



Tesis Doctoral

Estudio epidemiológico de enfermedades transmisibles de importancia médica y sanitaria en artiodáctilos silvestres en el sur de España.

Doctoral Thesis

Epidemiological study on infectious diseases of Public and Animal Health concern in wild artiodactyls from Southern Spain

Tesis presentada por **Jorge María Paniagua Risueño** para optar al grado de doctor por la Universidad de Córdoba.

Bajo la dirección de los doctores Ignacio García Bocanegra, Antonio Arenas Casas y Oscar Cabezón Ponsoda.

Córdoba, 2016

DEPARTAMENTO DE SANIDAD ANIMAL, UNIDAD DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS.

FACULTAD DE VETERINARIA, UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA.

TITULO: *Estudio epidemiológico de enfermedades transmisibles de importancia médica y sanitaria en artiodáctilos silvestres en el sur de España*

AUTOR: *Jorge María Paniagua Risueño*

© Edita: UCOPress. 2016
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es



TÍTULO DE LA TESIS: Estudio epidemiológico de enfermedades transmisibles de importancia médica y sanitaria en artiodáctilos silvestres en el sur de España.

INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

La Tesis Doctoral titulada *Estudio epidemiológico de enfermedades transmisibles de importancia médica y sanitaria en artiodáctilos silvestres en el sur de España*, que ha realizado el doctorando D. Jorge María Paniagua Risueño, dio comienzo en el curso académico 2012/2013.

Tiene como objetivo general evaluar el papel de las poblaciones de artiodáctilos silvestres en la epidemiología de diferentes patógenos, incluyendo *Mycobacterium* spp., *Campylobacter* spp., Pestivirus, Bunyavirus, Flavivirus y *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* en España. Además, se han analizado las implicaciones que pudieran establecerse con el ganado doméstico con el que comparten hábitats.

Desarrollándose en los siguientes objetivos particulares: 1) Establecer la seroprevalencia de bacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MtC) en artiodáctilos silvestres de Andalucía y proporcionar información sobre los factores de riesgo asociados a esta infección. 2) Determinar la prevalencia, diversidad genética y resistencias antimicrobianas de diferentes especies de *Campylobacter* termotolerantes en poblaciones de artiodáctilos silvestres del sur de España, así como los factores de riesgo potencialmente asociados en infección. 3) Evaluar el papel de los rumiantes domésticos y silvestres en la epidemiología de los Pestivirus en Andalucía. 4) Detectar circulación de virus de la Fiebre del Valle del Rift (RVFV) entre las poblaciones de rumiantes domésticos y silvestres del sur de España durante el periodo comprendido entre los años 2009 y 2015. 5) Determinar las tendencias espacio-temporales y los factores de riesgo asociados a la exposición de flavivirus antigénicamente relacionados en rumiantes silvestres en España, en particular virus de West Nile (WNV), virus Usutu

(USUV) y virus de Meaban (MBV). 6) Establecer la seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la infección por *Toxoplasma gondii* en ungulados silvestres y domésticos en el sur de España.

Parte de los resultados obtenidos durante el desarrollo de la presente Tesis Doctoral han sido publicados en diferentes revistas indexadas en el JCR:

- García-Bocanegra, I., Pérez de Val, B., Arenas-Montes, A., **Paniagua, J.**, Boadella, M., Gortázar, C., Arenas, A. (2012). Seroprevalence and risk factors associated to *Mycobacterium bovis* in wild artiodactyl species from southern Spain, 2006–2010. *PloS one*, 7(4), e34908.
- Carbonero, A., **Paniagua, J.**, Torralbo, A., Arenas-Montes, A., Borge, C., García-Bocanegra, I. (2012). *Campylobacter* infection in wild artiodactyl species from southern Spain: Occurrence, risk factors and antimicrobial susceptibility. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 2014, vol. 37, no 2, p. 115-121.
- **Paniagua, J.**, García-Bocanegra, I., Arenas-Montes, A., Berriatua, E., Espunyes, J., Carbonero, A., Rosell, R., Marco, I., Cabezón, O. (2016). Absence of circulation of Pestivirus between wild and domestic ruminants in southern Spain. *The Veterinary record*, 178(9), 215-215.
- García-Bocanegra, I., **Paniagua, J.**, Cano-Terriza, D., Arenas-Montes, A., Fernández-Morente, M., Napp, S. (2016). Absence of Rift Valley fever virus in domestic and wild ruminants from Spain. *Veterinary Record*, 2016, p. vetrec-2016-103696.
- García-Bocanegra, I., **Paniagua, J.**, Gutiérrez-Guzmán, A.V., Lecollinet, S., Boadella, M., Arenas-Montes, A., Cano-Terriza, D., Lowenski, S., Gortázar, C., Höfle, U. (2016). Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile virus and related *flavivirus* exposure in Spanish wild ruminants. *BMC Veterinary Research*. Aceptado.

