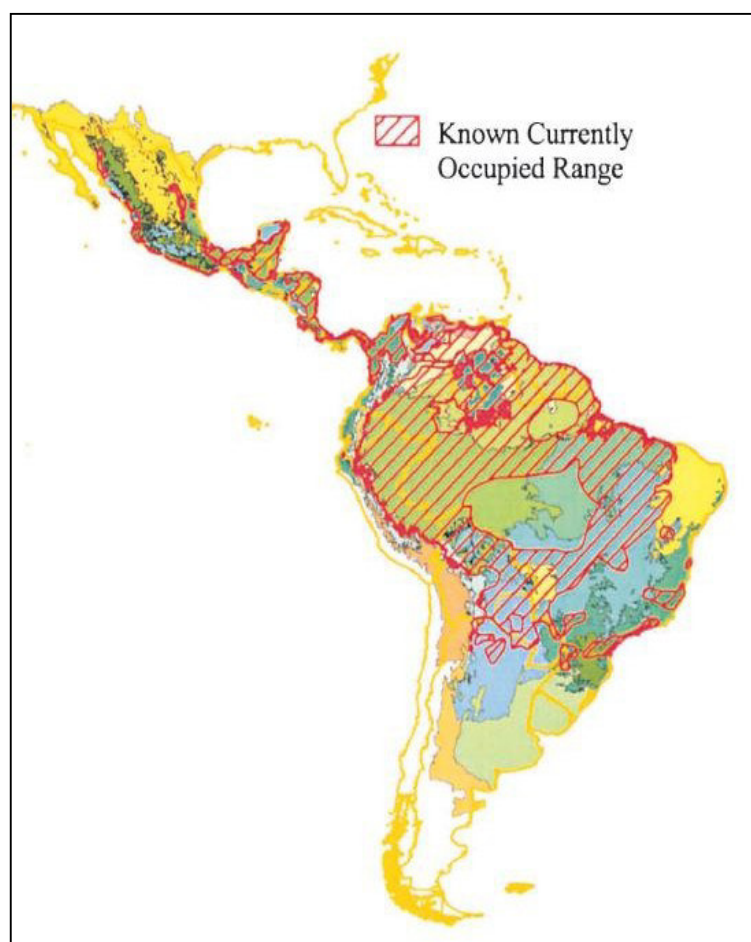


Figura 1. Distribución del jaguar (*Panthera onca*) en América

Biología de la especie

2.3.4.1 Características morfológicas

El jaguar es la especie más grande de la Familia de los felidae, es el más grande en América y tercero en el mundo; el color del pelaje varía de amarillo pálido a café rojizo y es casi uniforme sobre el área mediano dorsal, aunque palidece a blanco en las mejillas, el lado del cuello, la garganta, en el pecho y en la parte interna de las extremidades (Figura 2). En todo el cuerpo presenta manchas negras, que en los costados cambian en rosetas, dentro de estas puede haber una o más manchas pequeñas (Seymour, 1989; Ceballos *et al.*, 2005; CONANP, 2010; Rumiz, 2015). A lo largo de la parte media de la espalda las manchas se alargan y tienden a fusionarse. Las manchas a menudo forman filas longitudinales más o menos en los flancos, aproximadamente paralelas a la franja mediana. Sin embargo, el manchado es extremadamente variable y a menudo no es lo mismo en los lados derecho e izquierdo de un animal, las manchas son sólidas en la

cabeza y el cuello y en el vientre se convierten en grandes manchas. La cola es blanca debajo, con dos o tres anillos negros cerca del extremo y la punta es generalmente negra (Seymour, 1989). El pelo es bastante corto y erizado; la garganta, el pecho, el vientre y las partes interiores de los pies tienen un pelaje más largo; las orejas son pequeñas, redondeadas y negras (Seymour, 1989).

Los jaguares son musculosos con extremidades relativamente cortas, un cuerpo de pecho profundo y una cabeza relativamente grande y redondeada. Las hembras usualmente son 10 a 20% más pequeñas que los machos; la longitud promedio en machos es de 172 a 241 cm y en hembras de 157 a 219 cm. Los jaguares de mayor peso se han registrado en el pantanal de Brasil con un peso promedio en hembras y machos de 77 y 94.8 kg, respectivamente y en Venezuela, de 56.3 y 95 kg en hembras y machos, respectivamente (Seymour, 1989).

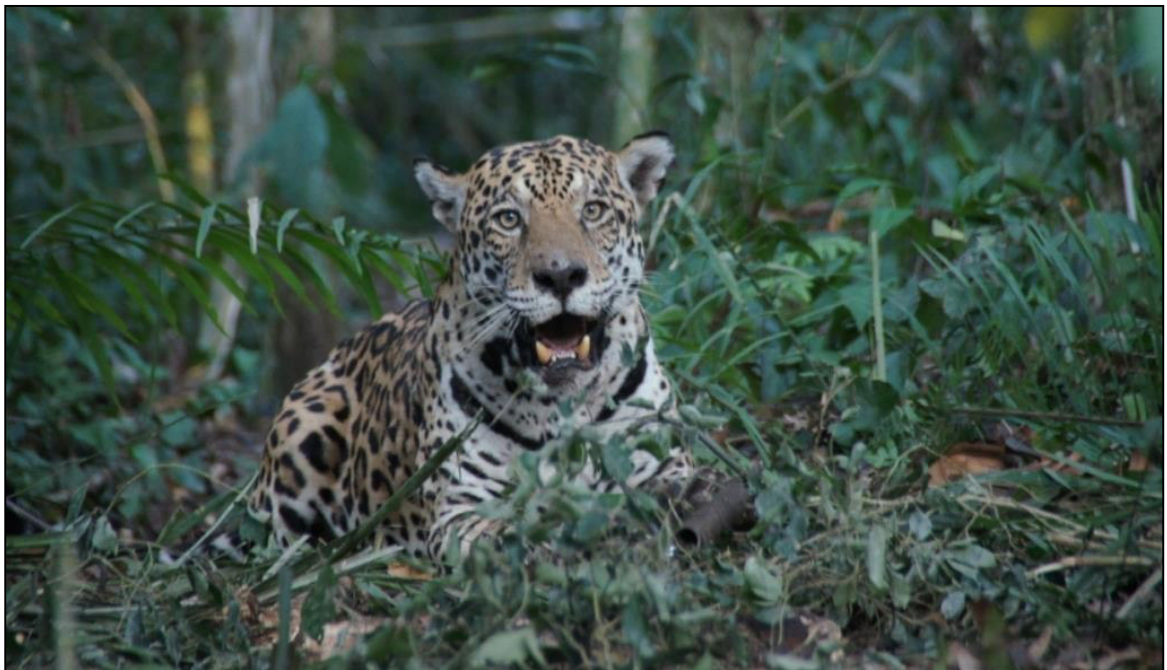


Foto: WWF-Perú / Jeff Sikkich

Figura 2. Individuo de jaguar (*Panthera onca*) de vida libre

Comportamiento

Los jaguares son principalmente nocturnos (Rabinowitz y Nottingham, 1986), sus movimientos son similares a otros felinos y su cola la lleva en una posición hacia arriba curvada. Suben muy bien los árboles, pero no lo hacen tan a menudo. Son buenos nadadores por lo general con la cabeza y la columna vertebral fuera del agua (Seymour, 1989).

Los jaguares generalmente atrapan y matan a sus presas acechando o emboscando y mordiendo principalmente en la porción dorsal del cuello, la base del cráneo y el mismo cráneo; las capibaras y pecarís de labio blanco que son sus principales presas son mordidas directamente la cabeza perforando el cráneo o el canal auditivo (Seymour, 1989; Crawshaw y Quigley, 2002).

El jaguar habita con mayor frecuencia en bosques con altitudes mayores a los 1,200 msnm, algunos estudios consideran que habita entre los 1,800 msnm., inclusive existen registros de esta especie en altitudes de 2,700 msnm en Bolivia y 3,800 msnm en Costa Rica; posiblemente estos felinos utilizan este hábitat porque presenta menos perturbación humana y por lo tanto es más seguro, se sabe que esto se debe a que estos hábitat les ofrecen lugares para refugiarse, acechar a sus presas, descansar y mayor seguridad para resguardar y proteger a sus crías; en su distribución se consideran ambientes cálido-húmedos o cálido secos (Ceballos *et al.*, 2007).

Los jaguares se desplazan caminando a un paso regular y cubren grandes distancias usando sendas en el bosque, playas de ríos y caminos de tierra poco transitados abarcando un área de 130 km² en hembras y 283 km² en machos (Tobler *et al.*, 2013; Rumiz, 2015).

Alimentación

El jaguar en una especie carnívora, entre su dieta se ha reportado 85 diferentes especies, pero los mamíferos terrestres diurnos con una masa corporal >1 kg son las principales presas, aunque otros mamíferos, reptiles y aves son componentes importantes (Emmons, 1987). Los jaguares son particularmente aficionados a los pecarís (*Tayassu tajacu* y *T. pecari*), capibaras (*Hydrochoerus*), pacas (*Agouti paca*), (Emmons, 1987, Seymour, 1989; Scognamillo *et al.*, 2003; Ávila-Nájera *et al.*, 2011; Harmsen *et al.*, 2011), agoutis (*Dasyprocta*), armadillos (*Dasypus*), caimanes (*Caiman*) y tortugas (Emmons, 1987; Seymour, 1989).

Reproducción

La época de apareamiento del jaguar varía geográficamente, se han reportado crías en Sudamérica en los meses de junio, agosto, noviembre y diciembre (Seymour, 1989); sin embargo,

en áreas con marcada estacionalidad, las crías nacen frecuentemente en temporada lluviosa cuando la época en que el alimento es abundante (Rabinowitz *et al.*, 1986; CONANP, 2010).

El promedio de gestación es de 101 días, y paren de dos a cuatro crías. La hembra cuida sola de sus crías, que mantiene en una madriguera amamantándolas durante tres meses. Luego, los cachorros comen carne traída por la madre y la acompañan en las cacerías desde los seis meses hasta más de un año (Emmons, 1987; Seymour, 1989; Rumiz, 2015). Además, la longevidad en su hábitat es de 11-12 años (Emmons, 1987; Seymour, 1989).

Conservación

El jaguar sigue siendo una especie abundante, pero está amenazado por la pérdida de hábitat y la persecución. Debido a la pérdida de hábitat, la caza furtiva de presas y la fragmentación de las poblaciones a través de las porciones de su territorio, esta especie se considera actualmente “como casi amenazada” por la UICN, las poblaciones de América Central y México, el bosque atlántico, el Cerrado de Brasil, el Chaco en el norte de Argentina y sabanas de Venezuela y las Guayanas están más amenazadas (Caso *et al.*, 2008). Para el gobierno peruano, desde el año 2014, se ha considerado la categoría de "Casi amenazado" en la Ley Forestal y de Fauna Silvestre mediante el Decreto Supremo N° 004-2014-MINAGRI, que aprueba la actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre legalmente protegidas, y además prohíbe su cacería fuera de áreas establecidas para dicho fin y su tráfico (El Peruano, 2014).

En el caso de la CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres) se lo ubica en el Apéndice I, donde se incluyen las especies sobre las que se cierne el mayor grado de peligro. De modo que la CITES prohíbe el comercio internacional de especímenes de jaguar, salvo cuando la importación se realiza con fines no comerciales, por ejemplo, para la investigación científica. En estos casos excepcionales, puede realizarse la transacción comercial siempre y cuando se autorice mediante la concesión de un permiso de importación y un permiso de exportación (o certificado de reexportación) (CITES, 2009).

Históricamente el jaguar se encontraba distribuido desde el norte de México y suroeste de los Estados Unidos de América hasta Argentina, aunque se considera que las poblaciones más norteñas de la especie son las que se encuentran en México (Chávez *et al.*, 2010) y la especie está prácticamente extinta de El Salvador y Uruguay (Sanderson *et al.*, 2002).

El jaguar en Perú

En Perú el jaguar se encuentra en las tierras bajas de la cuenca del Amazonas al este de los Andes hasta una altura de unos 1,500 a 2,000 msnm, y aproximadamente el 23% de su territorio cae dentro de áreas protegidas (Carrillo-Percastegui y Maffei, comunicación personal). Durante una reciente reclasificación de la lista roja de especies amenazadas de Perú el jaguar se clasificó como “casi amenazada” según el DS 004-2014 por el MINAGRI (El Peruano, 2014). Las principales amenazas para la especie son la caza y la deforestación debido a la expansión de la agricultura y un aumento de la extracción de oro en el Amazonas durante los últimos años (Swenson *et al.*, 2011). Con un aumento de la ganadería y la agricultura a pequeña escala esperamos también mayores conflictos entre jaguares y ganaderos con más disparos a jaguares como represalia a la pérdida de ganado. Si bien la ley peruana prohíbe cualquier matanza de jaguares y todo el comercio con partes de jaguar, dientes, garras, partes de la piel e incluso pieles enteras se ven a menudo a la venta en los mercados locales (Tobler *et al.*, 2013).

En la región de Madre de Dios existen tres áreas protegidas de más de 1 millón de hectáreas cada una. El clima en la región se divide en una estación seca de junio a octubre y una estación lluviosa de noviembre a mayo, con una precipitación media anual entre 2,500 y 3,500 mm. La temperatura media anual es de 24° C con un intervalo de 10 a 38° C (Tobler *et al.*, 2013).

A pesar de la importancia de los bosques húmedos de tierras bajas del Amazonas como hábitat del jaguar, sólo unos pocos estudios se han llevado a cabo en esta región ecológica y al día de hoy no existen cálculos de densidad fiables. Tobler *et al.*, (2013) estimaron la población de jaguares en la amazonia con cámaras trampa en combinación con los modelos de captura-recaptura y obtuvo como resultado alrededor de 6,000 jaguares.

Sanidad

Si bien las poblaciones silvestres están continuamente en contacto con agentes patógenos, en situaciones de equilibrio no llegan a generar una amenaza para estas, pero cuando las condiciones cambian es posible que haya enfermedades que lo sean a partir de un determinado momento. En poblaciones de jaguares en Argentina y Brasil al ser una población reducida y relativamente aislada, la convierte en vulnerable al encontrarse próxima a ambientes antropizados en donde es posible la interacción con animales domésticos. Esto hace que haya oportunidades de contagio de enfermedades infecciosas como: distemper canino, panleucopenia felina, calicivirosis felina, herpesvirosis felina, leucemia felina, inmunodeficiencia felina, peritonitis infecciosa felina, rabia; así como de las de tipo parasitarias como la sarna sarcóptica, sarna notoédrica, endoparasitosis, hemoparásitos como *Leishmania sp.*, entre otras. Además, si estos

agentes patógenos nunca estuvieron en contacto con la población de jaguares, por tratarse de una población virgen el impacto sobre los mismos podría ser aún mayor (Schiaffino, 2011).

El puma

Generalidades

El puma (*Puma concolor*), es el mamífero con más amplia distribución en el hemisferio occidental (Laundré y Hernández, 2010); se le considera como depredador generalista y oportunista (Emmons, 1987), junto con el jaguar tienen una influencia significativa en la estructura y función de muchos ecosistemas neotropicales (Terborgh *et al.*, 2001; Novack *et al.*, 2005). Es también conocido como león de montaña (Culver *et al.*, 2000), onça-parda (Crawshaw *et al.*, 2002), León Americano, León Bayo, León Colorado, Mitzli, Onza Bermeja (Nielsen *et al.*, 2015).

Taxonomía

Reino	:	Animalia
Phylum	:	Chordata
Clase	:	Mammalia
Orden	:	Carnívora
Familia	:	Felidae
Subfamilia	:	Felinae
Género	:	Puma
Especie	:	<i>Puma concolor</i>

(Wozencraft, 2005)

Culver *et al.* (2000) se sugieren seis subespecies como sigue (Cuadro 1).

