Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California



Programa de Posgrado en Ciencias de la Vida con orientación en Biología Ambiental

Prevalencia de cuatro enfermedades infecciosas en lobo fino en Isla Guadalupe, México

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de Maestro en Ciencias

Presenta:

Etna Carolina Ziehl Quirós

Tesis defendida por

Etna Carolina Ziehl Quirós

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. María de la Concepción García Aguilar
Codirector de tesis

Dr. Eric Mellink Bijtel
Codirector de tesis

Dra. Gisela Heckel Dziendzielewski

Dra. Paula Pérez Brunius

Dr. Gerardo Enrique Medina Basulto



Coordinador del Posgrado en Ciencias de la Vida

Dra. Rufina Hernández Martínez

Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Etna Carolina Ziehl Quirós** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en el Programa de Posgrado en Ciencias de la Vida con orientación en Biología Ambiental.

Prevalencia de cuatro enfermedades infecciosas en lobo fino en Isla Guadalupe, México

Resumen aprobado por:	
Dra. María de la Concepción García Aguilar Codirector de tesis	Dr. Eric Mellink Bijtel Codirector de tesis

Recientemente se ha identificada a las enfermedades infecciosas como causal de disminuciones poblacionales en diversas especies de pinnípedos y se ha reconocido que la emergencia de estas enfermedades está ligada a patógenos terrestres. La Isla Guadalupe alberga la colonia más importante del lobo fino de Guadalupe (Arctocephalus townsendi) y en décadas pasadas se introdujeron perros, gatos y roedores que pudieron ser reservorios de enfermedades infecciosas. El objetivo de esta tesis fue determinar la presencia y prevalencia de cuatro agentes patógenos comunes en perros y gatos: virus del distemper canino (CDV), Brucella spp., Leptospira spp y Toxoplasma gondii, en la colonia de lobo fino de la Isla Guadalupe. En el verano de 2014 se colectaron 46 muestras de sangre de crías (1-2 meses de edad) para la realización de análisis serológicos: prueba rápida de ELISA para el CDV y B. canis: Rosa de Bengala, Rivanol y FPA para B. abortus y cepas lisas; prueba de aglutinación microscópica para Leptospira spp., y prueba de quimioluminiscencia para T. gondii. Se utilizaron métodos Bayesianos para el cálculo de la prevalencia de cada patógeno y un paquete epidemiológico para calcular la probabilidad exacta de detectar animales expuestos en la población. No se detectaron reactores positivos para el CDV, Brucella spp y T. gondii, y las evidencias sugieren que la colonia de lobos finos se encuentra libre de los dos primeros. Sin embargo, los resultados obtenidos con T. gondii no son concluyentes por lo que su presencia no se puede descartar. Se detectaron reactores positivos a Leptospira spp con una prevalencia de 27%, y los resultados indican que la colonia debe considerarse como infectada. Se encontraron tres serovariedades de Leptospira: bratislava, icterohaemorrhagiae y canicola. Se propone que la fuente de infección de las dos primeras son los ratones introducidos a la isla. La serovariedad canicola probablemente fue introducida por los perros y su persistencia en la colonia se deba a que los lobos podrían estar actuando como hospederos de mantenimiento. Esta tesis representa el primer estudio sobre el estado de salud del lobo fino de Guadalupe y los resultados obtenidos constituyen una línea de base para el monitoreo de enfermedades infecciosas en la especie.

Palabras clave: Arctocephalus townsendi, Brucella spp., epidemiología, especies introducidas, Leptospira spp, prevalencia, serología, Toxoplasma gondii, virus del distemper canino

Abstract of the thesis presented by **Etna Carolina Ziehl Quirós** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in the Postgraduate Program of Life Sciences with orientation on Environmental Biology

Prevalence of four infectious diseases in the Guadalupe fur seal at Guadalupe Island, México

Abstract approved by	
Dra. María de la Concepción García Aguilar Thesis co-director	Dr. Eric Mellink Bijtel Thesis co-director

In recent years, emerging infectious diseases have been identified as a potential threat to free-ranging pinnipeds that can lead to population declines. Their emergence has been associated with pathogens of terrestrial origin. Guadalupe Island harbors the most important colony of Guadalupe fur seal (Arctocephalus townsendi), and domestic dogs, cats and rodents were introduced into the island in past decades. Domestic carnivores can act as reservoirs for common infectious diseases. The purpose of this study was to determine the prevalence in the Guadalupe Island fur seal colony of four common infectious agents of dogs and cats: canine distemper virus (CDV), Brucella spp., Leptospira spp. and Toxoplasma gondii. Blood samples of 46 pre-weaned pups were collected in the summer of 2014, and serum samples were tested for CDV and B. canis using a commercially available competitive ELISA kit; for B. abortus and smooth strains using the Rose Bengal plate agglutination test, the Rivanol test, and a fluorescence polarization assay (FPA); for Leptospira spp. using the microscopic agglutination test, and for T. gondii using the solid-phase chemiluminescent enzyme immunoassay test. A Bayesian approach was used to calculate the prevalence, while the exact probability of detecting infected animals in the population was determined using an epidemiological probability calculator software (FreeCalc). None of the 46 sera tested positive for CDV, Brucella spp. or T. gondii and evidence suggests that the colony is free from the first two. However, results obtained for *T. gondii* were not conclusive, and its presence in the colony cannot be dismissed. Positive titres were found for *L. interrogans*, and antibody prevalence was 27%. Further statistical analyses indicated that the colony could be considered as infected. Serologically positive test were found for serovars Bratislava, Icterohaemorrhagiae and Canicola. On the basis of the obtained results, this study proposes introduced rodents and dogs as the source of infection. After removal of dogs from the island, serovar Canicola probably persists in the colony with the fur seals as maintenance hosts. The present study is the first to evaluate the health status of the Guadalupe fur seal, and it provides a baseline for future monitoring of infectious diseases in the species.

Keywords: Arctocephalus townsendi, Brucella spp., canine distemper virus, epidemiology, introduced species, Leptospira spp., prevalence, serology, Toxoplasma gondii,

Dedicatoria

- A Frida por enseñarme el poder del amor y la bondad.
- A Federico por inspirarme a través de su memoria a vivir al máximo.
- A Martha por que lo cortés no quita lo valiente.
- A Liborio por que no hay obstáculo imposible de superar con coraje e inteligencia.
- Espero estén orgullosos.

Agradecimientos

Primero que a nadie, agradezco todo a mi amada familia. A Etna y Roberto por ser los maravillosos padres que son; por la paciencia y apoyo incondicional; por su amor abundante y cálido el cual me fortalece y permite confrontar esta vida con sus retos. Gracias por creer siempre en mis virtudes más que en mis debilidades. Los amo. También, a mi amada hermana Martha por ser mi "coach" número uno en la vida. Te quiero Martz. A mi cuñado Rafa por ser mi otro hermano y hacer a mi hermana tan feliz. Los amo tanto, sin ustedes simplemente esto no tendría sentido.

Al Centro de Investigación Científica de Educación Superior de Ensenada (CICESE), por brindarme la oportunidad de formar parte de su prestigiosa comunidad académica.

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico ofrecido durante mis estudios de maestría.

A la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) — Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) por el financiamiento ofrecido a través del Programa de Monitoreo Biológico (PROMOBI) al proyecto "Monitoreo de las especies de pinnípedos en la Reserva de la Biósfera Isla Guadalupe", convenio No. PROMOBI/RBIG/02/2014. Así mismo, a la Maestra en Ciencias Marisol Torres Aguilar, Directora Encargada de la Reserva de la Biósfera Isla Guadalupe.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), Unidad Guaymas, Sonora, así como al Doctor Juan Pablo Gallo Reynoso por permitirnos colaborar en el proyecto de monitoreo biológico.

A la Secretaría de Marina Armada de México (SEMAR). Específicamente a la Segunda Región Militar del Pacífico Norte, Segunda Zona Naval de Ensenada, por su apoyo durante nuestra estancia en la isla.

A todas las familias de pescadores de la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera de Participación Estatal Abuloneros y Langosteros S.C.L. Ya que sin su apoyo y hospitalidad no hubiera sido posible el desarrollo de este trabajo.

Al Grupo de Ecología y Conservación de Islas, A. C. (GECI). Por su presencia y apoyo en la isla.

Muy especialmente a la Doctora María Concepción García Aguilar, alias Concha, por acogerme bajo su tutela y darme la oportunidad de participar en este proyecto que me brindó la increíble experiencia de visitar Isla Guadalupe. Gracias por todo el conocimiento compartido, por todas las horas de paciencia, por la confianza depositada en mí y toda la dedicación que otorgó para la culminación de este logro. También por todos los cigarros y cafés compartidos. Tu ejemplo es uno que provoca inspiración.

También, de manera muy particular, al Doctor Eric Mellink Bijtel por formar parte incondicional de este logro profesional. Gracias por sus valiosas observaciones, sus charlas motivacionales y su afinidad a mis ideales. Por compartir su sabiduría y puntos de vista imperecederos.

A mi comité de tesis. A la Doctora Gisela Heckel Dziendzielewski y a la Doctora Paula Pérez Brunius, quienes siempre me apoyaron y brindaron valiosas observaciones para facilitar este proceso con su compromiso y comprensión. Gracias por las porras. Así mismo, al Doctor Gerardo Enrique Medina Basulto por abrirme las puertas de su laboratorio y acceder a formar parte de este comité.

A mi tía Renee Papritz y familia. Gracias por animarme y ser parte de mi vida en Ensenada. Por compartir deliciosas comidas y riquísimos vinos.

A mi tío Oca y familia. Gracias por ser una figura de razonamiento y rectitud además de una grata e invaluable compañía. Gracias a tu linda familia por acogerme y extender su cariño y apoyo hacia mí en este proceso.

A los chicos CONANP Toño, Dona y Edith quienes fueron indispensables para la toma de muestras y aventuras en la isla. De igual forma, a Jackie e Isaí por ser parte del equipo y compartir su experiencia y conocimientos. A Casandra por su valiosa lección en extracción de sangre. A Yama por su asesoría y ayuda en "R". Gracias chicos, saben que su ayuda fue invaluable.

A mi amiga y prima querida Esme. Por siempre estar tras bambalinas, animando mi lucha, levantándome en las caídas. Por escucharme y acompañarme aún con un mar de distancia. Nada detiene tu simple coraje de quererme y apoyarme. Te amo.

A mi amiga del alma Verenice quien aún con las distancias siempre ha estado presente. Gracias amiga por ser el alma gemela que me ha regalado esta vida.

A mis queridísimos amigos Marisela Garduño y Aldo Sánchez por enseñarme que nunca es tarde para formar grandiosas amistades. Morrikis, sin su apoyo incondicional, porras y sobre todo, sin su hermosa amistad no hubiera llegado hasta aquí cuerda. ¡Los quiero! También a todos los chicos de Ambientales por las porras y las risas.

A mis viejos amigos Isela, Karen, Marisol, Dánae, Montana, Yevi y hasta a Leo. Gracias Chuminos...¡Que fluya!

A Riesgo por ser parte de este largo sueño, por su apoyo y cariño. No tengo palabras para expresar cómo marcaste una diferencia. Gracias.

Finalmente, y no por menos importante, a mi excepcional amiga Isabel por ser un faro de luz en medio del tormentoso mar que fue esto. Gracias por atender mis angustias, miedos y frustraciones siempre con tranquilidad y templanza. También por supervisar que este barquito llegara a puerto. Pero sobre todo, por la amistad y cariño auténticos que me haz extendido desde siempre. Gracias Isa.

Tabla de Contenido

Resumen español	ii
Resumen inglés	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Lista de Figuras	ix
Lista de Tablas	
1 Introducción	1
1.1 Enfermedades Infecciosas Emergentes en Mamíferos Marinos	1
1.2 Objetivos	3
1.2.1 Objetivo general	3
1.2.2 Objetivos particulares	3
1.3 Hipótesis	3
2 Antecedentes	4
2.1 El Lobo fino de Guadalupe	4
2.2 Estatus de protección nacional e internacional	7
2.3 Introducción de mamíferos en la Isla Guadalupe	8
2.4 Introducción de especies y enfermedades infecciosas emergentes	10
2.5 Enfermedades infecciosas emergentes en pinnípedos	13
3 Materiales y métodos	20
3.1 Área de estudio	20
3.2 Trabajo de campo	21
3.3 Análisis clínicos	22
3.3.1 Detección del virus del distemper canino (CDV) y Brucella canis	23
3.3.2 Detección de Brucella spp. (cepas lisas)	23
3.3.3 Detección de <i>Leptospira</i> spp	24
3.3.4 Detección de <i>Toxoplasma gondii</i>	
3.4 Análisis de datos	27
3.4.1 Análisis Bayesiano	27
3.4.2 Inferencia Bavesiana	28

Lista de referencias bibliográficas	59
Glosario	55
6 Conclusiones	54
5.3 Recomendaciones para el monitoreo de enfermedades infec de Guadalupe	
5.2 Leptospira spp.	
5.1.3 Toxoplasma gondii	
5.1.2 Brucella spp	
5.1.1 Virus del distemper canino (CDV)	
5.1 Virus de distemper canino (CDV), Brucella spp. y Toxoplasm	
5 Discusión	
4.5 i Tobabilidad de que los patogerios esteri en la colonia	
4.3 Probabilidad de que los patógenos estén en la colonia	
4.2 Diferencias entre sexos y localidades	
4.1 Cálculo de la prevalencia específica	
4 Resultados	35
3.4.5 Probabilidad de que los patógenos estén en la colonia	33
3.4.4 Análisis de diferencias entre sexos y localidades	32
3.4.3 Prevalencia específica por inferencia Bayesiana de prop	

Lista de Figuras

Figura		Página
1	Cladograma representativo del orden Carnivora indicando la posición de la familia Otariidae y su relación con taxones hermanos	6
2	Distribución histórica del lobo fino de Guadalupe, desde la Bahía de Monterey hasta las Islas Revillagigedo	7
3	Isla Guadalupe, Pacífico mexicano	9
4	Sitio de colecta de sangre en otáridos (vena glútea)	22
5	Distribución a priori (línea punteada) y posterior (línea continua) de la prevalencia de (A) virus del distemper canino (CDV), (B) <i>Brucella</i> spp. y (C) <i>Toxoplasma gondii</i> calculada a partir de 46 muestras de crías de lobo fino de Guadalupe colectadas en el verano de 2014	36
6	Distribución a priori (línea punteada) y posterior (línea continua) de la prevalencia de <i>Leptospira</i> spp. calculada a partir de 46 muestras de crías de lobo fino de Guadalupe colectadas en el verano de 2014	37
7	Distribuciones <i>a priori</i> (línea punteada) y posterior (línea continua) de la prevalencia de <i>Leptospira</i> spp. calculada a partir de muestras de crías de lobo fino colectadas en tres localidades de la Isla Guadalupe en el verano de 2014.	40

Lista de Tablas

Tabla		Página
1	Reportes de Morbillivirus (virus de distemper canino y virus de distemper focino), <i>Brucella</i> spp., <i>Toxoplasma gondii</i> y <i>Leptospira</i> spp. en pinnípedos	15
2	Especies del género Brucella y sus hospederos principales	17
3	Ejemplos de algunas serovariedades de <i>Leptospira</i> y sus hospederos preferentes	19
4	Títulos de anticuerpos de <i>Leptospira</i> spp. reportados en pinnípedos	26
5	Prevalencia específica (π) del virus del distemper canino (CDV), <i>B. canis, Brucella</i> spp., <i>Leptospira</i> spp. y <i>T. gondi</i> calculadas a partir de muestras de crías de lobo fino de Guadalupe colectadas en el verano de 2014	35
6	Número de reactores positivos a exposición (y) y prevalencia (π) de diferentes serovariedades de <i>Leptospira</i> calculada a partir de 46 muestras de crías de lobo fino de Guadalupe colectadas en el verano de 2014	38
7	Comparación de la prevalencia de las tres serovariedades de Leptospira detectadas en 46 crías de lobo fino de la Isla Guadalupe en agosto de 2014	38
8	Prevalencia (π) de <i>Leptospira</i> spp. calculada a partir de muestras de crías de lobo fino colectadas en tres localidades de la Isla Guadalupe en el verano de 2014	39
9	Comparación de la prevalencia de <i>Leptospira</i> spp. entre localidades de la Isla Guadalupe	39
10	Probabilidad de detectar reactores positivos (P) a los cuatro agentes patógenos evaluados en la colonia de lobo fino de Guadalupe	41

1 Introducción

1.1 Enfermedades Infecciosas Emergentes en Mamíferos Marinos

En la actualidad existen un gran número de amenazas a la biodiversidad resultado de cambios antropogénicos, tales como la fragmentación y pérdida de hábitat, el cambio climático global, la sobreexplotación de recursos, la contaminación del ambiente y la invasión de especies (Wilcove et al., 1998). Esta modificación continua del ambiente ha favorecido la introducción de patógenos en ecosistemas donde antes no se encontraban, incrementado la frecuencia de enfermedades infecciosas emergentes (EIE) (Harvell et al., 1999; Arrivillaga y Caraballo, 2009). Recientemente se han reportado EIE en tasas inusualmente altas en poblaciones en vida silvestre (Harvell et al., 1999, 2002; Epstein, 2001; Smith y Carpenter, 2006), que representan una seria amenaza para la conservación (Smith et al., 2009).

Las EIE son provocadas por parásitos o patógenos que incrementan su incidencia, distribución geográfica y gama de hospederos (Smith y Carpenter, 2006). Alrededor del 80% de los patógenos de animales domésticos puede infectar a organismos silvestres (Cleaveland et al., 2001), por lo que la introducción de flora y fauna exóticas es un factor importante en la aparición de EIE (Daszak et al., 2000). La emergencia de las enfermedades está asociada con la interacción de los patógenos zoonóticos con sus hospederos, a través de un gradiente entre vida silvestre, animales domésticos y poblaciones humanas (Daszak et al., 2000). Así, a medida que el humano y los animales domésticos aumentan su distribución global se convierten en reservorios de patógenos compartidos con la vida silvestre (Lafferty y Gerber, 2002; Smith et al., 2009).

Los mamíferos marinos no están exentos de este problema y la presencia de agentes patógenos de ambientes terrestres en mamíferos marinos costeros se ha incrementado en los últimos años debido a la contaminación del medio marino desde el ambiente terrestre como resultado de cambios naturales recientes o por actividades humanas (Daszak et al., 2000). Miles de mamíferos marinos han muerto en las últimas décadas a

causa de infecciones causadas por virus y bacterias "nuevos", pero también por patógenos bien conocidos de mamíferos terrestres (Visser et al., 1993).

En las islas del Pacífico nororiental mexicano habitan cuatro especies de pinnípedos: dos otáridos, el lobo marino de California (Zalophus californianus) y el lobo fino de Guadalupe (Arctocephalus townsendi), y dos fócidos, el elefante marino del norte (Mirounga angustirostris) y la foca común del Pacífico (Phoca vitulina richardii). El lobo marino, el lobo fino y el elefante marino se encuentran tanto en islas costeras como oceánicas, mientras que la foca común es una especie que se distribuye en zonas costeras, áreas estuarinas e islas costeras, desde Islas Coronado en Baja California, hasta Isla Asunción en Baja California Sur (Maravilla-Chavez y Lowry, 1996; Perrin et al., 2009). A excepción de la foca común, los pinnípedos fueron cazados intensamente en el Pacífico nororiental desde finales del siglo XVIII y durante la mayor parte del siglo XIX (Townsend, 1931; Belcher y Lee Jr., 2002; Gifford-Gonzales et al., 2004). El lobo fino sufrió una drástica disminución durante la cacería comercial de pinnípedos, llevándolo casi a la extinción (Townsend 1931). Posterior a la cacería, la distribución del lobo fino quedó restringida a la Isla Guadalupe (Hubbs 1956), y a finales de la década de 1990 se reportó la colonización de las Islas San Benito, Baja California (Maravilla-Chávez y Lowry 1999).

Debido a la extirpación por cacería del lobo fino de Guadalupe de otras islas del Pacífico nororiental, como las Islas Farallón e Islas del Canal, EE.UU., y en las Islas Revillagigedo, México (Belcher et al., 2002), todos los individuos actualmente vivos de esta especie son descendientes recientes de la colonia madre de la Isla Guadalupe, a tal grado que no exhiben una estructuración genética (Bernardi et al., 1998). Estos individuos tienen una baja variabilidad del complejo mayor de histocompatibilidad, lo que los hace vulnerables a agentes patógenos nuevos (Weber et al., 2004).

La amenaza de patógenos nuevos puede venir especialmente de perros y gatos, ya que estos tienen una relación filogenética estrecha con los pinnípedos (Flynn et al., 2005), y la transmisión de enfermedades entre ambos grupos es viable. Ambas especies se han introducido a Isla la Guadalupe, pero la fecha precisa en que ello ocurrió por primera vez se desconoce. Las descripciones de la biota de la isla de principios del siglo XX

sugieren que no había perros ni gatos en ella. Sin embargo, existen registros de la presencia de perros desde el establecimiento del campamento pesquero en 1954 y de los gatos a partir de 1885 (Moran, 1996; Aguirre-Muñoz et al., 2013). En concordancia con lo anterior, realicé el presente estudio para evaluar la prevalencia de cuatro agentes patógenos comunes de estos carnívoros domésticos, virus del moquillo canino o distemper canino (CDV por sus siglas en inglés), *Brucella* spp., *Toxoplasma gondii* y *Leptospira* spp., en el lobo fino de Guadalupe.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Determinar la presencia y prevalencia de cuatro agentes patógenos comunes en perros y gatos en la colonia de lobo fino de la Isla Guadalupe, Baja California, México.

1.2.2 Objetivos particulares

- Calcular la prevalencia del virus del distemper canino (CDV), Brucella spp., Leptospira spp. y Toxoplasma gondii a partir de muestras sanguíneas de crías de lobos finos de la Isla Guadalupe.
- 2. Evaluar las diferencias en la prevalencia de cada agente patógeno entre localidades geográficas de la Isla Guadalupe y entre géneros.
- 3. Determinar la probabilidad de que la colonia este libre de los patógenos.
- 4. Inferir posibles medios de transmisión de los agentes patógenos CDV, *Brucella* spp., *Leptospira* spp. *y Toxoplasma gondii* a los lobos finos de la Isla Guadalupe.

1.3 Hipótesis

Dado que perros y gatos han sido introducidos a la Isla Guadalupe, los cuales guardan una relación filogenética con los pinnípedos y se sabe pueden interactuar, es posible que agentes patógenos comunes de estos carnívoros domésticos se hayan transmitido a los lobos finos de Guadalupe.

