

Detección de anticuerpos contra patógenos en cerdos (*Sus scrofa*) asilvestrados y domésticos de la Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna, México

Claudia Mariana Pérez-Rivera^{1*}

0000-0003-3783-9478

Mauro Sanvicente López²

0000-0001-6550-9981

Gustavo Arnaud Franco³

0000-0002-5317-2303

Rosalba Carreón Nápoles⁴

0000-0002-1721-7957

¹Departamento de Medicina y Zootecnia de Cerdos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Coyoacán, Cd. México, México. C.P. 04510

²Estudiante de Doctorado en Ciencias en Manejo Sustentable de Recursos Naturales del Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, km. 125.5 carretera federal México-Puebla, C.P. 72760, Puebla, Puebla, México.

³Área de Planeación Ambiental y Conservación, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, México. Instituto Politécnico Nacional 195, Playa Palo de Santa Rita Sur, La Paz, B.C.S. México; C.P. 23096.

⁴Departamento de Medicina y Zootecnia de Cerdos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Coyoacán, Cd. México, México. C.P. 04510

***Autor para correspondencia:**

Tel: + 5520848469

Correo electrónico:
mariana.perez.rivera@gmail.com

Recibido: 2016-04-26

Aceptado: 2016-11-11

Publicado: 2017-01-24

Información y declaraciones adicionales
en la página 8

© Derechos de autor:

Claudia Mariana Pérez-Rivera et al. 2017

acceso abierto 



Distribuido bajo una Licencia Creative Commons
Atribución 4.0 Internacional (CC-BY 4.0)

Resumen

Diversas enfermedades que se creían controladas o extintas han reaparecido con efectos catastróficos para los seres humanos, los animales domésticos y la fauna silvestre. Aproximadamente el 60 % de los episodios de enfermedad registrados hasta hoy fueron causados por agentes zoonóticos, y 72 % de ellos se originaron en la fauna silvestre. Los cerdos (*Sus scrofa*) son una especie que favorece la propagación de patógenos, ya que con frecuencia son reservorio de numerosas enfermedades. El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia de enfermedades virales y bacterianas, que además de afectar a los cerdos asilvestrados y domésticos de la Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna, pueden también impactar en la salud de la fauna silvestre, y por su potencial zoonótico a los humanos. Realizamos el diagnóstico a través de pruebas serológicas a muestras de 70 animales para la detección de anticuerpos frente a influenza porcina (IP), PRRS, enfermedad de Aujeszky (EA), leptospirosis (Lp), salmonelosis (SI) y brucelosis (Br). No detectamos anticuerpos frente a PRRS ni EA, mientras que el porcentaje de seropositivos que detectamos fue: IP (30.7 %), Lp (25.7 %), SI (28.7 %) y Br (14.2 %). Los resultados demuestran que estos patógenos están presentes en Sierra la Laguna, e implican que los cerdos pueden ser un factor importante para la transmisión de patógenos a otras especies de animales y asimismo, a las personas con que han tenido contacto, o incluso, con quienes los han consumido. Por tal motivo, es importante desarrollar planes de manejo e implementar una vigilancia epidemiológica para estas enfermedades en los animales de esa zona.

Palabras clave: Cerdos asilvestrados, zoonosis, diagnóstico serológico, Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna.

Introduction

La globalización ha jugado un papel importante en la diseminación de enfermedades, porque permite la movilización de personas, animales y subproductos de un lugar del planeta a otro en solo algunas horas¹. Además, hay otros elementos como el aumento en la población, la deforestación, la introducción de especies

exóticas, el cambio en el uso del suelo, la fragmentación de hábitat, el consumo de fauna y el turismo alternativo, que aumentan la posibilidad de contacto entre los humanos y los animales silvestres.

Las interacciones humano-animal-ambiente son fundamentales en la aparición de zoonosis^{2,3}. Debido a esto, se ha puesto mayor atención a las enfermedades de los animales domésticos, que son con los que se tiene mayor interacción por razones obvias. Sin embargo, la dificultad de estudiar las enfermedades en vida silvestre ha provocado que no se haya dado la misma atención a la vigilancia de las enfermedades en estos animales, a pesar de conocer el rol que juegan en la transmisión de agentes patógenos². Un ejemplo son los cerdos asilvestrados (*Sus scrofa*), ya que juegan un papel importante en la propagación de patógenos al ser reservorios de numerosas enfermedades virales, bacterianas y parasitarias, potencialmente transmisibles entre los humanos, y los animales domésticos y silvestres⁴⁻⁶. Asimismo, los cerdos ferales, como también se les llama, pueden participar en la propagación de varias enfermedades exóticas. Esta clase de cerdos se consideran una de las principales especies invasoras a nivel mundial^{5,7,8}.

La Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna (REBIOSLA) es considerada una zona de importancia ecológica por su gran biodiversidad⁹. Este sitio tiene una historia geológica que ha originado ecosistemas únicos en México con la presencia de especies con características de insularidad¹⁰. La diversa gama de ecosistemas de este lugar favorece la presencia de un extenso número y variedad de mamíferos, un ejemplo es que del número total de mamíferos que habitan en el estado de Baja California Sur, la Sierra la Laguna representa poco más del 70 % de estos animales terrestres y voladores¹¹. Pequeñas comunidades que se ubican en los límites de la REBIOSLA crían animales domésticos. Los cerdos fueron introducidos en el lugar durante los años 40 del siglo xx con fines de producción¹¹. Sin embargo, debido a los sistemas de producción del lugar, algunos cerdos han escapado del confinamiento y se han establecido poblaciones de cerdos asilvestrados en el sitio.

La abundancia de cerdos asilvestrados varía de acuerdo con factores climáticos críticos como las sequías y los huracanes, que tienen un impacto directo sobre la disponibilidad de alimento, y con esto, la población tiende a regularse¹². El tamaño de la población también se ve influido por la alta tasa de mortalidad (51 %) de lechones lactantes, así como por la cacería de supervivencia en la zona, y por algunas prácticas de manejo como la castración de machos¹³. Por otro lado, se puede decir que el cerdo asilvestrado en la REBIOSLA forma parte de la cadena trófica del lugar, debido a que es presa del puma o león de montaña (*Felis concolor im-procera*)¹¹. Asimismo, es el segundo componente más importante de la dieta del coyote (*Canis latrans peninsulæ*)¹²; y algunos pobladores del lugar refieren que las zorras (*Urocyon cinereoargenteus peninsularis*) y los lince (*Lynx rufus peninsularis*) también cazan a estos animales, sobre todo a sus crías.

El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de anticuerpos frente a infecciones virales y bacterianas en cerdos asilvestrados y domésticos mediante pruebas serológicas. La literatura indica que el virus de la influenza porcina (VIP) puede afectar a los seres humanos, así como a los animales domésticos y silvestres^{14,15}. Los cerdos juegan un papel muy importante en la ecología de la enfermedad porque varios subtipos de VIP pueden infectar simultáneamente a los cerdos¹⁵. La enfermedad de Aujeszky es otra infección viral en la que los cerdos son los únicos hospederos naturales y los principales reservorios, sin embargo,

también puede afectar a otros mamíferos, incluyendo rumiantes, carnívoros y roedores, entre ellos especies de fauna silvestre como mapaches, zorrillos, zorras, coyotes y grandes felinos^{14,16,17}. Además de esta diversidad de virus patógenos, se realizó la detección de anticuerpos frente a enfermedades bacterianas como leptospirosis, salmonelosis y brucelosis, las cuales tienen la capacidad de afectar a una amplia variedad de especies, y tienen potencial zoonótico.

Materiales y métodos

Sitio de estudio

La Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna se localiza al noroeste de la República Mexicana, en el extremo sur de la península de Baja California, en el estado de Baja California Sur (BCS), entre 23°20'S y 109°46' - 110°11'O10,18.

Animales

Treinta y dos ranchos se tenían previamente ubicados por el grupo de ecología animal del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste AC, y de acuerdo con los datos obtenidos en investigaciones anteriores, muestreamos tres grupos de cerdos^{12,13}. Para su clasificación, tomamos en cuenta las prácticas de manejo, y si los animales se encontraban en libertad; como sigue:

- Cerdos domésticos (Grupo A).
Son cerdos que se encontraron cautivos dentro de un corral y que su alimento es suministrado principalmente por los dueños.
- Cerdos asilvestrados libres (Grupo B).
Cerdos que se encontraban en libertad, su alimento lo obtienen generalmente por sí mismos. Se reproducen de manera natural sin ningún tipo de manejo.
- Cerdos asilvestrados cautivos (Grupo C).
Cerdos que habían sido capturados y su alimento era proporcionado por los rancheros.