Cuadro1. Clasificación de subespecies del *Puma concolor* según su distribución

Nombre científico	Distribución
<i>P. c. cougar</i>	North América
<i>P. c. costaricensis</i>	Central América
<i>P. c. capricornensis</i>	Eastern South América
<i>P. c. concolor</i>	Northern South America
<i>P. c. cabreræ</i>	Central South America
<i>P. c. puma</i>	Southern South America

Distribución geográfica

El puma (*Puma concolor*) presenta la distribución geográfica más extensa de todos los mamíferos terrestres vivos de América, encontrándose desde Alaska hasta la Patagonia austral, incluyendo una gran diversidad de ambientes (Currier, 1983; Sunquist y Sunquist, 2002). Los pumas ocupan una amplia gama de zonas ecológicas tan diversas como el desierto, la sabana, la selva tropical, las estepas alpinas (Culver *et al.*, 2000); así como los altos Andes a 5,800 msnm en el sur de Perú (Sunquist y Sunquist, 2002).

A lo largo de su área de distribución, el puma se asocia comúnmente con áreas boscosas o en regiones más secas como las pampas del sur de América del Sur, frecuenta lugares con mayor relieve topográfico y cubierta vegetal (Nowell y Jackson, 1996).

Kelly *et al.*, (2008) estimó densidades poblacionales de pumas en sus hábitats; en Bolivia se registró un número significativamente más alto de pumas cada 100 km² (6.8 ± 1.5) que Belice (3.42 ± 1.3) o Argentina (0.67 ± 0.2). La densidad de pumas en Argentina fue similar a la de sitios de Norteamérica con densidad baja, mientras que las densidades en Belice son consistentes con las densidades del Pantanal y de sitios de alta densidad en Norteamérica.

Biología de la especie

Características morfológicas

El puma es grande y esbelto; tiene extremidades cortas y musculosas (Figura 3), el pelaje es de textura media, característicamente corto todo el año en zonas tropicales, pero creciendo más grueso en el invierno en zonas templadas (Currier, 1983).

Sus dimensiones son de 120 cm de largo, 65 cm de alzada con una cola de 60 cm que lo convierten en el mayor animal carnívoro de América, ocupando el lugar más alto en la cadena alimenticia (Jorge *et al.*, 2006). El tamaño adulto varía de 50 a 70 kg en el Ecuador hasta el doble de ese tamaño en los extremos de las pampas canadienses de Yukón y Patagonia (Culver *et al.*, 2000). El tamaño del puma varía considerablemente según su distribución geográfica, y los rangos más pequeños tienden a encontrarse en áreas donde las presas son abundantes y no son migratorias (Sunquist y sunquist, 2002).



Foto: WWF-Peru / Jeff Sikkich

Figura 3. Individuo de puma (*Puma concolor*) de vida libre

Comportamiento

Los pumas tienen patrones de actividades nocturnas (Harmsen *et al.*, 2009); pero también son diurnos (Harmsen *et al.*, 2011). El puma prefiere el hábitat con una vegetación densa de sotobosque, sin embargo, los pumas pueden vivir en hábitats muy abiertos con un mínimo de cubierta vegetal (Sunquist y Sunquist, 2002). El puma es una especie simpátrica junto con el jaguar en gran parte de su territorio en Latinoamérica, ambos van hacia donde abundan las presas (Scognamillo *et al.*, 2003); se han documentado diferencias sutiles en el uso del hábitat,

posiblemente asociadas con la evitación, entre el jaguar y el puma en Perú (Emmons, 1987) y en México (Aranda y Sánchez-Cordero, 1996). Otra característica de su comportamiento, es cuando cazan cubren su presa con desechos colectados y empiezan a alimentarse por el cuarto posterior. Su método de cacería es de mordedura a la garganta (Crawshaw y Quigley, 2002).

Alimentación

La dieta del puma es tan variada como su distribución geográfica, pero principalmente dependiente de los mamíferos; en las zonas templadas de Norte América las presas principales son los grandes ungulados, especialmente venados o ciervos que constituyen el 60-80% de la dieta, y el peso medio de las presas tomadas es de 39-48 kg. Sin embargo, en la Florida, donde el número de ciervos es bajo, los Pumas toman presas más pequeñas, incluyendo cerdos salvajes, mapaches y armadillos, y los ciervos representan solo 1/3 de la dieta (Sunquist y Sunquist, 2002; Pacheco *et al.*, 2004). En América central el puma utiliza con mayor frecuencia especies medianas y pequeñas (Emmons, 1987; Aranda y Sánchez-Cordero, 1996; Crawshaw y Quigley, 2002; Scognamillo *et al.*, 2003; Harmsen *et al.*, 2011); mientras que en América del sur las presas tienden a ser de tamaño mediano: capibaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) y agutíes (*Dasyprocta* y *Agouti*) en Perú y Brasil, venados (*Mazama*), armadillos (*Dasypus*) y pecaríes (*Tayassu* y *Pecari*) en el Chaco y pudúes (*Pudu puda*) en Chile, aunque las presas de gran tamaño como el guanaco no son raras en algunas regiones del sur de Chile (Wilson, 1984; Emmons, 1987; Aranda *et al.*, 1996; Crawshaw y Quigley, 2002; Scognamillo *et al.*, 2003; Harmsen *et al.*, 2011).

Las presas pequeñas (liebres europeas y otros roedores pequeños) son comunes en varias regiones, pero no siempre constituyen gran porcentaje en biomasa. Al parecer, el puma tiende a concentrar su dieta en unas pocas especies en cada región, las cuales conformarían la mayor parte del aporte en biomasa, a la vez que aprovechan presas de cualquier tamaño en algunas regiones, lo cual podría estar correlacionado con la abundancia de las presas (Pacheco *et al.*, 2004).

Reproducción

Los pumas son polígamos, pero pueden unirse año tras año debido a la estabilidad de sus áreas de origen. El periodo de gestación en pumas es de 82 a 96 días; las hembras pueden entrar en el celo en cualquier época del año, pero la mayoría de los nacimientos ocurren entre abril y septiembre en el hemisferio norte. El tamaño de la camada varía de una a seis crías (Currier, 1983).

Conservación

Debido a la coexistencia del jaguar y el puma a lo largo de América central y del sur, el puma es de menor tamaño de estatura que el jaguar, el tamaño más pequeño del puma sirve para reducir la competencia con el jaguar. Juntos, estos dos felinos constituyen un gran gremio de depredadores de mamíferos y podrían tener una influencia significativa en la estructura y función de muchos ecosistemas neotropicales (Terborgh *et al.*, 2001; Scognamillo *et al.*, 2003; Novack *et al.*, 2005).

Las principales amenazas que enfrenta el puma son la pérdida y fragmentación de hábitat, disminución de sus presas naturales por la caza furtiva (Caso *et al.*, 2008; Martínez *et al.*, 2010; Nielsen *et al.*, 2015). La especie es considerada por la UICN como "Preocupación Menor"; sin embargo, la especie experimenta una tendencia poblacional global a la baja (Caso *et al.*, 2008; Nielsen *et al.*, 2015). Para el gobierno peruano, desde el año 2014, se ha considerado la categoría de "Casi amenazado" en la Ley Forestal y de Fauna Silvestre mediante el Decreto Supremo N° 004-2014-MINAGRI, que aprueba la actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre legalmente protegidas, y además prohíbe su cacería fuera de áreas establecidas para dicho fin y su tráfico (El Peruano, 2014).

Está incluida en el Apéndice II de CITES y en la Subespecie oriental y centroamericana (*P. c. coryi*, *costaricensis* y *cougar*) en el Apéndice I. Esta especie está protegida en gran parte de su área de distribución, con caza prohibida en la mayor parte de la Argentina y todo Brasil, Bolivia, Chile, Colombia, Costa Rica, Guayana Francesa, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Suriname, Venezuela, Uruguay y regulaciones de caza en Canadá, México, Perú y Estados Unidos (Nowell y Jackson, 1996; Nielsen *et al.*, 2015). Los pumas son cazados legalmente en muchos estados occidentales de los EEUU, aunque la caza fue prohibida por el referéndum popular en California en 1990. Las muertes en las carreteras son la principal causa de mortalidad en la subpoblación del puma de la Florida en peligro de extinción, y las carreteras muy transitadas son una barrera importante para los movimientos y la dispersión de Puma (Sunkist y Sunkist, 2002).

Es necesario implementar programas para mitigar la resolución de conflictos para la depredación del ganado y para estudiar el efecto real de la depredación de Puma vs. Jaguar en el ganado (Nielsen *et al.*, 2015). El Puma de vez en cuando mata a los seres humanos, especialmente en América del Norte y Canadá (Sunkist y Sunkist, 2002; Nielsen *et al.*, 2015).

Con la expansión demográfica sus hábitats han quedado confinados a lugares muy poco accesibles y cuando el alimento escasea, sale de cacería a lugares más expuestos explotados por el hombre, causando importantes pérdidas en el ganado bovino, ovino y en camélidos, por ello los ganaderos los persiguen, llegando en algunas zonas al exterminio (Jorge *et al.*, 2006).

Sanidad

Se han reportado infecciones de félidos no domésticos con virus que son comunes en carnívoros domésticos para numerosas especies en todo el mundo, aunque las implicaciones de estas infecciones en la conservación de félidos salvajes son generalmente difíciles de evaluar, se acepta ampliamente que el monitoreo de estas infecciones es un componente importante para el manejo de las poblaciones en peligro de extinción (Murray *et al.*, 1999; Daszak *et al.*, 2000).

Algunos estudios se han centrado en el puma de florida (*P. concolor coryi*) una subespecie en peligro de extinción; estos son genéticamente diferentes a otras subespecies de puma por lo que se sugiere que un análisis del virus de la inmunodeficiencia felina (FIV) que cubría todo el territorio geográfico del puma podría revelar una variación viral considerablemente mayor, proporcionando la oportunidad de estudiar patrones de divergencia lentiviral en una especie cosmopolita con un amplio rango geográfico. Carpenter *et al.*, (1996) analizaron muestras de suero en pumas para detectar anticuerpos FIV; resultando seropositivas todas las muestras de América del Norte, algunas regiones de América del Sur y Central no tenían individuos seropositivos; la seroprevalencia fue mayor en animales libres que animales en cautiverio.

Roelke *et al.*, (1993) sometieron muestras de suero a pruebas de anticuerpos para los siguientes agentes patógenos: *Brucella sp.*, *Toxoplasma gondii*, calicivirus felino (FCV), coronavirus entérico felino / virus de peritonitis infecciosa felina (FECV / FIPV), virus de inmunodeficiencia felina / puma lentivirus (FIV / PLV), parvovirus felino (FPV), virus de la rinotraqueitis viral felina (FVRV) y virus de la pseudorrabia (PRy). Los pumas fueron seropositivos para *Toxoplasma gondii*, FCV, FECV / FIPV, FIV / PLV y FPV. Todas las muestras fueron negativas para anticuerpos contra *Brucella sp.*, FVRV y PRV. Todos los animales estudiados fueron negativos para el antígeno p27 de FeLV según se determinó mediante ELISA. El agente de enfermedad infecciosa documentado más significativo al que los pumas estaban expuestas era FPV o un parvovirus estrechamente relacionado. Se detectaron anticuerpos neutralizantes de virus contra un parvovirus antigénicamente relacionado con panleucopenia felina en el suero de 25 pumas.

El estudio realizado por Filoni *et al.*, (2006) en Brasil detectaron por primera vez en 18 pumas, un ocelote (*Leopardus pardalis*) y dos pequeños gatos manchados (*Leopardus tigrinus*) anticuerpos contra FHV 1, FCV, FCoV, FPV, FeLV, FIV, PLV o virus relacionados, y *B. henselae*. Además, en un puma se detectó anticuerpos contra *E. canis* o un agente estrechamente relacionado.

El virus del distemper canino como amenaza para la conservación de felinos silvestres

En los hospederos silvestres no se conoce del todo la patogenia, pero las manifestaciones clínicas son similares a las que se presentan en perros. Los mustélidos y cánidos silvestres son altamente susceptibles al virus y las manifestaciones clínicas son similares a las que se presentan en perros domésticos. Los felinos infectados por el VDC muestran daños neurológicos, respiratorios y gastrointestinales; los signos neurológicos incluyen convulsiones, encefalomiелitis, debilidad y falta de coordinación (Filoni *et al.*, 2006).

Los felinos del genero *Panthera* son los más susceptibles al VDC causando alta mortalidad y pueden presentar signos gastrointestinales, respiratorios y nerviosos. También se observan convulsiones y mioclonos similares a los observados en cánidos (Appel *et al.* 1994; Deem *et al.*, 2000; Seimon *et al.*, 2013). Sin embargo otras especies de felinos, como los lince (*Lynx rufus*), serval (*Leptailurus serval*), pumas (*Puma concolor*), ocelotes (*Leopardus pardalis*) y tigrillo (*Leopardus wiedii*) se ha observado una presentación clínica leve con síntomas gastrointestinales y respiratorios o en ocasiones no presentan signos pero resultan seropositivos (Appel *et al.* 1994; Nava *et al.*, 2008).

En algunos países se encuentran perros a las afueras de las reservas naturales y en los cuales ha coincidido con la transmisión de enfermedades como el distemper y rabia hacia carnívoros silvestres amenazados. Se considera que las grandes poblaciones de perros de Serengeti en África provocó los brotes de rabia y distemper en especies de carnívoros silvestres como el león africano (*Panthera leo*), lobo de Etiopia (*Canis simensis*) y perro salvaje africano (*Lycaon pictus*) (Gascoyne *et al.*, 1993; Laurenson *et al.*, 1998). En América, se han encontrado altas densidades de perros positivos a distemper canino y carnívoros silvestres como el lobo de crin (*Chrysocyon brachyurus*) en Bolivia, zorro culpeo (*Lycalopex culpaeus*) y zorro chilla (*Lycalopex griseus*) en Chile, diversas especies de carnívoros silvestres como mapaches (*Procyon cancrivorous*), ocelotes (*Leopardus pardalis*), pumas (*Puma concolor*) y jaguares (*Panthera*

onca) en Brasil y mapache pigmeo (*Procyon pygmaeus*) en México (Fiorello *et al.*, 2004; Jorge, 2008; Nava *et al.*, 2008; Furtado *et al.*, 2013).

En un estudio realizado por Lickey *et al.*, (2005), tomaron muestras de gatos domésticos (*Felis catus*) y margays (*Leopardus wiedii*) para determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra varios patógenos mediante inmunofluorescencia indirecta. De los patógenos estudiados, los que mayor importancia en la vida silvestre fueron los VDC y FIV; ya que, representan un riesgo potencial para los felinos silvestres de Guatemala; sin embargo, los resultados de VDC fueron negativos para todas las muestras. Otro estudio, realizado por Schmidt (2006), encontró que la totalidad de muestras tomadas de seis especies de felinos silvestres en cautiverio (*Leopardus tigrinus*, *Puma concolor*, *Leopardus wiedii*, *Leopardus pardalis*, *Herpailurus yagouaroundi*, *Panthera onca*), fueron negativas contra la presencia de anticuerpos neutralizantes del VDC. En su estudio también se evaluaron perros domésticos que vivían en los alrededores de los Zoológicos, pero el porcentaje de perros positivos fue bajo.

Fiorello *et al.* (2007) informaron que ocelotes (*Leopardus pardalis*) muestreados en el Parque Nacional Kyaa-Iya del Gran Chaco en Bolivia y el áreas adyacentes, fueron positivos contra anticuerpos a VDC. Este parque está alejado de las poblaciones, pero algunos aldeanos cazan frecuentemente en áreas adyacentes al parque nacional con perros (*Canis familiaris*). Por lo que se sugiere que los ocelotes pudieron estar expuestos al VDC de forma directa o indirecta con los perros. En Panamá se muestrearon ocelotes de vida libre a los cuales se les realizó seroneutralización para VDC con resultados negativos (Franklin *et al.*, 2008).