2 Antecedentes

2.1 El Lobo fino de Guadalupe

El lobo fino de Guadalupe es el único miembro del género *Arctocephalus* presente en el hemisferio norte (Belcher y Lee Jr., 2002) y pertenece a la familia Otariidae, contenida en el clado Pinnipedia dentro del Suborden Caniformia, Orden Carnívora (Fig. 1; Flynn et al., 2005; Eizirik y Murphy, 2009). Se trata de una especie poligínica que presenta un marcado dimorfismo sexual en etapa adulta (Riedman, 1990; Belcher y Lee Jr., 2002). Los machos llegan a medir en promedio 180 cm y pesar alrededor de 170 kg, mientras que las hembras alcanzan los 120 cm de largo y llegan a pesar entre 40 y 50 kg (Bonner, 1999). La temporada reproductiva se inicia en junio con los primeros nacimientos y termina a finales de julio; el máximo de nacimientos se ubica a mediados de julio (Fleischer, 1978; Gallo-Reynoso, 1994).

El lobo fino de Guadalulpe debe su nombre a la gruesa capa de pelo subyacente o pelusa debajo de una capa de pelo de guarda más grueso, la cual funciona para la termoregulación atrapando burbujas de aire y brindando una capa aislante en el agua (Belcher y Lee Jr., 2002). Es una especie poligínica moderada con establecimiento de territorios donde un macho es capaz de monopolizar entre 5 y 15 hembras. El nacimiento de las crías es entre junio y julio; la cópula es postparto, pero el embrión se implanta de forma diferida, alrededor de 4 meses después (Belcher y Lee Jr., 2002) por lo que la gestación dura alrededor de 8 meses. La lactancia dura entre 9 y 11 meses, periodo durante el cual las hembras hacen viajes de alimentación que duran en promedio 14 días, después de los cuales regresan a alimentar y atender a las crías por un promedio de 4 días, aunque pueden durar hasta 12 días, durante los cuales ayunan (Belcher y Lee Jr., 2002; Gallo-Reynoso et al., 2008). Si bien son generalistas, tienden a alimentarse principalmente de calamares y peces de la familia Myctophidae y Scombridae (Belcher y Lee Jr., 2002; Gallo-Reynoso et al., 2008).

Previo a la cacería, la especie se distribuía desde las Islas Revillagigedo, en México, hasta la Bahía de Monterey, en California (Starks, 1922; Townsend, 1924) (Fig. 2). Durante la cacería del siglo XIX sufrió una drástica disminución y en 1892 se le

consideró extinto (Wegeforth, 1928; Townsend, 1931; Bartholomew, 1950; Bartholomew y Hubbs, 1952). No hubo registros de avistamientos hasta 1928 y después, nuevamente hasta 1949, cuando algunos individuos se avistaron en las islas del sur de California (Bartholomew, 1950; Bartholomew y Hubbs, 1952). En 1954, se descubrió una colonia en la Isla Guadalupe, donde se contaron menos de 20 individuos (Hubbs, 1956).

Desde su redescubrimiento en 1954 y hasta mediados de la década de 1990, los lobos finos permanecieron confinados en la Isla Guadalupe, pero en 1997 se descubrió una pequeña colonia en las Islas San Benito (Maravilla-Chávez y Lowry, 1999) (Fig. 2). Gallo-Reynoso (1994) estimó el tamaño de la colonia de la Isla Guadalupe a principios de la década de 1990 en 7,000 individuos; para 2010 se reportó un tamaño poblacional de entre 14,000 y 17,000 individuos (García-Capitanachi, 2011; Esperón-Rodríguez y Gallo-Reynoso, 2012), y en la actualidad podrían haber alrededor de 35,000 individuos, de los cuales más de 5,500 son crías (García A.¹, com pers., junio 2015).

_

¹ Dra. María Concepción García Aguilar, Investigadora adjunta en el Departamento de Biología de la Conservación CICESE.

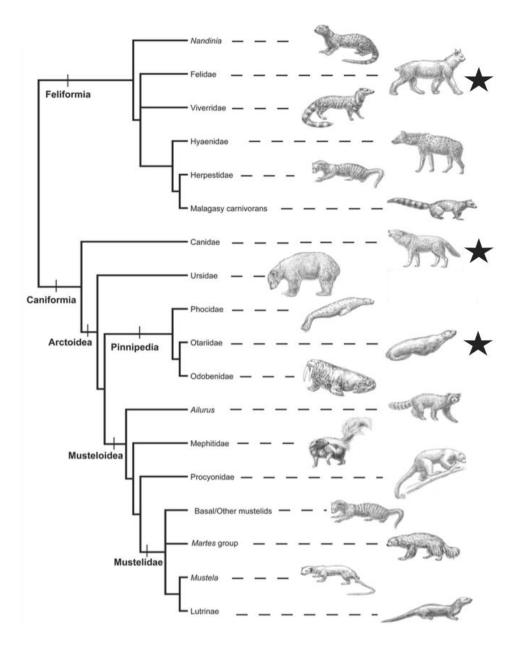


Fig. 1. Cladograma representativo del orden Carnivora indicando la posición de la familia Otariidae y su relación con taxones hermanos. Modificado de Flyn et al. (2005).

Por otra parte, la colonia de San Benito ha experimentado un incremento exponencial, pero su reproducción *in situ* es mínima (<10 crías/año) y dicho incremento poblacional se debe a la inmigración de animales de la colonia de la Isla Guadalupe (Aurioles-Gamboa et al., 2010; García-Capitanachi, 2011). Como todos los individuos de San Benito son descendientes recientes de la colonia de la Isla Guadalupe (Bernardi et al., 1998; Weber et al., 2004), se les considera como parte de la misma población (J. V. Carretta et al., 2009).

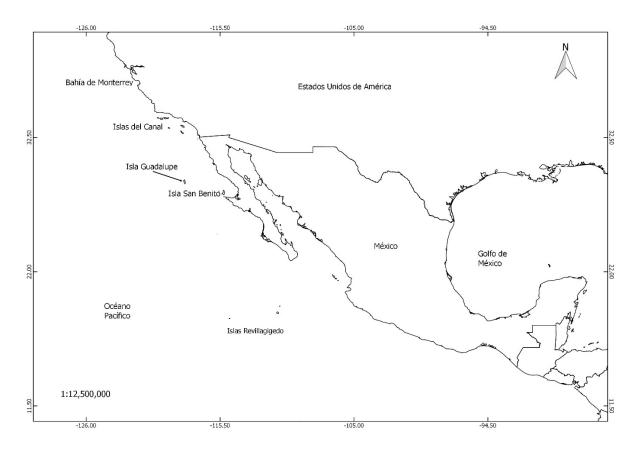


Fig. 2. Distribución histórica del lobo fino de Guadalupe, desde la Bahía de Monterey hasta las Islas Revillagigedo. Las zonas de reproducción y descanso actuales se encuentran únicamente en las islas Guadalupe y San Benito, ambas en la costa occidental de Baja California.

2.2 Estatus de protección nacional e internacional

El gobierno de México cataloga al lobo fino de Guadalupe como especie en peligro de extinción (SEMARNAT 2010) y está considerado como especie prioritaria para la conservación (D.O.F. 05/03/2014). A nivel internacional, está incluido en el Apéndice I de Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, por sus siglas en inglés, www.cites.org), considerado como especie casi amenazada por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés, www.iucn.org), como especie amenazada en la ESA (U. S. Endangered Species Act 1973, www.fws.gov) y la MMPA (U. S. Marine Mammals Protection Act 1972, www.nmfs.gov) considera al stock único de la especie como "stock estratégico".

2.3 Introducción de mamíferos en la Isla Guadalupe

La Isla Guadalupe se encuentra en el extremo más occidental y septentrional de México, a 260km al oeste de la Península de Baja California, entre los 28°52' y 29°11' de latitud Norte y los 118°21' y 118°13' de longitud Oeste (Moran, 1996) (Fig. 2), e históricamente ha sido un área de gran importancia para los pinnípedos de México. En ella hay colonias de tres de las cuatro especies que se encuentran en el país: el lobo marino de California, el lobo fino de Guadalupe y el elefante marino del norte (Townsend, 1924; Bartholomew y Hubbs, 1952).

La lejanía del continente mantuvo a la isla protegida de la influencia humana desde su descubrimiento en 1602 por el explorador Sebastián Vizcaíno hasta finales del siglo XVIII, cuando el apogeo de la caza comercial llevó a la isla a cazadores de pinnípedos rusos, ingleses y norteamericanos (principalmente lobos finos y elefantes marinos) y de nutrias (Townsend 1931; Bartholomew y Hubbs, 1952; Moran, 1996; Oberbauer, 2006). Además, barcos balleneros también utilizaban la isla en aquella época como punto de descanso durante sus travesías marítimas. El Campo Oeste y el Campo Sur (Fig. 3) fueron originalmente campamentos de cazadores de pinnípedos debido a su cercanía con las guarderías más abundantes de lobo fino. Del lado este de la isla, cerca del extremo sur, se localizaban las ruinas de otro campo de cazadores aleutianos, quienes fueron reclutados por empresarios norteamericanos a principios del siglo XIX (Moran, 1996).

En el tiempo de la cacería de mamíferos marinos (finales. XVIII a principios s. XX), los cazadores introdujeron cabras (*Capra hircus*) para proveerse de carne fresca durante sus estancias en la isla (Moran, 1996). No se sabe con exactitud cuándo fueron introducidas, pero uno de los registros más antiguos, de 1859, las menciona (Madden, 1949: Moran, 1996). Para 1870 la población de cabras se reportaba en más de 100,000 animales (Esperanza, 1874; Moran, 1996). La presencia de las cabras durante casi dos siglos tuvo un profundo impacto en la vegetación de la isla (Oberbauer, 2006), causando la extinción de varias especies vegetales (León de la Luz et al., 2003).

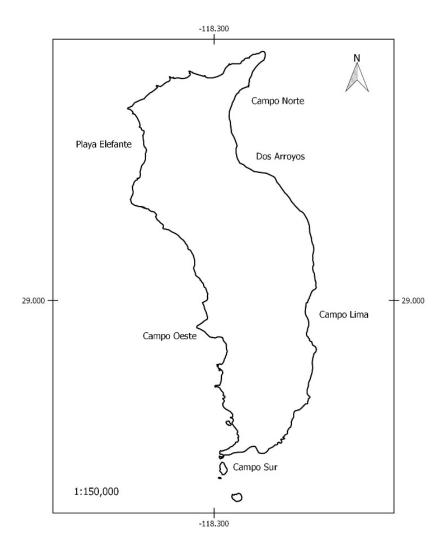


Fig. 3. Isla Guadalupe, Pacífico mexicano.

Además de las cabras, en 1875 llegaron los ratones domésticos (*Mus musculus*) y en 1885 se reportó la presencia de gatos domésticos (*Felis catus*); posteriormente la de perros (*Canis lupus familiaris*) (Moran, 1996). Estas introducciones derivaron del establecimiento de asentamientos humanos en la isla. A principios del siglo XX, durante el Porfiriato, se estableció una prisión militar y un destacamento de 40 militares en el Campo Norte (Fig. 3) (Santos del Prado y Peters, 2005). Actualmente este destacamento está abandonado y la Secretaría de Marina, 2da Region Naval Militar del Pacífico Norte en Ensenada, tiene su base en el Campo Sur. En 1954 se estableció un campamento pesquero formal, el Campo Oeste, y con ellos llegaron los perros (Aguirre-Muñoz et al., 2009; Aguirre-Muñoz et al., 2013).

La presencia de los carnívoros domésticos contribuyó al deterioro y pérdida de biodiversidad de la isla. Varias especies de aves endémicas como el caracara de Guadalupe (*Caracara lutosus*), el petrel de Guadalupe (*Oceanodroma macrodactyla*), el carpintero de pechera de Guadalupe (*Colaptes auratus rufipileus*), el chivirín cola oscura de Guadalupe (*Thryomanes bewickii brevicauda*), el reyezuelo rojo de Guadalupe (*Regulus calendula obscurus*), el toquí pinto de Guadalupe (*Pipilo maculatus consobrinus*) se extinguieron por acción directa o indirecta de estos depredadores (Jehl, 1972; Jehl y Everett, 1985; Mellink y Palacios, 1990).

Aunado a los efectos directos que las especies invasoras pueden tener sobre los ecosistemas insulares por depredación, competencia o modificación del hábitat, también son capaces de alojar y dispersar parásitos y patógenos antes no presentes en estos ecosistemas (Daszak et al., 2000; Smith et al., 2006; Medina-Vogel, 2010; Aguirre-Muñoz, 2011). En los últimos años se han realizado esfuerzos de erradicación con el fin de extirpar a las especies invasoras: en 2007 se erradicó a los perros y en 2010 a las cabras (Aguirre-Muñoz et al., 2013), aunque los ratones y gatos permanecen en la isla.

2.4 Introducción de especies y enfermedades infecciosas emergentes

La introducción de especies es una de las causas documentadas más importantes de extinciones y pérdida de hábitats en países como Australia, Nueva Zelanda, Canadá y zonas portuarias de Estados Unidos, entre otros (Vitousek et al., 1996). La introducción de patógenos puede tener un efecto similar (Daszak et al., 2000), aunque hasta hace unas décadas las enfermedades infecciosas no habían sido consideradas como factores importantes en la extinción de especies debido a la falta de información histórica referente a patógenos relacionados con eventos de extinción, así como a la poca precisión en la información existente (Smith et al., 2006; Smith et al., 2009). Smith et al. (2006) reportan que hacia finales del s. XIX se sugiere por primera vez la importancia de una EIE como uno de los agentes causales de extinción de cuatro especies de aves, todas del género *Akialoa*. Sin embargo, no es sino hasta principios del s. XX, cuando se generan importantes avances en el diagnóstico de enfermedades,

que se comienzan a desarrollar los primeros estudios para la detección enfermedades infecciosas en vida silvestre (Smith et al. 2006).

En la actualidad, la contribución de las EIE como factor de riesgo de extinción pudiera seguir estando subestimada (Smith et al. 2009). Por ejemplo, Pedersen et al. (2007) mencionan que en menos de la mitad (39%) de los artiodáctilos, carnívoros y primates considerados en peligro de extinción o en peligro crítico en la versión 2006 de la Lista Roja de la UICN se había evaluado la presencia de patógenos en poblaciones silvestres, y Smith et al. (2006) sugieren que al menos el 3.7% de las 833 extinciones animales ocurridas en los últimos 500 años pueden estar relacionadas con enfermedades infecciosas, aunque siempre asociadas con otros factores de amenaza como cuellos de botella genéticos, presencia de reservorios y especies invasoras, fragmentación o deterioro del hábitat y contaminación, entre otros (Smith et al., 2006).

La emergencia de enfermedades infecciosas en animales en vida silvestre se remonta a las primeras colonizaciones humanas en todo el mundo, cuando los patógenos exóticos fueron diseminados a aquellos sitios a donde el humano llegaba. El movimiento de animales domésticos, ganado y polizontes (e. g., ratas y ratones) introdujeron su propia gama de patógenos (Daszak et al., 2000). Aquellos patógenos o parásitos que logran establecerse con las especies invasoras tienen un alto potencial de contagiar a la fauna nativa (Lyles y Dobson, 1993; Smith y Carpenter, 2006), afectando a las poblaciones locales, alterando la dinámica de las comunidades y reduciendo la distribución de las especies afectadas (Daszak et al., 2000). Cuando existe una relación evolutiva cercana entre los reservorios y los organismos silvestres, el riesgo de extinción de la población infectada aumenta considerablemente ya que las poblaciones que se enfrentan a nuevos patógenos muchas veces son inmunológicamente "ingenuas"; es decir, que su sistema inmune no tiene medios para reconocerlos (Smith et al., 2009). Adicionalmente, si los patógenos tienen reservorios donde pueden permanecer viables, la amenaza por EIE es más probable (Smith et al., 2009). Cuando se trata de patógenos capaces de infectar a múltiples hospederos (patógenos generalistas), la amenaza se incrementa (Pedersen et al., 2007). En ciertos casos, los individuos que sobreviven a la infección se convierten en reservorios, ocasionando la prevalencia de la enfermedad en la población a través del tiempo (Aguirre, 2009).

La introducción de patógenos exóticos en poblaciones silvestres puede tener efectos significativamente negativos tanto a nivel poblacional (e. g. aumento en la tasa de mortalidad), como a nivel individual (e. g. impactos negativos en la adecuación) (Pedersen et al., 2007). Cuando la transmisión del patógeno dentro de una población es denso-dependiente no llevará a sus hospederos a la extinción, ya que la densidad poblacional disminuirá hasta un punto crítico bajo el cual la enfermedad no persiste (Smith et al., 2009). Por otra parte, muchos patógenos son transmitidos en función a la frecuencia de individuos infectados y por lo tanto no dependen de la densidad poblacional de la especie afectada (Smith et al., 2009). Éste es el caso de aquellos patógenos que dependen de vectores para su transmisión, por lo que su prevalencia puede incrementarse inclusive en densidades poblacionales del receptor bajas (Thrall et al., 1993; Boots y Sasaki, 2003). Cuando las poblaciones del hospedero están estructuradas espacialmente debido a territorialidad o interacciones sociales, la transmisión puede obedecer a un modelo frecuencia-dependiente (O'Keefe y Antonovics, 2002).

Aparte de la influencia antropogénica y la aparición de patógenos "nuevos", el impacto de las enfermedades puede ser influenciado por factores genéticos, particularmente cuando existe endogamia o las poblaciones han sufrido cuellos de botella intensos (Spielman et al., 2004) Por ejemplo, en los demonios de Tasmania (*Sarcophilus harrisii*) existe poca diversidad genética debido a un cuello de botella seguido por un período de endogamia intensa, lo que pudo provocar una elevada tasa de contagio de la enfermedad del tumor facial del diablo que causó una reducción poblacional de hasta el 90% (Siddle et al., 2007). Por otra parte, los individuos endogámicos pueden actuar como fuentes de "entrada" para nuevos patógenos o actuar como reservorios para hospederos inmunológicamente ingenuos (Smith et al., 2009). Por ejemplo, durante un brote de distemper en el Mediterráneo entre 1990 y 1992 los primeros delfines listados (*Stenella coeruleoalba*) en ser infectados fueron los más endogámicos y aquellos que murieron durante la última fase de la epidemia no lo eran, sugiriendo que los individuos endogámicos facilitaron la transmisión del virus al resto de la población (Valsecchi et al., 2004).

2.5 Enfermedades infecciosas emergentes en pinnípedos

Entre los patógenos de origen terrestre más comúnmente encontrados en pinnípedos en vida libre sobresalen el virus del distemper canino (CDV), *Brucella* spp., *Leptospira* spp. y *Toxoplasma gondii* (Visser et al., 1993; Higgins 2000) (Tabla 1). Entre los vectores asociados con el riesgo de transmisión de patógenos terrestres a mamíferos marinos, destacan los perros (en el caso del CDV, *Brucella* y *Leptospira*) y gatos (*T. gondii*, *Leptospira* spp. y en algunos casos *Brucella* spp.) (Greene y Addie, 1993; Kennedy et al., 2000; Godfroid, 2002; Norman et al., 2008; Holderness-Roddam, 2011; Tryland et al., 2012; Hughes y Macdonald, 2013; Carlson-Bremer et al., 2015).

El CDV es el agente causante del moquillo y pertenece al género *Morbillivirus*, que incluye virus altamente contagiosos que poseen la habilidad de infectar diferentes hospederos (Viana et al., 2015). Es un virus de la Familia Paramyxoviridae, cercanamente emparentado con el virus del sarampión y el de la peste bovina (Greene y Appel, 1993). El virus es relativamente largo (150-250nm), con una cadena sencilla de RNA y membrana de lipoproteínas (Greene y Appel, 1993). Se distribuye en todo el mundo y ha sido reportado en todas las familias del Orden Carnívora y en algunas especies de primates no homínidos (Viana et al., 2015).

Antes de 1987 no se habían registrado infecciones de *Morbillivirus* en el medio acuático, pero a finales de ese año se reportó la mortalidad masiva de focas del lago Baikal (*Pusa sibirica*) y se confirmó que el CDV era el agente causante (Grachev et al., 1989; Osterhaus et al., 1988). En el 2000 se reportó la mortalidad de más de 10,000 focas cáspicas (*Pusa caspica*) y nuevamente se identificó al CDV como el agente causal (Kuiken et al., 2006). En abril de 1988 murieron más de 17,000 focas comunes (*P. vitulina*) y cientos de focas grises (*Halichoerus grypus*) en el noroeste de Europa (Heide-Jorgensen et al., 1992; Visser et al., 1993). Inicialmente se sospechó del CDV o un virus relacionado como agente causante de las muertes (Kennedy et al., 1988; Osterhaus et al., 1988). Sin embargo, análisis posteriores mostraron que el agente causante de esta segunda mortalidad fue un *Morbillivirus* diferente, denominado virus del distemper focino (PDV, por sus siglas en inglés) (Cosby et al., 1988; Mahy et al.,

1988; Osterhaus y Vedder, 1988). En años recientes el *Morbillivirus* se ha reportado en al menos siete especies de pinnípedos (Tabla 1).

La brucelosis es una enfermedad causada por *Brucella*, una bacteria gram negativa, inmóvil y aerobia estricta, de crecimiento lento que no posee cápsulas ni forma esporas (Castro et al., 2005). Con base en el aspecto de las colonias en medio sólido se les clasifica como brucelas lisas o rugosas, aspecto debido a la expresión del lipopolisacárido LSP en la superficie bacteriana (Castro et al., 2005). Hasta la década de 1990 y tomando como referencia a los principales hospederos, se reconocían seis especies de *Brucella*: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. sius*, *B. neotomae*, *B. canis* y *B. ovis* (Castro et al., 2005), y recientemente se ha aislado una nueva especie, denominada *B. microti* (Scholz, 2008; Scholz et al., 2008)(Tabla 2).

En 1994 se presentaron los primeros reportes de *Brucella* spp. en mamíferos marinos (Ross et al., 1994). El modo de transmisión de la brucelosis en los mamíferos marinos no está bien establecido, pero en cetáceos se ha sugerido que la infección puede dispersarse horizontalmente a través del contacto sexual o por el contacto con fetos y tejidos placentarios infectados (Guzmán-Verri et al., 2012; Thakur et al., 2012); también puede haber transmisión vertical de madre a feto *in utero*, o a través de la leche materna (González-Barrientos et al., 2010; W. G. Miller et al., 1999). En pinnípedos, las formas de transmisión son menos conocidas, pero el contacto cercano en las playas podría favorecer la transmisión de manera semejante a como sucede en mamíferos terrestres (Thakur et al., 2012; Hernández-Mora et al., 2013). También se ha sugerido que la exposición a *Brucella spp.* en pinnípedos está asociada a la presencia del nemátodo parásito del género *Parafilaroides* en los peces de los que se alimentan (Garner et al., 1997; Foster et al., 2002; Lynch et al., 2011).