Así mismo, la presente Tesis Doctoral ha dado lugar a las siguientes comunicaciones científicas en congresos internacionales:

- García-Bocanegra, I., Pérez de Val, B., Arenas-Montes, A., **Paniagua, J.**, Boadella, M., Gortázar, C., Arenas, A. (2012). Seroprevalence and risk factors associated to *Mycobacterium bovis* in wild artiodactyl species from Southern Spain, 2006–2010. EWDA, 10th European Wildlife Disease Association Conference. Lyon. Poster.
- Carbonero, A., Cerdà-Cuéllar, M., **Paniagua, J.**, Torralbo, A., Arenas-Montes, A., Borge, C., Cano-Terriza, D., García-Bocanegra, I. (2014). *Campylobacter* infection in wild artiodactyl species from Southern Spain: occurrence, genetic diversity, antimicrobial susceptibility. EWDA, 11th European Wildlife Disease Association Conference. Edimburgh. Póster.
- **Paniagua, J.**, Espunyes, J., García-Bocanegra, I., Rosell, R., Berriatua, E., Cano-Terriza, D., Marco, I., Cabezón, O. (2014). Pestivirus in wild artiodactyls and livestock from Andalusia, Spain. EWDA, 11th European Wildlife Disease Association Conference. Edimburgh. Póster.
- Arenas-Montes, A., **Paniagua, J.**, Cano-Terriza, D., Arenas, A., Jurado, E., Carbonero, A., Torralbo, A., Borge, C., García-Bocanegra, I. (2014). Serosurveillance of *flaviruses* in wild ruminants in Southern Spain. EWDA, 11th European Wildlife Disease Association Conference. Edimburgh. Póster.
- García-Bocanegra, I., **Paniagua, J.**, Cano-Terriza, D., Arenas-Montes, A., Jiménez-Ruiz, S., Camacho, L., Fernández-Morente, M., Napp S. (2016). Absence of Rift Valley fever virus in domestic and wild ruminants from Spain. EWDA, 12th European Wildlife Disease Association Conference. Berlín. Póster.

Además, relacionados con diversos aspectos de este trabajo de Tesis Doctoral, han sido publicados diferentes artículos en revistas internacionales, así como comunicaciones en diferentes congresos nacionales e internacionales.

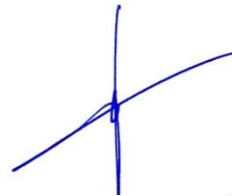
Una vez redactada, la presente Tesis ha sido revisada, reuniendo a nuestro juicio todos los requisitos necesarios para su lectura y defensa.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, se expide el presente Informe en Córdoba a 24 de octubre de dos mil dieciséis.

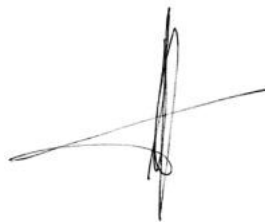
Firma de los directores



Fdo.: Ignacio García Bocanegra



Fdo.: Antonio Arenas Casas



Fdo.: Oscar Cabezón Ponsoda

INDICE

	Página
Resumen.....	2
Summary.....	5
Introducción.....	7
1. Los cambios en el uso del suelo en Andalucía en las últimas décadas.....	8
1.1 Cambios en la ganadería extensiva.....	9
1.2 Cambios en las poblaciones de artiodáctilos silvestres.....	10
1.3 Cambios sociales.....	12
2. Los artiodáctilos silvestres y su aprovechamiento en Andalucía.....	13
2.1. El medio.....	13
2.2. La gestión cinegética.....	16
2.2.1. Los Terrenos Cinegéticos en Andalucía.....	16
2.2.2. Principios de la gestión cinegética.....	16
2.2.3 Sistemas de gestión cinegética	19
3. Las enfermedades compartidas y sus condicionantes ecológicos.....	24
4. Interfaz sanitaria en el sur de España.....	29
5. Implicación de la fauna silvestre en las enfermedades compartidas.....	31
6. Vigilancia sanitaria de la fauna silvestre.....	33
6.1 Dificultades y limitaciones de la vigilancia sanitaria en fauna silvestre.....	35
6.2 La vigilancia sanitaria en fauna silvestre en el contexto internacional.....	37
6.3 Programas de vigilancia sanitaria para la fauna silvestre en España.....	38
6.4 Programa de vigilancia epidemiológica de la fauna silvestre en Andalucía.....	39
7. Control de las enfermedades compartidas sobre la fauna silvestre.....	40