Estudiamos setenta animales. El tamaño de la muestra se basó en una prevalencia esperada de 5 % y un error estadístico de 5 %¹⁹. El sexo y edad de los animales se muestran en el [cuadro 1](#).

Toma de muestras sanguíneas

A cada uno de los animales, le tomamos una muestra de sangre mediante la técnica descrita por Straw B. et al²⁰. Utilizamos agujas para Vacutainer® estériles (21 G x 32 mm) por cada animal, y tubos Vacutainer® sin anticoagulante para la obtención de suero. Tomamos aproximadamente 12 mL totales de sangre en dos tubos por animal. Identificamos cada muestra con un marcador de tinta indeleble con un número consecutivo y se registró en una hoja de control de campo junto con el sexo, el fin zootécnico y el color del animal. Dejamos las muestras en un lugar fresco por treinta minutos, y posteriormente, las colocamos dentro de una hielera con refrigerantes para su transporte al laboratorio²¹.

Tabla 1. Número y porcentaje de animales muestreados de cada grupo

Grupo	n	Hembras		Machos		Porcentaje
		Jóvenes	Adultos	Jóvenes	Adultos	(%)
Domésticos	28	6	12	4	6	40
Asilvestrados libres	15	1	7	2	5	21.4
Asilvestrados cautivos	27	1	13	7	6	38.6
Total	70	8	32	13	17	100

Centrifugamos las muestras a 1 500 rpm durante 10 minutos con la finalidad de separar el suero de los demás componentes celulares. Después, tomamos el suero con la ayuda de una micropipeta y puntillas estériles, y lo colocamos en tubos Ependorff de 2 mL; los almacenamos en congelación a -20 °C hasta su procesamiento de acuerdo con los protocolos establecidos en los laboratorios de diagnóstico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM y el Centro de Nacional de Investigación Disciplinaria – Microbiología del INIFAP descritos a continuación.

Técnicas diagnósticas

- Utilizamos la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH) para el diagnóstico de la enfermedad de influenza porcina bajo el protocolo descrito por Beltrán (2009)²², pues se considera la prueba estándar por la OIE (por su acrónimo en francés) para esta enfermedad. Los antígenos fueron los virus A/swine/NewJersey/11/76 (H1N1) y A/swine/Minnesota/9088-2/98 (H3N2), y consideramos como positivos, aquellos sueros que presentaron sedimentación en la dilución, mayor o igual a 1:80.
- La prueba de ELISA nos permitió detectar la infección de los animales con los agentes etiológicos de las enfermedades de Aujeszky (Hipra CIVTEST SUIS ADVgE No. CAE.12, España); PRRS: ELISA indirecta (Hipra CIVTEST SUIS PRRS A/S No. 40ND, España) y Salmonelosis (Idexx - SWINE SALMONELLA HERD CHEK No. 44100 T 161, USA). Idexx detecta anticuerpos frente a los serotipos más comunes de salmonela, e indica la exposición de la pira a estas bacterias. Para la realización e interpretación de cada uno de estos ensayos, seguimos el protocolo establecido por cada fabricante.
- Utilizamos la microaglutinación microscópica (MAT) para diagnosticar la enfermedad de leptospirosis. MAT es la técnica de referencia recomendada por la OIE, y la implementamos con nueve serovariedades de *Leptospira interrogans* que son antígenos representativos de la zona en la que se encuentran los animales^{23,24}. Consideramos un diagnóstico positivo a partir de la dilución 1:100, basados en el punto de corte dado por la OIE.
- La prueba de tarjeta al 3 % o también llamada Rosa Bengala, es una técnica de diagnóstico indirecta para la brucelosis. El antígeno de la prueba fue *Brucella abortus* cepa 1119-3 al 8 % teñido con Rosa Bengala de la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios (PRONABIVE), dado que con este reactivo se detectan *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis*. Llevamos a cabo la prueba siguiendo el protocolo establecido por el fabricante.

Análisis estadístico

Presentamos los resultados en una estadística descriptiva con gráficas elaboradas por el software Sigma plot© versión 10.0. Para comparar la proporción de positivos entre los tres grupos para las enfermedades que resultaron positivas, analizamos la contingencia por medio de la distribución de ji cuadrada (χ^2) a través del paquete estadístico JMP 8.0.

Resultados y discusión

Encontramos anticuerpos específicos frente a cuatro enfermedades: una viral (influenza porcina) y tres bacterianas (leptospirosis, salmonelosis y brucelosis). El grupo de cerdos asilvestrados libres fue el que presentó mayor número de animales con anticuerpos frente a las enfermedades estudiadas; este sesgo quizá esté relacionado con que este grupo es el que se encuentra mayormente distribuido en el lugar, con un rango de distribución probable desde los 1.1 hasta 5.32 km² ²⁵. Los cerdos asilvestrados, al encontrarse en libertad, se desplazan tanto como les es posible, y por ello, tienen contacto con la fauna del lugar, la cual también puede portar agentes infecciosos y compartirlos²⁶.

Influenza

El grupo de los animales asilvestrados en libertad (B) presentó los mayores porcentajes de prevalencia para ambos subtipos virales (H1N1 46.7 %, H3N2 60 %), mientras que en los grupos restantes (A y C), la tendencia es similar entre ellos, más alto para H1N1 y menor para H3N2, pero con un porcentaje de seropositividad más bajo que el grupo B (*cuadro 2*). En general, hay mayor porcentaje de animales positivos para H1N1 que para H3N2 con excepción de grupo B. No existe diferencia significativa entre los tres grupos de cerdos para H1N1 ($P = 0.437$), mientras que para H3N2 sí la hay ($P < 0.001$). Los rangos de título de anticuerpos para el H1N1 van de 1:80 a 1:320 y los del subtipo H3N2 son más altos, van de 1:80 a 1:1280.

La detección de anticuerpos contra influenza en los cerdos de la REBIOSLA, sugiere que los animales estuvieron expuestos a este agente. Notablemente, la seropositividad obtenida en el estudio, duplica lo reportado por Hall et al (2008), donde la prevalencia más alta encontrada en cerdos asilvestrados de Estados Unidos de América fue del 14 % para el subtipo H3N2. Mientras que en un estudio realizado en España, donde se analizaron 78 muestras de cerdos silvestres con la misma prueba utilizada en este estudio, la prevalencia reportada fue del 4 % para el subtipo H1N1²⁷. No existen antecedentes de vacunación en la zona.

Los grupos de cerdos de la Sierra que se encuentran en cautiverio mostraron porcentajes de positividad similares, ambos grupos, independientemente de su origen, viven bajo condiciones similares de cautividad, y con ello la circulación del virus con otros posibles hospederos, y factores desencadenantes de la enfermedad. Por otro lado, el grupo de cerdos asilvestrados libres presentó el mayor porcentaje de positivos para ambos subtipos (53.1 %). Esto sugiere que el virus circula en otras especies silvestres que cohabitan con los cerdos en libertad²⁸.

Tabla 2. Porcentaje y número de animales por grupo

Grupo de cerdos	n	VIP H1	VIP H3	<i>Salmonella</i> spp	<i>Brucella</i> spp	<i>Leptospira</i> spp*
		Positivo (%)	Positivo (%)	Positivo (%)	Positivo (%)	Porcentaje
Domésticos (A)	28	8 (28.6)	2 (7.1)	20 (71.4)	3 (10.7)	21.4
Asilvestrados libres (B)	15	7 (46.7)	9 (60)	15 (100)	2 (13.3)	29.6
Asilvestrados cautivos (C)	27	8 (29.6)	2 (7.4)	26 (96.3)	5 (18.5)	26.7
Total	70	23 (32.8)	13 (18.5)	61 (87.1)	10 (14.3)	25.9

* porcentaje de animales positivos para al menos una serovariedad

Leptospirosis

La presencia de anticuerpos fue mayor en los cerdos asilvestrados en libertad (grupo B) con un 29 % de positividad contra una o más de las nueve serovariedades que utilizamos para el diagnóstico, mientras que el grupo que presentó el menor porcentaje de anticuerpos fue el de cerdos domésticos (21 %). El rango de títulos de anticuerpos para *L. interrogans* fue de 1:100 a 1:800.

Los cerdos juegan un papel muy importante como reservorio de leptospira, ya que excretan la bacteria de manera intermitente, inclusive, esto ocurre en aquellos cerdos donde circulan anticuerpos específicos⁵. Así, de los resultados que obtuvimos, 25.7 % en cerdos de la REBIOSLA es relevante, sobre todo al saber que estos animales tienen una convivencia estrecha con otras especies domésticas y silvestres con las cuales cohabitan y comparten sitios de hidratación, y pueden actuar como reservorio y fuente de infección para las especies productivas y los seres humanos.

