

#### Cómo citar este artículo:

Elena Rayas Pérez *et al.* “Estudio de prevalencia de agentes patógenos en corzo (*Capreolus capreolus*) transmitidos por garrapatas en el área cinegética de alcornoques”. *Almoraima. Revista de Estudios Campogibraltareños*, 49, diciembre 2018. Algeciras. Instituto de Estudios Campogibraltareños, pp. 25-32.

Recibido: septiembre de 2017

Aceptado: octubre de 2017

# ESTUDIO DE PREVALENCIA DE AGENTES PATÓGENOS EN CORZO (*CAPREOLUS CAPREOLUS*) TRANSMITIDOS POR GARRAPATAS EN EL ÁREA CINEGÉTICA DE LOS ALCORNOCALES

*Elena Rayas<sup>1</sup> / Pablo Fernández-Salguero<sup>2</sup> / Alberto Prieto<sup>3</sup> / Susana Remesar<sup>3</sup> / Cristina San José<sup>1</sup> / Ventura Talavera<sup>1</sup> / Leonor N. Camacho<sup>1</sup> / Felix Gómez-Guillamón<sup>4</sup>*

(1) Agencia de Medio Ambiente y Agua de Andalucía (Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, Junta de Andalucía)

(2) DT de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio en Córdoba (Junta de Andalucía)

(3) INVESAGA. Dpto. Patología Animal. Facultad Veterinaria de Lugo (Universidad Santiago de Compostela)

(4) DT de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio en Málaga (Junta de Andalucía)

## RESUMEN

En el marco del Programa de Vigilancia Epidemiológica de la Fauna Silvestre en Andalucía (PVE), en colaboración con la Asociación del Corzo Español, se ha participado en el estudio “Estado Sanitario del Corzo en las poblaciones ibéricas”. Durante el desarrollo del PVE, se toman muestras biológicas (sangre, órganos y ectoparásitos) de corzos cazados en batidas en el Área Cinegética de los Alcornoques, habiéndose recogido, durante la primavera de 2016 y 2017, muestras a 56 corzos en 7 cotos de caza diferentes. De estas, aproximadamente la mitad corresponden a la zona sur del Parque Natural Los Alcornoques (términos municipales de Los Barrios y Tarifa). Parte de las muestras (suero y bazo) fueron remitidas al equipo de Investigación en Sanidad Animal de Galicia (INVESAGA) de la Facultad de Veterinaria de Lugo (Universidad de Santiago de Compostela).

Los resultados serológicos obtenidos en los corzos mediante Inmunofluorescencia Indirecta revelan una prevalencia de *Borrelia* spp. del 46,3%. Por otro lado, los análisis realizados mediante PCR sobre muestras de bazo indican una prevalencia del 79% para *Anaplasma* spp., y del 100% para *Babesia* spp. y *Theileria* spp. Respecto a las muestras de garrapatas, se han identificado las siguientes especies en el área de estudio: *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Hyalomma marginatum*, *Hyaloma lusitanicum*, *Haemaphysalis punctata*, *Dermacentor marginatum*. Finalmente, en colaboración con los agentes de Medio Ambiente, se inició en primavera de 2017 un muestreo de garrapatas en la vegetación que tendrá continuidad durante las estaciones de verano y otoño, para su identificación y posibles estudios posteriores de prevalencia de diversos agentes patógenos.

**Palabras clave:** corzo, garrapatas, agentes patógenos, *Borrelia* spp., Parque Natural Los Alcornocales.

### **ABSTRACT**

The Epidemiological Surveillance Program for Wildlife in Andalusia (PVE) has collaborated with the Spanish Roe Deer Association (ACE) in the study titled: "Health status of Roe Deer Iberian populations". Over the PVE, different biological samples (blood, organs, ectoparasites) are taken from roe deer hunted in the Alcornocales hunting area. During the spring of 2016 and 2017, samples were taken from a total of 56 roe deer hunted on 7 hunting properties (half of them corresponding to the South half of Los Alcornocales Natural Park, at the municipalities of Los Barrios and Tarifa). Part of the samples (blood and spleen) were sent to the research group on Animal Health Galicia (INVESAGA) from the veterinary Faculty of Santiago de Compostela University. The results obtained from the roe deer serum samples through Indirect Immunofluorescence reveal a prevalence of *Borrelia* spp. of 46,3%. On the other hand, the PCR analysis carried out on the roe deer spleen samples, revealed a prevalence of 79% for *Anaplasma* spp as well as a 100% for *Babesia* spp. and *Theileria* spp. Regarding the tick samples, the following species have been identified in the study area: *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Hyalomma marginatum*, *Hyaloma lusitanicum*, *Haemaphysalis punctata*, *Dermacentor marginatum*. Furthermore, through a collaboration with the environmental guards, a ticks sampling was started in spring 2017, which will continue during summer and autumn seasons, in order to identify the species and for possible new studies on the prevalence of tick-borne pathogens.