Objetivos.....	47
Objetives.....	48
Estudio Epidemiológico.....	49
Capítulo 1º. Seroprevalence and Risk Factors Associated to <i>Mycobacterium bovis</i> in Wild Artiodactyl Species from Southern Spain, 2006–2010.	
Resumen.....	51
Capítulo 2º. <i>Campylobacter</i> infection in wild artiodactyl species from southern Spain: Occurrence, risk factors and antimicrobial susceptibility.	
Resumen.....	54
Capítulo 3º. Absence of circulation of Pestivirus between wild and domestic ruminants in southern Spain.	
Resumen.....	56
Capítulo 4º. Absence of Rift Valley fever virus in domestic and wild ruminants from Spain.	
Resumen.....	60
Capítulo 5º. Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile virus and related flavivirus exposure in Spanish wild ruminants.	
Resumen.....	63
Capítulo 6. <i>Toxoplasma gondii</i> and <i>Neospora caninum</i> in the wildlife-livestock interface from Souther Spain.	
Resumen.....	68
Abstract.....	69
Introduction.....	70
Materials and methods.....	71
Results.....	73

Discussion.....	75
Acknowledgements.....	78
References.....	78
Síntesis	81
Conclusiones.....	91
Conclusions	93
Bibliografía	95
Agradecimientos.....	109

GLOSARIO DE ABREVIATURAS:

- **DO:** Densidad óptica.
- **EFSA:** Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria .
- **ELISA:** análisis inmunoenzimático.
- **BAGV:** virus Bagaza:
- **BDV:** virus de la enfermedad de la frontera.
- **BVDV:** virus de la diarrea vírica bovina.
- **BPPD:** Derivado proteico purificado bovino.
- **IC:** Intervalo de confianza.
- **IPI:** individuo persistentemente infectado.
- **MAGRAMA:** Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente
- **MBV:** virus Meaban.
- **ml:** Mililitros.
- **mm:** Milímetro.
- **nm:** Nanómetros.
- **MtC:** bacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis*.
- **OIE:** Organización Mundial de Sanidad Animal .
- **PCR:** reacción en cadena de la polimerasa.
- **PVSFS:** programa vigilancia sanitaria de la fauna silvestre.
- **RT-PCR:** reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa.
- **RVFV:** virus de la Fiebre del Valle del Rift.
- **Spp:** especies.
- **TBb:** tuberculosis bovina.
- **TSV:** tests de seroneutralización vírica.
- **UE:** Unión Europea
- **USUV:** virus Usutu.
- **WNV:** virus de West Nile.
- **°C:** Grados centígrados .
- **µg:** Microgramo.
- **µl:** Microlitros.

RESUMEN/SUMMARY

RESUMEN

En las últimas décadas, la actividad cinegética ha evolucionado como una alternativa a los sistemas tradicionales de producción extensiva en áreas rurales marginales. Los cambios sociales y del uso del suelo han determinado que las poblaciones de artiodáctilos silvestres de amplias zonas del centro y sur peninsular se encuentren en franca expansión, caracterizándose sus aprovechamientos por una intensificación en los manejos. Este modelo de gestión permite interrelaciones entre humanos, ganado doméstico, fauna silvestre y el medio ambiente que comparten, posibilitando la transmisión de agentes patógenos entre todos estos componentes.