Otro estudio de Nava *et al.*, (2008), reportaron en Sudamérica la presencia del VDC de animales silvestres en Brasil; siendo el primer reporte en el puma (*Puma concolor*), el jaguar (*Panthera onca*), el ocelote (*Leopardus y pardalis*) en el país. También se obtuvo muestras seropositivas de perros domésticos en los alrededores de los parques nacionales y ciudades brasileñas.

Millán *et al.*, (2009), en su estudio del lince ibérico (*Lynx pardinus*) al sur de España, concluyeron que la escasa vacunación de perros de la región, y la baja inmunidad del lince a las enfermedades infecciosas transmitidas por el perro doméstico, dejan a la población del lince susceptible a ser afectada por una epidemia producto de la distribución simpátrica con los gatos y perros.

Seimon *et al.*, (2013), fueron los primeros en confirmar y caracterizar genéticamente el VDC mediante RT-PCR. La presencia de esta enfermedad genera conmoción en China y Rusia.

Los tigres de Amur (*Panthera tigris altaica*) en estas áreas no sobrepasan los 500 individuos, en el 2010 se observó un grupo de animales con signos nerviosos y muerte de los cuales se extrajo tejidos y en el análisis histopatológico reveló encefalitis no supurativa con desmielinización y cuerpos de inclusión virales eosinofílicos con inmunohistoquímica reactiva al virus del distemper.

Finalmente, Avendaño *et al.*, (2016), muestrearon felinos silvestres en cautiverio y vida libre en Costa Rica para detectar presencia del VDC para lo cual se recolectaron muestras de heces entre los años 2006 y 2012. Se utilizó RT-PCR para la detección del ARN del virus en las heces y solo seis (2%) animales resultaron positivos.

Virus del distemper canino

Introducción

El virus del distemper o moquillo canino (VDC) es la segunda enfermedad infecciosa más importante de los perros domésticos después de la rabia (Deem *et al.*, 2000). Es un patógeno con un amplio rango de hospederos y ha sido reportado en todas las familias de carnívoros, incluyendo a los grandes felinos, causando brotes epidémicos en estas especies en vida libre y en cautiverio (Appel *et al.*, 1994; Deem *et al.*, 2000; Nava *et al.*, 2008; Seimon *et al.*, 2013). El VDC representa la amenaza viral más significativa para la conservación de los carnívoros silvestres, afectando a especies altamente vulnerables como el hurón de patas negras (*Mustela nigripes*), el león Africano (*Panthera leo*), el tigre de Amur (*Panthera tigris altaica*) y el lince Ibérico (*Lynx ibericu*) (Meli *et al.*, 2010; Kapil y Yeary, 2011; Seimon *et al.*, 2013).

Según Blancou (2004), el primer informe del distemper canino se produjo en América del Sur y fue descrita por Ulloa en 1746 en su trabajo "Relación histórica del viaje a América del Sur". De acuerdo con Charles F. Heusinger, el distemper canino fue llevado desde Perú a España durante el siglo XVII. Después fue reportado en Inglaterra, Italia (1764) y Rusia (1770). En 1763, 900 perros murieron en un solo día en Madrid.

Etiología

El VDC es un miembro del género Morbillivirus de la familia Paramyxoviridae y está relacionado cercanamente a los virus del Sarampión, peste bovina (Rinderpest), peste de los pequeños rumiantes, distemper focino, y morbillivirus de los cetáceos (Murphy *et al.*, 1999; García, 2016). El distemper canino fue descrito en 1746 por Ulloa (Pereira, 2010). En 1809, Edward Jenner fue el primero en describir el curso y la naturaleza de la enfermedad y su etiología

viral la demostró Carré en 1905 (Pereira, 2010) y confirmado por Puntoni en 1923 (Arenas *et al.*, 2002).

Características

El VDC es relativamente grande, pleomórfico, aunque generalmente se muestran como formas esféricas, con un diámetro de 150 a 300 nm. La nucleocápside vírica está formada por una molécula lineal de ácido ribonucleico (ARN) asociada a proteínas; presenta una simetría helicoidal y un diámetro de 13 a 18 nm. El genoma está constituido por una molécula sencilla, lineal y no segmentada de ARN de sentido negativo, que no tiene poder infectivo por sí misma. La polimerasa vírica se encuentra en el interior del virión (Arenas *et al.*, 2002; Beineke *et al.*, 2009).

La nucleocápside está rodeada por una envoltura externa que deriva de la membrana de la célula hospedadora al salir de esta por gemación, y contiene dos o tres glicoproteínas transmembranas las cuales están presentes como homooligómeros en forma de proyecciones o espículas de 8 a 12 nm de longitud separadas por un espacio. También muestran una membrana no glicosilada o proteína de la matriz asociada a la cara interna de la envoltura externa (Arenas *et al.*, 2002).

Las proteínas víricas incluyen tres proteínas asociadas a la nucleocápside: una proteína asociada al ARN (NP o N), una fosfoproteína (P) que es una polimerasa dependiente del ARN (transcriptasa) y que interviene en el proceso de transcripción del ARN vírico, y una proteína polimerasa de gran tamaño (L), que actúa también como una transcriptasa. Asimismo poseen tres proteínas asociadas a la envoltura externa: una proteína no glicosilada situada en la cara interna de la envoltura externa o proteína de la matriz (M), que desempeña un importante papel en la reestructuración y el ensamblaje de los nuevos viriones y proporciona estabilidad a la partícula vírica; y dos proteínas glicosiladas de la envoltura externa, una de fusión (F) y otra de unión o ataque (HN- con actividad hemaglutinante y neuraminidasa- o H- con actividad hemaglutinante - o G - sin actividad hemaglutinante ni neuraminidasa) (Arenas *et al.*, 2002). Estas proteínas inducen daño celular mediante citólisis inmunomediada y fusión celular (formación sincicial) (Beineke *et al.*, 2009). A pesar de tener menores variaciones genéticas, los aislados de VDC son serológicamente homogéneos. Sin embargo varias cepas difieren en su patogenicidad, lo cual puede afectar en la severidad de la presentación clínica (Greene y Vandevolve, 2012).

Estabilidad

El virus es susceptible a la luz ultravioleta, aunque algunas proteínas o antioxidantes que circulan en el medio ambiente pueden protegerlo de la inactivación. Es extremadamente susceptible al calor y la sequedad, siendo destruido a temperaturas de 50° C a 60° C después de 30 minutos (Lorenzana, 2008). En tejidos y secreciones sobrevive por al menos una hora a 37° C, y por tres horas a 20° C. En temperaturas frías de 0° C a 4° C puede persistir en el ambiente por semanas; y a -65° C, al menos siete años. El VDC permanece viable entre pH 4,5 a 9. Es susceptible a sustancias como el cloroformo, formaldehídos, solución de formalina (menor a 5%), fenol 0.75%, y al amonio cuaternario 0.3% (Deem *et al.*, 2000; Arenas *et al.*, 2002; Greene y Vandevolve 2012).

Serotipos

El virus del distemper canino esta serológicamente clasificado como un único serotipo, los análisis filogenéticos del gen H del virus han permitido la identificación de 12 genotipos diferentes con una marcada distribución geográfica en América (Americano 1 y 2, Sudamérica, Argentina y EdoMex), Asia (Asia 1, 2 y 3), Europa (Rockborn, Fauna europea y Ártico) y Sudáfrica (Carpenter *et al.*, 1998; Gámiz *et al.*, 2011).

Hospederos

Es un patógeno enzoótico (Krakowka *et al.*, 1975); con un amplio rango de hospederos y ha sido reportado en todas las familias de carnívoros, incluyendo a los grandes felinos (Deem *et al.*, 2000); los huéspedes naturales incluyen todos los miembros de la familia Canidae (perro, dingo, zorro, coyote, lobo, chacal), Mustelidae (hurón, mink, zorrillo, tejón, martha, comadreja, visón y nutria), Procyonidae (mapache, panda, coati, kinkajou y bassariscus), Phocidae (Greene y Vandevolve, 2012). También se ha reportado que la familia Felidae es susceptible a la infección y enfermedad por VDC (Seimon *et al.*, 2013). Además el VDC ha sido aislado de cerebros de pecaríes con signos clínicos de encefalitis (Appel y Summers 1999).

Los animales domésticos y en particular los perros (*Canis familiaris*) al ser el principal hospedero de VDC, podrían estar actuando como reservorios de la infección para la vida silvestre (Cleaveland *et al.*, 2000; Fiorello *et al.*, 2006). Algunas especies silvestres como el mapache (*Procyon lotor*) y los visones (*Martes spp.*) pueden cumplir el papel de reservorios para poblaciones susceptibles (Junge *et al.*, 2007; Nakano *et al.*, 2009). En contraste a los gatos domésticos, los felinos silvestres parecen ser más susceptibles al VDC. Los aislados conseguidos de individuos que presentaron signos clínicos nerviosos se mostraron inmunológicamente

similares a la de otros carnívoros, aunque no excluye muy posibles diferencias en los biotipos virales (Appel *et al.*, 1994). Se presume que los cambios en el gen de la hemaglutinina permiten la infección en huéspedes no caninos (Céspedes *et al.*, 2010).

Patogénesis

Este virus tiene una afinidad particular de multiplicarse en los tejidos linfoides, epitelial y nervioso. Se excreta en los exudados respiratorios, heces, saliva, orina y secreciones conjuntivales durante 60-90 días después de la infección natural (Nelson y Couto, 2000).

El DC presenta una infección sistémica de tejidos epiteliales en varios sistemas orgánicos. Tras su inhalación, el virus es fagocitado por los macrófagos y en 24 horas se multiplica en los macrófagos tisulares y se disemina en estas células mediante los linfocitos locales a tonsilas, faringe y ganglios linfáticos bronquiales (Nelson y Couto, 2010). El virus se disemina primero a los nódulos linfáticos locales y en 7 días a todos los tejidos linfáticos. Alrededor de dos a cuatro días post inoculación (PI), aumenta el número de virus en las tonsilas y los ganglios linfáticos retrofaríngeos y bronquiales, pero en otros órganos linfáticos se encuentran cifras bajas de células mononucleadas infectadas con VDC. Hacia los días cuatro a seis PI, ocurre la multiplicación del virus dentro de folículos linfoides en el bazo, lamina propia del estómago, intestino delgado, ganglios mesentéricos y las células de Kupffer del hígado. La proliferación amplia del virus en órganos linfoides produce la leucopenia y el aumento inicial de la temperatura corporal coincidiendo con la aparición de interferón circulante; la linfopenia es causada por el daño viral a células linfoides, que afecta tanto a células T como a células B (Beineke *et al.*, 2009; Astete, 2010).

Luego de la disminución de la temperatura por algunos días, se desarrolla una segunda fase febril (de allí el nombre de “distemper”), que va acompañada de conjuntivitis, rinitis y anorexia (Astete, 2010). Los signos gastrointestinales y respiratorios como tos, diarrea, vómitos, anorexia, deshidratación y pérdida de peso pueden presentarse; siendo las infecciones bacterianas secundarias a menudo las que complican la enfermedad del moquillo canino (Crawford y Sellon, 2010). Es probable que la diseminación adicional de VDC a tejidos epiteliales y sistema nervioso central (SNC) en los días ocho o nueve PI ocurra por vía hematogena, como una viremia relacionada con células dependiendo del estado inmunitario humoral del perro. La intensidad y duración de la viremia son proporcionales al título de anticuerpos séricos, a la potencia y al tipo de respuesta inmune del hospedador. La eliminación del virus se inicia al momento de la formación de colonias epiteliales y ocurre incluso en perros con infección subclínica (Astete, 2010; Greene y Vandewelve, 2012).

Una segunda viremia prosigue luego de pocos días, y es responsable por la infección de las células epiteliales en múltiples órganos, incluyendo los ojos, piel, y SNC; al mismo tiempo se empieza a dar la respuesta inmune, entre el día 9 y 14. El desenlace clínico de la infección estará dictado por la fortaleza y el tipo de respuesta inmune del huésped (Lorenzana, 2008). La primera viremia puede resultar en una inmunosupresión marcada y prolongada, particularmente en perros jóvenes, debido al agotamiento de las células T y de otros mecanismos indefinidos (Crawford y Sellon, 2010).

La inhalación del virus produce la infección de macrófagos del tracto respiratorio, mientras que la transmisión a través de la orina y las heces, o la ingestión de carne infectada representa otra ruta de la infección, que se produce principalmente en los carnívoros silvestres (Tahara *et al.*, 2008). En los animales silvestres no se conoce del todo la patogenia, pero las manifestaciones clínicas son similares a las que se presentan en perros. Por ejemplo los mustélidos y cánidos silvestres son altamente susceptibles al virus y las manifestaciones clínicas son similares a las que se presentan en perros domésticos. Los felinos silvestres del género *Panthera* son particularmente susceptibles y pueden presentar signos gastrointestinales, respiratorios y nerviosos, por ejemplo los tigres y leones que fallecieron a causa de distemper se han encontrado emaciados, en estados mentales alterados y han presentado convulsiones y mioclonos similares a las que se observan en perros (Deem *et al.*, 2000; Seimon *et al.*, 2013). Sin embargo en otras especies de felinos como pumas (*Puma concolor*), ocelotes (*Leopardus pardalis*), servales (*Leptailurus serval*) y margays (*Leopardus wiedii*) se ha observado una presentación clínica leve con síntomas gastrointestinales y respiratorios o en ocasiones no presentan signos pero resultan seropositivos (Appel *et al.* 1994; Nava *et al.*, 2008).

Respuesta inmune

La infección por VDC genera un efecto inmunosupresivo al disminuir las células T y B y producir necrosis en los tejidos linfáticos (Appel y Summers, 1999). Cuando el virus alcanza las superficies mucosas del huésped es donde se establece la primera interacción con el sistema inmune, mediante la infección de linfocitos locales y células mononucleares CD150+. En este punto el virus despliega una serie de mecanismos que permiten neutralizar y evadir la respuesta inmune antiviral innata y adaptativa; utilizando células del sistema inmune como transporte a los nódulos linfáticos regionales donde se replican en los linfocitos entre el primer y tercer día postinfección (primera viremia), y se establece el cuadro multisistémico al séptimo día postinfección (Céspedes *et al.*, 2010).

La infección de linfocitos es dependiente de la hemaglutinina viral la cual se une al receptor linfocitario CD150/SLAM (Signaling Lymphocyte Activation Molecule). Este receptor se expresa en distintas poblaciones celulares, siendo la unión de estas dos moléculas un evento clave en la infección de diversos tipos celulares y determinante en el tropismo de cada cepa viral. Luego de infectar estas células el virus sintetiza el antígenoma (ARNm) inhibiendo la activación del factor de transcripción NF-KB (factor nuclear- kappa B) el cual es responsable de activar la expresión de citoquinas proinflamatorias, quimioquinas, moléculas de adhesión y receptores inmunológicos. Las proteínas V y C derivadas del gen P; cumplen un papel en la patogénesis. La proteína V inhibe las vías de señalización de interferón y citoquinas lo cual se traduce en bajos niveles de proteínas antivirales, citoquinas proinflamatorias, citoquinas específicas e interferones; siendo de esta forma un determinante de virulencia esencial en la invasión del hospedero. Este fenómeno explica la inhibición de la secreción de interferón gamma (IFN γ) en linfocitos Th1 y células natural killer (NK) y, consecuentemente, la interferencia de la respuesta inmune Th1 antiviral. La proteína C corresponde a un factor de infectividad que asegura el ensamble y liberación de partículas virales estables. Adicionalmente, la nucleoproteína viral se une como factor soluble al receptor CD32 (Fc γ RII) de linfocitos B, desencadenando eventos que determinan una disminución temprana de su actividad proliferativa (Céspedes *et al.*, 2010).