Hallamos diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes de animales positivos de los grupos estudiados para las serovariedades *pyrogenes*, *pomona* y *wolffi* ($P = 0.005, 0.048, 0.578$). Las serovariedades con mayor frecuencia fueron *bratislava* y *grippityphosa* en los tres grupos, y para *canicola*, no se detectaron anticuerpos en ninguno de los grupos (Figura 1). Estudios similares hechos en diferentes países han mostrado niveles de prevalencia diferentes. Vicente et al señalan una prevalencia de 12 % para *L. pomona* en cerdos en España, mientras que Montagnaro et al analizaron 342 muestras de suero de cerdos en Italia y obtuvieron solo 2.6 % de positividad para las serovariedades de *L. copenaghensis*, *L. bratislava* y *tarassovi*^{27,29}. Estos y otros estudios solo se enfocan en una o tres serovariedades, mientras que nosotros evaluamos nueve.

Salmonelosis

Los cerdos asilvestrados libres (grupo B) alcanzaron una seropositividad del 100 %; seguido por los asilvestrados cautivos (96.2 %). Debido a que la prueba de ELISA utilizada, detecta diferentes serovariedades de este agente, entre las que destacan *S. typhimurium*, *S. choleraesuis* y *S. derby*, descubrimos una diferencia significativa entre los valores de prevalencia de salmonelosis entre los grupos estudiados.

La prueba ELISA reveló la presencia de anticuerpos para *Salmonella* spp. en 61 de 70 cerdos (87.14 %). Estos valores de seroprevalencia rebasan a los reportados en poblaciones silvestres de cerdos en Italia (19.3 %)²⁹, España (4 %)²⁷ y Estados Unidos de América (5 %)³⁰. De igual forma, en Eslovenia, en un estudio

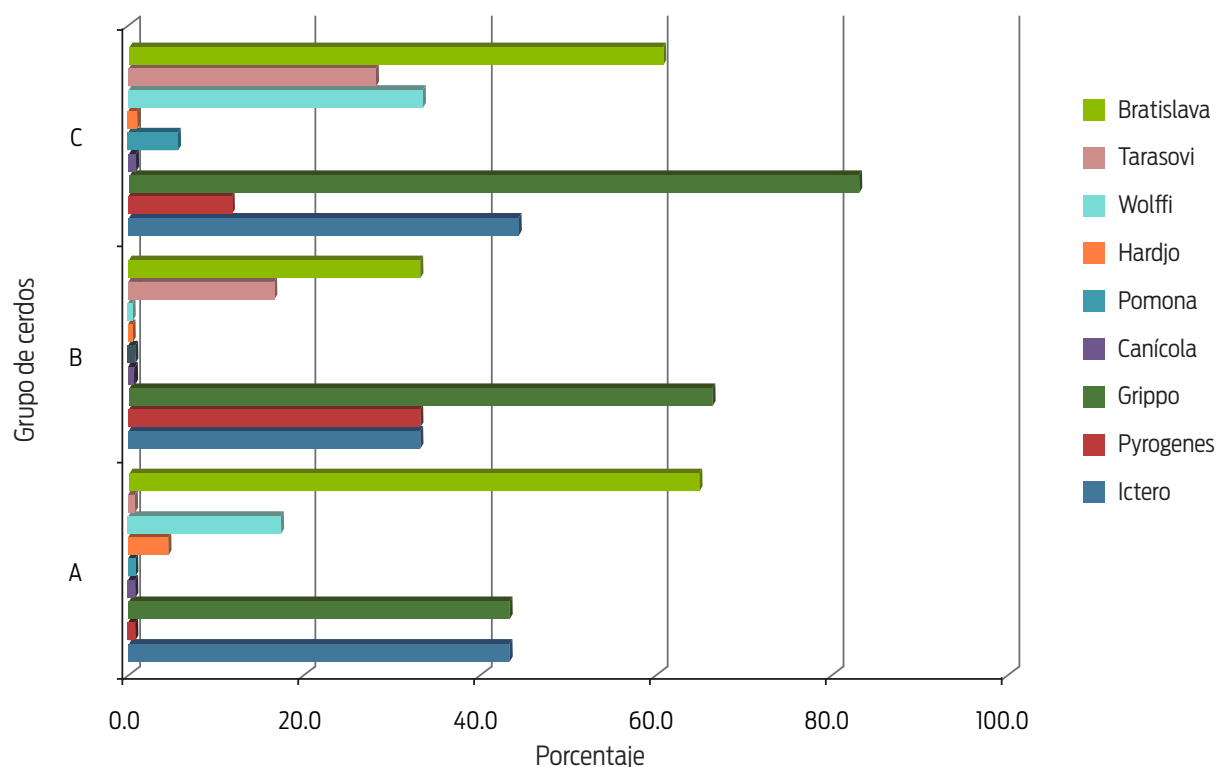


Figura 1. Porcentaje de positivos por serovariedad y grupo

del 2003, con 178 muestras obtenidas en la época de cacería de cerdos salvajes, y además, con la misma prueba serológica, la prevalencia reportada fue del 47 %³¹. Todo esto sugiere que la presencia de este agente infeccioso en los cerdos de la reserva es innegable, sobre todo por la relevancia del patógeno al ser zoonótico.

Brucelosis

Los resultados obtenidos para la detección de anticuerpos frente a *Brucella* spp. se muestran en el **cuadro 1**, donde se observan los porcentajes de animales positivos por grupo, sin embargo, no reunimos diferencias significativas entre los tres grupos de cerdos ($P = 0.062$). Estos resultados son similares a los reportados en Estados Unidos^{29,32}.

La prueba de tarjeta no es una prueba específica para la detección de anticuerpos frente a *B. suis*, ya que también detecta a aquellos que actúan frente a *B. abortus* y *B. melitensis*. Sin embargo, nos permite conocer la presencia del antígeno *B. suis* dentro de la población. Además, el ganado bovino se infecta de manera natural con *B. suis* y potencialmente transmite el agente a los cerdos a través de los fluidos expulsados durante el parto, y también lo propaga por fetos abortados³³. Esto puede indicar que el contacto de los cerdos con bovinos es relevante en la transmisión de enfermedades como la brucelosis, contacto que es común en el ambiente de la REBIOSLA, dentro y fuera de los ranchos; y así como ocurre el contacto y posible transmisión entre estas dos especies, puede suceder entre otras que habitan la Reserva. Al haber una campaña nacional contra la brucelosis en los animales en México, pero no en cerdos, el rol como portadores que podrían jugar

las especies silvestres es muy importante, al comprometer la erradicación de este patógeno de las poblaciones domésticas³².

En cuanto a la detección de anticuerpos contra EA y PRRS, no hubo detección de anticuerpos contra ellas en ninguno de los tres grupos evaluados, probablemente porque a la enfermedad de PRRS la predispone poblaciones grandes donde los factores de hacinamiento y el contacto directo, entre otros, son críticos para su presentación y diseminación. Dicha situación no se presenta en los cerdos de la REBIOLSA, aunque esto no descarta la circulación de estos agentes en el lugar. La ausencia de anticuerpos contra la EA corresponde a la situación sanitaria en esa zona geográfica considerada como libre de la enfermedad.

Las enfermedades pueden alterar la dinámica poblacional de la fauna silvestre²⁸, es decir, que cambios en la estructura de estas poblaciones pueden verse perturbadas en tamaño, estructura de edades, sexo y dimensiones físicas de sus miembros, por mencionar algunas. Nuestro estudio indica que al menos dentro de la población porcina que habita la reserva de la Sierra la Laguna, están presentes varios patógenos de importancia epidemiológica, que pueden afectar a especies de mamíferos como el coyote, las zorras, los lince, los venados y los mapaches, e incluso a las personas que consumen su carne, si no toman las medidas higiénicas necesarias³⁴.

Conclusiones

De las seis enfermedades estudiadas, se detectaron anticuerpos contra influenza (30.7 %), leptospirosis (25.9 %), salmonelosis (87.1 %) y brucelosis (14.3 %). Estos resultados y la falta de informes de enfermedad clínica muestran que la población probablemente no se ve afectada por estos patógenos. Sin embargo, los patógenos fueron evidentes en este estudio. Estos reportes son importantes porque la coexistencia de especies locales y asilvestradas, como los cerdos y el ganado, es estrecha, y estos se consideran fuente importante y saludable de alimento.