La presente Tesis Doctoral incluye seis estudios que tienen como objetivo general evaluar el papel de las poblaciones de artiodáctilos silvestres en la epidemiología de diferentes patógenos, incluyendo *Mycobacterium* spp., *Campylobacter* spp., Pestivirus, Bunyavirus, Flavivirus y *Toxoplasma gondii* en España. Además, se han analizado las implicaciones que pudieran establecerse con el ganado doméstico con el que comparten hábitats. control

En el primer estudio se estableció la seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la infección por bacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MtC) en artiodáctilos silvestres durante el periodo 2006 al 2010. Los resultados obtenidos (7,5%; 202/1367) indican una amplia prevalencia de MtC en ungulados silvestres, particularmente en jabalí (*Sus scrofa*) (52,3%; 68/130), lo cual podría tener importantes implicaciones para la Sanidad Animal, la Salud Pública y la Conservación. La distribución de MtC presentó variaciones espaciales y temporales. La edad, la localización y el año son factores de riesgo asociados a la infección por MtC en ungulados silvestres la zona de estudio.

El segundo capítulo incluye un estudio para determinar la prevalencia, diversidad genética y resistencias antimicrobianas de diferentes especies de *Campylobacter* termotolerantes en poblaciones de artiodáctilos silvestres, así como los factores de riesgo potencialmente asociados en su presentación. Los resultados (15,2%; 55/363) indican que estas especies, particularmente el jabalí (38,9%; 49/126),

pueden actuar como reservorios de *Campylobacter* spp. Las especies más frecuentemente detectadas fueron *C. lariena*, seguida de *C. coli* y *C. jejuni*. La detección de multiresistencias en diversos aislados obtenidos podría tener importancia para la Salud Pública. Los factores de riesgo asociados con la infección por *Campylobacter* en jabalí fueron: elevadas densidades de jabalíes, la presencia de puntos de agua artificial y la estación invernal.

Los resultados obtenidos en el tercer estudio indican que los Pestivirus presentan ciclos epidemiológicos independientes entre el ganado doméstico (12,4%; 46/371) y los rumiantes silvestres (0,1%; 1/1442) en Andalucía. La baja seroprevalencia detectada en rumiantes silvestres sugiere que estas especies actúan como hospedadores accidentales de Pestivirus en la zona de estudio.

En el cuarto estudio se realizó un análisis epidemiológico para detectar circulación de anticuerpos frente al virus de la Fiebre del Valle del Rift (FVRV) en las poblaciones de rumiantes domésticos (n= 977) y silvestres (n= 1016) del sur de España. La ausencia de animales seropositivos sugiere que el VFVR no circuló en la zona de estudio durante el periodo comprendido entre los años 2009 y 2015.

El quinto capítulo incluye un estudio para determinar las tendencias espacio-temporales y los factores de riesgo asociados a la exposición de Flavivirus antigénicamente relacionados en rumiantes silvestres de España, en particular virus del West Nile (WNV), virus Usutu (USUV) y virus de Meaban (MBV). La seroprevalencia obtenida (3,3%; 153/4693) indica circulación endémica de estos flavivirus en ciervos (*Cervus elaphus*) incluso en áreas donde no se han detectado brotes de enfermedad en animales domésticos. El análisis de rumiantes silvestres podría ser una herramienta complementaria eficaz para monitorizar la actividad de Flavivirus emergentes en España.

El último capítulo muestra los resultados de un estudio seroepidemiológico en ungulados silvestres y domésticos para determinar la prevalencia y factores de riesgo asociados a la infección de *Toxoplasma gondii* en el sur de España durante el periodo 2011-2016. Los resultados muestran una elevada exposición de *T. gondii* en las

poblaciones de ungulados silvestres (12,8%; 302/2351) y en el ganado doméstico (25,3%; 122/482) en la zona de estudio. Los principales factores de riesgo asociados a la infección por *T. gondii* en rumiantes domésticos son: la especie (ovino), la presencia de gatos, dispensar el alimento en el suelo y la alimentación en rastrojos. Así mismo, la especie (ciervo, gamo y jabalí), la edad (adulto) y la temporada cinegética (2011/2012 hasta 2013/2014) son factores de riesgo relacionados con la infección por este protozoo en ungulados silvestres.

SUMMARY

During the last decades, hunting activity has evolved towards an economic alternative in the rural areas from Southern Spain. Wild artiodactyl species have been increasing in Central and Southern Spain in terms of population abundance and geographic distribution. Hunting areas from Southern Spain are characterized by an intensive management of their wild ungulate populations. This model of management favours the interaction between human beings, livestock, wildlife and the environment, increasing the risk of pathogen transmission throughout this complex epidemiological scenario.