Estos fenómenos permiten que el virus utilice células inmunes para viajar a órganos linfáticos secundarios en donde son sitios de replicación preferencial; en donde el virus mediante la unión CD150 ejerce un efecto de agotamiento de linfocitos CD4+ Th1, afectando adicionalmente la actividad proliferativa de células B y T CD8+ involucradas en la respuesta Th1 durante las primeras 72 horas PI. La infección de las placas de Peyer y tonsilas es una respuesta inmune de mucosas (Th2) mediada por Ig A. Todos estos mecanismos explican la severa leucopenia descrita entre el primer y séptimo día postinfección, con una disminución de hasta el 80% de las células mononucleares periféricas, y un alto porcentaje de linfocitos T y B infectados (40-60%). Sólo unos pocos monocitos/macrófagos expresan antígenos virales, lo que se relaciona directamente con su limitada expresión de CD150 (Céspedes *et al.*, 2010).

Los perros con una pobre respuesta inmune desarrollan una infección viral en algunos tejidos adicionales que incluyen la piel y otros órganos glandulares y epiteliales (Santos, 2014). Estos animales generalmente desarrollan signos clínicos severos, y frecuentemente mueren como resultado de la infección (Nelson y Couto, 2010). En animales que presentan una respuesta inmune intermedia, pueden desarrollar una infección leve o silenciosa, donde el virus se replica en tejidos epiteliales y puede conducir a la presentación de síntomas clínicos de la enfermedad, con persistencia en los pulmones, piel y SNC. Tales animales posiblemente se recuperaran o

desarrollarán signos nerviosos (Nelson y Couto, 2010). Los individuos que tengan una fuerte respuesta inmune y desarrollen títulos de anticuerpos neutralizantes, eliminarán el virus a los 14 días de la infección, sin desarrollar signos de infección sistémica pero aún pueden desarrollar la enfermedad neurológica; pero el virus persiste por un largo tiempo en la úvea, uroepitelio, epidermis, y SNC; se desconoce los mecanismos moleculares de la persistencia viral (Santos, 2014).

Transmisión

La principal vía de transmisión del VDC es directa a través de aerosoles o por la exposición a gotas de exudado respiratorio, aunque es posible la transmisión por contacto indirecto con fluidos corporales contaminados (Greene y Vandeveld, 2012). Pese a ser un virus envuelto muy sensible al medio ambiente, su constante eliminación a través de todo tipo de secreciones, exudados y fluidos corporales a partir del séptimo día post infección, así como su alta infectividad, permiten que se disemine rápidamente por el contacto entre animales infectados que eliminan el virus antes de manifestar signos e individuos susceptibles (Summers y Appel, 1994; Céspedes *et al.*, 2010). El VDC puede infectar animales susceptibles de diferentes edades, sin embargo, los cachorros son los más susceptibles entre los 3 y 6 meses de edad cuando los anticuerpos maternos empiezan a disminuir (Schmidt, 2006; Greene y Vandeveld, 2012).

Signos clínicos

La severidad de la presentación clínica está en función con la edad del individuo al momento de la infección, la cepa viral, y la respuesta inmune (Pinotti *et al.*, 2009). Los cachorros que no han sido vacunados, o lo han sido pero inadecuadamente, o no han recibido calostro; aparentemente sufren de una enfermedad más prolongada y grave, y tienen mayores tasas de mortalidad (Beineke *et al.*, 2009).

Fase aguda

Entre los tres y siete días post infección se presenta el primer aumento de temperatura que generalmente pasa inadvertido, la fiebre disminuye durante algunos días hasta que se desarrolla una segunda fase febril (Lorenzana, 2008). Este segundo pico febril va acompañado de los primeros signos que se caracterizan por presentar letargia, anorexia y deshidratación; y frecuentemente al inicio presentan signos respiratorios (Lorenzana, 2008; Pinotti *et al.*, 2009). Esto incluye secreciones oculonasales serosas o mucopurulentas y tos que empeora progresivamente cuando existe una respuesta inmune inadecuada (Lorenzana, 2008). Una infección viral del tracto respiratorio bajo desarrolla una neumonía que puede o no puede ser

clínicamente evidente. La neumonía viral, complicada por infecciones bacterianas secundarias, puede ser mortal en cachorros (Appel y Summers, 1999). Dependiendo de la cepa viral, los perros afectados también presentan vómitos y diarrea mucoide o hemorrágica a causa de la replicación viral en el epitelio del tracto gastrointestinal (Lorenzana, 2008).

Fase subaguda

Los síntomas respiratorios y digestivos son discretos (Lorenzana, 2008), los signos neurológicos se pueden desarrollar entre la primera y tercera semana después de la recuperación de los signos sistémicos, o incluso puede aparecer hasta un mes después. Los signos neurológicos pueden desarrollarse en perros que no evidenciaron una enfermedad sistémica (Beineke *et al.*, 2009). Las anormalidades neurológicas pueden reflejarse en cualquier lesión del SNC, y abarca convulsiones, incoordinación, ataxia, paresia, parálisis y temblores musculares (Lorenzana, 2008). Tanto en la enfermedad aguda de la sustancia gris o la forma subaguda de la sustancia blanca se pueden observar signos meníngeos de hiperestesia y rigidez cervical; esta mioclonía generalizada o focal, es un signo clínico común, y sugerente de infección por VDC (Lorenzana, 2008; Beineke *et al.*, 2009, Nelson y Couto, 2010).

Una forma típica de manifestación de las convulsiones del distemper canino es aquella donde el animal saliva profusamente y mueve sus mandíbulas semejando la acción de masticar chicle. Los ataques pueden hacerse cada vez más frecuentes y severos, donde el animal se echa al suelo y realiza movimientos con sus patas, además de presentar incontinencia urinaria y fecal (Lorenzana, 2008).

Los perros de todas las edades son susceptibles al VDC, pero los cachorros lo son aún más cuando pierden los anticuerpos de la madre. Los perros infectados en forma aguda eliminan el virus a través de todas las secreciones corporales, independientemente de la presencia o no de signos clínicos (Appel y Summers, 1999).

Fase crónica

Se reconocen dos formas de presentación crónica en perros adultos. La primera se presenta a consecuencia de un proceso inmunomediado que produce una encefalitis multifocal que progresa lentamente. Esta forma ocurre normalmente en perros de cuatro a ocho años. Se presenta con debilidad en miembros posteriores, falta de respuesta a la amenaza, parálisis y temblores de la cabeza. La recuperación de este tipo de infección por VDC puede ser posible. La encefalitis crónica del perro viejo es un desorden progresivo que afecta usualmente a perros mayores de seis años. Se presenta con ataxia, movimientos en círculos, presión de la cabeza contra objetos y

cambios en la personalidad (no hay respuesta a estímulos externos o no reconoce a los dueños). La persistencia del virus en el SNC produce una reacción inflamatoria, instalándose una encefalitis crónica. Estos animales no son infecciosos, pero su recuperación es muy difícil (Lorenzana, 2008).

Otros signos

La infección viral ocular produce fotofobia, uveítis anterior, y coriorretinitis. Los animales que se recuperan pueden sufrir lesiones retinales hiperreflectivas, denominadas "cicatrices en medallón", que se originan a partir de la atrofia y cicatrización retinal. La neuritis óptica puede causar ceguera o midriasis; la ceguera también puede resultar de un desprendimiento de la retina (Nelson y Couto, 2010; Greene y Vandevolve, 2012).

La infección viral de la epidermis resulta en la formación de pústulas e hiperqueratosis o "endurecimiento" de la nariz y las almohadillas plantares; la infección puede afectar la formación del esmalte dentario en los cachorros jóvenes que están en la etapa de erupción de los dientes permanentes resultando en hipoplasia del esmalte (Navarrete, 2008). Algunos perros, especialmente los cachorros de raza grande, son susceptibles a la osteoesclerosis metafisiaria en los huesos largos, que no está asociada típicamente con cojera (Nelson y Couto, 2010).

En felinos silvestres los signos clínicos son similares a los caninos; Blythe *et al.* (1983) reportaron encefalomiélitis crónica incluyendo convulsiones, mioclono y ataxia lentamente progresiva causada por VDC en un tigre de Bengala domesticado. Además del daño neurológico mencionados también se presenta debilidad, falta de coordinación y encefalomiélitis a su vez presentan daños respiratorios y gastrointestinales (Appel *et al.*, 1994; Filoni *et al.*, 2006; Nava *et al.*, 2008). Seimon *et al.* (2013) observaron un comportamiento neurológico anormal en Tigres de Amur, para lo cual extrajeron varias muestras y confirmaron que estos signos neurológicos que están causando una alta mortalidad están relacionados con el VDC.

Diagnostico

Clínico

El diagnóstico del distemper canino en sus formas aguda o subaguda se debe considerar la historia y los signos clínicos. Una combinación de fiebre, signos respiratorios, secreciones oculares mucopurulentas, diarrea, hiperqueratosis plantar y signos neurológicos es altamente indicativo de distemper canino, especialmente en perros jóvenes de tres a seis meses de edad no vacunados o perros adultos con historial de vacunación inadecuado. El examen oftalmoscópico

puede detectar lesiones retinianas y pueden estar presentes también, irregularidades en la superficie de los dientes, como consecuencia de la hipoplasia del esmalte (Greene, 1984).

Pruebas de laboratorio

a. Hematología

La infección por VDC puede causar en casos agudos linfopenia absoluta debido a depleción linfoide, necrosis y apoptosis; también aparece trombocitopenia y monocitosis. Inclusiones del VDC puede ser detectada en sangre periférica dentro de los linfocitos, monocitos, neutrófilos y eritrocitos. Otros cambios dependen de los órganos afectados y de la presencia o no, de infección bacteriana secundaria. Las anormalidades en la bioquímica pueden incluir una hipoalbuminemia y un aumento de concentración de la globulina alfa y ganma en neonatos (Appel y Summers, 1999; Lorenzana, 2008).

b. Radiología

Los perros con enfermedad respiratoria revelan en las radiografías torácicas, infiltrados pulmonares intersticiales en casos tempranos y en los infiltrados alveolares se da por una infección bacteriana secundaria y bronconeumonía (Greene, 2008). Las radiografías de huesos largos en perros con cojera pueden evidenciar lesiones metafisiarias consistentes con osteodistrofia hipertrófica (Crawford y Sellon, 2010).

c. Inmunofluorescencia

Los métodos específicos incluyen la Inmunofluorescencia directa (IFD) utilizada para detectar virus a partir de hisopados de mucosa ocular (o conjuntiva), descarga nasal, mucosa genital, tejidos, sangre, suero o plasma, líquido cefalorraquídeo (LCR) y orina. Es imprescindible realizarla en la etapa aguda, que dura una semana y tiene signos epiteliales. Esta prueba no es sensible como un Ensayo Inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) o una Transcripción Reversa - Reacción en cadena de la Polimerasa (RT-PCR), un resultado negativo no descarta la enfermedad y pueden aparecer falsos positivos a causa de fluorescencia no específica. Para la detección de anticuerpos se utilizan las pruebas de Inmunofluorescencia indirecta (IFI), que es muy sensible y detecta anticuerpos séricos IgM e IgG (Pinotti *et al.*, 2009). Las cepas vacunales no se detectan por inmunofluorescencia ya que no se diseminan desde el tejido linfoide hasta las células epiteliales (Lorenzana, 2008).

d. Citología

El diagnóstico del VDC depende de la detección de los antígenos virales o ácidos nucleicos. En animales clínicamente afectados se suele realizar la inmunofluorescencia en frotis citológico de epitelio respiratorio, genital, tonsilar y conjuntival; también puede hacerse sobre células de LCR, sangre (capa leucocitaria), sedimento urinario y medula ósea. Estos frotis deben fijarse con acetona, luego se colorean en forma directa o indirecta con anticuerpos para VDC conjugados con fluoresceína, y se examinan mediante microscopia fluorescente (Greene, 2008).

e. ELISA

La prueba de ELISA para la detección de IgM específica contra el virus de DC, es una prueba útil, ya que la IgM en perros infectados persiste por cinco semanas a tres meses dependiendo de la cepa y la respuesta del huésped. En perros vacunados IgM persiste por aproximadamente tres semanas (Appel y Summers, 1999; Bravo y Escalante, 2006).

f. PCR

La PCR se utiliza para detectar el VDC en suero, sangre y LCR esta prueba puede resultar positiva aun cuando las pruebas de aislamiento viral y la inmunofluorescencia no logran detectar al virus (Appel y Summers, 1999). La RT-PCR como prueba diagnóstica es capaz de amplificar fragmentos del ácido nucleico en forma exponencial, aun habiendo en la muestra una sola molécula, indetectable por otros métodos, y puede determinar infección al segundo día de ocurrida. Generalmente se amplifican fragmentos del gen de la NP, región conservada dentro del genoma viral (Pinotti *et al.*, 2009).

g. Aislamiento viral

El virus puede ser aislado de las mismas muestras usadas para inmunofluorescencia. La replicación viral más satisfactoria ocurre durante cultivo directo de tejido blando, los cultivos de macrófagos alveolares detectan el virus en 24 a 48 hrs. Los cultivos celulares donde crece el VDC, pueden ser a partir de exudados respiratorios, orina, materia fecal, mucosas, secreciones acuosas de los ojos y saliva de los perros infectados (Nelson y Couto, 2000). El crecimiento en macrófagos pulmonares o linfocitos se consideró una característica esencial de los aislados de VDC virulento, pero algunas muestras de VDC virulento se aislaron en células VERO o MDCK (Andrews *et al.*, 1989; Schmidt, 2006).

h. Virus neutralización (VN)

El método de neutralización viral es considerado el método de “oro” o estándar para cuantificar el total de anticuerpos contra el VDC. Para el diagnóstico de una infección recientemente activa mediante este método, se requiere de la comparación entre el suero de la fase aguda y el suero del animal en estado convaleciente (Greene y Vanderve, 2012). La prueba de inmunofluorescencia se puede realizar en muestras de conjuntiva, tonsilas, epitelio respiratorio, sedimento urinario o LCR. En casos subagudos o crónicos estas pruebas pueden resultar negativas, aunque no se descarta la presencia del virus (Lorenzana, 2008). Títulos de IgM altos son específicos para diagnosticar infecciones recientes del VDC, sin embargo la vacunación reciente puede dar resultados falsos positivos (Lorenzana, 2008).

Hallazgos patológicos

En animales jóvenes infectados en los periodos prenatal o neonatal con el VDC sufren atrofia tímica. Los cachorros con enfermedad sistémica presentan neumonía y enteritis catarral. Las lesiones del tracto respiratorio incluyen conjuntivitis, rinitis e inflamación del árbol traqueo bronquial un hallazgo histológico típico es la depleción linfática. Es común encontrar epididimitis y orquitis intersticial leve (Greene, 2008).

En la encefalitis aguda de neonatos se observa degeneración neuronal y de mielina, luego estas áreas son reemplazadas por astrocitos hipertróficos que forman una red. Los cambios más graves en la materia blanca del SNC pueden encontrarse en los sitios de predilección de pedúnculos cerebelosos laterales, la médula dorso lateral al cuarto ventrículo y la materia blanca cerebelar profunda (Greene, 2008).

En el examen histológico se observan inclusiones citoplasmáticas en el epitelio transicional del sistema urinario, células epiteliales de membrana de mucosas, células reticulares, leucocitos, glías y neuronas. Las inclusiones intranucleares se observan en epitelio glandular o de revestimiento y en células ganglionares. La formación de células gigantes, principalmente en la materia blanca del SNC y la úvea anterior, y secundariamente en los ganglios linfáticos, pulmón y leptomeninges, es específica de VDC; este hallazgo se utiliza para confirmar la infección (Greene, 2008).