**Keys words:** roe deer, ticks, pathogens, *Borrelia* spp., Alcornocales Natural Park.

## **1.- INTRODUCCIÓN**

En el marco del Programa de Vigilancia Epidemiológica de la Fauna Silvestre en Andalucía (PVE), y en coordinación con el Plan de Gestión del Corzo en Andalucía, la Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio colabora con el estudio "Estado Sanitario del Corzo en las poblaciones ibéricas", puesto en marcha por la Asociación del Corzo Español (ACE); siendo el principal objetivo del PVE en este proyecto conseguir información sobre la presencia y prevalencia de diversos agentes patógenos transmitidos por ectoparásitos en el área cinegética de Alcornocales.

El trabajo realizado permite, por un lado evaluar la posible incidencia de los agentes patógenos transmitidos por garrapatas en las poblaciones de corzo, y por otro lado aportar datos sobre taxonomía y distribución de garrapatas en el área de estudio, con la importancia que esto tiene desde el punto de vista de la salud pública.

Las garrapatas son responsables de la transmisión de una amplia gama de agentes patógenos tanto a los animales como al ser humano. Su particular fisiología y biología favorecen la transmisión de virus, bacterias y protozoos. Entre los procesos que pueden llegar a transmitir a las personas, cabe destacar la enfermedad de Lyme, la fiebre Hemorrágica Crimea-Congo, rickettsiosis, anaplasmosis granulocítica humana y hasta 50 patógenos responsables de distintos procesos patógenos.

La enfermedad de Lyme es una de las zoonosis transmitida por picadura de garrapata del género *Ixodes ricinus*, cuyo agente causal es la espiroqueta *Borrelia burgdorferi sensu lato* que es una de las principales enfermedades transmitida por garrapatas en Europa. *Ixodes ricinus* se encuentra ampliamente distribuida en la península ibérica, siendo más prevalente en el norte de España; sus reservorios animales son los roedores, las aves silvestres y los cérvidos (Estrada-Peña *et al.*, 2001).

La sintomatología de esta enfermedad es muy variada, con clínica dermatológica, neurológica, cardiovascular y articular, siendo su lesión patognomónica el eritema migratorio (Stanek *et al.*, 2012).

*Ixodes ricinus* es además vector de otras enfermedades como la anaplasmosis granulocítica, la encefalitis vírica transmitida por garrapatas, y diferentes tipos de rickettsias, entre otras (Beati *et al.*, 1993; Rijpkema *et al.*, 1995; Danielova *et al.*, 2002; Richter y Matuschka 2006; Koci *et al.*, 2007). También es una especie que se ha asociado recientemente a la transmisión de un buen número de especies de piroplasmas de los géneros *Babesia* spp. y *Theileria* spp. (García-Sanmartín *et al.*, 2008).

*I. ricinus*, según Estrada-Peña (1994), tiene un amplio rango de hospedadores; los adultos parasitan fundamentalmente a rumiantes silvestres y domésticos (ciervos, corzos, ovejas, etc.) mientras que los estadios inmaduros se alimentan de un amplio número de micromamíferos y pequeñas aves. Este hecho conlleva importantes implicaciones epidemiológicas en la difusión y distribución de las enfermedades que esta garrapata transmite.

La Fiebre Hemorrágica de Crimea-Congo (FHCC) es una de las enfermedades transmitidas por garrapatas del género *Hyalomma* con mayor extensión a nivel mundial. Actualmente se considera una enfermedad emergente en países de Europa oriental. En septiembre de 2016 se registró el primer caso de una persona infectada por este virus en España, tras la exposición a la picadura de una garrapata. Desde el año 2010 se había producido el hallazgo repetido del virus de la FHCC en garrapatas capturadas en una comarca de Extremadura y en un estudio posterior, que se realizó tras la detección de casos en humanos, se identificaron garrapatas positivas a dicho virus en siete de las once comarcas estudiadas de Extremadura, Castilla-La Mancha, Castilla y León y Madrid. Todas las garrapatas positivas se habían recogido sobre animales silvestres, fundamentalmente ciervos (Informe de Situación y Evaluación del Riesgo de Transmisión de FHCC en España, abril 2017).