El estudio de patógenos en animales silvestres nos proporciona una visión epidemiológica eficaz que permite evaluar el riesgo de infección y propagación de enfermedades entre las poblaciones en vida libre, los animales domésticos e incluso el humano³⁵. Este tipo de estudios en fauna silvestre involucran sitios de trabajo distantes, así como la dificultad en la captura de animales, el muestreo e incluso las pruebas disponibles para la vida silvestre³⁶. Sin embargo, son imprescindibles más estudios en estas poblaciones. En México, no existen reportes acerca de la situación epidemiológica de poblaciones asilvestradas de cerdos. Comparamos los datos obtenidos en este estudio con otros estudios similares hechos en Estados Unidos y Europa, y los datos demuestran que, aunque la población de REBIOLSA es pequeña, la presencia de estos agentes infecciosos puede ser relevante. La presencia de cerdos asilvestrados y su posible rol en la dinámica de enfermedades infecciosas en esta zona geográfica es significativa, debido a la importancia biológica de este ecosistema y a la cantidad de especies presentes.

Financiamiento

Beca de CONACYT-México (CVU 364439).

Agradecimientos

Para el Dr. Ricardo Flores Castro y al Dr. José Francisco Morales Álvarez del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Cenid-Microbiología) por el apoyo en el análisis de las muestras, al Dr. Roberto Martínez Gamba por su apoyo en el análisis estadístico de los datos. Al Sr. Francisco Cota Castro, Técnico del Laboratorio de Ecología y a los pobladores de la Sierra la Laguna por el trabajo en campo. Asimismo, al Departamento de Medicina y Zootecnia de Cerdos de la FMVZ UNAM. Al Conacyt por la beca otorgada (CVU 364439). Los autores agradecen a la Dra. Renate Marie Thummler Blum por su apoyo en la traducción técnica del artículo.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés en este estudio.

Contribución de los autores

CMPR. Coleccionó y analizó las muestras y sus resultados. Redactó el escrito.

GA. Diseñó el experimento y el muestreo.

MSV. Diseñó el experimento y analizó los resultados.

RCN. Realizó las pruebas de laboratorio y parte del diseño.

Referencias

- 1) Petersen EA. Emerging infectious disease. Arch Intern Med. 1996;156:124. doi: [10.1001/archinte.1996.00440020010001](https://doi.org/10.1001/archinte.1996.00440020010001).
- 2) Daszak P. Emerging infectious diseases of wildlife-- Threats to biodiversity and human health. Science. 2000;287:443-9. doi: [10.1126/science.287.5452.443](https://doi.org/10.1126/science.287.5452.443).
- 3) FAO-OIE-WHO. Influenza and other emerging zoonotic diseases at the human-animal interface. Food and Agriculture Organisation of the United Nations - World Organisation for Animal Health - World Health Organisation ed. Verona, Italy 2010.
- 4) Meng XJ, Lindsay DS, Sriranganathan N. Wild boars as sources for infectious diseases in livestock and humans. Phil Trans R Soc B: Biol Sci. 2009;364:2697-707. doi: [10.1098/rstb.2009.0086](https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0086).
- 5) Seward N, VerCauteren K, Witmer G, Engeman R. Feral swine impacts on agriculture and the environment. Sheep Goat Res J. 2004;19:34-40.
- 6) Gibbs EPJ. The public health risks associated with wild and feral swine. Rev Sci Tech - Off Int Epizoot. 1997;16:594-8. doi: [10.20506/rst.16.2.1052](https://doi.org/10.20506/rst.16.2.1052).
- 7) Vitousek P, D'Antonio C, Loope L, Rejmánek M, Westbrooks R. Introduced species: a significant component of human-caused global change. N Z J Ecol. 1997;21:1-16.
- 8) Hutton T, DeLiberto T, Owen S, Morrison B. Disease risks associated with increasing feral swine numbers and distribution in the United States. USA: Midwest Association of Fish and Wildlife Agencies; 2006 7 Nov.
- 9) Ortega-Rubio A, Lagunas-Vázquez M, Beltrán-Morales LF. Evaluación biológica y ecológica de la Reserva de la Biosfera Sierra la Laguna, Baja California Sur: Avances

- y retos. Ortega-Rubio A, Lagunas-Vázquez M, Beltrán-Morales LF, editors. La Paz, BCS: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC; 2012. 422 p.
- 10) CONABIO. Programa de manejo de la Reserva de la Biósfera Sierra La Laguna. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas DGdMplC, editor. México: Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas; 2003. 208 p.
 - 11) Arnaud G, Álvarez S, Cortés P. Mamíferos de la Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna. In: Ortega-Rubio A, Lagunas-Vázquez M, Beltrán-Morales LF, editors. Evaluación de la Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna, Baja California Sur: Avances y Retos. La Paz: Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur A.C.; 2012. p. 412.
 - 12) Breceda A, Arnaud G, Álvarez S, Galina P, Montes J. Evaluación de la población de cerdos asilvestrados (*Sus scrofa*) y su impacto en la Reserva de la Biosfera Sierra La Laguna, Baja California Sur, México. Trop Conserv Sci. 2009;2:173-88.
 - 13) Montes-Sánchez J, León de la Luz JL, Buntinx-Dios S, Aguilar-Marcelino L, Blázquez-Moreno MC. Dieta, crecimiento y reproducción del cerdo asilvestrado *Sus scrofa* en la Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna. In: Ortega-Rubio A, Lagunas-Vázquez M, Beltrán-Morales LF, editors. Evaluación de la Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna, Baja California Sur: Avances y Retos. La Paz: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C.; 2012. p. 183-204.
 - 14) Glass CM, McLean RG, Katz JB, Maehr DS, Cropp CB, Kirk LJ, et al. Isolation of pseudorabies (Aujeszky's disease) virus from a florida panther. J Wildlife Dis. 1994;30:180-4. doi: [10.7589/0090-3558-30.2.180](https://doi.org/10.7589/0090-3558-30.2.180).
 - 15) Hall JS, Minnis RB, Campbell TA, Barras S, DeYoung RW, Pabilonia K, et al. Influenza exposure in United States feral swine populations. J Wildlife Dis. 2008;44:362-8. doi: [10.7589/0090-3558-44.2.362](https://doi.org/10.7589/0090-3558-44.2.362).
 - 16) Raymond JT, Gillespie RG, Woodruff M, Janovitz EB. Pseudorabies in captive Coyotes. J Wildlife Dis. 1997;33:916-8. doi: [10.7589/0090-3558-33.4.916](https://doi.org/10.7589/0090-3558-33.4.916).
 - 17) Kirkpatrick CM, Kanitz CL, McCrocklin SM. Possible role of wild mammals in transmission of pseudorabies to swine. J Wildlife Dis. 1980;16:601-14.
 - 18) Arriaga L, Ortega A. La Sierra de la Laguna de Baja California Sur. Arriaga L, Ortega A, editors. La Paz: Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur A.C.; 1989. 237 p.
 - 19) Cortés F. Tamaño de muestra y análisis de asociación. Rev Mex Sociol. 1982;44(4):1381-411. doi: [10.2307/3540134](https://doi.org/10.2307/3540134).
 - 20) Straw BE, Meuten DJ, Thacker BJ. Physical examination. In: Straw B, D'Allaire S, Mengeling W, Taylor D, editors. Diseases of swine. 8 ed. Iowa, USA: Iowa State University Press/ Ames; 1999. p. 15-7.
 - 21) Segalés J, Martínez J, Catellà J, Darwich L, Domingo M, Mateu E, et al. Manual de diagnóstico laboratorial porcino. MSD SA, editor. Navarra, España: Servet; 2013. 120 p.
 - 22) Beltrán Figueroa R. Identificación del virus de influenza porcina subtipos H1N1 y H3N2 mediante RT-PCR [Tesis de licenciatura]. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2009.
 - 23) OIE. Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres. 7 ed. Paris, France: Office International des Epizooties; 2012. 1404 p.
 - 24) Olsen S. Porcine brucellosis. OIE Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 2. 6 ed. Paris, France: Office International des Epizooties; 2008. p. 1343.