En el estudio realizado por Seimon *et al.*, (2013) encontraron lesiones histológicas en el cerebro de tigres de Amur (*Panthera tigris altaica*) que consistieron en encefalitis viral no supurativa con desmielinización severa e inclusiones virales nucleares neuronales y de células

glicales eosinofílicas. También se observó depleción linfoide leve a moderada en los ganglios linfáticos y bazo.

Control y prevención

La forma más efectiva para el control del DC en los últimos 35 años ha sido la utilización de distintos tipos de vacunas. Sin embargo se han publicado algunos reportes sobre probables efectos indeseados a consecuencia de la vacunación, tales como encefalitis post vacunal (Schmidt, 2006; Lorenzana, 2008; García, 2016). Los carnívoros salvajes son susceptibles al VDC y representan una constante fuente de infección para perros no debidamente vacunados (Schmidt, 2006).

La mayoría de las vacunas disponibles actualmente son las producidas por adaptación del VDC a células de aves o cultivos de células caninas. Las cepas adaptadas a células aviares son más seguras aunque es posible que no todos los perros susceptibles sean protegidos, sin embargo la protección es cercana al 95%. Por otro lado, con las cepas adaptadas, en cultivos de células caninas se alcanza una protección cercana al 100% pero con la posibilidad de que los animales desarrollen encefalitis post vacunal (Lorenzana, 2008).

Las vacunas con virus vivo modificado (VVM) ofrecen la mejor protección contra la infección por el VDC; debido a que induce una respuesta inmune alta y duradera. Existen dos tipos principales de vacunas VVM con la cepa Onderstepoort que se adaptó a embriones y células de pollos que produce bajos niveles de inmunidad humoral, pero no enfermedad posvacunal. La cepa Rockborn adaptada a células renales de caninos, induce títulos altos de anticuerpo neutralizador y protección a plazo más largo. La cepa Snyder Hill no se puede distinguir de la Rockborn y lamentablemente la cepa Rockborn provoca encefalitis posvacunal en perros y más comúnmente en animales silvestres (Greene, 2008).

Las vacunas recombinantes vectorizadas (VDCr) compuesto de un producto recombinante Poxvirus son altamente efectivo y más seguro que las vacunas VVM. Estas proporcionan una inmunidad más corta que, con frecuencia, esta reforzada por la exposición natural; con adyuvantes mejorados se puede brindar cierta protección a algunos animales, como especies exóticas, sin ningún riesgo asociado. Es, por lo tanto, usado en especies salvajes y exóticas que son susceptibles a la infección VDC y a la enfermedad. También puede usarse con mayor seguridad en animales jóvenes que el VVM y es más efectivo en la inmunización de cachorros con anticuerpos derivados de la madre (Greene, 2008; AAHA, 2011).

En la actualidad las guías de la Asociación Americana de Hospitales de Animales (AAHA, 2011) recomiendan la vacunación de los perros desde las seis a ocho semanas de edad, con sus refuerzos realizados cada tres a cuatro semanas hasta la edad de 16 semanas y posiblemente hasta las 24 semanas en razas de alto riesgo. Los anticuerpos maternos pueden bloquear las vacunas del VDC; por eso, en los cachorros que corren un alto riesgo de contraer la enfermedad se han empleado las vacunas de virus del sarampión vivo modificado entre las cuatro y 12 semanas de edad para inducir anticuerpos hasta que desaparezcan los anticuerpos maternos (Nelson y Couto, 2010).

Además de la vacunación, el aislamiento estricto de los animales enfermos es la medida más importante cuando ocurre un brote, para evitar el contagio mediante las secreciones corporales durante la fase sintomática. La desinfección del ambiente puede ser lograda con las sustancias a las que el virus es susceptible (Lorenzana, 2008).

Di Sabatino *et al.* (2013) plantea que cuando existen especies susceptibles en peligro que podrían verse afectadas, la vacunación masiva de perros en áreas prioritarias estratégicas, que cubra el 95% de la población, debe ser considerada una medida preventiva válida. Además, debe existir una legislación que respalde la importancia de esta medida, planteando la vacunación como una acción obligatoria en zonas donde el perro doméstico habite en las cercanías de áreas naturales protegidas.

Los beneficios de la vacuna preventiva contra el virus distemper canino se asocian tanto al bienestar de los mismos perros, al estar inmunizados contra el patógeno y no presentar signos de enfermedad (Cherpillod *et al.*, 2000), como al control de su diseminación hacia especies de carnívoros silvestres, ya que los mismos perros no serían reservorios de la enfermedad y el principal reservorio de VDC para la fauna silvestre son los perros infectados (Di Sabatino *et al.*, 2015).

Tratamiento

El tratamiento es básicamente de apoyo o sostén. En infecciones del tracto respiratorio superior los animales deben estar en ambientes limpios, cálidos y sin corrientes de aire; con frecuencia las infecciones bacterianas secundarias (principalmente *Bordetella bronchiseptica*) complican la neumonía para lo cual se utilizan antibióticos de amplio espectro y expectorantes. En las infecciones gastrointestinales el tratamiento parenteral es esencial, debe de administrarse fluidos isotónicos poliónicos; y un tratamiento antimicrobiano (Greene, 2008). En caso de las afecciones neurológicas, el pronóstico es reservado, ya que depende de la severidad con qué se

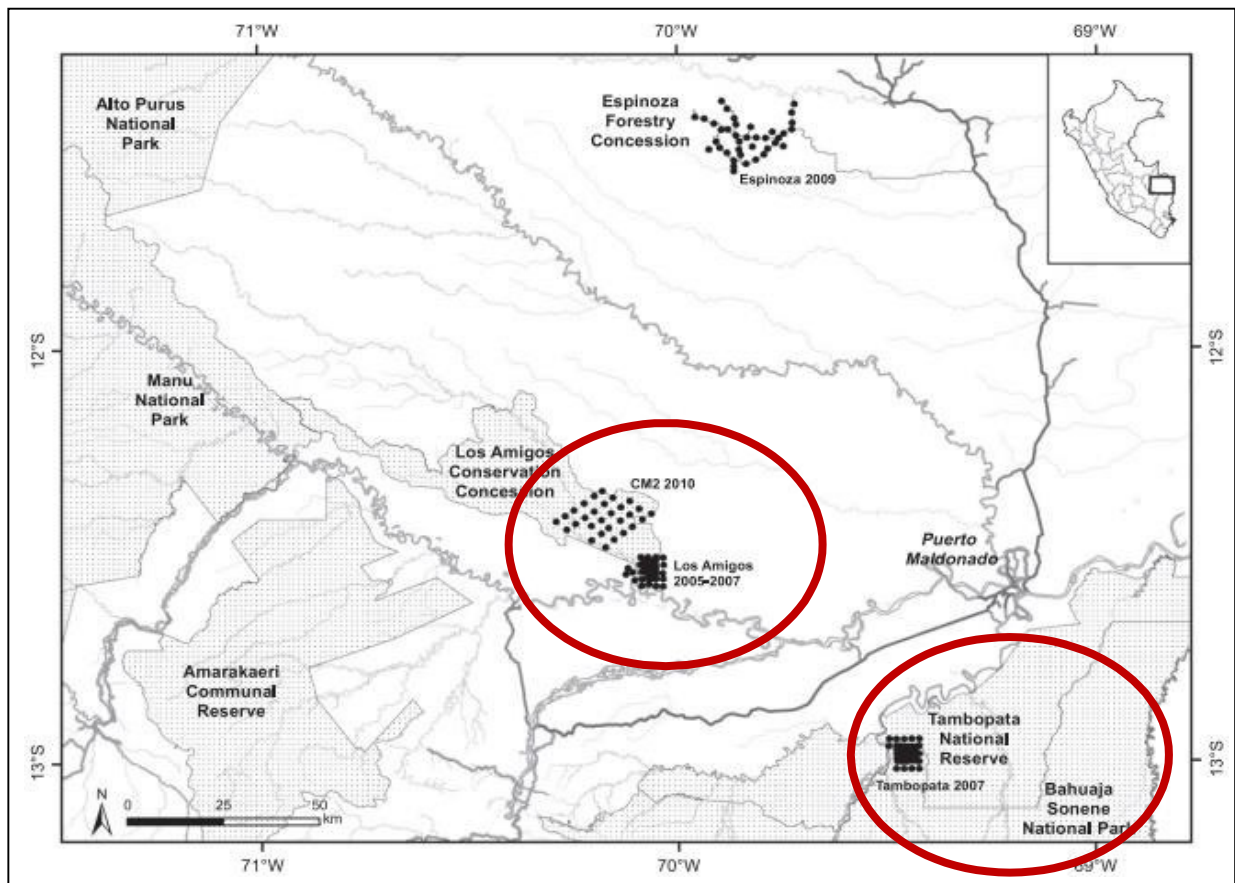
presenten los signos nerviosos. La encefalitis multifocal progresiva conduce a un cuadro de tetraplejía y semicoma en cuyo caso se sugiere la eutanasia. Las convulsiones se pueden tratar con diazepam, fenobarbital, bromuro de potasio o primidona o combinaciones. Es posible que el tratamiento con glucocorticoides pueda controlar la ceguera o dilatación pupilar por la neuritis óptica que se presenta (Greene, 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El estudio se desarrolló en dos áreas del departamento de Madre de Dios, Perú; la primera en la Concesión de Conservación Rio Los Amigos administrada por la Asociación para la Conservación de la Cuenca Amazónica (ACCA), en un área de 1,400 km², establecida en el 2001 (12°19'–12°36' S, 70°02'–70°17' W, 200–320 msnm). Esta zona se encuentra limitada al sur por el río Madre de Dios, en el norte y el este por concesiones forestales maderables, y en el oeste por una amplia zona de protección indígena (Reserva Territorial Madre de Dios) que protege a pueblos indígenas en aislamiento y contacto inicial (PIACI). La segunda área fue al interior de la Reserva Nacional Tambopata (RNTMB) y el Parque Nacional Bahuaja Sonene (PNBS), las cuales son áreas protegidas de administración nacional, localizadas en las inmediaciones del río Tambopata (12°57'–13°01' S, 69°25'–69°30' W, 200–250 msnm) (Figura 4).

Estas áreas presentan un clima tropical húmedo con dos épocas marcadas: una época lluviosa con un alto índice de precipitación entre los meses de Noviembre a Febrero y la época seca con escasas lluvias entre los meses de Junio y Setiembre. La media anual de la temperatura es de 24° C con un rango de 10 a 38° C (SENAMHI, 2008).



Fuente: Tobler *et al.*, 2013

Figura 4. Mapa que muestra la ubicación de los dos sitios en estudios (Madre de Dios, Perú). Las áreas sombreadas son áreas protegidas; la línea oscura muestra la carretera interoceánica.

Materiales de trabajo

Animales

Se analizó muestras de suero de 19 felinos silvestres adultos (13 jaguares y seis pumas) provenientes de las dos áreas antes mencionadas en el departamento de Madre de Dios.

En la Concesión de Conservación Rio Los Amigos se colectaron muestras de dos felinos (n=2; *P. onca*=2) mientras que en la Reserva Nacional Tambopata/Parque Nacional Buhuja Sonene se colectó muestras de 17 felinos (n=17; *P. onca* =11, *P. concolor* =6); las cuales se mantuvieron en congelación en el Banco de Sueros de la sección de virología del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (SV-LMP, FMV-UNMSM).

Las muestras fueron colectadas durante las labores de campo del Proyecto Áreas-Amazonia de la World Wildlife Fund (WWF-Perú), cuyos investigadores contaron con las autorizaciones necesarias (N° 032-2005-INRENA-IFFS-DCB; N° 036 C/C-2006-INRENA-IANP; N° 0071- 2006- INRENA-IFFS-DCB; N° 029 C/C-2007-INRENA-IANP; N° 082 - 2007-INRENA - IFFS- DCB; N° 036 C/C-2008-INRENA-IANP y N° 114-2008-INRENA-IFFS-DCB) de la autoridad nacional responsable de las autorizaciones de investigación en fauna silvestre, de acuerdo a la localización de la colecta de muestras. Cabe mencionar, que se muestrearon a todos los animales capturados durante el tiempo que duro el estudio (A. Zúñiga, Lima, comunicación personal).

Cuadro 2. Relación de muestras de suero de *Puma concolor* (*P. concolor*) y *Panthera onca* (*P. onca*) procedentes de los dos sitios en estudio (Madre de Dios, Perú)

Nº	Especie	Nombre	Fecha de colecta	Sexo	Lugar
1	<i>P. concolor</i>	Michi	13/10/2008	Macho	Tambopata
2	<i>P. concolor</i>	Puma macho	21/06/2007	Macho	Tambopata
3	<i>P. concolor</i>	Puma macho	14/08/2007	Macho	Tambopata
4	<i>P. concolor</i>	Puma	23/08/2007	Macho	Tambopata
5	<i>P. concolor</i>	Puma 3 macho	26/08/2007	Macho	Tambopata
6	<i>P. concolor</i>	Quilla	8/09/2007	Hembra	Tambopata
7	<i>P. onca</i>	Sue	25/09/2006	Hembra	Los Amigos
8	<i>P. onca</i>	Jaguar macho	1/06/2007	Macho	Los Amigos
9	<i>P. onca</i>	Jaguar macho	13/07/2007	Macho	Tambopata
10	<i>P. onca</i>	Hercules	3/09/2007	Macho	Tambopata
11	<i>P. onca</i>	Kinsa	7/09/2007	Macho	Tambopata
12	<i>P. onca</i>	Jaguar macho	10/09/2007	Macho	Tambopata
13	<i>P. onca</i>	Jaguar hembra	15/09/2007	Hembra	Tambopata
14	<i>P. onca</i>	Jaguar Diez	18/09/2007	Macho	Tambopata
15	<i>P. onca</i>	Jaguar hembra	23/09/2007	Hembra	Tambopata
16	<i>P. onca</i>	Tiger	25/09/2007	Macho	Tambopata
17	<i>P. onca</i>	Manco	25/09/2007	Macho	Tambopata
18	<i>P. onca</i>	Hera	9/06/2008	Hembra	Tambopata
19	<i>P. onca</i>	Misha	25/08/2008	Hembra	Tambopata

Toma de muestra

Las muestras fueron colectadas durante las labores de campo del proyecto Áreas-Amazonía de la WWF-Perú entre el 2006-2008, utilizando trampas lazo para la captura de los felinos.

Después de capturados, los animales fueron inmovilizados usando una pistola de aire comprimido o una cerbatana para aplicar un dardo anestésico, con contuvo una combinación de

medetomidina (0.04016 mg/kg), butorfanol (0.22 mg/kg) y midazolam (0.175 mg/kg) y ocasionalmente suplementado con ketamina (1 mg/kg).

Después de inmovilizado el animal se procedió a la colecta de muestras de sangre, pesado, colocación de un radiotransmisor, colecta de parásitos externos, toma de medidas corporales, así como registro fotográfico detallado.

Luego de terminados los trabajos mencionados se revirtió los efectos de la sedación de manera específica mediante atipamezol (0.2008 mg/kg), naltroxona (0.25 mg/kg) y flumazenil (0.006 mg/kg), inyectados con jeringa después de aproximadamente 80 minutos desde la aplicación inicial del dardo, recuperándose el animal en un lapso de 5-15 minutos después, internándose rápidamente en el bosque (A. Zúñiga, datos no publicados).

La sangre fue colectada de la vena femoral o de la vena safena, en un volumen entre 5 ml a 15 ml utilizando jeringas para trasvasarlo a tubos sin anticoagulante de la marca Vacutainer®. De acuerdo al Manual de Programa de Salud del Jaguar es recomendable usar jeringas de 6-25 ml e idealmente debería de obtenerse un total de 25 ml de sangre por jaguar (Deem y Karesh, 2005).

El suero fue obtenido por centrifugación a 2500 RPM por 5 minutos en el campamento del proyecto y envasados en viales para ser conservados en un “Dry-shipper” con nitrógeno líquido a -190° C antes de ser enviados al laboratorio de virología de FMV-UNMSM donde fueron mantenidas a -80° C.