Conocer los tipos de garrapatas, la localización de las mismas y su abundancia, permitirá en un futuro conocer las zonas y las épocas del año de mayor riesgo para el hombre de contraer una enfermedad transmitida por picadura de garrapata. En este estudio se aportan unos resultados iniciales con objeto de desarrollar trabajos más amplios y completos no sólo en la provincia de Cádiz, sino también en el resto de Andalucía.

## 2.- MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolla en dos líneas de actuación, obtención de muestras y garrapatas de corzo y recolección de garrapatas procedentes de la vegetación.

En primer lugar, durante la ejecución de los trabajos del PVE en la primavera de 2016 y de 2017, se tomaron muestras biológicas a 56 corzos cazados en batidas en 7 cotos privados de caza ubicados en el área cinegética de Alcornocales. Las fincas fueron seleccionadas como representativas de la presencia de corzo en la zona.

A partir de los animales cazados en cada batida se realizó una selección aleatoria de aproximadamente 10 ejemplares por coto (oscilando entre 6 y 12), incluyendo animales de diferentes edades.

Primero se realizó una exploración externa de cada ejemplar, se identificaron lesiones y se valoró la carga de ectoparásitos. Posteriormente se procedió a la descripción de las lesiones internas observadas y a la toma de muestras de cada ejemplar (torundas oculares, sangre, bazo, pulmón y garrapatas).

Tras el procesado de las muestras, tanto el suero obtenido como el bazo y la garrapatas, fueron remitidos para su análisis al laboratorio del Equipo de Investigación en Sanidad Animal de Galicia (INVESAGA), de la Facultad de Veterinaria de Lugo (Universidad de Santiago de Compostela), entidad que colabora desde hace años con la Asociación del Corzo Español (ACE).

Patógeno de estudio	Técnica de diagnóstico	N.º muestras
<i>Borrelia spp</i>	Inmunofluorescencia indirecta	54 muestras de suero
<i>Anaplasma spp</i>	PCR	33 bazos
<i>Babesia spp</i>	PCR	33 bazos
<i>Theileria spp</i>	PCR	33 bazos
<i>Ectoparásitos.</i>	Identificación	258 garrapatas procedentes de 33 corzos

**Tabla 1.** Patógenos estudiados en las muestras remitidas.

Por otro lado, con idea de completar la información referente a la presencia y composición faunística de las garrapatas en el área cinegética de Alcornocales, y siendo conscientes de la importancia que podía tener conocer la estacionalidad en el muestreo, se planificó de forma coordinada con la Delegación Territorial de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de Cádiz el muestreo de garrapatas sobre la vegetación a lo largo de todo el año.

Para ello fue fundamental la colaboración de los agentes de Medio Ambiente de Cádiz quienes entre los meses de mayo a septiembre de 2017 recolectaron en el medio natural un total de 291 garrapatas en 43 puntos de muestreo distintos.

A continuación se presenta la relación de términos municipales donde se han recolectado garrapatas: Alcalá de los Gazules, Algeciras, Jerez de la Frontera, Los Barrios, San Roque, San José del Valle y Tarifa.

### 3.- RESULTADOS

En relación a las poblaciones de corzo, los resultados serológicos obtenidos mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta han revelado una prevalencia de anticuerpos (% de presencia sobre el total de muestras analizadas) a *Borrelia* spp. en el 46,3% de los corzos. Por otro lado, los análisis realizados mediante técnicas de biología molecular (PCR) sobre las muestras de bazo, muestran una prevalencia del 79% para *Anaplasma* spp., y del 100% para *Babesia* spp. y *Theileria* spp.

Patógeno de estudio	Prevalencia
<i>Borrelia</i> spp	43,6% (25/54)
<i>Anaplasma</i> spp	79% (25/33)
<i>Babesia</i> spp	100% (33,33)
<i>Theileria</i> spp	100% (33,33)

**Tabla 2.** Prevalencias detectadas en las poblaciones de corzo.

Respecto a las especies de garrapatas recolectadas en los 33 ejemplares de corzos, la mayor parte correspondieron a la especie *Rhipicephalus sanguineus* (95,5%) siendo esta la garrapata ampliamente predominante, seguida de la presencia de *Ixodes ricinus* (3,5%) en varios ejemplares.