- 25) Gaston W, Armstrong JB, Arjo W, Stribling HL. Home range and habitat use of feral hogs (*Sus scrofa*) on Lowndes Country WMA, Alabama. National conference on feral hogs April 13-15; MO, USA2008. p. 6.
- 26) Ruiz-Fons F, Vidal D, Vicente J, Acevedo P, Fernández-de-Mera IG, Montoro V, et al. Epidemiological risk factors of Aujeszky's disease in wild boars (*Sus scrofa*) and domestic pigs in Spain. *Eur J Wildl Res.* 2008;54:549-55. doi: [10.1007/s10344-008-0179-6](https://doi.org/10.1007/s10344-008-0179-6).
- 27) Vicente J, León-Vizcaíno L, Gortázar C, Cubero MJ, González M, Martín-Atance P. Antibodies to selected viral and bacterial pathogens in european wild boars from Southcentral Spain. *J Wildlife Dis.* 2002;38:649-52. doi: [10.7589/0090-3558-38.3.649](https://doi.org/10.7589/0090-3558-38.3.649).
- 28) Ruiz-Fons F. Riesgos sanitarios asociados a la producción cinegética del jabalí: la enfermedad de Aujeszky [Tesis de doctorado]. Ciudad Real, España: CSIC-UCLM - Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC) Universidad de Castilla-La Mancha; 2006.
- 29) Montagnaro S, Sasso S, De Martino L, Longo M, Iovane V, Ghiurmino G, et al. Prevalence of antibodies to selected viral and bacterial pathogens in wild boar (*Sus scrofa*) in Campania region, Italy. *J Wildlife Dis.* 2010;46:316-9. doi: [10.7589/0090-3558-46.1.316](https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.1.316).
- 30) Thakur S, Sandfoss M, Kennedy-Stoskopf S, DePerno CS. Detection of *Clostridium difficile* and *Salmonella* in feral swine population in North Carolina. *J Wildlife Dis.* 2011;47:774-6. doi: [10.7589/0090-3558-47.3.774](https://doi.org/10.7589/0090-3558-47.3.774).
- 31) Vengust G, Valencak Z, Bidovec A. A serological survey of selected pathogens in wild boar in Slovenia. *J Vet Med B.* 2006;53:24-7. doi: [10.1111/j.1439-0450.2006.00899.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2006.00899.x).
- 32) Wyckoff aC, Henke SE, Campbell Ta, Hewitt DG, VerCauteren KC. Feral swine contact with domestic swine: a serologic survey and assessment of potential for disease transmission. *J Wildlife Dis.* 2009;45:422-9. doi: [10.7589/0090-3558-45.2.422](https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.2.422).
- 33) College of Veterinary Medicine Iowa State University. Swine diseases manual. 4 ed. Neuman EJ, Ramirez A, Schwartz KJ, editors. Iowa: American Association of Swine Veterinarians; 2013. 173 p.
- 34) Barrios-Garcia MN, Ballari SA. Impact of wild boar (*Sus scrofa*) in its introduced and native range: a review. *Biol Invasions.* 2012;14:2283-300. doi: [10.1007/s10530-012-0229-6](https://doi.org/10.1007/s10530-012-0229-6).
- 35) Kaden V, Lange E, Hänel A, Hlinak A, Mewes L, Hergarten G, et al. Retrospective serological survey on selected viral pathogens in wild boar populations in Germany. *Eur J Wildl Res.* 2009;55:153-9. doi: [10.1007/s10344-008-0229-0](https://doi.org/10.1007/s10344-008-0229-0).
- 36) Boadella M, Ruiz-Fons JF, Vicente J, Martín M, Segalés J, Gortazar C. Seroprevalence evolution of selected pathogens in iberian wild boar. *Transbound Emerg Dis.* 2012;59:395-404. doi: [10.1111/j.1865-1682.2011.01285.x](https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01285.x).

Detection of antibodies against pathogens in feral and domestic pigs (*Sus scrofa*) at the *Sierra La Laguna* Biosphere Reserve, Mexico

Claudia Mariana Pérez-Rivera^{1*}

0000-0003-3783-9478

Mauro Sanvicente López²

0000-0001-6550-9981

Gustavo Arnaud Franco³

0000-0002-5317-2303

Rosalba Carreón Nápoles⁴

0000-0002-1721-7957

¹Departamento de Medicina y Zootecnia de Cerdos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Coyoacán, Cd. México, México. C.P. 04510

²Estudiante de Doctorado en Ciencias en Manejo Sustentable de Recursos Naturales del Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, km. 125.5 carretera federal México-Puebla, C.P. 72760, Puebla, Puebla, México.

³Área de Planeación Ambiental y Conservación, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, México. Instituto Politécnico Nacional 195, Playa Palo de Santa Rita Sur; La Paz, B.C.S. México; C.P. 23096.

⁴Departamento de Medicina y Zootecnia de Cerdos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Coyoacán, Cd. México, México. C.P. 04510

*Corresponding author:

Tel: + 5520848469

Email address:

mariana.perez.rivera@gmail.com

Abstract

Several diseases that were believed to be controlled or eradicated have reappeared and have had catastrophic effects on humans and on domestic and wild animals. Approximately 60 % of recently registered disease outbreaks are caused by zoonotic agents, and 72 % of these originated in a wild species. Swine (*Sus scrofa*) is a species that favors the propagation of pathogens, and they can be a reservoir of many diseases. Thus, the objective of this study was to detect the presence of viral and bacterial diseases that could impair the health of wild animals and humans in both feral and domesticated pigs at the *Sierra La Laguna* Biosphere Reserve. Diagnosis was performed with serological tests on 70 animals to detect antibodies against swine influenza virus (SIV), porcine respiratory reproductive syndrome virus (PRRSV), Aujeszky's disease virus (ADV), leptospirosis (Lp), salmonellosis (Sal), and brucellosis (Br).

No antibodies were detected against PRRS or AD, whereas the seropositivity was 30.7 % for SI, 25.9 % for Lp, 87.1 % for Sal, and 14.3 % for Br. This evidence supports the presence of these pathogens in Sierra Laguna, and implies that swine could be an important factor for transmission to other wild species, as well as to people who have had contact with or consumed these animals. Thus, developing management and epidemiological surveillance plans for the animals inhabiting the region is of paramount importance.

Keywords: Feral swine; zoonosis; antibodies; Mexico.

Introduction

Globalization has played an important role in the dissemination of diseases because it allows the mobilization of people, animals and products from one place to another in a short time¹. In addition, population growth, deforestation, the introduction of exotic species, changes in land use, habitat fragmentation and alternative tourism have increased the possibility of contact with wild animals, and their consumption by human². Interactions within the human-animal environment are thus fundamental for the appearance of zoonoses^{2,3}, and greater attention has been given to diseases of domestic animals because of their interaction with wild species. However, the difficulty of studying diseases in wildlife has led to wild

Received: 2016-04-26

Accepted: 2016-11-11

Published: 2017-01-24

Additional information and declarations can be found on page 8

© Copyright 2017
Claudia Mariana Pérez-Rivera et al.

open access 



Distributed under Creative Commons CC-BY 4.0

animals receiving less attention, despite acknowledging their important role in the transmission of pathogens². In these terms, feral pigs (*Sus scrofa*) play an important role in the transmission of pathogens because they are carriers of numerous viral, bacterial, and parasitic diseases that can potentially be passed onto humans and to other wild and domestic animals⁴⁻⁶. In addition, they are considered as a major worldwide invasive species, and can also participate in the propagation of diverse exotic diseases^{4,7,8}.

The *Sierra La Laguna* Biosphere Reserve (REBIOSLA is the acronym in Spanish) is a site that has a great biodiversity of mammals⁹ and a geological history that gave rise to a unique ecosystem in Mexico¹⁰. Approximately 70 % of the total population of terrestrial and aerial mammals that live in the state of *Baja California Sur* are found here¹¹. Small communities of farmers live within the limits of REBIOSLA, and domestic pigs were introduced during the 1940s¹¹. Due to production practices, some of these pigs have escaped from confinement and have established a feral population. The abundance of the feral pigs varies due to climatological factors, such as droughts and hurricanes, which have an impact on the food supply and tend to reduce the population¹². The size of the feral population is influenced by the high mortality rate (51 %) of suckling pigs, as well as by hunting and by some management practices, such as the castration of males¹³. In addition, feral pigs have become part of the trophic chain because they are prey for the mountain lion (*Felis concolor improcera*)¹¹ and are the second most important food source for the coyote (*Canis latrans peninsulae*)¹². Some inhabitants of the region have stated that foxes (*Urocyon cinereoargenteus peninsularis*) and bobcats (*Lynx rufus peninsularis*) also prey on feral pigs, particularly on the young.

This study was aimed at detecting the presence of antibodies to viral and bacterial infections in feral and domestic pigs, by using serological tests. The literature indicates that swine influenza virus (SIV) could harm humans, as well as wild and domestic animals^{14,15}. Swine play an important role in the ecology of disease because several subtypes of SIV can infect simultaneously¹⁵. Aujeszky's disease is another viral infection in which swine are the exclusive natural host and are mainly carriers, but it can affect other mammals, such as ruminants, carnivores and rodents, as well as wildlife animals such as raccoons, skunks, foxes and big cats^{14,16,17}. Additionally, antibodies to leptospirosis, salmonellosis, and brucellosis infection were determined. All of these diseases have a high zoonotic potential and could affect a wide range of animals as well as humans.

Materials and methods

Study location

The *Sierra La Laguna* Biosphere Reserve is located in the Northwest of Mexico at the southern end of the *Baja California* Peninsula in the state of *Baja California Sur* (BCS), between 23°42' - 23°20' S and 109°46' - 110°11' W^{10,18}.