Tabla 1. Reportes de Morbillivirus (virus de distemper canino y virus de distemper focino), *Brucella* spp., *Toxoplasma gondii* y *Leptospira* spp. en pinnípedos. Referencias: 1- Zarnke et al. (2000), 2- Van Pelt y Dieterich (1973), 3- Dubey et al. (2003), 4- Measures et al. (2004), 5- Visser et al. (1993), 6- Higgins (2000), 7- Clavareau et al. (1998), 8- Foster et al. (2007), 9- Forbes et al. (2000), 10- Tryland et al. (2005), 11- Grachev et al. (1989), 12- Osterhaus et al., (1988), 13- Mamaev et al. (1996), 14- Kuiken et al. (2006), 15- Maratea et al. (2003), 16- Foster et al. (2002), 17- Osterhaus y Vedder (1988), 18- Hernández-Mora, et al. (2013) 19- Blank et al. (2002), 20- Rengifo-Herrera et al. (2012), 21- Colegrove et al. (2005), 22- Serrano de la Vega (2014), (23)- Smith, et al. (1977), 24- Lynch et al. (2011), 25- Mackereth et al. (2005), 26- Duignan (1999), 27- Duignan (2000), 28- Duignan et al. (2003), 29- Vedros et al. (1971), 30- Smith et al. (1974), 31- Dierauf et al. (1985), 32- Gulland et al. (1996), 33- Colagross-Schouten et al. (2002), 34- Barrett et al. (2004), 35- Goldstein et al. (2009), 36- Godínez et al. (1999), 37- Acevedo-Whitehouse (2003), 38- Burek et al. (2003), 39- Burek et al. (2005), 40- Ohashi y Kai (2000), 41- Calle et al. (2002).

Familia/Especie	Morbillivirus	Brucella spp.	Leptospira spp.	Toxoplasma gondii	Referencias
Phocidae					
Phoca vitulina	X	X	Χ	Χ	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8
Phoca larga				Χ	3
Pusa hispida		X		X	3, 9, 10
Pusa sibirica	X	X			5, 6, 11, 12, 13
Pusa caspica	X				14
Pagophilus groenlandicus		X			9, 15
Cystophora cristata		X			6, 7, 10, 16
Erignatus barbatus				X	3
Halichoerus grypus	X	X			7, 17, 18
Leptonychotes weddellii			Х	X	19, 20
Mirounga leonina				X	20
Mirounga angustirostris			X		21, 22

Tabla 1. Continuación.

Familia/Especie	Morbillivirus	Brucella spp.	Leptospira spp.	Toxoplasma gondii	Referencias
Otaridae					
Callorhinus ursinus			X		6, 23
Arctocephalus gazella		X		X	19, 20
Arctocephalus pusillus		X			24
Arctocephalus forsteri	Χ		Χ		25, 26, 27
Phocarctos hookeri	X				26, 27, 28
Zalophus californianus		X	X		29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37
Eumetopias jubatus	X	X	X	X	38, 39, 40
Odobenidae					
Odobenus rosmarus			X		41

A partir de los reportes de *Brucella* en mamíferos marinos, a finales de la década de 1990 se propuso una nueva especie, *B. maris* (Jahans et al., 1997), que unos años más tarde se separó en dos especies en función de sus hospederos principales: *B. cetis* (cetáceos) y *B. pinnipedialis* (pinnípedos) (Foster et al., 2007) (Tabla 2). Esta última ha sido aislada en cinco especies de fócidos: la foca capuchina (*Cystophora cristata*) (Foster et al., 2002; Tryland et al., 2005) la foca anillada (*Pusa hispida*) (Forbes et al., 2000; Tryland et al., 2005), la foca arpa (*Pagophilus groenlandicus*) (Forbes et al., 2000; Maratea et al., 2003), la foca gris (*Halichoerus grypus*) (Hernández-Mora et al., 2013) y la foca común (*Phoca vitulina*) (Foster et al., 2007), y un otárido, el lobo marino de California (*Zalophus californianus*) (Goldstein et al., 2009). La infección de *Brucella* spp. ha sido reportada en al menos 10 especies de pinnípedos (Tabla 1), causa bronconeumonía y se cree puede provocar abortos (Lynch et al., 2011).

Tabla 2. Especies del género Brucella y sus hospederos principales. Fuente: OIE (2015).

Especie	Morfología de la	Hospederos principales	
	colonia		
B. melitensis	Lisa	Ovejas y cabras	
B. abortus	Lisa	Vacas y otros bovinos	
B. sius	Lisa	Biovariedad 1: cerdo	
		Biovariedad 2: cerdo y liebre	
		Biovariedad 3: cerdo	
		Biovariedad 4: reno	
		Biovariedad 5: roedores silvestres	
B. neotomae	Lisa	Rata magueyera (Neotoma lepida)	
B. canis	Rugosa	Perros	
B. ovis	Rugosa	Ovejas	
B. microti	Lisa	Topillo campesino (Microtus arvalis)	
B. ceti	Lisa	Cetáceos	
B. pinnipedialis	Lisa	Pinnípedos	

La leptospirosis es causada por la espiroqueta *Leptospira*, de la familia Leptospiraceae, orden Spirochaetales (Adler y de la Peña, 2010). Es una bacteria de alta movilidad y aerobia obligada (Bharti et al., 2003). El género *Leptospira* está distribuido globalmente (Cameron et al., 2008) y puede afectar a una amplia gama de hospederos, aunque solamente los mamíferos pueden transmitirla. La enfermedad se ha reportado en varias especies de pinnípedos (Tabla 1), y desde la década de 1970 se han reportado varios eventos epizoóticos en lobos marinos de California (Cameron et al., 2008). Esta enfermedad puede causar abortos y muerte de neonatos y animales adultos (Smith et al., 1974; Norman et al., 2008).

El género *Leptospira* se divide en alrededor de 20 especies (Barthi et al., 2003), que se clasifican en tres grupos (Cerqueira y Picardeau, 2009): 1) Grupo patogénico: *L. interrogans, L. kirshneri, L. noguchi, L. borgpetersenii, L. santarosai, L. alexanderi, L. alstonii*; 2) Grupo intermedio: *L. wolfii, L. licerasiae, L. inadai, L. fainei, L. broomii,* y 3) Grupo no patogénico: *L. kmetyi, L. wolbachii, L. meyeri, L. biflexa, L. vanthieli, L. terpstrae, L. yanagawae.* En la actualidad se reconocen más de 200 serovariedades agrupadas en 23 serogrupos (Xue et al., 2009). Las serovariedades demuestran especificidad, pero no exclusividad, por los hospederos preferentes (Tabla 3).

Toxoplasma gondii o "protozoarios parecidos a T. gondii" se han reportado en tejidos de mamíferos marinos desde hace 50 años (Ratcliffe y Worth, 1951), incluyendo ocho especies de pinnípedos (Tabla 1). Los felinos son los únicos hospederos conocidos en donde se desarrolla el ciclo sexual de T. gondii, mientras que una gran amplitud de vertebrados de sangre caliente son hospederos intermedios (vectores) en los que se desarrolla la fase asexual (Tenter et al., 2000).

Aún se desconoce el mecanismo de infección de *T. gondii* en los mamíferos marinos, pero se ha sugerido que deriva de la descarga proveniente del drenaje, tormentas o residuos de aguas utilizadas en la agricultura conteniendo oocitos transferidos por felinos domésticos o asilvestrados (Bandoli y de Oliveira 1977 citado por Measures et al. 2004; Miller et al., 2002). Aquellas áreas en la costa con mayor densidad poblacional o escorrentía son donde se ha observado una mayor incidencia de estos casos, y se ha sugerido inclusive que los oocistos con capaces de entrar en la cadena alimenticia

marina a través de moluscos (Miller et al., 2002; Arkush et al., 2003; Dubey, 2004; Measures et al., 2004; Conrad et al., 2005; Miller et al., 2008; Jensen et al., 2010; Mazzillo et al., 2013). Debido a que es posible la transmisión vertical a través de la placenta y la leche, es probable que la presencia de *Toxoplasma* pudiera llegar a afectar las tasas de natalidad de los mamíferos marinos al asociarse a encefalitis, problemas congénitos y abortos (Dubey et al., 2003; Measures et al., 2004).

Tabla 3. Ejemplos de algunas serovariedades de Leptospira y sus hospederos preferentes.

Especie	Serovariedad	Hospederos	Referencias
L. interrogans	Autumnalis	Rata, ratón mapache	Greene et al. (1993)
	Bataviae	Rata, ratón, cánidos	Greene et al. (1993)
	Bratislava	Ratas, cerdos,	Boldi (2003); Greene
		caballos	et al. (1993)
	Canicola	Cánidos	Greene et al. (1993)
	Hardjo	Bovinos, ovinos	Boldi (2003); Greene
			et al. (1993)
	Icterohaemorragiae	Ratas	Greene et al. (1993)
	Palo Alto	Ratas	Luna et al. (2008)
	(icterohaemorragiae)		
	Pomona	Bovinos, cerdos, lobos	Greene et al. (1993)
		marinos	
	Portland-vere (canicola)	Cánidos	Luna et al. (2008)
	Pyrogenes	Bovinos	Céspedes (2005)
	Wolfii	Murciélagos	Boldi (2003);
			Reitstetter (2006)
L. kirshneri	Grippotyphosa	Ratón, mapaches,	Boldi (2003);
		marsupiales, bovinos,	Céspedes (2005)
		focas	
L. borgpetersenii	Tarassovi	Cerdos	Boldi (2003);
			Céspedes (2005)

3 Materiales y métodos

3.1 Área de estudio

La Isla Guadalupe (ver figuras 2 y 3) tiene una longitud en sentido norte-sur de 35km con un ancho máximo de 12km, comprendiendo una superficie total de 250km²; en el extremo sur se encuentran tres islotes: Adentro (o Isla Toro), Afuera y El Zapato (Moran, 1996; León de la Luz et al., 2003). Es un cuerpo volcánico desarrollado sobre la dorsal meso-océanica del Pacífico oriental. Presenta al norte una caldera, el Monte Augusta (1300 msnm), con un diámetro de 10km; en la parte meridional hay una zona de fracturamiento, el Monte Esther, a partir de la cual aparecen con mayor frecuencia centros volcánicos y una estructura de caldera, el Monte Picacho, similar a la de la parte norte pero cuya actividad aparentemente es más reciente (Delgado-Argote et al., 1993).

El clima es árido a semiárido con régimen de lluvias en invierno. La temperatura ambiente muestra un patrón estacional con máximo durante el mes de septiembre (21±1.2°C) y mínimo en enero-marzo (15±1.7°C); la temperatura ambiente promedio para el periodo 2000-2002 fue de 17.2±2°C (Castro et al. 2005 en Santos del Prado y Peters, 2005). Los vientos dominantes son del noroeste, con eventos poco frecuentes de vientos provenientes de regiones continentales o del Pacífico sur; la magnitud del viento muestra una variación estacional definida con los valores más intensos en primavera (7±2 m/s) y los mínimos en invierno (2.6±2 m/s) (Castro et al. 2005 en Santos del Prado y Peters, 2005).

La población humana se ubica en dos campamentos: el Campo Sur, localizado en el extremo sur, que alberga permanentemente a miembros del destacamento de la Secretaría de Marina Armada de México, y el Campo Oeste, ubicado en la costa oeste, en donde de septiembre a junio viven familias de pescadores de la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera de Participación Estatal Abuloneros y Langosteros, S. C. L.

3.2 Trabajo de campo

El trabajo de campo se realizó a finales de la temporada reproductiva del lobo fino de Guadalupe, del 6 al 17 de agosto de 2014. Los lobos finos se localizan exclusivamente en la costa este de la isla (Fleischer, 1978; Gallo-Reynoso, 1994; obs. pers.) y se eligieron tres sitios para el muestreo: Campo Sur, Campo Lima y Dos Arroyos (ver Fig. 3). Se capturaron y muestrearon 46 crías (24 hembras y 20 machos; dos indeterminados): 14 en Campo Sur, 17 en Campo Lima y 15 en Dos Arroyos.

Las crías se capturaron y contuvieron manualmente, sin usar anestesia. El manejo y manipulación de los animales se realizó conforme a protocolos estandarizados para manejo fauna silvestre (Anónimo 2006). El tiempo total de manejo de las crías fue de entre 15 y 20min. De cada cría capturada se extrajo una muestra de sangre de entre 3 y 5 ml de la vena caudal glútea (Fig. 4), utilizando jeringas de 5ml (22G x 32 mm). Las muestras de sangre se transfirieron a tubos Vacutainer® (Becton Dickinson and Company, USA) de tapa dorada, con agentes coagulantes y gel de polímeros para separar el suero. Las muestras se guardaron en campo a la sombra en una bolsa térmica con gel frío por un máximo de 4 a 5 horas. Posteriormente, se centrifugaron por 25min a 2,500xG (centrífuga VanGuard V6500, Quest Diagnostics) para la obtención del suero, que se almacenó en un congelador casero hasta su traslado de la Isla Guadalupe al CICESE. Las muestras de suero permanecieron congeladas a -20°C en el Departamento de Biotecnología Marina hasta su análisis.

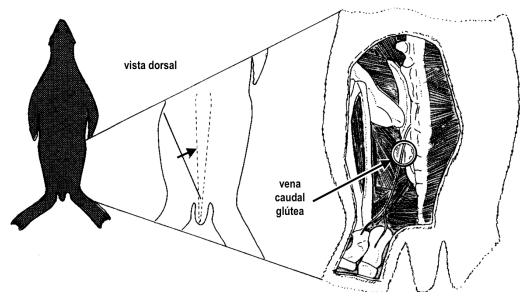


Fig. 4. Sitio de colecta de sangre en otáridos (vena glútea). Tomado de Geraci y Lounsbury (2005).

3.3 Análisis clínicos

Se realizaron pruebas serológicas para la determinación de los agentes patógenos. Para la determinación de la presencia del CDV y *Brucella canis* se realizaron pruebas rápidas cualitativas de ELISA en un laboratorio veterinario comercial (Laboratorio Avellaneda, México D.F.). Adicionalmente se realizaron tres pruebas cuantitativas consecutivas para la detección de *Brucella* spp. en el Laboratorio del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali. La detección de 11 serovariedades de *Leptospira* se realizó con la prueba de aglutinación microscópica (MAT por sus siglas en inglés) en el Laboratorio de *Leptospira* del Centro Nacional de Investigaciones en Microbiología Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (México D. F.). Para *Toxoplasma gondii* se realizó una prueba de quimioluminiscencia en un laboratorio veterinario comercial (Laboratorio AIMSA, México D.F.).

3.3.1 Detección del virus del distemper canino (CDV) y Brucella canis

Aunque tradicionalmente se han realizado pruebas ELISA cuantitativas para la detección de títulos de anticuerpos de estos patógenos en mamíferos marinos (Zarnke et al., 2006; Lynch et al., 2011), la prueba rápida es una forma fácil y accesible de diagnosticarlos. Para la detección cualitativa de antígenos del CDV y anticuerpos de B. canis se utilizaron pruebas rápidas de inmunoensayo cromatográfico (paquete de prueba rápida Anigen para antígeno de CDV Ag y paquete de prueba rápida Anigen para anticuerpos contra C. Brucella Ab; Laboratorios BioNote, Inc., respectivamente). Estas pruebas pueden ser utilizadas con muestras de conjuntiva, orina, suero o plasma para CDV, y con muestras de sangre completa, suero o plasma para B. canis. Se utilizan anticuerpos de CDV y antígenos de B. canis altamente selectivos para capturar y detectar los antígenos y anticuerpos en el ensayo con un alto grado de exactitud; la prueba resulta positiva solo cuando hay suficientes antígenos y anticuerpos en la muestra. En el caso del CDV, debido a la naturaleza de la prueba y su sensibilidad (ver glosario y sección 3.4.5), no es posible detectar niveles bajos de antígeno en suero sanguíneo; sin embargo, la prueba está diseñada para la detección de las glicoproteínas de fusión (proteína F1 y F2) que forman parte de la envoltura viral y es común para todas las cepas de *Morbillivirus* (Meyer y Diallo, 1995; Pringle, 1991).

3.3.2 Detección de Brucella spp. (cepas lisas)

Para la detección de *Brucella* spp. se hicieron consecutivamente las pruebas de Rosa de Bengala (RB), Rivanol y la prueba de Fluorescencia Polarizada (FPA por sus siglas en inglés). La prueba RB es una prueba de aglutinación en placa que permite sondear las muestras en búsqueda de reactores positivos o sospechosos y de la que se parte para realizar otras pruebas de confirmación. Se fundamenta en la inhibición de las aglutininas inespecíficas y es capaz de detectar anticuerpos IgG e IgM (Senasa y Oie, 2009). Se utiliza un antígeno tamponado² de *B. abortus*, el cual es efectivo para detectar también otras cepas cuya membrana celular contenga lipopolisacáridos del tipo liso, como las cepas marinas (Mackereth et al., 2005; Foster et al., 2007; Meegan et al.,

² Antígeno tamponado: antígeno de pH bajo preparado con células muertas, solución salina fenicada y la tinción de Rosa de Bengala.

2010; Roe et al, 2010). Las muestras de suero y el antígeno se usan a temperatura ambiente. La prueba es muy sensible y puede reaccionar también en presencia de impurezas, hemólisis y otras bacterias como *Yersinia enterocolitica, Escherichia coli* y *Salmonella* (Thakur y Saini, 2012), por lo que la calidad de la muestra es esencial para obtener buenos resultados.

La prueba de precipitación con rivanol permite separar los anticuerpos IgG de los IgM. Se trata de una prueba confirmatoria de la prueba RB. El rivanol es un colorante de acridina capaz de sedimentar los anticuerpos de tipo IgM, los cuales predominan en caso de infección primaria o exposición, dejando solo los de tipo IgG, que corresponden a una respuesta humoral secundaria debido a infección crónica o aguda (Díaz-Aparicio et al., 2000). Finalmente, se realizó la prueba de FPA, que es ampliamente usada en el diagnóstico presuntivo de brucelosis en bovinos, porcinos, caprinos, ovinos, ciervos y bisontes (OIE, 2015). Para esta prueba se utilizó un Analizador de Polarización Fluorescente (Sentry 200 by Ellie Diachemik) y una computadora con puerto USB. Con base en el análisis de la muestra y de un conjugado antígeno-sustrato fluorescente se determina si el resultado es positivo o negativo conforme a los valores de referencia.

3.3.3 Detección de *Leptospira* spp.

La prueba de MAT es la prueba diagnóstica más utilizada y de mayor validez diagnóstica para el sondeo de *Leptospira* spp. (Luna et al., 2008). La técnica utiliza antígeno vivo y puede ser de serovariedad específica, por lo que se utiliza también para serotipificación de diferentes serovariedades (cepas) (Bharti et al., 2003; Luna et al., 2008). El procedimiento consiste en realizar diluciones dobles a las muestras comenzando con 1:50 hasta observar 50% de aglutinación. Se mezcla el cultivo de la serovariedad que se está buscando en varias diluciones de suero sanguíneo con suero fisiológico en una placa de pozos por organismo. Las placas se incuban y después se examinan a través de un microscopio de campo oscuro (120x) para detectar aglutinación en la superficie.

El título de punto final se define como la dilución de suero que muestra un 50% de aglutinación, dejando libres un 50% de las células en comparación con un cultivo control diluido a la mitad en solución salina tamponada con fosfato (OIE, 2015). Las diluciones típicamente van de 1:25 a 1:400 o más, según la sensibilidad de la prueba. Un título de 1:100 se considera positivo a los efectos del comercio internacional, pero dada la alta especificidad (ver glosario y sección 3.4.5) de la MAT, pueden tomarse títulos menores como indicio de exposición previa a *Leptospir*a spp. (OIE, 2015). En pinnípedos se han reportado títulos de anticuerpos que van desde 1:20 hasta 1:3200 con diferentes interpretaciones (Tabla 4). En este estudio las diluciones comenzaron en 1:50 y se consideraron como animales expuestos aquellos en cuyo suero se observó 50% de aglutinación o más a una dilución de 1:50.

3.3.4 Detección de Toxoplasma gondii

La prueba de quimioluminicencia de fase sólida es un inmuno ensayo que mide los niveles de T-IqG en Unidades Internacionales por mililitro (IU/mI) en suero (Singh, 2000). En individuos infectados los niveles de IgG anti-Toxoplasma aumentan gradualmente y alcanzan un máximo entre 2 y 5 meses luego de presentar sintomatología (en la fase aguda de la infección), por lo que los ensayos séricos de IgG permiten saber si hubo infección primaria y distinguir entre individuos inmunes y los no inmunes (DiaSorin S.p.A.). Esta prueba se hizo utilizando el sistema Immulite 2000 (Diagnostic Products, Los Angeles CA). Se utilizó antígeno parcialmente purificado e inactivado para recubrir cuentas de poliestireno (fase sólida). Muestras diluidas del suero fueron incubadas con las cuentas, y los anticuerpos (IgG) se unen al antígeno. El equipo calcula y provee un índice "señal-umbral" el cual se obtiene dividiendo la señal de cps entre el umbral obtenido y se puede interpretar como reactivo si es ≥1.1, no reactivo si <0.9 e indefinido si está entre esos valores (Owen et al., 2006). La prueba ha sido validada en gatos y cerdos. Los resultados son considerados positivos a una infección previa con niveles ≥10 UI/mI en diluciones de 1:65, sospechosos aquellos entre 5 y 10 Ul/ml, que corresponden a una infección primaria temprana o a infantes con anticuerpos maternos adquiridos, y negativos con valores <5 UI/ml (Singh, 2000).

Tabla 4. Títulos de anticuerpos de *Leptospira* spp. reportados en pinnípedos. Referencias: 1- Serrano de la Vega (2012), 2- Delaney et al. (2014), 3- Smith et al. (1977), 4- Mackereth et al. (2005), 5- Roe et al. (2010), 6- Godínez et al. (1999), 7- Acevedo-Whitehouse et al. (2003), 8- Gulland et al. (1996), 9- Norman et al. (2008), 10- Colagross-Shouten et al (2002), 11- Cameron et al. (2008), 12- Calle et al. (2002).