Garrapatas identificadas	%	N <sup>a</sup>
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	95,5	247
<i>Ixodes ricinus</i>	3,5	9
<i>Dermacentor</i> spp	1	2

**Tabla 3.** Identificación de garrapatas de corzo.

Por otro lado, los resultados obtenidos sobre identificación de garrapatas recogidas de la vegetación mostraron un mayor porcentaje de la especie *Rhipicephalus sanguineus* (54,64%). Destacando en este caso la presencia durante los meses de verano de garrapatas del género *Hyaloma* (37,8%).

Garrapatas identificadas	%	N <sup>o</sup>
<i>Hyaloma</i> spp	37,8	110
<i>Ripicephalus sanguineus</i>	54,64	159
<i>Haemphisalis punctata</i>	6,88	20
<i>Dermacentor marginatum</i>	0,69	2

**Tabla 4.** Identificación de garrapatas procedentes de la vegetación.



Ilustración n° 1. *Rhipicephalus sanguineus*.



Ilustración n° 2. *Haemaphysalis punctata*.



Ilustración n° 3. *Hyalomma* spp.

#### 4.- DISCUSIÓN

Entre los resultados obtenidos, cabe reseñar que la prevalencia de anticuerpos de *Borrelia* spp. resultó inferior a la detectada en estudios previos en corzos del noroeste de España donde esta prevalencia se sitúa en torno al 69% (Pato *et al.*, 2013), lo que concuerda con el menor número de garrapatas de la especie *Ixodes ricinus* identificadas entre los ejemplares recolectados en primavera en Alcornocales. La mayor prevalencia de anticuerpos frente a este agente patógeno en el norte de España está directamente relacionada con una mayor abundancia de *Ixodes ricinus*, debido a que las condiciones ambientales más frescas y húmedas son más favorables para esta especie. No obstante, del estudio de Pato *et al.*, (2013) se deduce que el corzo puede representar un importante indicador de la transmisión de *Borrelia* spp. en el noroeste de España debido a su abundancia y alto nivel de infestación por *I. ricinus*.

El hecho de que *I. ricinus* no se haya encontrado en el muestreo sobre vegetación realizado en los meses de verano en Los Alcornocales está relacionado con que esta especie necesita una temperatura que oscile entre -10 y +35°C, aunque tolerarían oscilaciones mayores pero sólo durante cortos períodos de tiempo. Además, tiene que haber una humedad relativa no inferior al 80% porque si no las garrapatas, especialmente las larvas y las ninfas, se desecan y mueren (Estrada-Peña *et al.*, 2012). No obstante, *Ixodes ricinus* fue hallado en los corzos en el mes de marzo de 2017, junto con una elevada prevalencia de anticuerpos de *Borrelia* en corzos, indica que sea recomendable ampliar el radio de muestreo de garrapatas de campo incluyendo las zonas más frescas y húmedas, así como los meses de invierno y otoño además de primavera y verano.

Como ya se ha indicado, la importancia de *Borrelia* spp. radica en que algunas especies, fundamentalmente *Borrelia burgdoferi sensu lato*, *B. garinii*, *B. azfelli*, son zoonóticas y causan la enfermedad de Lyme, y que ha sido diagnosticada en varias personas del ámbito de los Alcornocales (último caso confirmado en julio de 2016 en el término de Alcalá de Los Gazules).

Aunque aparentemente *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. y *Theileria* spp. ocasionan cuadros subclínicos en los corzos, su elevada prevalencia, en cuya transmisión intervienen a demás de *Ixodes ricinus*, la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, se debería tener muy presente por el carácter zoonótico de algunas especies de estos agentes patógenos, entre los que destaca *Anaplasma phagocitophilum*, como causante de la anaplasmosis granulocítica en el hombre.

La vigilancia y monitorización de prevalencias de patógenos y del grado de infestación de garrapatas en los corzos de Andalucía puede ser útil para determinar los riesgos de infección de las citadas enfermedades zoonóticas por picadura de garrapatas.

Por otro lado, y con respecto al virus de la FHCC, hay que considerar que según “Informe de situación y Riesgo en España de FHCC” (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, abril 2017) España es un país con riesgo de circulación de virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo debido principalmente a su ubicación geográfica de proximidad a África, que es lugar de tránsito obligado de aves migratorias que pasan largos periodos en zonas endémicas, a la amplia presencia del vector implicado en la transmisión y a las condiciones climáticas, similares a las zonas donde se ha evidenciado la circulación de este virus.