Animals

Thirty-two domestic swine farms were previously studied within the limits of the Reserve and in neighboring areas by the *Grupo de Ecología Animal* of the *Centro*

Table 1. Number and percentage of animals sampled in each group

Group	n	Female		Male		Percentage
		Young	Adults	Young	Adults	(%)
Domestic	28	6	12	4	6	40
Free ranging	15	1	7	2	5	21.4
Semi-free ranging	27	1	13	7	6	38.6
Total	70	8	32	13	17	100

de Investigaciones Biológicas del Noroeste, A.C. According to the compiled data of previous studies, 3 groups of swine were established as sampling subjects^{12,13}. The criteria for their classification included management practices and whether the animals were roaming freely. The 3 groups were:

- Domestic pigs (Group A); pigs kept inside a barn or another facility and fed by their owners.
- Free ranging pigs (Group B); pigs roaming mostly free that obtained food by themselves. They reproduced naturally, without any type of handling.
- Semi-free ranging pigs (Group C); feral pigs that had been used for consumption and were fed by farmers.

Seventy animals were used for the study. The sample size was based on an expected prevalence of 5 % with a statistical error of 5 %¹⁹. The sex and age of the pigs are shown in Table 1.

Sampling and sample processing

Blood was sampled from each animal following the technique described by Straw *et al.*²⁰. Sterile Vacutainer® needles were used (21 G × 32 mm, green cap). Vacutainer® tubes without anticoagulant were used to collect 12 mL of blood, in 2 tubes per animal. Once the samples were obtained, they were labeled with a permanent marker and were recorded with the sex of each animal, the production purpose and the color. Samples were kept in a fresh spot for approximately 30 min; afterwards, they were placed in an icebox with refrigerants for their transport to the laboratory²¹.

The blood samples were centrifuged at 1500 rpm for 10 min to separate the serum from the other cell components. The serum was collected with a sterile micropipette, placed in a 2-mL Eppendorf tube and stored at -20°C until processing, according to protocols below, established in the diagnostic laboratories of the *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (Universidad Nacional Autónoma de México)* and *Centro Nacional de Investigación Disciplinaria-Microbiología (CENID-Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Forestales y Pecuarias)*.

Diagnostic techniques

- The hemagglutination inhibition test (HI) was used for the diagnosis of swine influenza following the protocol in Beltrán (2009)²², which is considered the

standard test for this disease by the World Organization for Animal Health²³ (OIE for its acronym in French, <http://www.oie.int/es/> retrieved 24/06/2012). The viruses A/swine/NewJersey/11/76 (H1N1) and A/swine/Minnesota/9088-2/98 (H3N2) were used as the antigens, and sera that showed sedimentation in a dilution greater than or equal to 1:80 were considered positive.

- ELISA tests were used for the diagnosis of Aujeszky's disease (Hipra CIVTEST SUIS ADVgE No. CAE.12, Spain); PRRS: an indirect ELISA test was used (Hipra CIVTEST SUIS PRRS A/S No. 40ND, Spain); and for Salmonellosis, Idexx was used (Idexx - SWINE SALMONELLA HERD CHEK No. 44100 T 161, USA). Idexx detects antibodies for the most common *Salmonella* serotypes and indicates the exposure of the herd to these bacteria. The manufacturer's protocols were followed to perform and interpret each assay.
- Microscopic microagglutination (MAT) was used to diagnose leptospirosis. It is the reference test given by OIE, and antigens representative of the area inhabited by the animals were used^{23,24}. Nine *Leptospira interrogans* serovarieties from the collection of CENID-Microbiología were used. This test was scored as positive starting at a 1:100 dilution based on the minimum significant titer of the OIE.
- Card Test (3 %), an indirect diagnostic test also known as Rose Bengal, was used for the serological diagnosis of brucellosis. The antigen *Brucella abortus* strain 1119-3 at 8 % was used for the specific diagnosis of brucellosis in swine. It was stained with Rose Bengal from the *Productora Nacional de Biológicos Veterinarios (PRONABIVE)* which detects *B. abortus*, *B. suis*, and *B. melitensis*. This test was performed following the manufacturer's instructions.

Statistical analysis

The results are presented using descriptive statistics and graphs generated with the Sigma plot © version 10.0 software. To compare the proportion of positives among the three groups for the diseases that were positive, a contingency analysis was performed using the chi-square distribution via the JMP 8.0 statistical program.

Results and discussion

Specific antibodies related to four infections were found: influenza (viral) and leptospirosis, salmonellosis, and brucellosis (bacterial). More animals in the free feral pig group had antibodies than either of the other 2 groups, likely because this group of animals is widely distributed at the site with a probable home range of 1.1 to 5.32 km² ²⁵. Because feral pigs are free, they can roam at will and thus come into contact with wildlife. They can carry and share infectious agents²⁶.

Influenza

The free ranging swine group (B) had the highest percentage of both viral subtypes (H1N1 46.7 %, H3N2 60 %), while the other two groups (A and C) tended to be similar, higher for H1N1 and lower for H3N2, but had a lower percentage of seropositivity than group B (Table 2). In general, a greater percentage of animals was

Table 2. Percentage and number of animals by group

Group of pigs	n	SIV H1	SIV H3	<i>Salmonella</i> spp	<i>Brucella</i> spp	<i>Leptospira</i> spp*
		Positive (%)	Positive (%)	Positive (%)	Positive (%)	Percentage
Domestic (A)	28	8 (28.6)	2 (7.1)	20 (71.4)	3 (10.7)	21.4
Free ranging (B)	15	7 (46.7)	9 (60)	15 (100)	2 (13.3)	29.6
Semi-free ranging (C)	27	8 (29.6)	2 (7.4)	26 (96.3)	5 (18.5)	26.7
Total	70	23 (32.8)	13 (18.5)	61 (87.1)	10 (14.3)	25.9

* percentage of animals positive for at least one serovar

positive for H1N1 than H3N2, except for group B. The ranges of antibody titers for H1N1 were from 1:80 to 1:320 and were higher for H3N2, from 1:80 to 1:1280. No significant differences were found among the three pig groups for H1N1 ($P = 0.437$), but the differences were significant for H3N2 ($P < 0.001$).

Detection of influenza antibodies in REBIOSLA swine suggests exposure to this agent. Seropositivity found in this study was double that found by Hall *et al.*¹⁵, in which the highest prevalence found in feral swine in the USA was 14 % for subtype H3N2. Only a 4 % prevalence for subtype H1N1 was found in a study performed in Spain that analyzed 78 feral swine samples with the same test as this study²⁷. There was no vaccination history in this study's region.

Groups of swine in captivity at REBIOSLA (A and C) showed similar positivity percentages, which could be because both groups live in similar captivity conditions independently from their origin, hence the circulation of the virus with other possible hosts or factors that trigger the disease is similar. On the other hand, the free ranging swine group had the highest percentage of positivity to both subtypes (53.1 %), which could suggest that the circulation of the virus with other cohabiting species is possible, since swine are exposed to a natural exchange of this virus with other species²⁸.

Leptospirosis

Antibodies were higher in the free ranging swine (group B) with 29 % positivity to one or more of the nine serovarieties used for the diagnosis, whereas the group with the lowest percentage of antibodies was domestic swine (21 %). The range of antibody titers for *L. interrogans* was 1:100 to 1:800.

Swine are very important as reservoirs of leptospirosis and excrete the bacteria intermittently, even in swine in which the circulation of specific antibodies occurs⁴. Therefore, the 25.9 % seropositivity in REBIOSLA swine is relevant. These animals interact closely with other both domestic and wild species at shared hydration sites, and can be reservoirs and infection sources for other productive species and humans. A statistically significant difference between the percentages of positive animals in the study groups was found for the serovars *pyrogenes*, *pomona* and *wolffi* ($P = 0.005$, 0.048 , 0.578 , respectively, $P < 0.05$).