Especie	Origen de la muestra	Títulos de anticuerpos	Interpretación	Referencias
Mirounga angustirostris	Crías vivas	>1:20	Positivo	1
	Desconocido	>1:100	Positivo	2
Callorhinus ursinus	Adultos y crías vivos	>1:20	Positivo	3
Arctocephalus forsteri	Crías vivas	≤1:50	Negativo	4
	Crías vivas	1:100	Sospechoso	4
	Crías vivas	>1:800	Positivo	4
Phocarctos hoockeri	Hembras adultas	1:20	Expuestos	5
Zalophus californianus	Crías vivas	>1:20	Positivo	6, 7
	Animales varados	>1:100	Positivo	8
	Animales varados y	>1:800	Positivo	9
	rehabilitados			
	Animales en rehabilitación	>1:100	Expuesto	10
	Animales en rehabilitación	>1:3200	Positivo	10
Zalophus californianus,	Animales varados y	>1:400	Positivo	11
Eumetopias jubatus	rehabilitados			
Odobenus rosmarus	Hembras y machos	>1:100	Positivo	12
	adultos			

3.4 Análisis de datos

Para cada patógeno evaluado se hicieron tres análisis: (1) cálculo de la prevalencia específica utilizando la inferencia bayesiana de proporciones binomiales, (2) análisis bayesiano para la diferencia de proporciones entre géneros y localidades, y (3) cálculo de la probabilidad exacta de observación de animales expuestos o infectados bajo la hipótesis nula de que el patógeno está presente en la población.

3.4.1 Análisis Bayesiano

Utilizando el teorema de Bayes es posible confirmar el conocimiento y creencias acerca de los parámetros que se buscan una vez que se tienen los datos (Bolstad, 2007). Esto da a lugar a una distribución posterior que proporciona el valor relativo de cada parámetro una vez analizado. La distribución posterior tiene dos fuentes: la distribución a priori (lo que se sabe y espera) y los datos observados (la muestra). El principio Bayesiano se basa en las siguientes ideas (Bolstad, 2007):

- No se conoce el valor real de los parámetros, por lo que se consideran variables aleatorias.
- Las reglas de probabilidad son utilizadas directamente para hacer inferencias a partir de los parámetros.
- Los valores de probabilidad de los parámetros se interpretan como el "grado de creencia" (grado de verosimilitud). Los valores de probabilidad de tener los valors observados es lo que entendemos como verosimilitud. La distribución a priori debe basarse en el conocimiento previo de los posibles valores del parámetro. Mide que tan plausible/probable es que el parámetro tenga cierto valor antes de observar los datos.

Estos principios le otorgan al análisis Bayesiano ventajas ante el enfoque frecuentista ya que permite modificar de manera consistente las nociones acerca de los parámetros de interés con base en los datos observados. Es decir que cualquier inferencia que se

realice mediante este método está basada en los datos observados (espacio muestral) y se elige el valor del parámetro con mayor probabilidad (mayor verosimilitud) a partir de esos datos observados (Lavine, 1999; Bolstad, 2007; Gerrodette, 2011). Los valores de probabilidad de observar todos los posibles parámetros es lo que entendemos como verosimilitud.

3.4.2 Inferencia Bayesiana

El teorema de Bayes provee una manera simple de usar toda la información posible y está basado en el uso de la probabilidad condicional. Si un evento A sigue a un número de posibles eventos $B_{\rm i}$, entonces se puede desarrollar el teorema de Bayes considerando la probabilidad de observar un evento particular $B_{\rm i}$ dado que suceda A (Haddon, 2001)

$$P(B_i|A) = \frac{P(A \cap B_i)}{P(A)}$$
 Ecuación (1)

De manera análoga, se puede considerar la probabilidad condicional del evento A dado un evento particular $B_{\rm i}$

$$P(A|B_i) = \frac{P(A \cap B_i)}{P(B_i)}$$
 Ecuación (2)

como

$$P(A \cap B) = P(A|B_i)P(B_i)$$
 Ecuación (3)

entonces

$$P(B_i|A) = \frac{P(A|B_i)P(B_i)}{P(A)}$$
 Ecuación (4)

Si se considera a A como los datos observados en la naturaleza y a B_i como las hipótesis (i. e., los valores probables del parámetro de interés), entonces se puede utilizar el teorema de Bayes en estudios de ecología (Hilborn y Mangel, 1997). $P(A|B_i)$ es la verosimilitud de los datos A dada la hipótesis B_i , $P(B_i)$ es la probabilidad de la hipótesis antes de cualquier análisis o consideración de los datos, es decir, es la probabilidad a priori de la hipótesis B_i , y P(A) es la probabilidad combinada de todas las combinaciones de los datos y las hipótesis

$$P(A) = \sum_{i=1}^{n} P(A|B_i)P(B_i)$$
 Ecuación (5)

Utilizando el teorema de Bayes es posible determinar cuál de una serie de *n* hipótesis discretas es la más probable obteniendo (Gelman et al., 1995; Hilborn y Mangel, 1997)

$$P\{H_i|datos\} = \frac{L\{datos|H_i\}P\{H_i\}}{\sum_{i=1}^{n} \left[L\{datos|H_i\}P\{H_i\}\right]}$$
 Ecuación (6)

donde H_i es la hipótesis i de un total de n hipótesis, $P\{H_i|datos\}$ es la probabilidad posterior de la hipótesis dados los datos, $P\{H_i\}$ es la probabilidad a priori de la hipótesis antes de que los datos observados sean considerados, y $L\{datos|H_i\}$ es la verosimilitud de los datos dada la hipótesis i.

3.4.3 Prevalencia específica por inferencia Bayesiana de proporciones binomiales

El uso de la distribución binomial para la estimación de la prevalencia específica se justifica por dos razones. La primera es porque la distribución binomial es una distribución discreta, por lo que los valores calculados son probabilidades reales y no funciones de densidad (Haddon, 2001). La segunda razón es porque la prevalencia es la proporción de individuos de una población que presentan un atributo (enfermedad, infección o exposición) (Greiner y Gardner, 2000), y la distribución binomial considera

dos posibles resultados, éxito o fracaso, donde la probabilidad de éxito es el parámetro π , lo que la hace ideal para estudios de proporciones. La descripción del método está basada en Bolstad (2007) y los cálculos se hicieron usando la plataforma R (R Development Team, 2015).

La distribución condicional de la observación Y, el número total de éxitos en n experimentos dado el parámetro π , tiene una distribución $binomial(n, \pi)$. La función de probabilidad condicional de y dado π es

$$f(y|\pi) = \binom{n}{y} \pi^{y} (1-\pi)^{n-y} \text{ para } y = 1,..., n$$
 Ecuación (7)

En este caso, π es fijo y se busca la distribución de probabilidad de y entre todos sus posibles valores. Si se considera y como fijo y π variable entre todos sus posibles valores, entonces la función de verosimilitud está dada por

$$f(y|\pi) = \binom{n}{y} \pi^{y} (1-\pi)^{n-y} \text{ para } 0 \le \pi \le 1$$
 Ecuación (8)

Utilizando el teorema de Bayes, la distribución posteriori de π es proporcional a la distribución priori $g(\pi)$ por la verosimilitud

$$g(\pi|y) \propto g(\pi) \times f(y|\pi)$$
 Ecuación (9)

En este estudio, π representa la prevalencia específica para cada patógeno, y es el número de reactores positivos (crías que mostraron evidencia de exposición o infección en los análisis serológicos), y n es el número de crías muestreadas. Es decir que la prevalencia específica representa la proporción de la población con cierto atributo, en este caso la proporción de crías postivas a exposición o infección.

La distribución beta(a, b) es la conjugada de $binomial(n, \pi)$. Utilizar esta familia de distribuciones como priori presenta ventajas significativas: (1) su región de densidad es

positiva, de 0 a 1, (2) es flexible, siendo que una amplia variedad de formas pueden derivarse dependiendo de los valores de a y b, y (3) la distribución posterior es de la misma familia y se puede obtener sin necesidad de integrar (Joseph et al., 1995; Bolstad, 2007). Usando una distribución priori beta(a, b) para π .

$$g(\pi|y) \propto \pi^{a+y-1} (1-\pi)^{b-1}$$
 para $0 \le \pi \le 1$ Ecuación (10)

que es la forma de la posterior como una función de π . Si la priori es beta(a, b), entonces la posterior es beta(a', b'), donde a'=a+y, y b'=b+n-y. La media de la distribución priori beta(a, b) es

$$\pi_0 = \frac{a}{a+b}$$
 Ecuación (11)

con desviación estándar

$$s = \sqrt{\frac{ab}{(a+b)^2(a+b+1)}}$$
 Ecuación (12)

Cuando la posterior $g(\pi|y)$ es beta(a', b'), entonces la media posterior está dada por

$$\pi' = \frac{a'}{a' + b'}$$
 Ecuación (13)

con desviación estándar

$$s' = \sqrt{\frac{a'b'}{(a'+b')^2(a'+b'+1)}}$$
 Ecuación (14)

Dado que $\pi' = \frac{a'}{a'+b'}$ y $(1-\pi') = \frac{b'}{a'+b'}$, entonces el tamaño de muestra equivalente es $n_{\rm eq} = a' + b' + 1$, lo que indica que la cantidad de información sobre el parámetro de la

priori es equivalente a la cantidad de una muestra aleatoria de ese tamaño. Finalmente, el intervalo de credibilidad se calcula como $\pi' \pm z_{\frac{\alpha}{2}} \times s'$ donde $\mathbf{z}_{\frac{\alpha}{2}} \times z_{\frac{\alpha}{2}}$ es el valor crítico calculado en una tabla de distribución normal estándar.

Al utilizar un intervalo de credibilidad de 95% el valor crítico de la tabla es $z_{.025}=1.96$. El valor z es una medida de posicion relativa que describe la posición de una observación x relativa a la media en unidades de la desviación estándar. El valor de α es el nivel de significación y $\alpha/2$ es el el nivel de confianza, es decir la probabilidad de que el parámetro a estimar se encuentre en el intervalo de credibilidad. El intervalo de credibilidad Bayesiano es el rango con la mayor probabilidad (95%) de contener el parámetro π .

Debido a que no se tiene información *a priori* de la prevalencia (π_0) de ninguno de los patógeno evaluados, en todos los casos se supuso una distribución uniforme beta(1, 1). Así, la prevalencia específica está dada por la media posterior, que es el estimador más próximo al valor real del parámetro.

3.4.4 Análisis de diferencias entre sexos y localidades

Para este análisis se usó la inferencia Bayesiana de la diferencia entre proporciones usando la aproximación normal (sensu Bolstad, 2007). Al usar distribuciones a priori independientes para dos proporciones, π_1 y π_2 , se obtienen distribuciones posteriores independientes. La aproximación de cada distribución posterior con la distribución normal tiene la misma media y varianza que la distribución beta. Así, la distribución posterior de $\pi_d = \pi_1 - \pi_2$ es aproximadamente $normal(m'_d, (s'_d)^2)$ y la media posterior está dada por

$$m'_d = \frac{a'_1}{a'_1 + b'_1} - \frac{a'_2}{a'_2 + b'_2}$$
 Ecuación (15)

con desviación estándar

$$(s'_d)^2 = \frac{a'_1b'_1}{(a'_1 + b'_1)^2(a'_1 + b'_1 + 1)} + \frac{a'_2b'_2}{(a'_2 + b'_2)^2(a'_2 + b'_2 + 1)}$$
 Ecuación (16)

e intervalo de credibilidad

$$m'_d \pm z_{\frac{\alpha}{2}} \times s'_d$$
 Ecuación (17)

Se usó una prueba de dos colas, por lo que la hipótesis que se probó fue

$$H_0$$
: $\pi_1 - \pi_2 = 0$

$$H_A$$
: $\pi_1 - \pi_2 \neq 0$

donde la H_0 puede rechazarse si su valor (0) cae fuera del intervalo de credibilidad al nivel de α ; si 0 está dentro del intervalo de credibilidad, entonces no puede rechazarse H_0 .

3.4.5 Probabilidad de que los patógenos estén en la colonia

Los cálculos de la probabilidad de observar animales expuestos o infectados y del tamaño mínimo de muestra requerido para evaluar la hipótesis nula se hicieron utilizando el programa FreeCalc (http://www.ausvet.com), que es un calculador de probabilidades epidemiológicas basado en un esquema de distribución binomial simple (Cameron y Baldock, 1998; Christensen y Gardner, 2000). Se probó la hipótesis nula, H₀, de que la probabilidad de que el patógeno esté presente en la colonia (*P*) es igual o

mayor que la prevalencia específica (π); la hipótesis alternativa, H_A , es que la probabilidad de que el patógeno esté en la colonia es menor a la prevalencia específica. Entonces,

$$H_0: P \geq \pi$$

$$H_A$$
: $P < \pi$

La probabilidad de seleccionar a un determinado número de reactores positivos y cuando se muestrea a n animales de una población infinita con prevalencia π está dada por la distribución binomial como

$$P(T^{+} = y) = \binom{n}{y} \pi^{y} (1 - \pi)^{n-y}$$
 Ecuación (18)

donde T^+ representa el número de reactores positivos. En una prueba perfecta, y=0, por lo que la ecuación se simplifica

$$P(T^{+}=0)=(1-\pi)^{n}$$
 Ecuación (19)

Por otra parte, cuando y>0, la probabilidad de obtener un resultado positivo en una prueba, $P(T^+)$, cuando se analiza un único animal depende del estado real de salud del animal. Si es positivo, $P(T^+)$ es igual a la sensibilidad de la prueba (Se); si es negativo, $P(T^+)$ es igual a 1-Sp, siendo Sp la especificidad de la prueba. Las probabilidades $P(T^+)$ y $P(T^-)$ están dadas por

$$P(T^{+}) = \pi Se + (1 - \pi)(1 - Sp)$$
 Ecuación (20)

$$P(T^{-}) = \pi(1 - Se) + (1 - \pi)Sp$$
 Ecuación (21)

siendo T el número de reactores negativos. La probabilidad de observar y reactores positivos cuando se muestrean n animales de una población infinita está dada por la distribución binomial (Ecuación 18) con las probabilidad positivas y negativas sustituidas de las Ecuaciones 20 y 21

$$P(T^{+} = y) = \binom{n}{y} [\pi Se + (1 - \pi)(1 - Sp)]^{y} [\pi (1 - Se) + (1 - \pi)Sp]^{n-y}$$
 Ecuación (23)

4 Resultados

4.1 Cálculo de la prevalencia específica

No se detectaron reactores positivos para el CDV ni para *B. canis* con las pruebas rápidas (Tabla 5). Respecto a *Brucella* spp., la prueba de RB clasificó 5 muestras como sospechosas, pero las pruebas posteriores de Rivanol y FPA las clasificaron como negativas (Tabla 5), por lo que se descartó la presencia de cepas lisas de *Brucella*. Se detectaron concentraciones de anticuerpos de *T. gondii* menores a 5 Ul/ml, por lo que también se les consideró negativos (Tabla 5). Tomando en cuenta la distribución *a priori*, se calculó para cada uno de estos patógenos una prevalencia despreciable de 2% (Tabla 5, Fig. 5). En relación con *Leptospira* spp., la prueba serológica detectó 12 reactores positivos a exposición (títulos 1:50) y hubo una prevalencia de 27% (Tabla 5, Fig. 6).

Tabla 5. Prevalencia específica (π) del virus del distemper canino (CDV), *B. canis, Brucella* spp., *Leptospira* spp. y *T. gondi* calculadas a partir de muestras de crías de lobo fino de Guadalupe colectadas en el verano de 2014. n = número de muestras, y = reactores positivos, s = desviación estándar, $n_{\rm eq}$ = tamaño de muestra equivalente, IC 95% = intervalo de credibilidad al 95%.

	CDV	B. canis	Brucella	Leptospira	T. gondii
	CDV	B. Cariis	spp.	spp.	r. gonan
n	46	46	46	46	46
у	0	0	0	12	0
Posterior	<i>beta</i> (1,47)	beta(1,47)	beta(1,47)	beta(13,35)	beta(1,47)
π	0.021	0.021	0.021	0.271	0.021
S	0.020	0.020	0.020	0.063	0.020
$n_{ m eq}$	49	49	49	49	49
IC 95%	(0.001, 0.075)	(0.001, 0.075)	(0.001, 0.075)	(0.156, 0.403)	(0.001, 0.075)

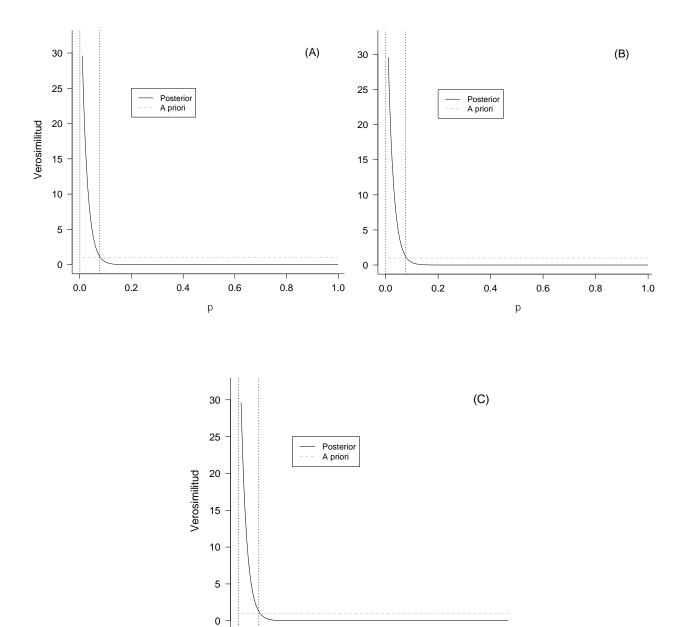


Fig. 5. Distribución a priori (línea punteada) y posterior (línea continua) de la prevalencia de (A) virus del distemper canino (CDV), (B) *Brucella* spp. y (C) Toxoplasma gondii calculada a partir de 46 muestras de crías de lobo fino de Guadalupe colectadas en el verano de 2014. El intervalo de credibilidad corresponde a las líneas verticales.

0.4

0.6

р

0.8

1.0

0.0

0.2

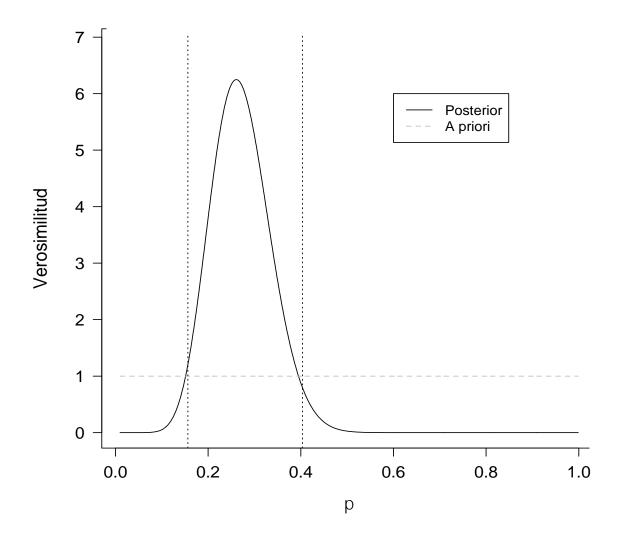


Fig. 6. Distribución a priori (línea punteada) y posterior (línea continua) de la prevalencia de Leptospira spp. calculada a partir de 46 muestras de crías de lobo fino de Guadalupe colectadas en el verano de 2014. El intervalo de credibilidad corresponde a las líneas verticales.

En las muestras positivas a *Leptospira* spp. se detectaron las serovariedades bratislava, canicola e icterohaemorragiae (Tabla 6). Dos crías fueron positivas a bratislava y a canicola, y una cría fue positiva a las tres serovariedades. La serovariedad icterohaemorragiae fue la que tuvo el valor de prevalencia más alto, seguida de canicola y finalmente bratislava (Tabla 6), sin que hubiera diferencias entre estos valores (Tabla 7).

Tabla 6. Número de reactores positivos a exposición (y) y prevalencia (π) de diferentes serovariedades de *Leptospira* calculada a partir de 46 muestras de crías de lobo fino de Guadalupe colectadas en el verano de 2014. s = desviación estandar, IC 95% = intervalo de credibilidad al 95%. ¹incluyendo serovar Portland-Vere, ²incluyendo la serovar Palo Alto.

Serovariedad	у	π	S	IC 95%
Bratislava	2	0.06	0.035	(0.013, 0.145)
Canicola ¹	7	0.17	0.053	(0.076, 0.283)
Hardjo	0			
Icterohaemorragiae ²	8	0.19	0.056	(0.091, 0.308)
Pomona	0			
Pyrogenes	0			
Wolfii	0			
Grippotyphosa	0			
Tarassovi	0			

Tabla 7. Comparación de la prevalencia de las tres serovariedades de *Leptospira* detectadas en 46 crías de lobo fino de la Isla Guadalupe en agosto de 2014. Los números entre paréntesis son los intervalos de credibilidad al 95%. Se acepta la H_0 ya que 0 se encuentra dentro del intervalo de credibilidad por lo que H_0 : $\pi_1 - \pi_2 = 0$.

-	Bratislava	Canicola	Icterohaemorragiae
Bratislava		(-0.020, 0.229)	(-0.004, 0.254)
Canicola			(-0.130, 0.172)
Icterohaemorragiae			

4.2 Diferencias entre sexos y localidades

Estos análisis pudieron realizarse únicamente para *Leptospira* spp., ya que de los otros tres agentes patógenos no se detectaron reactores positivos (Tabla 5). De las 12 muestras positivas, 5 fueron de crías macho y 7 de crías hembra. La prevalencia en los machos se calculó en 27% y 31% en las hembras y no hubo diferencias entre los sexos: intervalo de credibilidad al 95% (-0.217, 0.287).

Los reactores positivos a *Leptospira* spp. se detectaron en las tres localidades muestreadas (Tabla 8). La localidad que presentó el valor más alto de prevalencia fue Dos Arroyos (35%), seguida del Campo Sur (31%) y Campo Lima (21%) (Tabla 8; Fig. 7), sin que estos valores de prevalencia fueran diferentes (Tabla 9).

Tabla 8. Prevalencia (π) de *Leptospira* spp. calculada a partir de muestras de crías de lobo fino colectadas en tres localidades de la Isla Guadalupe en el verano de 2014. n = número de muestras, y = reactores positivos, s = desviación estándar, n_{eq} = número equivalente, IC 95% = intervalo de credibilidad al 95%.

<u> </u>	Localidad			
	Campo Sur	Campo Lima	Dos Arroyos	
n	14	17	15	
у	4	3	5	
Posterior	<i>beta</i> (5,11)	<i>beta</i> (4,15)	<i>beta</i> (6,11)	
π	0.313	0.211	0.353	
S	0.112	0.091	0.113	
$n_{ m eq}$	17	20	18	
IC 95%	(0.118, 0.551)	(0.064, 0.414)	(0.152, 0.587)	

Tabla 9. Comparación de la prevalencia de *Leptospira* spp. entre localidades de la Isla Guadalupe. Los números entre paréntesis son los intervalos de credibilidad al 95%. Se acepta la H_0 ya que 0 se encuentra dentro del intervalo de credibilidad por lo que H_0 : $\pi_1 - \pi_2 = 0$.