En concreto, el hallazgo en nuestro estudio de la presencia de casi un 38% de garrapatas del género *Hyalomma* (principales vectores de la enfermedad), procedentes del muestreo realizado en el medio natural durante los meses de verano, tiene una gran relevancia sanitaria, que induce a considerar pertinente hacer una actualización de la evaluación del riesgo de FHCC en la provincia de Cádiz con el objetivo de que la información obtenida pueda ser utilizada como herramienta para la toma de decisiones de salud pública dirigidas a la vigilancia, prevención y el control de la enfermedad.

## 5.- AGRADECIMIENTOS

Agradecemos en primer lugar a los cotos colaboradores con el PVE que nos han permitido el acceso a las fincas y la toma de muestras de corzo durante las batidas realizadas.

Por otro lado agradecer la colaboración de los agentes de Medio Ambiente de Cádiz por su participación en el muestreo de garrapatas de la vegetación y al personal técnico del Parque Natural de Los Alcornocales que ha facilitado y coordinado este trabajo de campo.

Este estudio ha sido financiado por la ACE (Asociación del Corzo Español) y por la Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio (Junta de Andalucía). Gracias al convenio de colaboración entre estas dos entidades ha sido posible ampliar los objetivos iniciales del estudio y trabajar con el laboratorio de INVESAGA, al que agradecemos también su participación activa y el continuo asesoramiento recibido.

## BIBLIOGRAFÍA

- BEATI, L.; PETER, O.; BURGDORFER, W. (1993) y cols. "Confirmation that *Rickettsia helvetica* sp. nov. is a distinct species of the spotted fever group of rickettsiae". *Int J Syst Bacteriol.* ; 43:521-526.
- DANIELOVA, V.; HOLUBOVA, J.; DANIEL, M. (2002). "Tick-borne encephalitis virus prevalence in *Ixodes ricinus* ticks collected in high risk habitats of the south-Bohemian region of the Czech Republic". *Exp Appl Acarol.* ; 26:145-151.
- ESTRADA-PEÑA A., AYLLÓN N, DE LA FUENTE J. (2012). "Impact of climate trends on tick-borne pathogen transmission. *Front. Physiol*"; 3, p.64.
- ESTRADA-PEÑA A. (2001). "Distribution, abundance, and habitat preferences of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in northern Spain". *J Med Entomol*; 38: 361-70.
- ESTRADA-PEÑA A. (1994). *Las garrapatas en España: introducción*. Junta de Castilla y León. Consejería de Sanidad y Bienestar social: 1-86.
- GARCÍA-SANMARTÍN, J.; BARANDIKA, J.F.; JUSTE, R.A. (2008). "Distribution and molecular detection of *Theileria* and *Babesia* in questing ticks from northern Spain". *Med Vet Entomol.* 22:318-325.
- KOČI, J.; MOVILA, A.; TARAGEL'OVA, V. (2007). "First report of *Anaplasma phagocytophilum* and its coinfections with *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) from Republic of Moldova". *Exp Appl Acarol.* 41:147-152.
- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. *Informe de Situación y Evaluación del Riesgo de Transmisión de FHCC en España*, abril 2017.
- PATO FJ, PANADERO R, VÁZQUEZ L, LÓPEZ CM, DÍAZ P, VÁZQUEZ E, DÍEZ-BAÑOS P, MORRONDO P, FERNÁNDEZ G. (2013). Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in roe deer (*Capreolus capreolus*) from Northwestern Spain. *J Zoo Wildl Med.* ; 44: 660- 665.
- RICHTER, D. Y MATUSCHKA, F.R. (2006). "Perpetuation of the Lyme disease spirochete *Borrelia lusitaniae* by lizards". *Appl Environ Microbiol.* ; 72:4627-4632.
- RIJKEMA, S.G.; MOLKENBOER, M.J.; SCHOOLS, L.M. (1995). "Simultaneous detection and genotyping of three genomic groups of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Dutch *Ixodes ricinus* ticks by characterization of the amplified intergenic spacer region between 5S and 23S rRNA genes". *J Clin Microbiol.* 33:3091-3095.
- STANEK G, WORMSER GP, GRAY J. Lyme borreliosis. *Lancet.* 2012; 379:461-73.