Materiales de laboratorio

Se utilizó pipetas con puntas desechables y capacidad de 10 µl, viales, cámara húmeda, láminas cubre-objeto, aceite de inmersión, papel lente, hoja de resultados. Los reactivos consistieron en un kit para la detección de anticuerpos contra el VDC adquirido comercialmente (VMRD, USA) que consiste en: láminas de 12 pocillos (IFI substrate slide), diluyente de muestra (VMRD, USA), conjugado marcado con isotiocianato de Fluoresceína (FITC) (Anti Feline IgG, VMRD-USA) solución de lavado o buffer 4X FA Powdered Rinse Buffer (VMRD-USA) y líquido de montaje (pH: 9). Se utilizó como control positivo la muestra de suero de un canino positivo a DC (Canine Distemper Virus, IgG FA Positive Control, (VMRD, USA) y un Anti IgG Canine (VMRD, USA).

Equipos de laboratorio

Se utilizó una congeladora de -80° C, Shaker o mezclador, estufa a 37° C, microscopio de fluorescencia (Leica).

Metodología de trabajo

Para la determinación de anticuerpos contra el VDC se utilizó la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) según el manual del Kit para CDV (VMRD, USA) y según el protocolo disponible en la sección de Virología del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la FMV de la UNMSM.

Procedimiento:

1. Se calentó la lámina hasta temperatura ambiente antes de sacarla de la bolsa de aluminio.
2. En unos viales previamente rotulados se realizó la dilución de las muestras y del control positivo a una dilución de 1:50 (10 µl / 490 µl) del suero con el diluyente de muestra.
3. Al extraer con cuidado la lámina de 12 pocillos (IFI substrate slide), se colocó 25 µl de suero canino, positivo a DC, en el primer pocillo.
4. Luego, se colocó en los pocillos restantes (N° 2-N° 12), 25 µl de suero felino cuidando que no sobresalga de los bordes e identificando la posición en una hoja de trabajo.
5. Posteriormente, se colocó la lámina dentro de una cámara húmeda y se llevó a la estufa a 37°C por 35 minutos.
6. Terminado el tiempo se eliminó los restos del suero de la lámina y se realizó tres lavados con buffer de lavado en concentración 1X, un minuto por cada lavado. Secar la lámina.
7. Se colocaron 20 µl de conjugado Anti IgG-feline en cada pocillo correspondiente a las muestras de felino y 20µl de conjugado Anti IgG canine a la muestra de suero de canino que se utilizó como control positivo de la prueba de Inmunofluorescencia. Luego de esto se colocó otra vez, en la cámara húmeda, dentro de la estufa a 37° C por 35 minutos.
8. Transcurrido el tiempo se eliminó los restos de los conjugados no unidos y se realizó tres lavados con buffer de lavado en concentración 1X, un minuto por cada lavado.
9. Al secar la lámina se colocó el líquido de montaje, colocando una lámina cubre objeto encima y se llevó al Microscopio de fluorescencia para su observación a 40X con aceite de inmersión.

Interpretación de la Prueba:

Una muestra será considerada positiva a anticuerpos contra DC cuando muestre fluorescencia a nivel de citoplasma de las células presentes en la lámina de IF observados a través del microscopio de inmunofluorescencia.

Análisis de datos

Los resultados serán expresados en porcentajes.

IV. RESULTADOS

Las 19 muestras de felinos *P. onca* y *P. concolor* procedentes de la Reserva Nacional Tambopata/Parque Nacional Bahuaja Sonene y de la Concesión de Conservación Río Los Amigos, en Madre de Dios resultaron negativos a anticuerpos contra DC utilizando la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Resultados de la prueba de IFI por animal, lugar, sexo y especie.

Nº	Especie	Nombre	Sexo	Lugar	Resultados de IFI
1	<i>P. concolor</i>	Michi	Macho	Tambopata	Negativo
2	<i>P. concolor</i>	Puma macho	Macho	Tambopata	Negativo
3	<i>P. concolor</i>	Puma macho	Macho	Tambopata	Negativo
4	<i>P. concolor</i>	Puma	Macho	Tambopata	Negativo
5	<i>P. concolor</i>	Puma 3 macho	Macho	Tambopata	Negativo
6	<i>P. concolor</i>	Quilla	Hembra	Tambopata	Negativo
7	<i>P. onca</i>	Sue	Hembra	Los Amigos	Negativo
8	<i>P. onca</i>	Jaguar macho	Macho	Los Amigos	Negativo
9	<i>P. onca</i>	Jaguar macho	Macho	Tambopata	Negativo
10	<i>P. onca</i>	Hércules	Macho	Tambopata	Negativo
11	<i>P. onca</i>	Kinsa	Macho	Tambopata	Negativo
12	<i>P. onca</i>	Jaguar macho	Macho	Tambopata	Negativo
13	<i>P. onca</i>	Jaguar hembra	Hembra	Tambopata	Negativo
14	<i>P. onca</i>	Jaguar Diez	Macho	Tambopata	Negativo
15	<i>P. onca</i>	Jaguar hembra	Hembra	Tambopata	Negativo
16	<i>P. onca</i>	Tiger	Macho	Tambopata	Negativo
17	<i>P. onca</i>	Manco	Macho	Tambopata	Negativo
18	<i>P. onca</i>	Hera	Hembra	Tambopata	Negativo
19	<i>P. onca</i>	Misha	Hembra	Tambopata	Negativo

V. DISCUSIÓN

Los resultados indican que las 19 muestras de suero de felinos de vida libre *P. onca* y *P. concolor* procedentes de la RNTMB/PNBS y de la zona de Concesión de Conservación Rio los Amigos en Madre de Dios resultaron negativos a anticuerpos contra DC utilizando la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Estos hallazgos indican que estos felinos, tomados en su totalidad, no estuvieron expuestos al VDC durante los años 2006-2008. Los mismos resultados fueron obtenidos por Lickey *et al.*, (2005), en que no encontraron anticuerpos contra el VDC en muestras de sueros de margays (*Leopardus wiedii*); debido a que estos animales fueron rescatados de una zona de reserva en Guatemala y no tenían contacto con animales domésticos; pero en el mismo estudio se analizaron muestras de gatos domésticos los cuales fueron positivos al VDC; ya que estos tenían contacto con perros de la ciudad de Petén en Guatemala. Otro trabajo, realizado por Schmidt (2006), analizó 84 muestras de diferentes felinos silvestres mantenidos en cautiverio y sus resultados fueron negativos a anticuerpos neutralizantes contra el VDC, por lo que se concluyó que el virus no circulaba en las poblaciones de felinos de esa área.

El VDC en entornos naturales suele estar asociada principalmente a factores que permiten el contacto de los animales silvestres susceptibles con los hospederos y reservorios del VDC, principalmente el perro doméstico (*Canis lupus familiaris*) que es conocido por su capacidad de transmitir el VDC a poblaciones silvestres (Fiorello *et al.*, 2007; Nava *et al.*, 2008; Almberg *et al.*, 2010). Una de las razones por lo que se obtuvo resultados negativos puede deberse a la gran distancia que hay desde la zona de toma de muestras de los felinos en Tambopata (Figura 4) al asentamiento poblado más cercano que es la comunidad nativa de Infiernillo, de aproximadamente 40 Km lo que haría difícil el contacto entre los perros o gatos domésticos posiblemente infectados con el VDC y la población susceptible de felinos estudiados en este trabajo. Además, la carretera Interoceánica está aproximadamente a 25 km y cada cierto tramo en

la carretera viven personas que generalmente tiene como actividad económica a la agricultura, el comercio o la extracción de madera y generalmente cada familia tiene uno a dos perros domésticos. Por otro lado, existen diferentes campamentos mineros en el río Malinowsky, que son temporales pero que usualmente las personas llevan a sus perros por compañía o para caza. Cabe mencionar, que todas las capturas fueron realizadas en RNTMB/PNBS donde no existe población asentada y hay control de las personas que ingresan por los guarda parques a la RNTMB (A. Zuñiga, comunicación personal) (Figura 4).

En el caso de los felinos de la Concesión de Conservación Río los Amigos (Figura 4), el centro poblado más cercano al área donde se muestrearon a pumas (*P. concolor*) y jaguares (*P. onca*) es la ciudad Boca-Amigos que está ubicada a 4 km, después esta San Juan a 12 km y Shiringayos a 20 km todos en el eje del Río Madre de Dios. También existen pequeños campamentos mineros y muchos de ellos tienen mascotas. Los animales infectados, para transmitir el VDC tendrían que estar en altas densidades para mantener el patógeno circulando, caso que no ocurre en las comunidades porque al haber pocas mascotas, el ciclo de transmisión se completaría relativamente rápido a todos los animales del lugar haciendo que la infección se vuelva autolimitante (Zuñiga, comunicación personal).

Los brotes de DC que afectaron a los leones del Serengeti en África, se atribuyeron al contacto con los perros domésticos (*Canis lupus familiaris*) de la zona que estaban infectados por el VDC (Roelke-Parker *et al.*, 1996). En Brasil Nava *et al.*, (2008) encontraron anticuerpos contra VDC en los felinos salvajes, incluyendo el puma (*Puma concolor*), el jaguar (*Panthera onca*), el ocelote (*Leopardus y pardalis*) teniendo al perro doméstico como el principal transmisor de la enfermedad. Otro estudio realizado por Fiorello *et al.*, (2007) hallaron en tres especies de felinos silvestres muestras positivas al VDC, y esto debido a la circulación de perros domésticos en este lugar. Por esta razón, es probable que los felinos silvestres muestreados en este estudio sean susceptibles al VDC, aunque no estén en contacto con el virus.

Otra de las razones del resultado negativo a la exposición al VDC, puede ser la baja densidad de felinos silvestres -pumas (*P. concolor*) y jaguares (*P. onca*)- en las áreas muestreadas y el comportamiento solitario de estos animales que hace difícil transmitir el VDC (Tobler *et al.*, 2013), ya que si un animal estuviera infectado terminaría afectando solo al felino infectado sin dar la oportunidad de contagiar a otros Pumas (*P. concolor*) o jaguares (*P. onca*) de la zona.

Las muestras fueron tomadas por la WWF-Perú, en los años 2006-2008, donde también se realizó la colocación de radio collares a los felinos así como la implementación de estudios de

densidad de la población felina silvestre mediante el empleo de cámaras trampa (Tobler *et al.*, 2013). Desde aquella fecha las muestras han sido mantenidas y conservadas a -80° C en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Sección Virología, sin evidencias de estar contaminadas ni hemolizadas lo que descarta la posibilidad de no estar aptas para realizar el estudio. Además, Fiorello *et al.*, 2007 trabajo con muestras obtenidas seis años antes de realizar el estudio en felinos silvestres y obtuvo resultados positivos a anticuerpos contra diferentes patógenos virales, entre ellos el VDC. Otro estudio, realizado por Franklin *et al.*, 2008, siete años antes de realizar las pruebas de Laboratorio en muestras de ocelotes (*Leopardus pardalis*) resultaron negativas a DC pero dieron positivas al virus de Leucemia Felina.

Existen varias pruebas diagnósticas utilizadas para la detección de agentes virales en felinos y caninos domésticos. Sin embargo, el uso para felinos silvestres, en algunos casos es limitado porque los reactivos deben ser adaptados a la especie objetivo por el uso de anticuerpos especie específicos. Las prueba más utilizadas para el diagnóstico de anticuerpos contra VDC en felinos silvestres es Virus neutralización (VN) (Roelke-Parker *et al.*, 1996; Fiorello *et al.*, 2007; Quigley *et al.*, 2010).). Esta prueba detecta y cuantifica los niveles de anticuerpos neutralizantes generados por una exposición al virus de campo o de vacuna y son llamados así, porque previenen la infectividad del virus a su célula diana. Por esta razón, es considerada la prueba “Gold standard” para la detección y cuantificación de anticuerpos específicos al virus (MacLachlan y Dubovi, 2011). Su desventaja está en ser una prueba laboriosa y costosa por los reactivos y equipos utilizados, siendo la más importante su pobre reproducibilidad entre laboratorios (Truelove *et al.*, 2016). Es considerada por la UICN y por la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal) como una prueba de alta utilidad y de moderada sensibilidad para el diagnóstico de anticuerpos contra agentes virales en fauna silvestre (UICN, 2016).

Otra prueba utilizada es Inmunofluorescencia indirecta (IFI) que al igual que la prueba de VN detecta y cuantifica anticuerpos producto de una exposición de campo o de vacuna, sin embargo, estos no son neutralizantes. La prueba de IFI, a diferencia de VN, es menos laboriosa y costosa; y permite identificar mediante un anti inmunoglobulina el isotipo deseado (MacLachlan y Dubovi, 2011). Es una prueba considerada por la UICN y la OIE de baja utilidad pero de alta sensibilidad para el diagnóstico de anticuerpos contra agentes virales en fauna silvestre (UICN, 2016).

En el presente estudio, se utilizó la prueba de IFI (VMRD; Inc. Pullman, USA), por estar disponible en la Sección de Virología del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la FMV-UNMSM, a diferencia de la prueba de VN que para su desarrollo necesita de una cepa de

referencia citolítica en cultivo celular y de la línea celular MDCK (Madin Darby Canine Kidney) susceptible a la replicación del VDC. La prueba de IFI fue también utilizada por Santos *et al.*, (2014) para detección de DC en muestras de zorros (*Lycalopex sechurae*) y canidos domésticos (*Canis lupus familiaris*) de la provincia de Sechura, Piura (M. Quevedo, datos no publicados).

Para la prueba de IFI, se utilizó como control positivo el suero de un canino doméstico positivo a anticuerpos contra DC de la misma casa comercial (VMRD, USA) y para revelar la unión antígeno anticuerpo se utilizó un policlonal Anti Inmunoglobulina G (IgG) canino conjugado con FITC (VMRD, USA). Además, las muestras de Pumas (*P. concolor*) y jaguares (*P. onca*) fueron reveladas con un policlonal anti IgG felino marcado con FITC. La cercanía filogenética entre gatos domésticos (*Felis catus*) y silvestres (Montague *et al.*, 2014) no cuestionarían el empleo del Anti IgG felino (procedente de gatos domésticos) con la IgG de pumas (*P. concolor*) y jaguares (*P. onca*). Sin embargo, resultados positivos a anticuerpos contra Calicivirus felino en felinos silvestres de un zoológico de Lima utilizando el mismo Anti IgG felino corroboraría la unión específica del policlonal con el anticuerpo de IgG de pumas (*P. concolor*) y jaguares (*P. onca*) utilizados en el estudio (M. Ramírez, comunicación personal).

El conocimiento de las enfermedades virales en poblaciones de animales silvestres del país es pobre. Esto, sumado a los cambios climáticos y reducción sistemática del ecosistema de los animales silvestres por el hombre, constituyen factores de riesgo que podrían afectar la salud tanto de los animales silvestres como la del hombre. Si bien es cierto que la ausencia de anticuerpos contra el VDC en pumas (*P. concolor*) y jaguares (*P. onca*) de la RNTMB en este estudio nos da la tranquilidad que la población felina no está expuesta a este virus que causó gran mortalidad en las mismas especies silvestres en otras partes del mundo, y que las políticas de seguridad que son implementadas por el Servicio Nacional de Áreas protegidas por el estado (SERNAMP), las concesiones de conservación y las áreas de concesiones forestales en Madre de Dios, están bien llevadas porque minimizan el contacto entre los animales domésticos y la fauna silvestre, es necesario seguir investigando, monitoreando a la población de felinos silvestres y su exposición a diferentes enfermedades infecciosas así como, de establecer el rol de los carnívoros domésticos en la ecología de estos agentes infecciosos con el fin de minimizar la exposición a patógenos nuevos que con llevaría a una alta morbilidad y mortalidad en poblaciones inmunológicamente inexploradas (Avendaño *et al.*, 2016).