	Campo Sur	Campo Lima	Dos Arroyos
Campo Sur		(-0.182, 0.386)	(-0.352, 0.271)
Campo Lima			(-0.426, 0.142)
Dos Arroyos			

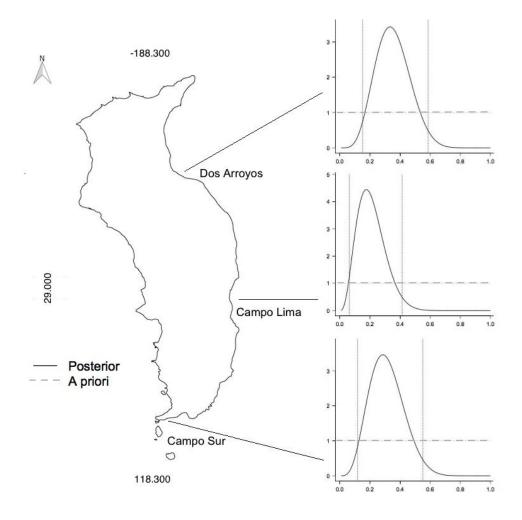


Fig. 7. Distribuciones *a priori* (línea punteada) y posterior (línea continua) de la prevalencia de *Leptospira* spp. calculada a partir de muestras de crías de lobo fino colectadas en tres localidades de la Isla Guadalupe en el verano de 2014. El eje X corresponde al valor de π , el eje Y es la verosimilitud.

4.3 Probabilidad de que los patógenos estén en la colonia

El cálculo de la probabilidad de observar reactores positivos (P) a cualquiera de los patógenos en la colonia se hizo tomando en cuenta el total de muestras y los valores de la sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas (Tabla 10). Como y=0 para el CDV, Brucella spp. y T. gondii, entonces se consideraron como pruebas perfectas. Debido a que para estos tres patógenos el valor de P fue mayor al de la prevalencia específica (Tabla 10), los resultados no fueron adecuados para rechazar la hipótesis nula a un nivel de confianza de 95%. A pesar de ello, en los tres casos el tamaño de muestra requerido fue insuficiente para distinguir, tomando una prevalencia de 2%,

entre una población libre de la enfermedad y una con presencia del patógeno (Tabla 10). Por esta razón, los resultados indican que de estar los patógenos presentes en la colonia, se encuentran a una prevalencia mínima no detectable en este análisis.

En caso de *Leptospira* spp. y > 0, por lo que se consideró una prueba imperfecta. Se hicieron dos análisis independientes: el primero se hizo usando la prevalencia específica observada (27%) y el segundo la prevalencia mínima esperada (16%), *i. e.*, el límite inferior del intervalo de credibilidad (ver Tabla 5). El valor de P es la probabilidad de observar 12 reactores positivos o menos en una muestra de 46 animales de una población expuesta al patógeno a una prevalencia determinada (27% o 16%). En ninguno de los dos análisis se pudo rechazar la hipótesis nula y en ambos casos el tamaño de muestra fue suficiente (Tabla 10). Estos resultados indican que el patógeno está presente en la colonia con un nivel de confianza del 100%.

Tabla 10. Probabilidad de detectar reactores positivos (P) a los cuatro agentes patógenos evaluados en la colonia de lobo fino de Guadalupe. nmin = tamaño mínimo de muestra.* B. abortus y cepas lisas, 1prevalencia específica observada, 2prevalencia mínima esperada.

Patógeno	Sensibilidad	Especificidad	ecificidad Prevalencia		P
Fatogeno	(%)	(%)	(%)	$n_{ m min}$	1
Virus del distemper canino	99.9	98.5	2	662	0.197
Brucella canis	93	100	2	160	0.421
Brucella spp.*	100	100	2	149	0.394
Leptospira spp.	100	100	27 ¹	10	0.515
			16 ²	18	0.979
Toxoplasma gondii	99	100	2	150	0.398

5 Discusión

En las últimas décadas se ha identificado a las enfermedades infecciosas como causal de disminuciones poblacionales drásticas en diversas especies y se ha reconocido que la emergencia de estas enfermedades en animales en vida silvestre está estrechamente ligada con la presencia de especies exóticas, las cuales introducen su propia gama de patógenos en áreas donde no existían, incrementando su incidencia y variedad de hospederos (Daszak et al., 2000; Smith y Carpenter, 2006). En este tema confluyen la conservación y la epidemiología y hay una necesidad de conocer si poblaciones aparentemente sanas están expuestas a patógenos exóticos e identificar a aquellas especies que funcionan como reservorios que mantienen a los patógenos presentes en las comunidades.

Los pinnípedos están expuestos a patógenos de mamíferos terrestres (Visser et al., 1993), siendo los más comunes aquellos asociados con carnívoros terrestres y roedores (Kennedy, 1998; Harvell et al., 1999; Higgins, 2000; Medina-Vogel, 2010; Bossart, 2011; Holderness-Roddam, 2011; Mazzillo et al., 2013). La naturaleza gregaria de los pinnípedos los predispone al contagio horizontal; además, durante las temporadas reproductivas se pueden dar las condiciones ideales para la transmisión de diferentes patógenos debido a la susceptibilidad inmunitaria de crías y madres lactantes. Los recién nacidos son capaces de tener reacciones inmunes primarias y producir cantidades reducidas de anticuerpos, pero son susceptibles a infecciones; la transferencia de anticuerpos a través del calostro les confiere inmunidad pasiva ante las mismas (Greene y Addie, 1993; Ross et al., 1993).

En la Isla Guadalupe se introdujeron de manera intencional cabras, perros y gatos, y de manera accidental ratones domésticos, que podrían haber servido como agentes introductores de patógenos de enfermedades infecciosas. El objetivo de esta tesis fue determinar, utilizando pruebas serológicas en muestras de crías de lobo fino de la Isla Guadalupe en vida libre, la presencia y prevalencia de agentes patógenos virales (virus del distemper canino, o CDV), bacteriales (*Brucella* spp. y *Leptospira* spp.) y protozoáricos (*Toxoplasma gondii*) comúnmente asociados con perros y gatos. Los análisis realizados no detectaron reactores positivos en tres de los cuatro agentes

evaluados, el CDV, *Brucella* spp. y *T. gondii*, y los resultados no fueron concluyentes para determinar si estos agentes están o no presentes en la colonia. Por otra parte, se detectó la exposición a *Leptospira* spp. y se obtuvo evidencia para demostrar que la colonia no está libre de la enfermedad. En la primera parte de esta discusión se revisarán los resultados referentes a la detección del CDV, *Brucella* spp. y *T. gondii*. En la segunda parte se discutirá las causas e implicaciones de los resultados positivos de *Leptospira* spp. Finalmente, presentaré algunas recomendaciones para el monitoreo de estos agentes en la colonia de lobo fino de la Isla Guadalupe.

5.1 Virus de distemper canino (CDV), *Brucella* spp. y *T*oxoplasma *gondii*

La mayoría de las pruebas serológicas pueden detectar animales enfermos, con infecciones subclínicas, expuestos o sospechosos (Greene y Addie, 1993; OIE, 2004, 2008; Senasa y OIE, 2009; Day y Shultz, 2014; Jakob-Hoff et al., 2014). En el diagnóstico de enfermedades virales y bacterianas, la detección de anticuerpos específicos en el suero de un animal puede indicar exposición previa, infección o anticuerpos adquiridos pasivamente (Jones, 1993 en Greene y Addie, 1993). En el caso de infecciones por protozoarios, la serología también es utilizada para detectar anticuerpos contra el parásito o antígenos del mismo para su diagnóstico. Sin embargo, la medición de cualquier clase de anticuerpos no está correlacionada directamente con la existencia de la enfermedad clínica o infección, ya que la sensibilidad y especificidad de las pruebas son variables. Adicionalmente, en animales inmunocomprometidos la respuesta de anticuerpos a parásitos o patógenos específicos puede estar disminuida (Lappin y Calpin, 1993 en Greene y Addie, 1993). Aun así, las pruebas serológicas son una herramienta valiosa para sondeos primarios e identificación de posibles individuos infectados o expuestos (Jones, 1993 en Greene y Addie, 1993).

Con las pruebas diagnósticas no se detectaron reactores positivos al CDV, *Brucella* spp. y *T. gondii* y se calculó una prevalencia muy baja, de apenas 2%, para cada uno. Además, las pruebas estadísticas no fueron capaces de distinguir entre una población infectada de una no infectada debido a que el tamaño de la muestra empleado (46

animales) fue considerablemente menor al tamaño mínimo de muestra requerido, calculado en 660 animales para el CDV y de alrededor de 150 para *Brucella* spp. y *T. gondii*. Bajo este escenario, la colonia debería ser considerada como posiblemente infectada hasta que se obtenga más información. Sin embargo, en el caso del CDV y *Brucella* spp. existen evidencia que sugieren la ausencia de estos patógenos en la colonia lo cual se discute a continuación.

5.1.1 Virus del distemper canino (CDV)

El CDV es abundante en exudados respiratorios y suele diseminarse horizontalmente por vías respiratorias o contacto oral, ocular o de exudados; es decir, que requiere de un contacto casi directo o cercanía (Greene y Appel, 1993 en Greene y Addie, 1993). También puede aislarse de tejidos y secreciones del cuerpo, incluyendo la orina. La transmisión vertical se ha documentado en perros domésticos (Krakowka et al., 1977) y en algunas especies de cetáceos (Van Bressem et al., 2014). En perros la prevalencia de la enfermedad es más frecuente entre los tres y seis meses de edad, cuando sucede el destete y hay una pérdida de anticuerpos maternos (Greene y Appel, 2006 en Greene, 2006). De igual manera, la infección por el virus del distemper focino (PDV) produce una mayor mortalidad en animales recién destetados y en jóvenes inmunocomprometidos (Duignan et al., 2014). La lactancia en el lobo fino de Guadalupe dura entre 9 y 11 meses (Belcher y Lee Jr., 2002; Gallo-Reynoso y Figueroa-Carranza, 2010), por lo que las crías pueden mantenerse inmunizadas contra el virus mediante el calostro y los anticuerpos maternos. Esto es una posible razón por la que no hayan sido detectados con la prueba utilizada, ya que se encontrarían en títulos bajos.

A finales de la década de 1980 el CDV que provocó las mortalidades masivas de focas del Lago Baikal y del Mar Caspio provenía de hospederos terrestres (P. Duignan et al., 2014). El huésped natural del CDV son los perros, los cuales fueron erradicados de la Isla Guadalupe hace casi una década, por lo que la permanencia del virus en la colonia de lobos finos dependería de su capacidad de infectar a los lobos y usarlos como huésped de mantenimiento. Estudios moleculares de CDV aislado de carnívoros no cánidos han indicado que el virus puede adaptarse a nuevos huéspedes, pero solo

puede persistir en poblaciones de baja densidad y distribuida en parches (Von Messling et al., 2005; P. Duignan et al., 2014). Bajo estas condiciones, la transmisión continua del virus probablemente requiere de escalas espaciales grandes o de la transmisión multi-hospedero para persistir (Almberg et al., 2010). Esta característica de la ecología de la enfermedad explica porqué en los eventos de mortalidad asociada con el CDV están involucrados varios hospederos (Almberg et al., 2010).

Si bien el CDV es causante de mortalidad de fócidos, no ha sido aislado en ninguna especie de otárido. Los reportes de *Morbillivirus* en este último grupo corresponden al PDV y se ha detectado en el lobo marino de Steller (*Eumetopias jubatus*) en el Pacífico noroccidental (Ohashi y Kai, 2000), y en el lobo marino de Nueva Zelanda (*Phocarctos hookeri*) y el lobo fino de Nueva Zelanda (*Arctocephalus forsteri*) en el Pacífico sur (Duignan 1999, 2000).

Aunado a lo encontrado en esta tesis, durante la temporada reproductiva de 2013 en la colonia de lobos finos de la Isla Guadalupe se utilizaron diferentes pruebas diagnósticas histológicas y moleculares en muestras de neonatos muertos para la detección del CDV, sin que se encontraran reactores positivos (Gutiérrez-Gálvez, 2015). Estos hallazgos sugieren que el CDV no está presente en la colonia, y actualmente no representa una amenaza para los lobos fino de la Isla Guadalupe.

5.1.2 Brucella spp.

En perros y delfines, cuando las hembras gestantes están infectadas, la bacteria es capaz de infectar *in utero* a los fetos, lo que puede provocar abortos (Carmichael y Greene, 1993 en Greene y Addie, 1993; Miller et al., 1999; Foster et al., 2002). Las crías que sobreviven a la infección *in utero* continúan expuestas a bajas dosis de la bacteria por la leche materna, por lo que los neonatos con infección congénita presentan altos niveles del antígeno en la sangre y altas concentraciones de anticuerpos e inmunoglobulinas (Carmichael y Greene, 1993). En este estudio se analizaron muestras de crías de lobos finos de menos de dos meses de edad y las

pruebas realizadas no detectaron la bacteria, lo cual indica que no hay actualmente transmisión vertical de los patógenos.

Los resultados negativos de las pruebas serológicas pueden explicarse en parte debido a la especificidad de la bacteria. Una característica de las brucelas es que exhiben una marcada preferencia por una especie animal como huésped primario y cuando ocurren infecciones cruzadas entre diferentes especies animales, la bacteria es rara vez perpetuada en los huéspedes secundarios una vez que el huésped primario es removido, por lo tanto, se considera que estas bacterias constituyen un grupo evolutivo genéticamente ligado con sus huéspedes preferidos (Nielsen y Duncan, 1990).

Dos especies consideradas huéspedes primarios de *Brucella* se introdujeron en la Isla Guadalupe: perros, huésped principal de *B. canis*, y cabras, huésped principal de *B. melitensis* (Castro et al., 2005; OIE, 2015). Ambas especies fueron erradicadas de la isla, por lo que aun si en años pasados estas brucelas hubieran infectado a algunos lobos finos, no lograron perpetuarse en la colonia. En el caso de las otras cepas terrestres, ninguno de los huéspedes primarios de *B. abortus, B. suis, B. ovis, B. neotomae* y *B. microti* ha sido introducido en la isla, por lo que se descarta la presencia de estas brucelas en la colonia de lobos finos.

Respecto a las cepas marinas, se están desarrollando pruebas serológicas específicas, pero el uso de pruebas tradicionales diseñadas para la detección de anticuerpos correspondientes a cepas de brucelas lisas se ha aplicado en mamíferos marinos de forma exitosa (Meegan et al., 2010). Una vez que se sospecha su presencia se pueden usar pruebas moleculares para confirmarlo (Maquart et al., 2009). La evidencia obtenida en este estudio sugiere que estas cepas no están en la colonia de lobos finos. Es decir, los análisis serológicos y estadísticos indican que *Brucella* spp. no tiene valores altos de prevalencia en la colonia de la Isla Guadalupe y, por lo tanto, al igual que el CDV no representa una amenaza inmediata para los lobos finos.

5.1.3 Toxoplasma gondii

La toxoplasmosis es una de las infecciones protozoáricas más comunes y *T. gondii* es quizás el parásito con la más amplia gama de hospederos intermedios, pero sus hospederos definitivos son los felinos (Dubey y Lappin, 1993 en Greene y Addie, 1993; Dubey, 2008; Innes, 2010; Robert-Gangneux et al., 2015). Los gatos domésticos (*Felis catus*) son vectores importantes en la globalización de *Toxoplasma* y la prevalencia de *T. gondii* en gatos callejeros y mostrencos de varios países de América va de 45% a 85% (Dabritz y Conrad, 2010). Sus tres formas principales de trasmisión son la infección congénita, la ingestión de tejidos infectados y la ingestión de oocistos en alimento o agua contaminada (Dubey y Lappin, 1993 en Greene y Addie, 1993). Los escurrimientos de agua contaminada que contienen oocistos son la principal fuente de contagio de los mamíferos marinos (Miller et al., 2002; Conrad et al., 2005; Miller et al., 2008), además de que recientemente confirmaron la transmisión vertical en el lobo marino de California (*Z. californianus*) (Carlson-Bremer et al., 2015).

La prueba serológica utilizada en este estudio ha sido validada en cerdos y gatos (Singh, 2000), pero no ha sido valorada para pinnípedos, por lo que los resultados negativos no pueden ser tomados como concluyentes. Por lo tanto, a pesar del análisis estadístico, no se pudo confirmar o descartar la presencia del patógeno en la colonia de la Isla Guadalupe. Sin embargo, evaluando la posibilidad de su presencia en la isla, ciertos factores propios de la biología del protozoario y del lobo fino posiblemente eviten que se vea afectado por el parásito.

La presencia de gatos en las islas generalmente se asocia con la transmisión de *T. gondii* a los pinnípedos. Sin embargo, en las Islas del Canal, California los gatos mostrencos presentan una prevalencia de *T. gondii* de 34% (Clifford et al., 2006), mientras que gran parte de la población de lobos marinos que habita en ellas (90% del stock norteamericano de la especie; Carretta et al., 2014) tiene una prevalencia de apenas 2.5%, con solo siete casos de infección (incluyendo dos neonatos) confirmados. Lo anterior sugiere que esta especie tiene una baja frecuencia de exposición y baja susceptibilidad a la enfermedad a pesar de estar en contacto con gatos infectados (Carlson-Bremer et al., 2015)

Si bien no se ha analizado a detalle, esta situación podría ser común en los otáridos, donde la incidencia del parásito y de la enfermedad es sumamente baja. Por ejemplo, la prevalencia de *T. gondii* en el lobo fino antártico (*Arctocephalus gazella*) se calculó en 2.4% (Rengifo-Herrera et al., 2012), existe solamente un caso confirmado de toxoplasmosis en el lobo fino del norte (*Callorhinus ursinus*) (Holshuh et al., 1985), otro en el lobo fino de Nueva Zelanda (*A. forsteri*) (Donahoe et al., 2014) y solo cinco casos sospechosos en el lobo marino de Steller (*E. jubatus*) (Burek et al., 2003).

Los gatos, agentes transmisores del patógeno, permanecen en la Isla Guadalupe y se calcula que la población es del orden de cientos a miles de individuos (Aguirre-Muñoz et al., 2013). Aun cuando no existe ningún estudio realizado en la isla sobre la prevalencia de *T. gondii* en la población de gatos, tomando como referencias la evidencia recabada en las Islas del Canal y los reportes de *Toxoplasma* en gatos callejeros y mostrencos, es válido suponer que los gatos de la isla están infectados y que pueden transmitir el patógeno a los lobos finos, por lo que se esperaría detectar reactores positivos si se aplican las pruebas diagnósticas adecuadas. Sin embargo, también es posible que la prueba utilizada, a pesar de no estar aún validada para pinnípedos, sea lo suficientemente sensible y que la baja prevalencia observada en la Isla Guadalupe (2%) se deba a que los lobos finos, al igual que los lobos marinos de California, sean poco susceptibles al patógeno.

5.2 Leptospira spp.

La leptospirosis, causada por la espiroqueta *Leptospira*, es una de las zoonosis más ampliamente distribuidas en el mundo (Bharti et al. 2003). La transmisión horizontal ocurre por contacto con orina infectada, transmisión venérea, heridas, ingestión de tejidos infectados, exposición a fuentes de agua o suelo contaminados, y la transmisión vertical por vía placentaria (Greene et al., 1993).

La MAT es la prueba serológica estándar para la detección de *Leptospira* spp. (Luna et al., 2008; Montiel-Arteaga et al., 2014, OIE, 2015) y ha sido utilizada satisfactoriamente en varias especies de pinnípedos (Colagross-Shouten et al., 2002; Lloyd-Smith et al.,

2007). La prevalencia reportada en pinnípedos con resultados de la MAT varía de baja (<10%), e. g., en la morsa (*Odobenus rosmarus*) (Calle et al., 2012), el lobo marino de Steller (Burek et al., 2005) y el lobo fino de Nueva Zelanda (Mackereth et al., 2005); a moderada (≥10% a <50%), e. g. elefante marino del norte (*M. angustirostris*) (Serrano de la Vega, 2012), el lobo marino de California en la costa de California (Colagross-Shouten et al., 2002) y en el Golfo de California (Godínez et al., 1999), y a alta (≥50%) también para el lobo marino en el Golfo de California (Acevedo-Whitehouse et al., 2003; Lloyd-Smith et al., 2007). En este estudio el lobo fino de Guadalupe la prevalencia calculada fue de 27% con un intervalo de credibilidad del 16% al 40%.

Las diferencias en la prevalencia observada entre pinnípedos pueden deberse tanto a la distribución de los reservorios como al punto de corte de la MAT, determinado por los investigadores (Tabla 4). Por ejemplo, Serrano de la Vega (2012) reporta la prevalencia de *Leptospira* spp. en el elefante marino del norte en las Islas San Benito y Cedros, Baja California, en 46% con un punto de corte de 1:50 y de 35% a 1:100, pero si se consideran únicamente títulos altos (>1:400), la prevalencia es de 13%. En este estudio, el punto de corte fue 1:50, pero dada la especificidad de la MAT, títulos bajos de 1:20 o 1:50 si bien no confirman una infección, sí indican exposición previa (OIE, 2015). El análisis realizado confirmó la presencia del patógeno, por lo que la colonia de lobos finos de la Isla Guadalupe debe considerarse infectada por *Leptospira* spp.. El hecho de no haber encontrado diferencia en la prevalencia entre localidades de la isla respalda esta conclusión.

La presencia de reservorios es un factor importante en la transmisión y persistencia de la leptospirosis. En la mayoría de los mamíferos, la bacteria es transmitida por la ingestión oral de agua u orina contaminada (Leighton y Kuiken, 2001). La ruta de transmisión en los pinnípedos no está determinada, pero si la orina es importante, su persistencia en el ambiente debe estar relacionada con el tipo de sustrato en las zonas de reproducción y descanso, siendo más persistente en áreas rocosas que en playas arenosas (Greig et al, 2005). Sin embargo, como la bacteria no es tolerante a la sal, la infección tiene que darse a través del contacto directo (Zuerner et al., 2009). Los lobos finos pasan gran parte de su tiempo en tierra, particularmente en áreas rocosas, lo que se traduce en tiempo de exposición a patógenos provenientes de mamíferos

crónicamente infectados, por lo que la exposición detectada en este estudio podría deberse al contacto con los mamíferos introducidos en la Isla Guadalupe.