The most frequently found serovarieties in the three groups were *bratislava* and *grippotyphosa*. No antibodies were detected for *canicola* in any group (Figure 1). Similar studies in different countries have shown different prevalence levels. Vicente *et al.*²⁷ found a prevalence of 12 % for *L. pomona* in Spain, while Montagnaro *et al.*²⁹ in Italy examined 342 sera showing 2.6 % positivity for the se-

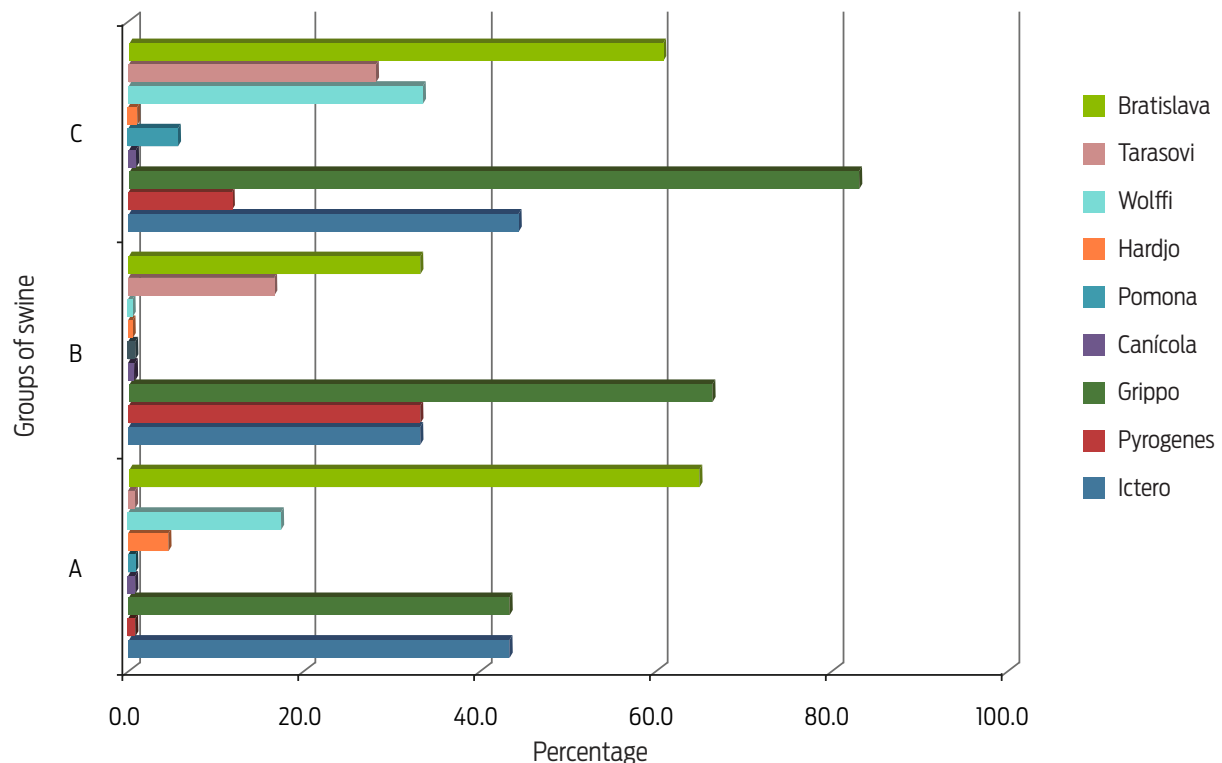


Figure 1. Percentage of positivity per serovariety and sampling group

rovors *L. copenaghensi*, *L. bratislava* and *tarassovi*. In the studies mentioned above and others, the focus was on only one or three serovars, while we evaluated 9 serovars in this study.

Salmonellosis

The free ranging pigs (group B) had 100 % seropositivity, and the captive feral swine group had 96.3 % seropositivity. The ELISA used in this study detected different serovarieties, and among them, *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, and *S. derby* stand out. A significant difference between the prevalence in the groups studied was noted.

The ELISA revealed the presence of antibodies to *Salmonella* spp. in 61 of 70 swine (87.14 %). These seroprevalence values exceed those reported for feral swine populations in Italy (19.3 %) ²⁹, Spain (4 %) ²⁷, and the USA (5 %) ³⁰. A study in Slovenia on 178 samples obtained during the wild boar hunting season used the same serological test as this study and reported a prevalence of 47 % ³¹. It is worthwhile to emphasize that our results are in a wild population, suggesting that the presence of this infectious agent is undeniable and alarming, especially due to its relevance as a zoonotic pathogen.

Brucellosis

The results obtained for antibodies to *Brucella* spp. are shown in Table 1. Group C had the highest seropositivity (18.5 %), and group A had the lowest (10.7 %). However, no significant differences between the three groups of pigs were found

($P = 0.062$). These results are similar to results from the USA and Italy by Wyckoff *et al.*³² and Montaganaro *et al.*²⁹, respectively.

It is important to mention that the Card test does not specifically detect antibodies to *B. suis*; it also detects antibodies to *B. abortus* and *B. melitensis*, but it does indicate the presence of the *B. suis* antigen in the population. It must also be mentioned that cattle can be naturally infected with *B. suis*, and can potentially transmit it to swine, via fluids excreted while giving birth, as well as via aborted fetuses³³. This indicates that the contact of swine with domestic bovines is relevant for the transmission of diseases like brucellosis. Such contact is very common in the REBIOSLA on and off the farm. This can also occur among other species inhabiting REBIOSLA. In addition, it should be mentioned that due to a national campaign against brucellosis in animals in Mexico, the role played by wild species as carriers of this disease becomes very important by compromising the eradication of this pathogen from domestic populations³².

No antibodies against Aujeszky's disease or PRRS were detected in the 3 groups, likely because PRRS is predisposed to large populations where overcrowding, direct contact, and other factors are critical for the occurrence and dissemination of the disease. This situation is not relevant to the REBIOSLA swine, although circulation of these agents in the REBIOSLA cannot be discounted. Despite the small sample size, which may limit the power of the detection of these pathogens, the absence of antibodies against Aujeszky's etiologic agent is in accord with to the sanitary conditions in the area, which is considered free of this disease.

Diseases can alter the population dynamics of wild fauna²⁸, that is, changes in the structure of these populations can be affected in terms of the size, age groups, sex ratios and the physical dimensions of their members, among other factors. It is very important to know that diverse epidemiologically relevant pathogens are present in the REBIOSLA, and can affect other mammals such as coyotes, foxes, bobcats, deer, raccoons, and also humans who consume their meat without the necessary hygienic measures³⁴.

Conclusions

Of the six studied diseases, antibodies were detected only for influenza (30.7 %), leptospirosis (25.9 %), salmonellosis (87.1 %) and brucellosis (14.3 %). These results and a lack of reports of clinical disease show that the population is probably not affected by these pathogens. Nevertheless, the pathogens were evident in this study. This is important because the coexistence of local and feral species such as pigs and cattle is narrow, and they are considered healthy and important food sources.

The study of pathogens in wild animals can provide an efficient epidemiological overview that allows an evaluation of the risk of infection with a zoonotic agent, and the propagation of disease in a free-roaming population, as well as in domestic animals and even in humans³⁵. It is important to mention the type of wildlife studies that involve distant work sites, as well as the difficulty in capturing animals, sampling, and even the tests available for wildlife³⁶. However, further studies in these populations are imperative.

No reports have emerged in Mexico about the epidemiological situation of the feral swine population. The data obtained in this study was compared with other similar studies, and shows that even though the REBIOSLA population is small, the presence of these infectious agents can be relevant. The presence of these animals and their possible role in the dynamics of infectious disease in this geographical area are significant because of the biological relevance of this ecosystem and the number of species that inhabit it. More studies are needed to provide current data and compare it with other sources.

Funding

We acknowledge CONACYT-Mexico for the fellowship (CVU 364439).

Acknowledgements

We thank to Dr Ricardo Flores Castro and Dr José Francisco Morales Álvarez from Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Cenid-Microbiología), for their support in analyzing the samples. To Dr. Roberto Martínez Gamba for his help in the statistical analysis, and to MSc. Francisco Cota Castro (technician of the Ecology Laboratory) and the inhabitants of Sierra La Laguna for their support during field work. We also thank to the Department of Swine Medicine and Zootechnics of the FMVZ UNAM, a Conacyt scholarship (CVU 364439), and Dr Renate Marie Thummler Blum for her support in translating the manuscript.

Conflicts of interest

The authors have no conflict of interest in this study.

Author contributions

CMPR participated in the collection and analyses of samples, as well as in the data analysis of the results and wrote the manuscript.

MSV designed the experiment and participated in the analysis of the results.

GA participated in the experiments and sample design.

RCN performed the laboratory tests, participated in the design and helped to write the paper.

References

1. Petersen EA. Emerging infectious disease. *Arch Intern Med.* 1996;156:124. doi: [10.1001/archinte.1996.00440020010001](https://doi.org/10.1001/archinte.1996.00440020010001).
2. Daszak P. Emerging infectious diseases of wildlife-- Threats to biodiversity and human health. *Science.* 2000;287:443-9. doi: [10.1126/science.287.5452.443](https://doi.org/10.1126/science.287.5452.443).
3. FAO-OIE-WHO. Influenza and other emerging zoonotic diseases at the human-animal interface. Food and Agriculture Organisation of the United Nations - World Organisation for Animal Health - World Health Organisation ed. Verona, Italy 2010.
4. Meng XJ, Lindsay DS, Sriranganathan N. Wild boars as sources for infectious diseases in livestock and humans. *Phil Trans R Soc B: Biol Sci.* 2009;364:2697-707. doi: [10.1098/rstb.2009.0086](https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0086).