VI. CONCLUSIÓN

No se encontraron anticuerpos contra el virus de distemper canino en todas las muestras de suero de felinos silvestres de vida libre: Puma (*Puma concolor*) y jaguar (*Panthera onca*) de las áreas de la Concesión de Conservación Rio Los Amigos y de la Reserva Nacional Tambopata/Parque Nacional Bahuaja Sonene en Madre de Dios durante el periodo 2006-2008, utilizando la prueba de IFI.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. [AAHA] American Animal Hospital Association. 2011. 2011 AAHA Canine vaccination guidelines. *Veterinary practice guidelines* 42 p.
2. Acosta-Jamett G, Cleaveland S, Cunningham AA, Bronsvoort BM. 2010. Demography of domestic dogs in rural and urban areas of the Coquimbo region of Chile and implications for disease transmission. *Preventive veterinary medicine* 94(3- 4):272-281.
3. Acosta-Jamett G. 2009. The role of domestic dogs in diseases of significance to humans and wildlife health in central Chile. Tesis doctoral de Zoología. Londres: Universidad de Edimburgo. 223 p.
4. Aguirre AA. 2009. Wild canids as sentinels of ecological health : a conservation medicine perspective. *Parasite Vector* 2(1): 1-8.
5. Almberg ES, Cross PC, Smith DW. 2010. Persistence of canine distemper virus in the Greater Yellowstone Ecosystem's carnivore community. *Ecological Applications* 20(7):2058-2074.
6. Anderson R, May R. 1991. *Infectious diseases of humans: dynamics and control*. 1ª ed. Oxford: Oxford University Press. 757 p.
7. Andrews CH, Pereira HG, Porterfield JS. 1989. *Andrews' Viruses of Vertebrates*. 5ª ed. London: Baillière Tindall. p 95-120.

8. Appel MJG, Summers BA. 1999. Distemper canino: Estado actual. International Veterinary Information Service. [Internet], [22 septiembre 2017]. Disponible en: http://www.ivis.org/advances/infect_dis_carmichael/appel_es/ivis.pdf
9. Appel MJG, Yates RA, Foley GL, Bernstein JJ, Santinelli S, Spelman LH, Miller LD, Arp LH, Anderson M, Barr M, Pearce-Kelling S, Summers B. 1994. Canine distemper epizootic in lions, tigers and leopards in North America. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigations* 6: 277-288.
10. Aranda M, Sánchez-Cordero V. 1996. Prey spectra of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) in tropical forests of Mexico. *Neotropical Fauna Environmet* 31(2): 65-67.
11. Arenas A, Maldonado A, Astorga R, Perea Anselmo. 2002. Paramixovirus. En: Vadillo S, Piriz S, Mateos E, eds. *Manual de microbiología veterinaria*. España: McGraw Hill. p 651-665.
12. Asner GP, Powell GVN, Mascaró J, Knapp DE, Clark JK, Jacobson J, KennedyBowdoin T, Balaji A, Paez-Acosta G, Victoria E, Secada L, Valqui M, Hughes RF. 2010. High-resolution forest carbon stocks and emissions in the Amazon. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(38): 16738-16742.
13. Astete JM. 2010. Patogenia del virus del Moquillo Canino. Sistema de Revisiones en Investigación Veterinaria de San Marcos SIRIVS. [Internet], [30 Octubre 2017]. Disponible en: http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Articulo_Astete_Final.pdf
14. Avendaño R, Barrueta F, Soto-Fournier S, Chavarría M, Monge O, Gutiérrez-Espeleta GA, Chaves A. 2016. Canine distemper virus in wild felids of Costa Rica. *Journal of Wildlife Diseases* 52(2): 373-377.
15. Ávila-Nájera DM, Rosas-Rosas OC, Tarango-Arámbula LA, Martínez-Montoya JF, Santoyo-Brito E. 2011. Conocimiento, uso y valor cultural de seis presas del jaguar (*Panthera onca*) y su relación con éste, en San Nicolás de los Montes, San Luis Potosí, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 82(2011): 1020-1028.
16. Beineke A, Puff C, Seehusen F, Baumgärtner W. 2009. Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Veterinary immunology and immunopathology* 127(1): 1-18.

17. Blancou J. 2004. Dog distemper: imported into Europe from South America? *Historia medicinae veterinariae* 29(2):35-41.
18. Blythe LL, Schmitz JA, Roelke M, Skinner S. 1983. Chronic encephalomyelitis caused by canine distemper virus in a Bengal tiger. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 183(11):1159-1162.
19. Bravo WLC y Escalante CD. 2006. Estudio retrospectivo del Distemper Canino en animales llegados al hospital universitario de veterinaria (Ciudad de Santa Cruz de la Sierra, quinquenio 2002-2006). Tesis de Licenciatura. Santa Cruz: Universidad Autónoma Gabriel René Moreno. 40 p.
20. Carpenter MA, Appel MJ, Roelke-Parker ME, Munson L, Hofer H, East M, O'Brien SJ. 1998. Genetic characterization of canine distemper virus in Serengeti carnivores. *Veterinary immunology and immunopathology*. 65(2):259-266.
21. Carpenter MA, Brown EW, Culver M, Johnson WE, Pecon-Slattery J, Brousset D, O'Brien SJ. 1996. Genetic and Phylogenetic Divergence of Feline Immunodeficiency virus in the Puma (*Puma concolor*). *Journal of Virology* 70(10): 6682 - 6693.
22. Caso A, Lopez-Gonzalez C, Payan E, Eizirik E, de Oliveira T, Leite-Pitman R, Kelly M, Valderrama C. 2008. *Panthera onca*, In IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-1.
23. Ceballos G, Chavez C, List R, Zarza H. 2007. Conservación y manejo del jaguar en México: Estudio de caso y perspectivas. En II simposio el jaguar mexicano en el siglo XXI. México: Conabio-Alianza WWF/Telcel-Universidad Nacional Autónoma de México.
24. Ceballos G, Oliva G. 2005. Los Mamíferos Silvestres de México. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. México. 986 p.
25. Céspedes PF, Cruz P y Navarro CO. 2010. Modulación de la respuesta inmune durante la infección por virus distemper canino: implicancias terapéuticas y en el desarrollo de vacunas. *Archivos de medicina veterinaria* 42(2): 15-28.

26. Chávez, C. 2010. Ecología y conservación del jaguar (*Panthera onca*) y puma (*Puma concolor*) en la región de Calakmul y sus implicaciones para la conservación de la Península de Yucatán. Tesis de Doctorado. Granada: Universidad de Granada. 111 p.
27. Cherpillod P, Tipold A, Griot-Wenk M, Cardozo C, Schmid IRF, Fatzer R, Schobesberger M, Zurbriggen R, Bruckner L, Roch F, Vandeveld M, Wittek R, Zurbriggen A. 2000. DNA vaccine encoding nucleocapsid and surface proteins of wild type canine distemper virus protects its natural host against distemper. *Vaccine* 18(26): 2927-2936.
28. CITES. 2009. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Appendices I, II and III. [Internet], [27 setiembre 2017]. Disponible en: <http://www.cites.org/eng/app/e-appendices.pdf>.
29. Cleaveland S, Hess GR, Dobson AP, Laurenson MK, McCallum HI, Roberts MG, Woodroffe R. 2002. The role of pathogens in biological conservation. En: Hudson PJ, eds. *The Ecology of Wildlife Diseases*. 1a ed. New York: Oxford University Press. p 139-150.
30. Cleaveland S, Appel MG, Chalmers WS, Chillingworth C, Kaare M, Dye C. 2000. Serological and demographic evidence for domestic dogs as a source of canine distemper virus infection for Serengeti wildlife. *Veterinary microbiology* 72(3): 217-227.
31. CONANP. 2010. México. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. [Internet], [2 Noviembre 2017]. Disponible en: http://www.conanp.gob.mx/pdf_especies/jaguar.pdf
32. Crawford P, Sellon R. 2010. Canine viral diseases. En: Ettinger S, Feldman E, eds. *Veterinary internal medicine*. 7ma edición. USA: Elsevier. p 960-962.
33. Crawshaw Jr PG, Quigley HB. 2002. Hábitos alimentarios del jaguar y el puma en el Pantanal, Brasil, con implicaciones para su manejo y conservación. *El jaguar en el nuevo milenio* [Internet], [23 setiembre 2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Peter_Crawshaw/publication/303260049_Habitos_alimentarios_del_jaguar_y_el_puma_en_el_Pantanal_Brasil_con_implicaciones_para_su_manejo_y_conservacion/links/584e94a708a6bd8cfc6b7/Habitos-alimentarios-del-jaguar-y-el-puma-en-el-Pantanal-Brasil-con-implicaciones-para-su-manejo-y-conservacion.pdf

34. Culver M, Johnson WE, Pecon-Slattery J, O'Brien SJ. 2000. Genomic Ancestry of the American Puma (*Puma concolor*). *Journal of Heredity* 91(3): 186-197.
35. Currier MJ. 1983. *Felis concolor*. *Mammalian species* 8(200): 1-7.
36. Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife—threats to biodiversity and human health. *Science* 287(5452): 443–449.
37. Deem SL y Karesh WB. 2005. The jaguar health program manual. Wildlife Conservation Society [Internet], [21 noviembre 2017]. Disponible en: <http://www.panthera.org/node/415>.
38. Deem SL, Spelman LH, Yates RA, Montali RJ. 2000. Canine distemper in terrestrial carnivores: a review. *Journal of Zoo and Wildlife medicine*. 31(4):441-451.
39. Di Sabatino D, Lorusso A, Di Francesco Ce, Gentile L, Di Pirro V, Bellacicco Al, Giovannin A, Di Francesco G, Marruchella G, Marsilio F. 2013. Arctic lineage-canine distemper virus as a cause of death in Apennine wolves (*Canis lupus*) in Italy. *PLoS One* 9(1):e82356.
40. Di Sabatino D, Savini G, Lorusso A. 2015. Canine distemper and endangered wildlife: Is it time for mandatory vaccination of dogs? *Vaccine* 33(48):6519.
41. Dobson AP, Hudson PJ. 1995. Microparasites: Observed patterns in wild animal populations. En: Grenfell BT, Dobson AP, eds. *Ecology: of infectious diseases in natural populations*. Cambridge University Press, Cambridge. 52-89 p.
42. El Peruano. 2014. Decreto supremo que aprueba la actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre legalmente protegidas. Perú. Normas legales 8 de abril del 2014. 520497p.
43. Emmons LH. 1987. Comparative feeding ecology of felids in a Neotropical rainforest. *Behavioral Ecology Sociobiology* 20(4):271-283.
44. Filoni C, Catao-Dias JL, Bay G, Durigon EL, Silva Pinto Jorge R, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. 2006. First Evidence of Feline Herpesvirus, Calicivirus, Parvovirus, and Ehrlichia Exposure in Brazilian Free-ranging Felids. *Journal of Wildlife Diseases* 42(2): 470-477.

45. Fiorello CV, Deem SL, Gompper ME, Dubovi EJ. 2004. Seroprevalence of pathogens in domestic carnivores on the border of Madidi National Park, Bolivia. *Animal Conservation* 7(1): 45-54.
46. Fiorello CV, Noss AJ, Deem SL, Maffei L, Dubovi EJ. 2007. Serosurvey of small carnivores in the Bolivian Chaco. *Journal of Wildlife Diseases*. 43(3):551-557.
47. Fiorello CV, Noss AJ, Deem SL. 2006. Demography, hunting ecology, and pathogen exposure of domestic dogs in the Isoso of Bolivia. *Conservation Biology* 20(3):762-771.
48. Franklin SP, Kays RW, Moreno R, TerWee JA, Troyer JL, VandeWoude S. 2008. Ocelots on Barro Colorado Island are infected with feline immunodeficiency virus but not other common feline and canine viruses. *Journal of Wildlife Diseases* 44(3): 760-765.
49. Furtado MM, De Ramos JD, Scheffer KF, Coelho CJ, Cruz PS, Ikuta CY, De Almeida AT, De Oliveira GE, Silveira L, Sollmann R, Torres NM, Neto JS. 2013. Serosurvey for selected viral infections in free-ranging jaguars (*Panthera onca*) and domestic carnivores in Brazilian cerrado, pantanal and Amazon. *Journal of Wildlife Diseases* 49(3): 510-521.
50. Gámiz C, Martella V, Ulloa R, Fajardo R, Quijano-Hernández I, Martínez S. 2011. Identification of a new genotype of canine distemper virus circulating in America. *Veterinary Research Communications* 35(6): 381-390.
51. García V. 2016. Diagnóstico de distemper canino por medio de prueba rápida para detección de antígeno en perros. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. México D.F.: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 29 p.
52. Gascoyne SC, King AA, Laurenson MK, Borner M, Schildger B, Barrat J. 1993. Aspects of rabies infection and control in the conservation of the African wild dog (*Lycaon pictus*) in the Serengeti region, Tanzania. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 60(4): 415-420.
53. Greene CE 1984. Canine distemper. En: GREENE CE eds. *Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat*. Philadelphia: Saunders. p 286.
54. Greene CE, Vandevolve M. 2012. Canine distemper. En: Greene CE, eds. *Infectious diseases of the dog and cat*. 4ta ed. Missouri: Elsevier Saunders. p 25-42.

55. Greene CE. 2008. Enfermedades infecciosas del perro y el gato. 3ra ed. Argentina: Inter-médica. 730 p.
56. Grenfell BT, Bjornstad ON, Finkenstadt BF. 2002. Dynamics of measles epidemics: Scaling noise, determinism, and predictability with the TSIR model. *Ecological Monographs* 72(2): 185-202.
57. Grenfell BT, Bjornstad ON, Kappey J. 2001. Travelling waves and spatial hierarchies in measles epidemics. *Nature* 414(6865): 716-723.
58. Harmsen BJ, Foster RJ, Silver SC, Ostro LET, Doncaster CP. 2009. Spatial and temporal interactions of two sympatric cats in a neotropical forest: the jaguar (*Panthera onca*) and the puma (*Puma concolor*). *Journal of Mammalogy* 90(3): 612-620.
59. Harmsen BJ, Foster RJ, Silver SC, Ostro LET, Doncaster CP. 2011. Jaguar and puma activity patterns in relation to their main prey. *Mammalian Biology* 76(3): 320-324.
60. Hess GR, Randolph SE, Arnebergh P, Chemini C, Furlanello C, Harwood J, Roberts MG, Swinton J. 2002. Spatial aspects of disease dynamics. En Hudson RJ, Rizzoli AP, Grenfell BT, Heesterbeek H, Dobson AP, eds. *The ecology of wildlife diseases*. 1ª ed. Oxford: Oxford University Press. 102-118 pp.
61. Jorge MC, Traversa MJ, Schettino DM, Etchechoury I, Bernardelli A, Zumárraga M, Paolicchi F, Canal S. 2006. Micobacteriosis en pumas (*felis concolor*) en cautiverio. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 46(1): 25-31.
62. Jorge RSP. 2008. Caracterização do estado sanitario dos carnívoros selvagens da RPPN SESC Pantanal e de animais domésticos da região. Tesis de doctorado. Brasil: Universidade de São Paulo. 106 p.
63. Junge RE, Bauman K, King M, Gompper ME. 2007. A serologic assessment of exposure to viral pathogens and *Leptospira* in an urban raccoon (*Procyon lotor*) population inhabiting a large zoological park. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 38(1): 18-26.
64. Kapil S, Yeary TJ. 2011. Canine distemper spillover in domestic dogs from urban wildlife. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*. 41(6):1069-1086.