Esta suposición se sustenta en el hecho de haber detectado las serovariedades icterohaemorragiae, bratislava y canicola, cuyos principales reservorios son los roedores (ratas y ratones) para las dos primeras y los perros para la última. Los roedores persisten en la Isla Guadalupe, por lo que la posible fuente de infección aún continúa; a diferencia, los perros fueron erradicados. Esto sugiere entonces que los lobos finos podrían ser un hospedero de mantenimiento de la serovariedad canicola y que una porción de animales de la población se mantiene en un estado de infección latente, en los cuales la bacteria circula a niveles bajos y de forma aparentemente asintomática, y persiste por contagio a través de la orina (Greene et al., 1993; Lloyd-Smith et al., 2007). Tal situación se observa en la persistencia de la serovariedad pomona en el lobo marino de California en la costa oeste de Estados Unidos por lo que se considera que la especie actúa como hospedero de mantenimiento (e. g., McIlhattan et al., 1971; Hodder et al., 1992; Gerber et al., 1993; Gulland et al., 1996; Colagross-Shouten et al., 2002; Lloyd-Smith et al., 2007; Norman et al., 2008; Zuerner et al., 2009)

Actualmente las únicas colonias del lobo fino de Guadalupe se localizan en las islas Guadalupe y San Benito (Aurioles-Gamboa et al., 2010), donde cohabitan con el elefante marino del norte y el lobo marino de California. Si bien no existen estudios sobre la prevalencia de enfermedades infecciosas de estos dos últimos en la Isla Guadalupe, sí hay un reporte de *Leptopsira* en la colonia de elefantes marinos de San Benito, siendo las serovariedades detectadas bratislava, tarassovi, batavie y pomona (Serrano de la Vega, 2012). Los elefantes marinos se mueven entre las islas Guadalupe y San Benito (obs. pers.), por lo que es probable que los elefantes de la Isla Guadalupe estén infectados por las mismas serovariedades detectadas en San Benito. También es posible que los lobos finos de San Benito se muevan hacia Guadalupe (García-Capitanachi, 2011) y lleven consigo las mismas serovariedades. Por otra parte, debido a la migración otoñal de machos de lobo marino de California hacia el norte en el Pacífico y a la posible interacción con animales de California, es posible que los lobos marinos que habitan en la Isla Guadalupe estén infectados con la serovariedad pomona.

En este escenario hipotético en la Isla Guadalupe, la diferencia entre las serovariedades observadas en el lobo fino y las esperadas en el elefante marino y el lobo marino podría deberse a la segregación de hábitat terrestre como sucede en Islas San Benito (García-Aguilar et al., 2013). En la Isla Guadalupe los lobos finos se distribuyen exclusivamente en playas de sustratos rocosos o de cantos rodados rodeados de riscos de la costa este, mientras que los elefantes marinos se encuentran en playas de arena y cantos rodados de ambas costas, y los lobos marinos se ubican principalmente en uno de los islotes localizados al sur de la isla (obs. pers. Arias del Razo, 2011; Milanés Salinas, 2012). Esta separación espacial puede explicar el que los lobos finos no compartan las serovariedades con los otros dos pinnípedos.

Finalmente, en este estudio no encontré diferencia en la prevalencia entre machos y hembras, lo cual es similar a los estudios realizados con neonatos de lobo marino de California (Acevedo-Whitehouse et al., 2003) y de elefante marino del norte (Serrano de la Vega, 2012). Sin embargo, en California y Oregon, con lobos marinos sexualmente maduros, hay una prevalencia mayor en los machos que en las hembras (Colagross-Shouten et al. 2002; Greig et al., 2005; Lloyd-Smith et al. 2007). Estos resultados sugieren que los machos adultos, al migrar distancias más largas, se exponen con mayor frecuencia a distintas fuentes de infección y que el cansancio los hace más vulnerables (Colagross-Shouten et al., 2002; Lloyd-Smith et al., 2007). Se desconoce si este patrón ocurre también en el lobo fino de Guadalupe y solo en estudios con animales sexualmente maduros se podría determinar.

5.3 Recomendaciones para el monitoreo de enfermedades infecciosas en el lobo fino de Guadalupe

La mayoría de los estudios realizados para evaluar la prevalencia de enfermedades infecciosas en pinnípedos del Pacífico nororiental se han basado en muestras colectadas de animales con síntomas clínicos, varados o en semi-cautiverio dentro de centros de rehabilitación (e. g., Gulland et al. 1996; Colagross-Shouten et al. 2002; Cameron et al., 2008; Norman et al., 2008). Por lo tanto, el área geográfica de origen de

los animales (i. e., las colonias de procedencia) se desconoce, haciendo imposible la construcción de un cuadro epidemiológico completo. Por otra parte, los estudios basados en muestras colectadas de animales en vida libre, sin síntomas clínicos y capturados aleatoriamente, ofrecen la posibilidad de desarrollar una aproximación epidemiológica.

Hasta comienzos de 2015 no se había reportado ningún evento de mortalidad inusual (UME, por sus siglas en inglés) de lobos finos de Guadalupe. Sin embargo, desde enero hasta agosto de 2015 se ha presentado el primer UME en California, donde cerca de 80 lobos finos, principalmente animales jóvenes (1-2 años), se han varado. Las evaluaciones preliminares han mostrado que la principal causa de muerte es la desnutrición y la segunda son las infecciones bacterianas y parasitarias aún no determinadas (NOAA 2015).

La colonia de la Isla Guadalupe es el único sitio de reproducción del lobo fino, por lo que los animales varados en California provienen de ahí. Esta tesis se realizó con crías capturadas al azar en la Isla Guadalupe, lo que permite evaluar el estado de salud de la colonia e inferir las posibles fuentes de infección y mecanismos de transmisión de los agentes patógenos evaluados. Los resultados obtenidos pueden ayudar a comprender el origen de este UME, así como inferir los impactos potenciales a la población de lobos finos.

A partir de los resultados obtenidos y las observaciones realizadas, se recomienda continuar con el monitoreo del estado de salud de la colonia. Las recomendaciones particulares son:

1. Aunque no se encontró evidencia de que el CDV esté presente en la colonia de lobos finos, no se puede descartar la presencia en la colonia del PDV, por lo que se recomienda la evaluación regular (~5 años) de estos dos tipos de Morbillivirus mediante el uso de PCR u otro tipo de técnicas. Recomiendo un monitoreo similar para detectar Brucella spp.

- 2. Se desconoce el estado de la colonia respecto a la presencia de *Toxoplasma*, por lo que es conveniente realizar análisis diagnósticos validados y monitorear a la población de gatos mostrencos.
- 3. En el caso de *Leptospira* spp., se recomienda continuar con el monitoreo con muestreos cada 3-5 años para evaluar cambios en la prevalencia y seroprevalencia, y determinar la incidencia de la enfermedad en la población adulta.
- 4. Dada la naturaleza gregaria del lobo fino de Guadalupe es recomendable establecer un programa de monitoreo permanente del estado de salud de la colonia, ampliando la gama de patógenos de enfermedades infecciosas a evaluar, como por ejemplo las bacterias Salmonella y Campylobacter, y los virus de San Miguel (Calicivirus) y del herpes focino.
- 5. Para la determinación de los agentes se debe hacer uso de las pruebas diagnósticas serológicas, histológicas y moleculares recomendadas por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).
- 6. Es necesario establecer un mecanismo de colaboración con los centros de rescate y rehabilitación de la costa de California para compartir información referente a varamientos y presencia de agentes patógenos en la frontera México-Estados Unidos.

6 Conclusiones

- 1. La colonia de lobo fino de la Isla Guadalupe se encuentra libre de la presencia del CDV y de *Brucella* spp.
- 2. Los resultados de la prueba serológica empleada para la detección de *T. gondii* no fueron concluyentes y no se puede descartar su presencia en la colonia de lobo fino de Guadalupe.
- 3. La colonia de lobo fino de la Isla Guadalupe debe considerarse como infectada por *Leptospira* spp.
- 4. Las serovariedades de Leptospira en crías de lobo fino fueron bratislava, icterohaemorragiae y canicola. La posible fuente de infección de las primeras dos son los roedores introducidos a la isla; la de la tercera, los perros que hubo en la isla. Ya que éstos se han erradicado, la presencia de la serovariedad canicola sugiere que el lobo fino de Guadalupe funciona como su hospedero de mantenimiento.
- 5. Las serovariedades de Leptospira detectadas en la colonia de lobo fino de Guadalupe difieren de las reportadas para la población californiana de lobo marino (serovar pomona) y en la colonia de elefante marino del norte de las islas San Benito, Baja California (serovariedades tarassovi, batavie y pomona). En la Isla Guadalupe cohabitan estas tres especies de pinnípedos y las diferencias observadas podrían deberse a una segregación de hábitat terrestre.
- 6. Se recomienda la creación de un programa permanente de monitoreo del estado de salud de los lobos finos de la Isla Guadalupe.

Glosario

Anticuerpo¹: Molécula producida por un animal como resultado de la interacción con un antígeno, con la propiedad de combinarse específicamente con el antígeno que indujo su producción.

Anticuerpo IgG⁶: Son uno de los cinco tipos de anticuerpos de la respuesta humoral y constituyo 75% de los anticuerpos sintetizados en respuesta a invasión de antígenos. Se encuentra tanto en sangre como en tejidos y es capaz de de traspasar la placenta para proveer al feto de anticuerpos maternales protectores contra infecciones. Tiene un tiempo de vida corto de semanas.

Anticuerpo IgM⁶: Es uno de los cinco tipos de anticuerpos de la respuesta humoral de mayor tamaño y no es capaz de atravezar la placenta pero es capaz de inmovilizar y aglutinar antígenos eficientemente.

Antígeno¹: Molécula que interactúa con un anticuerpo formado previamente en receptores específicos de las células T y B.

Bacteremia²: Presencia de bacterias en el torrente circulatorio demostrada mediante hemocultivo.

Enfermedad³: Designa la manifestación clínica o patológica de una infección.

Enfermedad emergente³: Infección nueva consecutiva a la evolución o la modificación de un agente patógeno existente, una infección conocida que se extiende a una zona geográfica o a una población de la que antes estaba ausente, un agente patógeno no identificado anteriormente o una enfermedad diagnosticada por primera vez y que tiene repercusiones importantes en la sanidad de los animales o la salud de las personas.

Especificidad¹: Parámetro de validez de una prueba. Capacidad para identificar correctamente a quienes **no** tienen la enfermedad que se pretende diagnosticar o descartar. Si la prueba da un resultado negativo y la enfermedad está ausente, se habla de "negativo verdadero". Cuando el resultado es negativo, pero la enfermedad está presente, se hace referencia a un "falso negativo".

- **Exposición**: Respuesta humoral ante el contacto con el antígeno sin que haya infección.
- **Huésped u hospedero**⁴: Animal vivo que en circunstancias naturales permite la subsistencia o el alojamiento de un agente infeccioso.
- **Huésped accidental o incidental**⁴: Es aquel que normalmente no transmite un agente infeccioso a otros animales.
- **Huésped definitivo**⁴: Huésped en el cual el agente infeccioso realiza su fase sexual de reproducción y por tanto es esencial en el ciclo del patógeno o parásito.
- **Huésped primario o de mantenimiento**⁴: Aquel animal que mantiene una infección en una zona endémica.
- **Huésped secundario**⁴: Aquella especie que interviene en forma adicional en el ciclo biológico de un agente, especialmente fuera de las áreas endémicas típicas.
- **Incidencia**³: Número de casos o brotes nuevos de una enfermedad que se producen en una población animal en riesgo, en una zona geográfica determinada y durante un intervalo de tiempo definido.
- **Infección**³: Penetración y desarrollo o multiplicación de un agente infeccioso en el cuerpo de un animal.
- **Infección clínica**⁴: Es aquella en la que los signos y síntomas permiten caracterizar la enfermedad.
- **Infección, fase aguda**⁵: Fase inicial de una infección. Se caracteriza por la producción de un grupo de proteínas serológicas sintetizadas en respuesta a una infección; es una forma de inmunidad inducida innata no específica.
- **Infección, fuente de**⁴: Es el origen a partir del cual se transmite la infección, es decir, desde donde pasa el agente etiológico al huésped susceptible. Las fuentes de infección pueden ser objetos inanimados y el suelo, o seres vivos.
- **Infección subclínica**⁴: Infección de un huésped susceptible en ausencia de síntomas clínicos; en veterinaria se le asocia con una disminución en la productividad.
- **Inmunidad activa**¹: Tipo de inmunidad adquirida que se induce después del contacto con antígenos extraños, ya sea por infección, inmunización con agentes patógenos

vivos o muertos o sus antígenos, exposición a productos de patógenos (toxinas, toxoides) o por transplante de células extrañas. Da lugar a una resistencia de inicio lento y larga duración.

Inmunidad adquirida¹: Resistencia ante agentes patógenos presente después de la exposición a un antígeno. Es específica. Puede ser activa o pasiva.

Inmunidad humoral⁴: Respuesta inmunológica en la que intervienen linfocitos B, dando como resultado la síntesis de anticuerpos.

Inmunidad pasiva¹: Tipo de inmunidad adquirida por la transmisión de anticuerpos o linfocitos preformados en otro huésped. Es de disponibilidad inmediata y tiene un período de vida corto.

Occistos: Forma resistente de los zigotos encapsulados de protozoarios.

Patógeno¹: Organismo capaz de producir enfermedad.

Rebaño o manada³: Varios animales de la misma especie que se crían juntos bajo control humano o un grupo de animales salvajes de instinto gregario. A efectos del Código Terrestre, se considera que un rebaño, o una manada, constituye una unidad epidemiológica.

Reservorio³: Es la fuente primaria de infección, donde el agente patógeno se reproduce durante un periodo relativamente largo, en un ambiente natural. El reservorio puede ser inanimado (inerte) o un ser animado (vivo) también llamado hospedador o huésped.

Sensibilidad¹: Prueba de validez para identificar correctamente a los sujetos enfermos. Si la prueba es positiva y la enfermedad está presente, se habla de "verdadero positivo", si la prueba resulta positiva pero la enfermedad está ausente, se hace referencia a un "falso positivo".

Unidad epidemiológica³: Grupo de animales con determinada relación epidemiológica y aproximadamente la misma probabilidad de exposición a un agente patógeno porque comparten el mismo espacio. Se trata generalmente de un rebaño o de una manada. La relación epidemiológica puede variar de una enfermedad a otra, e incluso de una cepa de agente patógeno a otra.

Vector³: Portador vivo que transporta un agente infeccioso de un individuo infectado a un individuo susceptible, a sus alimentos o al entorno inmediato. El organismo puede pasar por un ciclo de desarrollo dentro del vector o no.

Zona infectada³: Zona geográfica en la que se ha diagnosticado una enfermedad.

Zoonosis³: Cualquier enfermedad o infección que puede ser transmitida naturalmente por los animales a las personas.

Fuentes:

- 1. Glosario. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/glosario.html
- 2. García Ordóñez, M. A. y J. D. Colmenero Castillo. 2006. Modelos pronósticos en bacteriemia y sepsis. An. Med. Interna (Madrid) 23: 53-55.
- 3. OIE. 2011. Código sanitario para los animales terrestres. 20 ed. París.
- 4. Vargas García, R. (2000). *Términos de uso común en epidemiología veterinaria* (p. 73). México, D.F.; Plaza y Valdés.
- 5. Wilson, B. A., Salyers, A. A., Whitt, D. D., Winkler, M. E. (2011). *Bacterial Pathogenesis: a molecular approach* (3th ed.). (p. 478). Washington, DC: ASM Press.
- 6. Playfair, J., Bancroft, G. (2013). *Infection & Immunity* (4th ed.). (pp. 147-148). Oxford: Oxford University Press.

Lista de referencias bibliográficas

- Acevedo-Whitehouse, K., De la Cueva, H., Gulland, F. M. D., Aurioles-Gamboa, D., Arellano-Carbajal, F. and Suarez-Güemes, F. (2003). Evidence of *Leptospira interrogans* infection in California Sea Lion pups from the Gulf of California. *Journal of Wildlife Diseases*, 39 (1), 145–151.
- Adler, B. and de la Peña Moctezuma, A. (2010). *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, *140* (3-4), 287–296.
- Aguirre, A. A. (2009). Wild canids as sentinels of ecological health: a conservation medicine perspective. *Parasites & Vectors*, *2 Suppl 1* (S7), 1–8.
- Aguirre-Muñoz, A., Barredo-Barberena, J. M., Luna-Mendoza, L., Hernández-Montoya, J. C., Samaniego-Herrera, A., Lizárraga, M. F., Méndez Sánchez, F., Ortiz-Alcaraz, A., Hermosillo-Bueno, M. A. y Castañeda-Rodríguez, I. (2009). Plan de erradicación de gatos ferales (*Felis catus*) y plan preliminar para la erradicación del ratón doméstico (*Mus musculus*) en isla Guadalupe, México. *Fondo Binacional México-Estados Unidos. Grupo de Ecología Y Conservación de Islas, A.C., Ensenada, B.C., México.*
- Aguirre-Muñoz, A., Luna-Mendoza, L., Hernández, J. C., Méndez, F., Barredo-Barberena, J. M. y Lizárraga, M. F. (2013). Restauración y conservación de Isla Guadalupe. Informe final SNIB-CONABIO. Proyecto No. DQ013.
- Aguirre-Muñoz, A., Samaniego-Herrera, A., Luna-Mendoza, L., Ortiz-Alcaraz, A., Rodríguez-Malagón, M., Méndez-Sánchez, F., Lizárraga, M. F., Hernández-Montoya J. C., González-Gómez, R., Torres-García, F., Barredo-Barberena, J. M. and Latofski-Robles, M. (2011). Island restoration in Mexico: ecological outcomes after systematic eradications of invasive mammals. *Island Invasives: Eradication and Management. Gland, Switzerland, IUCN*, 250–258.
- Almberg, E. S., Cross, P. C. and Smith, D. W. (2010). Persistence of canine distemper virus in the Greater Yellowstone ecosystem's carnivore community. *Ecological Applications: A Publication of the Ecological Society of America*, 20 (7), 2058–2074.
- Anónimo. (2006). Guidelines for the use of animals in research. *Animal Behaviour* 71, 245-253.
- Arias del Razo, A. (2011). Uso de hábitat por cuatro especies de pinnípedos en las islas al occidente de Baja California. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 126 p.

- Arkush, K. D., Miller, M. A., Leutenegger, C. M., Gardner, I. A., Packham, A. E., Heckeroth, A. R., Tenter, A. M., Barr, B. C. and Conrad, P. A. (2003). Molecular and bioassay-based detection of Toxoplasma gondii oocyst uptake by mussels (Mytilus galloprovincialis). *International Journal for Parasitology*, 33 (10), 1087–1097.
- Arrivillaga, J. y Caraballo, V. (2009). Medicina de la Conservación. *Revista Biomédica*, 20 (1), 55–67.
- Aurioles-Gamboa, D., Elorriaga-Verplancken, F. and Hernández-Camacho, C. J. (2010). The current population status of Guadalupe fur seal (*Arctocephalus townsendi*) on the San Benito Islands, Mexico. *Marine Mammal Science*, 26 (2), 402–408.
- Bandoli, J. G. e de Oliveira, C. A. B. (1977). Toxoplasmose em Sotalia guianensis (Van Beneden, 1863), Cetacea-Delphinidae. *Folha Médica*, *75*, 459–468.
- Barrett, T., Wohlsein, P., Bidewell, C. A. and Rowell, S. F. (2004). Canine distemper virus in a Californian sea lion (*Zalophus californianus*). *The Veterinary Record*, (154), 334–336.
- Bartholomew, G. A. (1950). A Male Guadalupe Fur Seal on San Nicolas Island , California. *Journal of Mammalogy*, *31* (2), 175–180.
- Bartholomew, G. A. and Hubbs, C. L. (1952). Winter Population of Pinnipeds about Guadalupe, San Benito, and Cedros Islands, Baja California. *Journal of Mammalogy*, 33 (2), 160–171.
- Belcher, R. L., and Lee Jr., T. E. (2002). *Arctocephalus townsendi. Mammalian Species*, 700, 1–5.
- Bernardi, G., Fain, S. R., Gallo-Reynoso, J. P., Figueroa-Carranza, A. L. and Le Boeuf, B. J. (1998). Genetic Variability in Guadalupe Fur Seals. *The Journal of Heredity*, 89 (4), 301–305.
- Berta, A., Adam, P. J. and Deme, T. A. (n.d.). Chapter 3 Pinnipedimorph Evolutionary Biogeography, 32–76.
- Bharti, A. R., Nally, J. E., Ricaldi, J. N., Matthias, M. A., Diaz, M. M., Lovett, M. A., Levett, P. N., Gilman, R. H., Willig, M. R., Gotuzzo, E., Vinetz, J. M. (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectius Diseases*, *3*, 757–771.
- Blank, O., Retamal, P., Abalos, P. y Torres, D. (2002). Detección de anticuerpos Antibrucella en focas de Weddell (*Leptonychotes weddellii*) de Cabo Shirref, Antártica. *Archivos de Medicina Veterinaria*.
- Boldi, C. A. (2003). Leptospirosis. In M. E. Fowler & R. E. Miller (Eds.), *Zoo and wild animal medicine* (pp. 699–702). St. Louis: Saunders.

- Bolstad, W. M. (2007). *Introduction to Bayesian Statistics* (2nd ed.). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Bonner, W. N. (1999). Seals and sea lions of the world. London: Blandford.
- Boots, M. and Sasaki, A. (2003). Parasite evolution and extinctions. *Ecology Letters*, 6 (3), 176–182.
- Bossart, G. D. (2011). Marine Mammals as Sentinel Species for Oceans and Human Health. *Veterinary Pathology*, *48* (3), 676–690.
- Burek, K. A., Beckmen, K., Gelatt, T., Fraser, W., Bracht, A. J., Smolarek, K. A., Romero, C. H. (2005). Poxvirus infection of Steller sea lions (*Eumetopias jubatus*) in Alaska. *Journal of Wildlife Diseases*, *41* (4), 745–752.
- Burek, K. A., Gulland, F. M. D., Sheffield, G., Keyes, E., Spraker, T. R., Smith, A. W., Skilling, D. E., Evermann, J., Stott, J. L., Trites, A. W. (2003). *Disease Agents in Steller Sea Lions in Alaska: a review and analysis of serology data from 1975-2000. Fisheries Centre Research Reports* (Vol. 11). Vancouver, B.C.
- Calle, P. P., Seagars, D. J., McClave, C., Senne, D., House, C. and House, J. a. (2002). Viral and bacterial serology of free-ranging Pacific walrus. *Journal of Wildlife Diseases*, 38 (1), 93–100.
- Cameron, A. R. and Baldock, F. C. (1998). A new probability formula for surveys to substantiate freedom from disease. *Preventive Veterinary Medicine*, 34 (1), 1–17.
- Cameron, C. E., Zuerner, R. L., Raverty, S., Colegrove, K. M., Norman, S. A., Lambourn, D. M., Jeffries, S. J., Gulland, F. M. (2008). Detection of pathogenic *Leptospira* bacteria in pinniped populations via PCR and identification of a source of transmission for zoonotic leptospirosis in the marine environment. *Journal of Clinical Microbiology*, *46* (5), 1728–1733.
- Carlson-Bremer, D., Colegrove, K. M., Gulland, F. M. D., Conrad, P. A., Mazet, J. A. K. and Johnson, C. K. (2015). Epidemiology and Pathology of Toxoplasma Gondii in Free-Ranging California Sea Lions (*Zalophus Californianus*). *Journal of Wildlife Diseases*, *51* (2), 362–373.
- Carretta, J. V., Forney, K. A., Lowry, M. S., Barlow, J., Baker, J., Johnston, D., Hanson, B., Brownell Jr, R. L., Robbins, J., Mattila, D. K., Ralls, K., Muto, M. M., Lynch, D., Carswell, L. (2009). U.S. Pacific Marine Mammal Stock Assessments: 2009. *Fisheries (Bethesda)*, 1–342.
- Carretta, J. V, Oleson, E., Weller, D. W., Lang, A. R., Forney, K. A., Baker, J., Hanson, B., Martien, K., Muto, M. M., Orr, A. J., Huber, H., Lowry, M. S., Barlow, J., Moore, J. E., Lynch, D., Carswell, L., Brownell Jr., R. L., Mattila, D. K. (2014). U.S. Pacific Marine Mammal Draft Stock Assessments: 2014. *NOAA*.