5. Seward N, VerCauteren K, Witmer G, Engeman R. Feral swine impacts on agriculture and the environment. *Sheep Goat Res J.* 2004;19:34-40.
6. Gibbs EPJ. The public health risks associated with wild and feral swine. *Rev Sci Tech - Off Int Epizoot.* 1997;16:594-8. doi: [10.20506/rst.16.2.1052](https://doi.org/10.20506/rst.16.2.1052).
7. Vitousek P, D'Antonio C, Loope L, Rejmánek M, Westbrooks R. Introduced species: a significant component of human-caused global change. *N Z J Ecol.* 1997;21:1-16.
8. Hutton T, DeLiberto T, Owen S, Morrison B. Disease risks associated with increasing feral swine numbers and distribution in the United States. USA: Mid-west Association of Fish and Wildlife Agencies; 2006 7 Nov.
9. Ortega-Rubio A, Lagunas-Vázquez M, Beltrán-Morales LF. Evaluación biológica y ecológica de la Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna, Baja California Sur: Avances y retos. Ortega-Rubio A, Lagunas-Vázquez M, Beltrán-Morales LF, editors. La Paz, BCS: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC; 2012. 422 p.
10. CONABIO. Programa de manejo de la Reserva de la Biósfera Sierra La Laguna. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas DGdMplC, editor. México: Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas; 2003. 208 p.
11. Arnaud G, Álvarez S, Cortés P. Mamíferos de la Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna. In: Ortega-Rubio A, Lagunas-Vázquez M, Beltrán-Morales LF, editors. Evaluación de la Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna, Baja California Sur: Avances y Retos. La Paz: Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur A.C.; 2012. p. 412.
12. Breceda A, Arnaud G, Álvarez S, Galina P, Montes J. Evaluación de la población de cerdos asilvestrados (*Sus scrofa*) y su impacto en la Reserva de la Biosfera Sierra La Laguna, Baja California Sur, México. *Trop Conserv Sci.* 2009;2:173-88.
13. Montes-Sánchez J, León de la Luz JL, Buntinx-Dios S, Aguilar-Marcelino L, Blázquez-Moreno MC. Dieta, crecimiento y reproducción del cerdo asilvestrado *Sus scrofa* en la Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna. In: Ortega-Rubio A, Lagunas-Vázquez M, Beltrán-Morales LF, editors. Evaluación de la Reserva de la Biósfera Sierra la Laguna, Baja California Sur: Avances y Retos. La Paz: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C.; 2012. p. 183-204.
14. Glass CM, McLean RG, Katz JB, Maehr DS, Cropp CB, Kirk LJ, et al. Isolation of pseudorabies (Aujeszky's disease) virus from a florida panther. *J Wildlife Dis.* 1994;30:180-4. doi: [10.7589/0090-3558-30.2.180](https://doi.org/10.7589/0090-3558-30.2.180).
15. Hall JS, Minnis RB, Campbell TA, Barras S, DeYoung RW, Pabilonia K, et al. Influenza exposure in United States feral swine populations. *J Wildlife Dis.* 2008;44:362-8. doi: [10.7589/0090-3558-44.2.362](https://doi.org/10.7589/0090-3558-44.2.362).
16. Raymond JT, Gillespie RG, Woodruff M, Janovitz EB. Pseudorabies in captive Coyotes. *J Wildlife Dis.* 1997;33:916-8. doi: [10.7589/0090-3558-33.4.916](https://doi.org/10.7589/0090-3558-33.4.916).
17. Kirkpatrick CM, Kanitz CL, McCrocklin SM. Possible role of wild mammals in transmission of pseudorabies to swine. *J Wildlife Dis.* 1980;16:601-14.
18. Arriaga L, Ortega A. La Sierra de la Laguna de Baja California Sur. Arriaga L, Ortega A, editors. La Paz: Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur A.C.; 1989. 237 p.
19. Cortés F. Tamaño de muestra y análisis de asociación. *Rev Mex Sociol.* 1982;44(4):1381-411. doi: [10.2307/3540134](https://doi.org/10.2307/3540134).

20. Straw BE, Meuten DJ, Thacker BJ. Physical examination. In: Straw B, D'Allaire S, Mengeling W, Taylor D, editors. Diseases of swine. 8 ed. Iowa, USA: Iowa State University Press/ Ames; 1999. p. 15-7.
21. Segalés J, Martínez J, Catellà J, Darwich L, Domingo M, Mateu E, et al. Manual de diagnóstico laboratorial porcino. MSD SA, editor. Navarra, España: Servet; 2013. 120 p.
22. Beltrán Figueroa R. Identificación del virus de influenza porcina subtipos H1N1 y H3N2 mediante RT-PCR [Tesis de licenciatura]. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2009.
23. OIE. Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres. 7 ed. Paris, France: Office International des Epizooties; 2012. 1404 p.
24. Olsen S. Porcine brucellosis. OIE Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 2. 6 ed. Paris, France: Office International des Epizooties; 2008. p. 1343.
25. Gaston W, Armstrong JB, Arjo W, Stribling HL. Home range and habitat use of feral hogs (*Sus scrofa*) on Lowndes County WMA, Alabama. National conference on feral hogs April 13-15; MO, USA2008. p. 6.
26. Ruiz-Fons F, Vidal D, Vicente J, Acevedo P, Fernández-de-Mera IG, Montoro V, et al. Epidemiological risk factors of Aujeszky's disease in wild boars (*Sus scrofa*) and domestic pigs in Spain. Eur J Wildl Res. 2008;54:549-55. doi: [10.1007/s10344-008-0179-6](https://doi.org/10.1007/s10344-008-0179-6).
27. Vicente J, León-Vizcaíno L, Gortázar C, Cubero MJ, González M, Martín-Atance P. Antibodies to selected viral and bacterial pathogens in european wild boars from Southcentral Spain. J Wildlife Dis. 2002;38:649-52. doi: [10.7589/0090-3558-38.3.649](https://doi.org/10.7589/0090-3558-38.3.649).
28. Ruiz-Fons F. Riesgos sanitarios asociados a la producción cinegética del jabalí: la enfermedad de Aujeszky [Tesis de doctorado]. Ciudad Real, España: CSIC-UCLM - Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC) Universidad de Castilla-La Mancha; 2006.
29. Montagnaro S, Sasso S, De Martino L, Longo M, Iovane V, Ghiurmino G, et al. Prevalence of antibodies to selected viral and bacterial pathogens in wild boar (*Sus scrofa*) in Campania region, Italy. J Wildlife Dis. 2010;46:316-9. doi: [10.7589/0090-3558-46.1.316](https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.1.316).
30. Thakur S, Sandfoss M, Kennedy-Stoskopf S, DePerno CS. Detection of *Clostridium difficile* and *Salmonella* in feral swine population in North Carolina. J Wildlife Dis. 2011;47:774-6. doi: [10.7589/0090-3558-47.3.774](https://doi.org/10.7589/0090-3558-47.3.774).
31. Vengust G, Valencak Z, Bidovec A. A serological survey of selected pathogens in wild boar in Slovenia. J Vet Med B. 2006;53:24-7. doi: [10.1111/j.1439-0450.2006.00899.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2006.00899.x).
32. Wyckoff aC, Henke SE, Campbell Ta, Hewitt DG, VerCauteren KC. Feral swine contact with domestic swine: a serologic survey and assessment of potential for disease transmission. J Wildlife Dis. 2009;45:422-9. doi: [10.7589/0090-3558-45.2.422](https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.2.422).
33. College of Veterinary Medicine Iowa State University. Swine diseases manual. 4 ed. Neuman EJ, Ramirez A, Schwartz KJ, editors. Iowa: American Association of Swine Veterinarians; 2013. 173 p.

34. Barrios-Garcia MN, Ballari SA. Impact of wild boar (*Sus scrofa*) in its introduced and native range: a review. Biol Invasions. 2012;14:2283-300. doi: [10.1007/s10530-012-0229-6](https://doi.org/10.1007/s10530-012-0229-6).
35. Kaden V, Lange E, Hänel A, Hlinak A, Mewes L, Hergarten G, et al. Retrospective serological survey on selected viral pathogens in wild boar populations in Germany. Eur J Wildl Res. 2009;55:153-9. doi: [10.1007/s10344-008-0229-0](https://doi.org/10.1007/s10344-008-0229-0).
36. Boadella M, Ruiz-Fons JF, Vicente J, Martín M, Segalés J, Gortazar C. Seroprevalence evolution of selected pathogens in iberian wild boar. Transbound Emerg Dis. 2012;59:395-404. doi: [10.1111/j.1865-1682.2011.01285.x](https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01285.x).