65. Keeling MJ, Björnstad ON, Grenfell BT. 2004. Metapopulation dynamics of infectious diseases. En: Hanski IA, Gaggiotti OE, eds. *Ecology, Genetics and Evolution of Metapopulations*. 1ª ed. Burlington: Elsevier. 415-446 p
66. Keeling MJ, Grenfell BT. 1997. Disease extinction and community size: Modeling the persistence of measles. *Science* 275(5296): 65-67.
67. Kelly MJ, Noss AJ, Di Bitetti MS, Maffei L, Arispe RL, Paviolo A, De Angelo CD, Di Blanco YE. 2008. Estimating puma densities from camera trapping across three study sites: Bolivia, Argentina, and Belize. *Journal of Mammalogy* 89(2): 408-418.
68. Kirkby C. 2002. Estándares Ecoturísticos para la Reserva Nacional Tambopata, el Parque Nacional Bahuaja Sonene y sus Zonas de Amortiguamiento, Madre de Dios, Perú. WWF Oficina del programa de Perú [Internet], [1 Diciembre 2017]. Disponible en: <http://bibliotecavirtual.minam.gob.pe/biam/bitstream/id/423/BIV00090.pdf>
69. Knobel D, Butler JRA, Lembo T, Critchlow R, Gompper ME. 2014. Dogs, disease, and wildlife. In: Gompper ME, eds. *Free-ranging dogs and wildlife conservation*. Oxford: Oxford University Press. p 144-169.
70. Krakowka S., Cockerell G. y Koestner A. 1975. Effects of canine distemper virus infection on lymphoid function in vitro and in vivo. *Infection and Immunity*. 11(5):1069-1078.
71. Lamb RA y Kolakofsky. 2001. Paramyxoviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM eds. *Fields of Virology*. 4ª ed, vol 1. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p 1305-1443.
72. Laundré JW y Hernández L. 2010. What we know about pumas in Latin America. En: Hornocker MG Y Negri S, eds. *Cougar: Ecology and conservation*. Chicago: University of Chicago press. p 76-90.
73. Laurenson K, Sillero-Zubiri C, Thompson H, Shiferaw F, Thirgood S, Malcolm J. 1998. Disease as a threat to endangered species: Ethiopian wolves, domestic dogs, and canine pathogens. *Animal Conservation* 1(4): 273-280.
74. Laurenson MK, Cleaveland S, Artois M, Woodroffe R. 2004. Assessing and managing infectious disease threats to canids. En: Sillero S, Hoffman M, McDonald D, eds. *Canids*:

foxes, wolves, jackals and dogs, status survey and conservation action plan. IUCN/SSC Canid specialist group. p 246-255.

75. Lickey ALA, Kennedy M, Patton S, Ramsay EC. 2005. Serologic survey of domestic felids in the Petén region of Guatemala. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 36(1):121-123.
76. Lorenzana LC. 2008. Actualización en la terapéutica del moquillo canino. Virbac al día [Internet], [11 Setiembre 2017]. Disponible en: <http://www.webveterinaria.com/virbac/news13/pequenas.pdf>
77. MacLachlan NJ y Dubovi EJ. 2011. *Fenner's Veterinary Virology*. 4^{ta} ed. California: Elsevier. 534 p.
78. Martínez JA, Rudolf JC, Queirolo D. 2010. *Puma concolor* (Carnivora, Felidae) en Uruguay: situación local y contexto regional. *Mastozoología neotropical* 17(1): 153-159.
79. Medina-Vogel G. 2010. Ecología de enfermedades infecciosas emergentes y conservación de especies silvestres. *Archivos de medicina veterinaria* 42(1):11-24.
80. Meli ML, Simmler P, Cattori V, Martínez F, Vargas A, Palomares F, Lopez-Bao JV, Simon MA, López G, León-Vizcaino L, Hofmann-Lehmann R. 2010. Importance of canine distemper virus (CDV) infection in free-ranging Iberian lynxes (*Lynx pardinus*). *Veterinary microbiology* 146(1):132-137.
81. Millán J, Candela MG, Palomares F, Cubero MJ, Rodríguez A, Barral M, de la Fuente J, Almería S, León-Vizcaíno L. 2009. Disease threats to the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *The Veterinary Journal*. 182(1):114-24.
82. Montague MJ, Li G, Gandolfi B, Khan R, Aken BL, Searle SM, Minx P, Hillier LW, Koboldt DC, Davis BW, Driscoll CA. 2014. Comparative analysis of the domestic cat genome reveals genetic signatures underlying feline biology and domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111(48):17230-17235.
83. Murphy FA, Gibbs EP, Horzinek MC, Studdert MJ. 1999. *Veterinary Virology*. 3^{ra} ed. Toronto: Academic press. 167-169, 423-425 p.
84. Murray D, Kapke C, Evermann J y Fuller T. 1999. Infectious disease and the conservation of free-ranging large carnivores. *Animal Conservation* 2(4): 241–254.

85. Nakano H, Kameo Y, Sato H, Mochizuki M, Yokoyama M, Uni S, Shibasaki T, Maeda K. 2009. Detection of antibody to canine distemper virus in wild raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* (12): 1661-1663.
86. Nava AFD, Cullen JL, Sana DA, Nardi MS, Ramos Filho JD, Lima TF, Abreu KC, Ferreira F. 2008. First evidence of canine distemper in Brazilian free-ranging felids. *Ecohealth* 5(4): 513-518.
87. Navarrete DJ. 2008. Prevención y tratamiento del distemper canino. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. México: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 56 p.
88. Nelson RW y Couto CG. 2000. Medicina interna de animales pequeños 2da ed. Inter-Medica. Buenos Aires, Argentina. 329, 949 a 952, 1021, 1079 a 1080, 1173 a 1376p.
89. Nelson RW y Couto CG. 2010. Medicina interna en pequeños animales. 4ta ed. España: Elsevier. 1336-1338 p.
90. Nielsen C, Thompson D, Kelly M, Lopez-Gonzalez CA. 2015. *Puma concolor*, In IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2017-1.
91. Novack AJ, Main MB, Sunquist ME, Labisky RF. 2005. Foraging ecology of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) in hunted and non-hunted sites within the Maya Biosphere Reserve, Guatemala. *Journal of Zoology* 267(2): 167–178
92. Nowell K, Jackson P. 1996. Status, Survey and Conservation Action Plan: Wild Cats. *Biological conservation* 83(2): 233.
93. Pacheco LF, Lucero A, Villca M. 2004. Dieta del puma (*Puma concolor*) en el Parque Nacional Sajama, Bolivia y su conflicto con la ganadería. *Ecología en Bolivia* 39(1): 75-83.
94. Pereira FB. 2010. Comparación de métodos de diagnóstico para el distemper canino, con énfasis en las alteraciones oculares. Tesis de maestría en ciencias veterinarias. Curitiba: Universidad Federal de Parana. 79 p.
95. Pinotti M, Gollan A, Delgado A, Passeggi C, Occhi H, Blainq L, Canavesio M. 2009. Distemper canino. *Ciencias Veterinarias* 8(2):29-45.

96. Pringle CR. 1999. Virus Taxonomy at the XI International Congress of Virology. Sydney: Archives of Virology 144(10): 2065-2070.
97. Quigley KS, Evermann JF, Leathers CW, Armstrong DL, Goodrich J, Duncan NM, Miquelle DG. 2010. Morbillivirus infection in a wild Siberian tiger in the Russian Far East. Journal of wildlife diseases 46(4): 1252-1256.
98. Rabinowitz AR, Nottingham BG. 1986. Ecology and behaviour of the jaguar (*Panthera onca*) in Belize, Central America. Journal of Zoology. 210 (1): 149-159
99. Roelke ME, Forrester DJ, Jacobson ER, Kollias GV, Scott FW, Barr MC, Evermann JF, Pirtle EC. 1993. Seroprevalence of infectious disease agents in Free-ranging florida panthers (*felis concolor cory*). Journal of Wildlife Diseases 29(1): 36-49.
100. Roelke-Parker ME, Munson L, Packer C, Kock R, Cleaveland S, Carpenter M, O'Brien SJ, Pospischil A, Hofmann-Lehmann R, Lutz H, Mwamengele GLM, Mgasas MN, Machange GA, Summers BA, Appel MJG. 1996. A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). Nature 379: 441-445.
101. Ruiz-García M, Murillo A, Corrales C, Romero-Aleán N, Álvarez-Prada D. 2007. Genética de poblaciones amazónicas: La historia evolutiva del jaguar, ocelote, delfín rosado, mono lanudo y piurí, reconstruida a partir de sus genes. Animal Biodiversity and Conservation 30(2): 115-130.
102. Rumiz D. 2015. El Jaguar o Tigre en Bolivia. Revista 78 [Internet], [2 Noviembre 2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/301492130_El_jaguar_o_tigre_en_Bolivia
103. Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T. 2013. Lethal canine distemper virus outbreak in cynomolgus monkeys in Japan in 2008. Journal of Virology 87(2): 1105-1114.
104. Sanderson EW, Redford KH, Chetkiewicz CLB, Medellin RA, Rabinowitz AR, Robinson JG, Taber AB. 2002. Planning to save a species: the jaguar as a model. Biological Conservation 16(1): 58-72.
105. Santos LTJF. 2014. Presencia de anticuerpos contra el virus de distemper canino en perros domésticos (*canis lupus familiaris*) de áreas rurales habitadas por el zorro de sechura

- (lycalopex sechurae). Tesis de Médico Veterinario. Lima: universidad Nacional Mayor de San Marcos. 71p
106. Schiaffino K. 2011. Plan de acción para la conservación de la población de Yaguareté (*Panthera onca*) del corredor verde de Misiones. [Internet], [25 setiembre 2017]. Disponible en: http://www.ecologia.misiones.gov.ar/ecoweb/tmp/Archivos/Plan_Accion_Yaguarete.pdf
 107. Schloegel LM, Daszak P, Nava AFD. 2005. Conservation medicine: tackling the root causes of emerging infectious diseases and seeking practical solutions. *Natureza & conservação* 3(2): 135–146.
 108. Schmidt HTL. 2006. Anticuerpos neutralizantes contra los virus de distemper y parainfluenza canino en caninos y felinos silvestres en cautiverio. Tesis de médico veterinario. Puerto alegre: Universidad federal de rio grande del sur. 72p.
 109. Scognamillo D, Maxit IE, Sunquist M, Polisar J. 2003. Coexistence of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) in a mosaic landscape in the Venezuelan llanos. *Journal of Zoology*. 259(3): 269-279.
 110. Seimon TA, Miquelle DG, Chang TY, Newton AL, Korotkova I, Ivanchuk G, Lyubchenko E, Tupikov A, Slabe E, McAloose D. 2013. Canine distemper virus: An emerging disease in wild endangered Amur tigers (*Panthera tigris altaica*). *Molecular Biology* 4(4): 410-413.
 111. SERNANP. 2017. Lima: Servicio nacional de áreas naturales protegidas por el estado. [Internet], [1 diciembre 2017]. Disponible en: <http://www.sernanp.gob.pe/tambopata>
 112. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. 2008. Boletín técnico informativo. SENAMHI. Lima – Perú. Disponible en: <http://www.senamhi.gob.pe>.
 113. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. 2017. Boletín técnico informativo. SENAMHI. Lima – Perú. Disponible en: <http://www.senamhi.gob.pe>.
 114. Seymour KL. 1989. Mammalian species: *Panthera onca*. *Journal of Mammalogy* 340:1-9.
 115. Summers BA y Appel MJ. 1994. Aspects of canine distemper virus and measles virus encephalomyelitis. *Neuropathology and applied neurobiology* 20(6):525-534.

116. Sunquist ME y Sunquist F. 2002. Wild cats of the World. Chicago and London: The University of Chicago Press. 462 p.
117. Swenson JJ, Carter CE, Domec JC, Delgado CI. 2011. Gold Mining in the Peruvian Amazon: Global Prices, Deforestation, and Mercury Imports. PLOS ONE 6(4): 1-7.
118. Tahara M, Takeda M, Shirogane Y, Hashiguchi T, Ohno S, Yanagi Y. 2008. Measles virus infects both polarized epithelial and immune cells by using distinctive receptor-binding sites on its hemagglutinin. Journal of Virology 82(9):4630-4637.
119. Terborgh J, Lopez L, Nunez P, Rao M, Shahabudin G, Orihuela G, Riveros M, Ascanio R, Adler GH, Lambert TD, Balbas L. 2001. Ecological meltdown in predator-free forest fragments. Science 294(5548): 1923-1926.
120. Thrusfield M. 2005. Veterinary epidemiology. 3^{ra} ed. Oxford: Blacwell Science publishing. 247 p.
121. Tobler M, Carrillo-Percastegui SE, Zúñiga HA, Powell, George VN. 2013. High jaguar densities and large population sizes in the core habitat of the southwestern Amazon. Biological Conservation 159(2013): 375-381.
122. Truelove S, Zhu H, Lessler J, Riley S, Read JM, Wang S, Kwok KO, Guan Y, Qiang CJ, Cummings DAT. 2016. A comparison of hemagglutination inhibition and neutralization assays for characterizing immunity to seasonal influenza A. Influenza Other Respir Viruses 10(6): 518-524.
- 123.[UICN] Unión Internacional para Conservación de la Naturaleza. 2016. Manual de Procedimientos para el Análisis del Riesgo de Enfermedad en Fauna Silvestre. París: UICN. Manual. 172 p.
124. Van de Bildt MW, Kuiken T, Visee AM, Lema S, Fitzjohn TR, Osterhaus AD. 2002. Distemper outbreak and its effect on African wild dog conservation. Emerging infectious diseases 8(2):212-213.
125. Wilson P. 1984. Puma predation on guanacos in Torres del Paine National Park, Chile. Mammalia 48(4): 515-522.

126. Woodroffe R, McNutt JW, Mills MGL. 2004. African wild dog: *Lycaon pictus*. En: Sillero S, Hoffman M, McDonald D, eds. Canids: foxes, wolves, jackals and dogs, status survey and conservation action plan. IUCN/SSC Canid specialist group. p. 174- 181.
127. Wozencraft WC. 2005. Order Carnivora. En: Wilson DE & Reeder DM, eds. Mammal Species of the World. A taxonomic and geographic reference. 3^{ra} ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. p 532-545.
128. Zeller K. 2007. Jaguars in the New Millennium Data Base Update: The State of the Jaguar in 2006. Wildlife Conservation Society. [Internet], [21 marzo 2017]. Disponible en: https://www.catsg.org/fileadmin/filesharing/3.Conservation_Center/3.2._Status_Reports/Jaguar/Zeller_2007_Jaguars_in_the_new_Millennium_Update.pdf

VIII. APÉNDICE

Anexo 1. Relación de los reactivos utilizados en la prueba de IFI

Kit comercial en el Veterinary Medical Research and Development (VMRD, Inc. WA - EEUU)

1. Lámina con cultivo de células de pulmón de visón infectadas con el virus del Distemper Canino. Cada lámina tiene 12 pocillos, que contienen células positivas y negativas al VDC, de las cuales no más del 30% son positivas para un mejor contraste.
2. Antisuero policlonal anti-felino IgG conjugado con isotiocianato de fluoresceína (ITFC) de origen caprino.
3. Control positivo; con anticuerpos IgG para el VDC
4. Buffer diluyente de suero (7.2 pH)*

Na ₂ HPO ₄	1.19 gm
NaH ₂ PO ₄	0.22 gm
NaCl.....	8.55 gm
BSA.....	10.0 gm
DI/dH ₂ O.....	completar hasta 1 litro

*Esta lista de elementos al prepararse da 1 litro de solución. Se guarda entre 2-7°C

5. Buffer de enjuague (pH 9.0):

Na₂CO₃..... 11.4 gm

NaHCO₃..... 33.6 gm

NaCl..... 8.5 gm

DI/dH₂O..... completa hasta 1 litro

El pH de la solución preparada es entre 9.0-9.5. La preparación de 1 litro es un concentrado 4X y debe ser diluido ¼ con agua destilada para su uso.