- Castro, H. A., González, S. R. y Prat, M. I. (2005). Brucelosis: una revisión práctica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, *39* (2), 203–216.
- Cerqueira, G. M. and Picardeau, M. (2009). A century of *Leptospira* strain typing. *Infection, Genetics and Evolution*, 9 (5), 760–768.
- Céspedes-Z, M. (2005). Leptospirosis: enfermedad zoonótica y reemergente. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 22 (4), 290–307.
- Christensen, J. and Gardner, I. A. (2000). Herd-level interpretation of test results for epidemiologic studies of animal diseases. *Preventive Veterinary Medicine*, *45* (1-2), 83–106.
- Clavareau, C., Wellemans, V., Walravens, K., Tryland, M., Verger, J. M., Grayon, M., Cloeckaert, A., Letesson, J. J., Godfroid, J. (1998). Phenotypic and molecular characterization of a *Brucella* strain isolated from a minke whale (Balaenoptera acutorostrata). *Microbiology (Reading, England)*, 144 (12), 3267–3273.
- Cleaveland, S., Laurenson, M. K. and Taylor, L. H. (2001). Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 356 (1411), 991–999.
- Clifford, D. L., Mazet, J. A. K., Dubovi, E. J., Garcelon, D. K., Coonan, T. J., Conrad, P. A. and Munson, L. (2006). Pathogen exposure in endangered island fox (*Urocyon littoralis*) populations: Implications for conservation management. *Biological Conservation*, 131 (2), 230–243.
- Colagross-Shouten, A. M., Mazet, J. A. K., Gulland, F. M. D., Miller, M. A. and Hietala, S. (2002). Diagnosis and Seroprevalence of Leptospirosis in California Sea Lions from coastal California. *Journal of Wildlife Diseases*, 38 (1), 7–17.
- Colegrove, K. M., Lowenstine, L. J. and Gulland, F. M. D. (2005). Leptospirosis in Northern Elephant Seals (*Mirounga angustirostris*) stranded along the California Coast. *Journal of Wildlife Diseases*, *41* (2), 426–430.
- Conrad, P. A., Miller, M. A., Kreuder, C., James, E. R., Mazet, J., Dabritz, H., Jessup, D. A., Gulland, F., Grigg, M. E. (2005). Transmission of Toxoplasma: clues from the study of sea otters as sentinels of Toxoplasma gondii flow into the marine environment. *International Journal for Parasitology*, *35* (11-12), 1155–1168.
- Cosby, S. L., McQuaid, S., Duffy, N., Lyons, C., Rima, B. K., Allan, G. M., McCullough, S. J., Kennedy, S., Smyth, J. A. McNeilly, F., Craig, C., Örvell, C. (1988). Characterization of a seal morbillivirus. *Nature*, *336*, 115–116.
- Dabritz, H. A. and Conrad, P. A. (2010). Cats and *Toxoplasma*: Implications for Public Health. *Zoonoses and Public Health*, *57* (1), 34–52.

- Daszak, P., Cunningham, A. A. and Hyatt, A. D. (2000). Emerging Infectious Diseases of Wildlife- Threats to Biodiversity and Human Health. *Science*, *287* (5452), 443–449.
- Day, M. J. and Shultz, R. D. (2014). *Veterinary Immunology: Principles and Practice* (2nd ed.). (pp. 39-40) Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Delaney, M. A., Colegrove, K. M., Spraker, T. R., Zuerner, R. L., Galloway, R. L. and Gulland, F. M. D. (2014). Isolation of *Leptospira* from a Phocid: acute renal failure and mortality from Leptospirosis in rehabilitated northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*), California, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, *50* (3), 621–627.
- Delgado-Argote, L. A., García-Abdeslem, J., y Mendoza-Borunda, R. (1993). Correlación geológica entre la batimetría y los rasgos estructurales del Oriente de la Isla Guadalupe, México. En: L.A. Delgado-Argote y A. Martín-Barajas (Eds.). Contribuciones a la Tectónica de México, Monografía No.1 de la Unión Geofísica Mexicana, México. (pp. 1-11)
- Díaz-Aparicio, E., Hernández-Andrade, L., Ochoa-Díaz, V., Blasco-Martínez, J. M. y Suárez-Güemes, F. (2000). Evaluación de la prueba de rivanol para el diagnóstico de brucelosis en caprinos. *Veterinaria México*, *31* (1), 53–58.
- Dierauf, L. A., Vandenbroek, D. J., Roletto, J., Koski, M., Amaya, L. and Gage, L. J. (1985). An epizootic of leptospirosis in California sea lions. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *187* (11), 1145–1148.
- D.O.F. (2014). Acuerdo por el que se da a conocer la lista de especies prioritarias para la conservación. Recuperado en septiembre del 2015, de: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5334865&fecha=05/03/2014
- Donahoe, S. L., Rose, K. and Slapeta, J. (2014). Multisystemic toxoplasmosis associated with a type II-like Toxoplasma gondii strain in a New Zealand fur seal (*Arctocephalus forsteri*) from New South Wales, Australia. *Veterinary Parasitology*, 205 (1-2), 347–353.
- Dubey, J. P. (2004). Toxoplasmosis a waterborne zoonosis. *Veterinary Parasitology*, 126 (1-2), 57–72.
- Dubey, J. P. (2008). The history of Toxoplasma gondii--the first 100 years. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, *55* (6), 467–475.
- Dubey, J. P., Zarnke, R., Thomas, N. J., Wong, S. K., Van Bonn, W., Briggs, M., Davis, J. W., Ewing, R., Mense, M. Kwok, O.C.H., Romand, S., Thulliez, P. (2003). *Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Sarcocystis neuron*a, and Sarcocystis canis-like infections in marine mammals. *Veterinary Parasitology*, 116 (4), 275–296.

- Duignan, P. J. (1999). Morbillivirus infections of marine mammals. In M. E. Fowler and R. E. Miller (Eds.) *Zoo and wild animal medicine: current therapy*. Vol. 4. (pp. 497-501). Philadelphia, Pennsylvania: W. B. Saunders.
- Duignan, P. J. (2000). Diseases in New Zealand sea mammals. *Surveillance*, 27 (3), 9-15.
- Duignan, P. J., Wilkinson, I. and Alley, M. R. (2003). New Zealand sea lion (*Phocarctos hookeri*) epidemic 2002. *New Zealand Veterinary Journal*, *51* (1), 45–46.
- Duignan, P., Van Bressem, M. F., Baker, J., Barbieri, M., Colegrove, K., De Guise, S., de Swart, R., Di Guardo, G., Dobson, A., Duprex, W., Early, G., Fauquier, D., Goldstein, T., Goodman, S., Grenfell, B., Groch, K., Gulland, F., Hall, A., Jensen, B., Lamy, K., Matassa, K., Mazzariol, S., Morris, S., Nielsen, O., Rotstein, D., Rowles, T., Saliki, J., Siebert, U., Waltzek, T., Wellehan, J. (2014). Phocine Distemper Virus: Current Knowledge and Future Directions. Viruses, 6 (12), 5093–5134.
- Eizirik, E. and Murphy, W. J. (2009). Carnivores (Carnivora). In *The Timetree of life* (pp. 504–507) S. B. Hedges and S. Kumar (Eds.) Oxford University Press.
- Epstein, P. R. (2001). Climate change and emerging infectious diseases. *Microbes and Infection*, 3 (9), 747-754
- Esperanza, B. (1874). Guadalupe. La isla de la piel de oro, sin duda alguna. *Forest and Stream*, 2 (22), 337–338.
- Esperón-Rodríguez, M. y Gallo-Reynoso, J. P. (2012). Recolonización del archipiélago de San Benito, Baja California, por el lobo fino de Guadalupe. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83, 170–176.
- Fleischer, L. A. (1978). The distribution, abundance, and population characteristics of the Guadalupe fur seal, Arctocephalus townsendi (Merriam 1897). M.S. thesis. University of Washington. 93 p.
- Flynn, J. J., Finarelli, J. A., Zehr, S., Hsu, J. and Nedbal, M. A. (2005). Molecular phylogeny of the carnivora (mammalia): assessing the impact of increased sampling on resolving enigmatic relationships. *Systematic Biology*, *54* (2), 317–337.
- Forbes, L. B., Nielsen, O., Measures, L. and Ewalt, D. R. (2000). Brucellosis in ringed seals and harp seals from Canada. Iforbes@em.agr.ca. *Journal of Wildlife Diseases*, *36* (3), 595–598.
- Foster, G., MacMillan, A., Godfroid, J., Howie, F., Ross, H., Cloeckaert, A., Reid, R. J., Brew, S., Patterson, I. A. (2002). A review of *Brucella* sp. infection of sea mammals with particular emphasis on isolates from Scotland. *Veterinary Microbiology*, *90* (1-4), 563–580.

- Foster, G., Osterman, B. S., Godfroid, J., Jacques, I. and Cloeckaert, A. (2007). *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57 (11), 2688–2693.
- Gallo-Reynoso, J. P. (1994). Factors Affecting the Population Status of Guadalupe Fur Seal, Arctocephalus Townsendi (Merriam, 1897), At Isla De Guadalupe, Baja California, Mexico. Tesis de Doctorado en Ciencias. University of California, Santa Cruz. 199 p.
- Gallo-Reynoso, J. P. and Figueroa-Carranza, A. L. (2010). Pup growth of the Guadalupe fur Seal, *Arctocephalus townsendi*. *Therya*, 1 (1), 75–90.
- Gallo-Reynoso, J. P., Figueroa-Carranza, A. L., & Le Boeuf, B. J. (2008). Foraging behavior of lactating Guadalupe fur seal females. *Avances en el Estudio de los Mamíferos de México, C. Lorenzo, E. Espinoza and J. Ortega (Eds.). Publicaciones Especiales*, 2, 595-614.
- García-Aguilar, M. C., Gutiérrez-García, D. and de la Cueva, H. (2013). Terrestrial Habitat Segregation Between the Guadalupe Fur Seal (*Arctocephalus townsendi*) and the California Sea Lion (*Zalophus californianus*) at Islas San Benito, México. *Aquatic Mammals*, 39 (1), 54–60.
- García-Capitanachi, B. (2011). Estado de la Población del Lobo Fino de Guadalupe (Arctocephalus townsendi) en Isla Guadalupe e Islas San Benito. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Baja California. 104 p.
- Garner, M. M., Lambourn, D. M., Jeffries, S. J., Hall, P. B., Rhyan, J. C., Ewalt, D. R., Polzin, L. M., Cheville, N. F. (1997). Evidence of *Brucella* infection in Parafilaroides lungworms in a Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardsi*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc, 9* (3), 298–303.
- Gelman, A., Carlin, J. B., Stern, H. S. and Rubin, D. B. (1995). Bayesian data analysis. Wiley Interdisciplinary Reviews Cognitive Science, 1 (5), 658–676.
- Geraci, J. R. and Lounsbury, V. J. (2005). *Marine Mammals Ashore: A Field Guide for Strandings*. (E. John Schmitz & Sons Inc, Ed.) (2nd ed.). (p. 179) Sparks, Maryland: National Aquarium in Baltimore, Baltimore, MD.
- Gerber, J. A., Roletto, J., Morgan, L. E., Smith, D. M. and Gage, L. J. (1993). Findings in pinnipeds stranded along the central and northern California coast, 1984-1990. *Journal of Wildlife Diseases*, 29 (3), 423–433.
- Gerrodette, T. (2011). Inference without significance: measuring support for hypotheses rather than rejecting them. *Marine Ecology*, *32* (3), 404–418.

- Gifford-Gonzales, D., Newsome, S., Koch, P., Snodgrass, J. and Burton, R. (2004). Archaeofaunal insights on pinniped-human interactions in the northeastern Pacific. In *The explotation and cultural importance of marine mammals* (pp.19–38). Marine Mammal Zooarchaeology.
- Godfroid, J. (2002). Brucellosis in wildlife. Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics), 21 (2), 277–286.
- Godínez, C. R., de Romillo, B. Z., Aurioles-Gamboa, D., Verdugo-Rodríguez, A., Rodríguez-Reyes, E. A. and De la Peña-Moctezuma, A. (1999). Antibodies against *Leptospira interrogans* in California sea lion pups from Gulf of California. *Journal of Wildlife Diseases*, 35 (1), 108–111.
- Goldstein, T., Zabka, T. S., Delong, R. L., Wheeler, E. A., Ylitalo, G., Bargu, S., Silver, M., Leighfield, T., Van Dolah, F., Langlois, G., Sidor, I., Dunn, J. L., Gulland, F. M. D. (2009). The role of domoic acid in abortion and premature parturition of California sea lions (*Zalophus californianus*) on San Miguel Island, California. *Journal of Wildlife Diseases*, 45 (1), 91–108.
- González-Barrientos, R., Morales, J. A., Hernández-Mora, G., Barquero-Calvo, E., Guzmán-Verri, C., Chaves-Olarte, E. and Moreno, E. (2010). Pathology of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) infected with *Brucella ceti. Journal of Comparative Pathology*, 142 (4), 347–352.
- Grachev, M. A., Kumarev, V. P., Mamaev, L. V, Zorin, V. L., Baranova, L. V, Denikina, N. N., Belikov, S. I., Petrov, S. I., Petrov, E. A., Kolesnik, V. S., Kolesnik, R. S., Dorofeev, V. M., Beim, A. M., Kudelin, V. N., Magieva, F. G., Sidorov, V. N. (1989). Distemper virus in Baikal seals. *Nature*, *338*, 209–210.
- Greene, C. E. (2006). *Infectious diseases of the dog and cat* (3rd ed.). (p 27-41) St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Greene, C. E. y Addie, D. D. (1993). Enfermedades infecciosas en perros y gatos. México, D.F.: Interamericana McGraw-Hill.
- Greig, D. J., Gulland, F. M. D. and Kreuder, C. (2005). A Decade of Live California Sea Lion (*Zalophus californianus*) Strandings Along the Central California Coast: Causes and Trends, 1991-2000. *Aquatic Mammals*, 31 (1), 11–22.
- Greiner, M. and Gardner, I. (2000). Application of diagnostic tests in veterinary epidemiologic studies. *Preventive Veterinary Medicine*, *45* (1-2), 43–59.
- Gulland, F. M. D., Koski, M., Lowenstine, L. J., Colagross, A., Morgan, L. and Spraker, T. (1996). Leptospirosis in California Sea Lions (*Zalphus californianus*) stranded along the Central California Coast, 1981-1994. *Journal of Wildlife Diseases*, 32 (4), 572–580.

- Gutiérrez-Gálvez, P. C. (2015). Causa de mortalidad en neonatos de Lobo fino de Guadalupe Arctocephalus townsendi en Isla Guadalupe, B. C., México: Temporada reproductiva 2013 y 2014. Instituto Politécnico Nacional. 87 p.
- Guzmán-Verri, C., González-Barrientos, R., Hernández-Mora, G., Morales, J.A., Baquero-Calvo, E., Chaves-Olarte, E. and Moreno, E. (2012). *Brucella ceti* and Brucellosis in Cetaceans. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2 (February), 1–22.
- Haddon, M. (2001). Modelling and Quantitative Methods in Fisheries. Taylor & Francis.
- Harvell, C. D., Kim, K., Burkholder, J. M., Colwell, R. R. and Epstein, P. R. (1999). Emerging Marine Diseases: Climate Links and Anthropogenic Factors. *Science*, 285, 1505–1510.
- Harvell, C. D., Mitchell, C. E., Ward, J. R., Altizer, S., Dobson, A. P., Ostfeld, R. S. and Samuel, M. D. (2002). Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science*, *296* (5576), 22.158–216.
- Heide-Jorgensen, M. P., Harkonen, T., Dietz, R. and Thompson, P. M. (1992). Retrospective of the 1988 European seal epizootic. *Diseases of Aquatic Organisms*, 13 (1), 37–62. Recuperado de: http://doi.org/10.3354/dao013037
- Hernández-Mora, G., Palacios-Alfaro, J. and González-Barrientos, R. (2013). Wildlife reservoirs of brucellosis: *Brucella* in aquatic environments and brucellosis serology. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties (Paris)*, 32 (1), 89–103.
- Higgins, R. (2000). Bacteria and fungi of marine mammals: A review. *Canadian Veterinary Journal*, 41 (2), 105–116.
- Hilborn, R. and Mangel, M. (1997). *The ecological detective: confronting models with data. Monographs in Population Biology* (Vol. 28). Recuperado de: http://doi.org/10.1046/j.1365-2664.1999.04462.x
- Hodder, J., Harvey, J. T., Graybill, M. R., Brown, R. F. and Ebberts, B. (1992). An Outbreak of Probable Leptospirosis in California Sea Lions along the Oregon Coast during Fall 1984. *Northwestern Naturalist*, 73 (2), 37. Recuperado de: http://doi.org/10.2307/3536687
- Holderness-Roddam, B. (2011). The effects of domestic dogs (Canis familiaris) as a disturbance agent on the natural environment. University of Tasmania. M. S. thesis. University of Tasmania, Hobart. 97 p.
- Holshuh, H. J., Sherrod, A. E., Taylor, C. R., Andrews, B. F. and Howard, E. B. (1985). Toxoplasmosis in a feral northern fur seal. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *187* (11), 1229–1230.

- Hubbs, C. L. (1956). Back from oblivion. Guadalupe fur seal: still a living species. *Pacific Discovery IX*, *6*, 14–21.
- Hughes, J. and Macdonald, D. W. (2013). A review of the interactions between free-roaming domestic dogs and wildlife. *Biological Conservation*, 157, 341–351. Recuperado de: http://doi.org/10.1016/j.biocon.2012.07.005
- Innes, E. A. (2010). A brief history and overview of Toxoplasma gondii. *Zoonoses and Public Health*, *57* (1), 1–7. Recuperado de: http://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01276.x
- Jahans, K. L., Foster, G. and Broughton, E. S. (1997). The characterisation of *Brucella* strains isolated from marine mammals. *Veterinary Microbiology*, *57* (4), 373–382. Recuperado de: http://doi.org/10.1016/S0378-1135(97)00118-1
- Jakob-Hoff, R. M., MacDiarmid, S. C., Lees, C., Miller, P. S., Travis, D. and Kock, R. (2014). *Manual of Procedures for Wildlife Disease Risk Analysis*. (pp. 97-98) Paris: OIE AND IUCN.
- Jehl, J. R. (1972). On the cold trail of an extinct petrel. *Pacific Discovery*, 25 (6), 24–29.
- Jehl, J. R. and Everett, W. T. (1985). History and status of the avifauna of Isla Guadalupe, Mexico. *Transactions of The San Diego Society of Natural History*, 20 (17), 313–336.
- Jensen, S. K., Aars, J., Lydersen, C., Kovacs, K. M. and Åsbakk, K. (2010). The prevalence of Toxoplasma gondii in polar bears and their marine mammal prey: evidence for a marine transmission pathway? *Polar Biology*, 33 (5), 599–606. Recuperado de: http://doi.org/10.1007/s00300-009-0735-x
- Joseph, L., Gyorkos, T. W. and Coupal, L. (1995). Bayesian estimation of disease prevalence and the parameters of diagnostic tests in the absence of a gold standard. *American Journal of Epidemiology*, 141 (3), 263–272.
- Kennedy, S. (1998). Morbillivirus infections in aquatic mammals. *Journal of Comparative Pathology*, 119 (3), 201–225.
- Kennedy, S., Kuiken, T., Jepson, P. D., Deaville, R., Forsyth, M., Barrett, T., Van De Bildt, M. W. G., Osterhaus, A., Eybatov, T., Duck, C., Kydyrmanov, A., Mitrofanov, I., Wilson, S. (2000). Mass die-off of Caspian seals caused by canine distemper virus. *Emerging Infectious Diseases*, *6* (6), 637–639.
- Kennedy, S., Smyth, J. A., McCullough, S. J., Allan, G. M., McNeilly, F. and McQuaid, S. (1988). Confirmation of cause of recent seal deaths. *Nature*, *335* (6189), 404.
- Krakowka, S., Hoover, E. A., Koestner, A. and Ketring, K. (1977). Experimental and naturally occurring transplacental transmission of canine distemper virus. *American Journal of Veterinary Research*, 38 (7), 919–922.

- Kuiken, T., Kennedy, S., Barrett, T., Van de Bildt, M. W. G., Borgsteede, F. H., Brew, S. D., Codd, G. A., Duck, C., Deaville, R., Eybatov, T., Forsyth, M. A., Foster, G., Jepson, P. D., Kydyrmanov, A. Mitrofanov, I., Ward, C. J., Wilson, S., Osterhaus, A. D. M. E. (2006). The 2000 canine distemper epidemic in Caspian seals (*Phoca caspica*): pathology and analysis of contributory factors. *Veterinary Pathology*, 43 (3), 321–338.
- Lafferty, K. D. and Gerber, L. R. (2002). Good Medicine for Conservation Biology: the Intersection of Epidemiology and Conservation Theory. *Conservation Biology*, *16* (3), 593–604. Recuperado de: http://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2002.00446.x
- Lavine, M. (1999). What is Bayesian statistics and why everything else is wrong. *The Journal of Undergraduate Mathematics and Its Applications*, *20*, 165–174.
- Leighton, F. A. & T. Kuiken. (2001). Leptospirosis. In: E. S. Williams & I. K. Barker (Eds.). *Infectious diseases of wild animals*. (pp. 498-501) Ames: Iowa State University Press.
- León de la Luz, J. L., Rebman, J. P. and Oberbauer, T. (2003). On the urgency of conservation on Guadalupe Island, Mexico: is it a lost paradise? *Biodiversity and Conservation*, *12*, 1073–1082.
- Lloyd-Smith, J. O., Greig, D. J., Hietala, S., Ghneim, G. S., Palmer, L., St Leger, J., Grenfell, B. T., Gulland, F. M. D. (2007). Cyclical changes in seroprevalence of leptospirosis in California sea lions: endemic and epidemic disease in one host species? *BMC Infectious Diseases*, 7, 125. Recuperado de: http://doi.org/10.1186/1471-2334-7-125
- Luna, A., Moles, C. y Gavaldón, R. (2008). La leptospirosis canina y su problemática en México. *Revista de Salud Animal*, 30 (1), 1–11.
- Lyles, A. M. and Dobson, A. P. (1993). Infectious disease and intensive management: population dynamics, threatened hosts, and their parasites. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 24 (3), 315–326. Recuperado de: http://doi.org/10.2307/20095284
- Lynch, M., Duignan, P. J., Taylor, T., Nielsen, O., Kirkwood, R., Gibbens, J. and Arnould, J. P. Y. (2011). Epizootiology of *Brucella* infection in Australian fur seals. *Journal of Wildlife Diseases*, *47* (2), 352–363. Recuperado de: http://doi.org/10.7589/0090-3558-47.2.352
- Mackereth, G. F., Webb, K. M., O'keefe, J. S., Duignan, P. J. and Kittelberger, R. (2005). Serological survey of pre-weaned New Zealand fur seals (*Arctocephalus forsteri*) for brucellosis and leptospirosis. *New Zealand Veterinary Journal*, *53* (6), 428–432. Recuperado de: http://doi.org/10.1080/00480169.2005.36588
- Mahy, B. W. J., Barrett, T., Evans, S., Anderson, E. C. and Bostock, C. J. (1988). Characterization of a seal morbillivirus. *Nature*, *336*, 115.

- Mamaev, L. V, Visser, I. K. G., Belikov, S. I., Denikina, N. N., Harder, T., Goatley, L., Rima, B., Edginton, B., Osterhaus, A. D. M. E., Barret, T. (1996). Canine distemper virus in Lake Baikal seals (*Phoca sibirica*). *The Veterinary Record*, *138*, 437–439.
- Maquart, M., Le Flèche, P., Foster, G., Tryland, M., Ramisse, F., Djønne, B., Al Dahouk, S., Jacques, I., Neubauer, H., Walravens, K., Godfroid, J., Cloeckaert, A., Vergnaud, G. (2009). MLVA-16 typing of 295 marine mammal *Brucella* isolates from different animal and geographic origins identifies 7 major groups within *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedialis*. *BMC Microbiology*, 9, 145. Recuperado de: http://doi.org/10.1186/1471-2180-9-145
- Maratea, J., Ewalt, D. R., Frasca, S., Dunn, J. L., De Guise, S., Szkudlarek, L., St. Aubin, D. J., French, R. A.(2003). Evidence of *Brucella* sp. infection in marine mammals stranded along the coast of southern New England. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine: Official Publication of the American Association of Zoo Veterinarians*, 34 (3), 256–261. Recuperado de: http://doi.org/10.1638/02-053
- Maravilla-Chavez, M. O. y Lowry, M. (1996). Censos de pinnípedos en islas de la costa occidental de la Península de Baja California, México (Julio/Agosto, 1992). *Ciencia Pesquera (Nueva Época)*, 13, 73–77.
- Maravilla-Chavez, M. O. and Lowry, M. S. (1999). Incipient Breeding Colony of Guadalupe Fur Seals At Isla Benito Del Este, Baja California, Mexico. *Marine Mammal Science*, 15 (January), 239–241. Recuperado de: http://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1999.tb00796.x
- Mazzillo, F. F. M., Shapiro, K. and Silver, M. W. (2013). A new pathogen transmission mechanism in the ocean: The case of sea otter exposure to the land-parasite *Toxoplasma gondii*. *PLoS ONE*, *8* (12), 2–13. Recuperado de: http://doi.org/10.1371/journal.pone.0082477
- McIlhattan, T. J., Martin, J. W., Wagner, R. J. and Iversen, J. O. (1971). Isolation of *Leptospira* pomona from a naturally infected California sea lion, Sonoma County, California. *Journal of Wildlife Diseases*, 7(3), 195–197.
- Measures, L. N., Dubey, J. P., Labelle, P. and Martineau, D. (2004). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Canadian Pinnipeds. *Journal of Wildlife Diseases*, *40* (2), 294–300.
- Medina-Vogel, G. (2010). Ecology of emerging infectious diseases and wild species conservation. *Archivos de Medicina Veterinaria*, *42*, 11–24. Recuperado de: http://doi.org/10.4067/s0301-732x2010000100003
- Meegan, J., Field, C., Sidor, I., Romano, T., Casinghino, S., Smith, C. R., Kashinsky, L., Fair, P. A., Bossart, G., Wells, R., Dunn, J. L. (2010). Development, Validation, and Utilization of a Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Antibodies against *Brucella* Species in Marine Mammals. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 22 (6), 856–862. Recuperado de: http://doi.org/10.1177/104063871002200603

- Mellink, E. and Palacios, E. (1990). Observations on Isla Guadalupe in November 1989. *Western Birds*, *21*, 177–180.
- Meyer, G. and Diallo, A. (1995). The nucleotide sequence of the fusion protein gene of the peste des petits ruminants virus: the long untranslated region in the 5'-end of the F-protein gene of morbilliviruses seems to be specific to each virus. *Virus Research*, 37 (1), 23–35.
- Milanés Salinas, M. de los Á. (2012). Abundancia y distribución de sitios de crianza del lobo marino de California, Zalophus californianus, en el Pacífico mexicano. Universidad Autónoma de Baja California.
- Miller, M. A., Miller, W. A., Conrad, P. A., James, E. R., Melli, A. C., Leutenegger, C. M., Dabritz, H. A., Packham, A. E., Paradies, D., Harris, M., Ames, J., Jessup, D. A., Worcester, K., Grigg, M. E. (2008). Type X *Toxoplasma gondii* in a wild mussel and terrestrial carnivores from coastal California: new linkages between terrestrial mammals, runoff and toxoplasmosis of sea otters. *International Journal for Parasitology*, 38 (11), 1319–1328. Recuperado de: http://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.02.005
- Miller, M. A., Gardner, I. A., Kreuder, C., Paradies, D. M., Worcester, K. R., Jessup, D. A., Dodd, E. Harris, M. D. Ames, J. A. Packham, A. E Conrad, P. A.(2002). Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). *International Journal for Parasitology*, 32 (8), 997–1006. Recuperado de: http://doi.org/10.1016/S0020-7519(02)00069-3
- Miller, W. G., Adams, L. G., Ficht, T. A., Cheville, N. F., Payeur, J. P., Harley, D. R., House, C., Ridgway, S. H. (1999). Brucella-induced abortions and infection in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine:* Official Publication of the American Association of Zoo Veterinarians, 30, 100–110.
- Montiel-Arteaga, A., Atilano, D., Ayanegui, A., Ceballos, G. and Suzán, G. (2014). Risk Factors Associated With Prevalence of Antibodies To *Leptospira Interrogans* in a Metapopulation of Black-Tailed Prairie Dogs in Mexico. *Journal of Wildlife Diseases*, 51 (1). Recuperado de: http://doi.org/10.7589/2013-10-259
- Moran, R. (1996). The flora of Guadalupe island, Mexico. *Memoirs of the California Academy of Sciences*, (19).
- Nielsen, K. and Duncan, J. R. (1990). Animal brucellosis. (p. 4) Boca Raton: CRC Press.
- NOAA. (2015). 2015 Guadalupe fur seal unusual mortality event in California. Recuperado el 15 de octubre del 2015, de: http://www.nmfs.noaa.gov/pr/health/mmume/guadalupefurseals2015.html.
- Norman, S. A., Digiacomo, R. F., Gulland, F. M. D., Meschke, J. S. and Lowry, M. S. (2008). Risk factors for an outbreak of leptospirosis in california sea lions (*Zalophus californianus*) in california, 2004. *Journal of Wildlife Diseases*, *44* (4), 837–844.

- O'Keefe, K. J. and Antonovics, J. (2002). Playing by different rules: the evolution of virulence in sterilizing pathogens. *The American Naturalist*, *159* (6), 597–605. Recuperado de: http://doi.org/10.1086/339990
- Oberbauer, T. (2006). La vegetación de Isla Guadalupe . Entonces y ahora. *Gaceta Ecológica*, *081* (Wagner 1929), 47–58.
- Ohashi, K. and Kai, C. (2000). Morbillivirus Infections in wildlife of Japan. *Journal of Veterinary Medicine*, 53, 834–838.
- OIE. (2004). Enfermedades de los bóvidos de la lista b. *Manual de La OIE Sobre Los Animales Terrestres*, 445–476.
- Organizacion Mundial de Sanidad Animal OIE. (2008). Leptospirosis. In *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres* (Comisión d, pp. 1–15). Paris: Office International des Epizooties.
- OIE (2015). Manual de las pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres 2015. Recuperado en marzo del 2015, de: http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/
- Osterhaus, A. D. M. E., Groen, J., Vries, P. D. E., Uytdehaag, F. G. C. M., Klingeborn, B. and Zarnke, R. (1988). Canine distemper virus in seals. *Nature*, 335 (6189), 403–404.
- Osterhaus, A. D. and Vedder, E. J. (1988). Identification of virus causing recent seal deaths. *Nature*, *335* (6185), 20.
- Owen, W. E., Martins, T. B., Litwin, C. M. and Roberts, W. L. (2006). Performance Characteristics of Six IMMULITE 2000 TORCH Assays. *American Journal of Clinical Pathology*, 126 (6), 900–905. Recuperado de: http://doi.org/10.1309/KUA926D3YAPFYQG8
- Pedersen, A. B., Jones, K. E., Nunn, C. L., and Altizer, S. (2007). Infectious diseases and extinction risk in wild mammals. *Conservation Biology*, *21* (5), 1269–1279. Recuperado de: http://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2007.00776.x
- Perrin, W. F., Würsig, B. and Thewissen, J. G. M. (2009). *Encyclopedia of Marine Mammals* (Academic P). Canada: Elsevier Science.
- Pringle, C. R. (1991). The order Mononegavirales. *Archives of Virology*, 117 (1), 137–140.
- R Development Team. (2015). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Ratcliffe, H. L. and Worth, C. B. (1951). Toxoplasmosis of Captive Wild Birds and Mammals*. *The American Journal of Pathology*, 27 (4), 655–667.

- Reitstetter, R. E. (2006). Development of species-specific PCR primer sets for the detection of *Leptospira*. *FEMS Microbiology Letters*, *264* (1), 31–39. Recuperado de: http://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00431.x
- Rengifo-Herrera, C., Ortega-Mora, L. M., Alvarez-García, G., Gómez-Bautista, M., García-Párraga, D., García-Peña, F. J. and Pedraza-Díaz, S. (2012). Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in Antarctic pinnipeds. *Veterinary Parasitology*, 190 (1-2), 259–262. Recuperado de: http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.05.020
- Riedman, M. (1990). *The pinnipeds: seals, sea lions, and walruses*. (pp. 176-222) Univ of California Press.
- Robert-Gangneux, F., Aubert, D. and Villena, I. (2015). Toxoplasmosis: A Widespread Zoonosis Diversely Affecting Humans and Animals. In *Zoonoses-Infections Affecting Humans and Animals* (pp. 355–376). Springer.
- Roe, W. D., Rogers, L. E., Gartrell, B. D., Chilvers, B. L. and Duignan, P. J. (2010). Serologic evaluation of New Zealand sea lions for exposure to *Brucella* and *Leptospira* spp. *Journal of Wildlife Diseases*, *46* (4), 1295–1299. Recuperado de: http://doi.org/10.7589/0090-3558-46.4.1295
- Ross, H. M., Foster, G., Reid, R. J., Jahans, K. L. and MacMillan, A. P. (1994). *Brucella* species infection in sea-mammals. *Veterinary Record*, *134* (14), 359.
- Ross, P. S., Pohajdak, B., Bowen, W. D. and Addison, R. F. (1993). Immune function in free-ranging harbor seal (*Phoca vitulina*) mothers and their pups during lactation. *Journal of Wildlife Diseases*, *29* (1), 21–29.
- Castro, R., Mascarenhas, A., Sánchez-Barba, A., Durazo, R., Gil-Silva, E. (2005) Condiciones meteorológicas en el sur de Isla Guadalupe. En: Santos del Prado, K. y Peters, E. (2005). *Isla Guadalupe: Restauración y conservación* (S y G Edit). México, D.F.
- Scholz, H. C. (2008). Isolation of *Brucella microti* from Soil . *Emerging Infectious Diseases*, 14 (8), 1316–1317. Recuperado de: http://doi.org/10.3201/eid1408.080286
- Scholz, H. C., Hubalek, Z., Sedláček, I., Vergnaud, G., Tomaso, H., Al Dahouk, S., Melzer, F., Kämpfer, P., Heubauer, H., Cloeckaert, A., Maquart, M., Zygmunt, M. S., Whatmore, A. M., Falsen, E., Bahn, P., Göllner, C., Pfeffer, M., Huber, B., Busse, H. J., Nöckler, K. (2008). *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58 (2), 375–382. Recuperado de: http://doi.org/10.1099/ijs.0.65356-0

- SEMARNAT (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental— Especies nativas de México de flora y fauna silvestres— Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio— Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación 30 diciembre, 2010.
- Senasa y OIE. (2009). *Manual de Diagnóstico serológico de Brucelosis Bovina.* (pp.1–95).
- Serrano de la Vega, M. I. (2012). Exposición a Leptospira sp. patógena del elefante marino, Mirounga angustirostris. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias Marinas, Ensenada, Universidad Autónoma de Baja California, México. 134 p.
- Siddle, H. V, Kreiss, A., Eldridge, M. D. B., Noonan, E., Clarke, C. J., Pyecroft, S., Woods, G. M., Belov, K. (2007). Transmission of a fatal clonal tumor by biting occurs due to depleted MHC diversity in a threatened carnivorous marsupial. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104 (41), 16221–16226. Recuperado de: http://doi.org/10.1073/pnas.0704580104
- Singh, A. K. (2000). Evaluation of solid-phase chemiluminescent enzyme immunoassay, enzyme-linked immunosorbent assay, and latex agglutination tests for screening toxoplasma IgG in samples obtained from cats and pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.*, 12 (2), 136–141. Recuperado de: http://doi.org/10.1177/104063870001200206
- Smith, A. W., Brown, R. J., Skilling, D. E., Bray, H. L. and Keyes, M. C. (1977). Naturally-occurring leptospirosis in Northern fur seals (*Callorhinus ursin*us). *Journal of Wildlife Diseases*, *13* (2), 144–148.
- Smith, A. W., Prato, C. M., Gilmartin, W. G., Brown, R. J. and Keyes, M. C. (1974). A preliminary report on potentially pathogenic microbiological agents recently isolated from pinnipeds. *Journal of Wildlife Diseases*, *10* (1), 54–59.
- Smith, K. F., Acevedo-Whitehouse, K. and Pedersen, A. B. (2009). The role of infectious diseases in biological conservation. *Animal Conservation*, *12* (1), 1–12. Recuperado de: http://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2008.00228.x
- Smith, K. F. and Carpenter, S. M. (2006). Potential spread of introduced black rat (Rattus rattus) parasites to endemic deer mice (Peromyscus maniculatus) on the California Channel Islands. *Diversity and Distributions*, 12 (6), 742–748.
- Smith, K. F., Sax, D. F. and Lafferty, K. D. (2006). Evidence for the role of infectious disease in species extinction and endangerment. *Conservation Biology*, 20 (5), 1349–1357. Recuperado de: http://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00524.x

- Spielman, D., Brook, B. W. and Frankham, R. (2004). Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(42), 15261–15264. Recuperado de: http://doi.org/10.1073/pnas.0403809101
- Starks, E. C. (1922). Records of captures of fur seals on land in California. *California Fish and Game*, *8*, 155–160.
- Tenter, A. M., Heckeroth, A. R. and Weiss, L. M. (2000). *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*, *30* (12-13), 1217–1258. Recuperado de: http://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00124-7
- Thakur, S. D., Vaid, R. K., Panda, A. K. and Saini, Y. (2012). Marine mammal brucellosis: A new dimension to an old zoonosis. *Current Science*, *103* (8), 902–910.
- Thrall, P. H., Antonovics, J. and Hall, D. W. (1993). Host and Pathogen Coexistence in Sexually Transmitted and Vector-Borne Diseases Characterized by Frequency-Dependent Disease Transmission. *The American Naturalist*. Recuperado de: http://doi.org/10.1086/285554
- Townsend, C. H. (1924). The northern elephant seal and the Guadalupe fur seal. *Natural History*, 24 (5), 567–577.
- Townsend, C. H. (1931). The fur seal of the California islands with new descriptive and historical matter. *Zoologica*, *9*, 442–457.
- Tryland, M., Nymo, I. H., Nielsen, O., Nordøy, E. S., Kovacs, K. M., Krafft, B. A., Thoresen, S. I., Åsbakk, K., Osterrieder, K., Roth, S. J., Lydersen, C., Godfroid, J., Blix, A. S. (2012). Serum chemistry and antibodies against pathogens in antarctic fur seals, Weddell seals, crabeater seals, and Ross seals. *Journal of Wildlife Diseases*, 48 (3), 632–645. Recuperado de: http://doi.org/10.7589/0090-3558-48.3.632
- Tryland, M., Sørensen, K. K. and Godfroid, J. (2005). Prevalence of *Brucella* pinnipediae in healthy hooded seals (*Cystophora cristata*) from the North Atlantic Ocean and ringed seals (*Phoca hispida*) from Svalbard. *Veterinary Microbiology*, 105 (2), 103–111. Recuperado de: http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.11.001
- Valsecchi, E., Amos, W., Raga, J. A., Podestà, M. and Sherwin, W. (2004). The effects of inbreeding on mortality during a morbillivirus outbreak in the Mediterranean striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*). *Animal Conservation*, 7 (02), 139–146.

- Van Bressem, M. F., Duignan, P., Banyard, A., Barbieri, M., Colegrove, K., De Guise, S., Di Guardo, G., Dobson, A., Domingo, M., Fauquier, D., Fernandez, A., Goldstein, T., Grenfell, B., Groch, K., Gulland, F., Jensen, B., Jepson, P., Hall, A., Kuiken, T., Mazzariol, S., Morris, S., Nielsen, O., Raga, J., Rowles, T., Saliki, J., Sierra, E., Stephens, N., Stone, B., Tomo, I., Wang, J., Waltzek, T., Wellehan, Wellehan, J. (2014). Cetacean Morbillivirus: Current Knowledge and Future Directions. *Viruses*, 6 (12), 5145–5181. Recuperado de: http://doi.org/10.3390/v6125145
- Van Pelt, R. W. and Dieterich, R. A. (1973). Staphylococcal infection and Toxoplasmosis in a young Harbor seal. *Journal of Wildlife Diseases*, *9* (3), 258–261.
- Vedros, N. A., Smith, A. W., Schonewald, J., Migaki, G. and Hubbard, R. C. (1971). Leptospirosis epizootic among California sea lions. *Science*, *172*, 1250–1251.
- Viana, M., Cleaveland, S., Matthiopoulos, J., Halliday, J., Packer, C., Craft, M. E., Hampson, K., Czupryna, A., Dobson, A. P., Dubovi, E. J., Ernest, E., Fyumagwa, R., Hoare, R., Hopcraft, J. G. C., Horton, D. L., Kaare, M. T., Kanellos, T., Lankester, F., Mentzel, C., Mlengeya, T., Mzimbiri, I., Takahashi, E., Willett, B., Haydon, D. T., Lembo, T. (2015). Dynamics of a morbillivirus at the domestic—wildlife interface: Canine distemper virus in domestic dogs and lions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (5), 1464–1469. Recuperado de: http://doi.org/10.1073/pnas.1411623112
- Visser, I. K. G., Van Bressem, M. F., Barrett, T. and Osterhaus, A. D. M. E. (1993). Morbillivirus infections in aquatic mammals. *Veterinary Research*, *24* (2), 169–178.
- Vitousek, P. M., D'Antonio, C. M., Loope, L. L. and Westbrooks, R. (1996). Biological Invasions as Global Environmental Change. *The American Naturalist*, *84* (5), 468–478.
- Von Messling, V., Oezguen, N., Zheng, Q., Vongpunsawad, S., Braun, W. and Cattaneo, R. (2005). Nearby Clusters of Hemagglutinin Residues Sustain SLAM-Dependent Canine Distemper Virus Entry in Peripheral Blood Mononuclear Cells Nearby Clusters of Hemagglutinin Residues Sustain SLAM-Dependent Canine Distemper Virus Entry in Peripheral Blood Mononucle. *Journal of Virology*, 79 (9), 5857–5862. Recuperado de: http://doi.org/10.1128/JVI.79.9.5857
- Weber, D. S., Stewart, B. S. and Lehman, N. (2004). Genetic Consequences of a Severe Population Bottleneck in the Guadalupe Fur Seal (*Arctocephalus townsendi*). *Journal of Heredity*, *95* (2), 144–153. Recuperado de: http://doi.org/10.1093/jhered/esh018
- Wegeforth, H. M. (1928). The Guadalupe fur seal (*Arctocephalus townsendi*). *Zoonoz*, 3, 4–9.
- Wilcove, D. S., Rothstein, D., Dubow, J., Phillips, A. and Losos, E. (1998). Quantifying Threats to Imperiled Species in the United States. *BioScience*, *48* (8), 607–615. Recuperado de: http://doi.org/10.2307/1313420

- Zarnke, R. L., Dubey, J. P., Kwok, O. C. H. and Ver Hoef, J. M. (2000). Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in selected wildlife species from Alaska. *Journal of Wildlife Diseases*, 36 (2), 219–224.
- Zarnke, R. L., Saliki, J. T., Macmillan, A. P., Brew, S. D., Dawson, C. E., Ver Hoef, J. M., Frost, Kathryn J., Small, R. J. (2006). Serologic survey for *Brucella* spp., phocid herpesvirus-1, phocid herpesvirus-2, and phocine distemper virus in harbor seals from Alaska, 1976-1999. *Journal of Wildlife Diseases*, 42 (2), 290–300. Recuperado de: http://doi.org/10.7589/0090-3558-42.2.290
- Zuerner, R. L., Cameron, C. E., Raverty, S., Robinson, J., Colegrove, K. M., Norman, S. A., Lambourn, D., Jeffries, S., Alt, D. P., Gulland, F. (2009). Geographical dissemination of *Leptospira interrogans* serovar Pomona during seasonal migration of California sea lions. *Veterinary Microbiology*, 137 (1-2), 105–110. Recuperado de: http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.12.017