The general objective of the present Thesis is to determine of the role of the wild artiodactyl species in the epidemiology of several pathogens, such as *Mycobacterium* spp., *Campylobacter* spp., Pestivirus, Bunyavirus, Flavivirus and *Toxoplasma gondii*, in Southern Spain. In addition, the epidemiological implications between wildlife and livestock that share the same habitat have been also assessed.

In first study (Chapter 1) a cross-sectional study was carried out on wild artiodactyls species in Southern Spain to assess the seroprevalence against *Mycobacterium bovis* or cross-reacting members of the *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC), and to provide information on associated risk factors between 2006 and 2010. The overall prevalence was 7.5% (202/1367), showing a high exposition rate of wildlife to MTBC, specifically in wild boar (*Sus scrofa*) (52.3%; 68/130). The seroprevalence observed indicates a widespread exposure to MTBC in several wild artiodactyl species in southern Spain, which may have important implications not only for conservation but also for animal and public health. The logistic regression model for wild artiodactyl indicated that the seropositivity to *M. bovis* was associated with age, location and year of sampling.

The objectives of the Chapter 2 were to investigate the occurrence, risk factors and antimicrobial resistance of thermotolerant *Campylobacter* spp. in wild artiodactyl species in southern Spain. The isolated *Campylobacter* species were identified as *C. lanienae*, *C. coli* and *C. jejuni*. These findings suggest that wild artiodactyls, specifically

wild boar, constitute a reservoir of *Campylobacter* species, including resistant and multi-resistant strains, which may be of public health concern. The risk factors associated with *Campylobacter* spp. infection were high densities of wild boar, presence of artificial waterholes and the winter season.

The Chapter 3 assessed the presence of Pestivirus in the wild and domestic ruminant interface. The reported prevalence of antibodies in domestic (12.4%; 46/371) and wild (0.1%; 1/1442) ruminants confirmed independent epidemiological cycles in these species in Andalusia. The low prevalence found in wildlife indicate that these species may act as spillover hosts from domestic ruminants, and therefore they do not represent a risk for domestic ruminants in study area.

The Chapter 4 analysed the presence of Rift Valley Fever Virus (RVFV) in domestic (n= 977) and domestic (n= 977) ruminants in Southern Spain. The results reported the absence of antibody positive animals, suggesting that the RVFV did not circulated in the area of study between the year 2009 and 2015.

The Chapter 5 analysed the spatio-temporal trends and the risk factors associated to antigenically related flaviviruses (West Nile Virus – WNV; Usutu Virus – USUV; Meaban Virus – MBV) infection. The overall prevalence of antibodies against flaviviruses in red deer was 3.3% (153/4693) and confirmed the endemic circulation of these viruses in red deer, even in areas in areas where WNV outbreaks have not been reported to date.

The objective of the Chapter 6 was to carry out a serosurvey study to determine the prevalence and risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in wild and domestic ungulates in Southern Spain between the year 2011 and 2016. The results showed a high exposition to the parasite in both wild ungulates (12.8%; 302/2351) and livestock (25.3%; 122/482). The risk factors associated with *T. gondii* infection in wildlife were the species (red deer, fallow deer and wild boar), the age (adult) and the hunting season (from season 2011/2012 to 2013/2014). In addition, the main risk factors associated to *T. gondii* infection in livestock were the species (sheep), the presence of cats, feeding on ground and feeding at stubble field.

INTRODUCCIÓN

La fauna silvestre alberga una gran variedad de agentes infecciosos de gran trascendencia debido a que muchos de éstos son zoonóticos (Jones *et al.*, 2008; Ruiz-Fons *et al.*, 2015), causan impacto en la sanidad de animal y en la producción ganadera (Rodríguez-Prieto *et al.*, 2012), así como efectos adversos sobre la conservación y el uso sostenible de la vida silvestre (Delibes-Mateos *et al.*, 2014).

La fauna silvestre y/o asilvestrada plantea en la actualidad importantes retos, debido a su valor económico o recreativo, por desarrollar una función clave en los ecosistemas, así como por los daños que potencialmente pueda causar como en su entorno. Tanto si se encuentra en condiciones de libertad o no, está sometida a las reglas de selección natural aunque puede depender de los seres humanos para el desarrollo de su ciclo natural. A su vez, las infecciones compartidas en la interfaz doméstico-silvestre son infecciones multihospedador, causadas por cualquier tipo de patógeno transmisible, donde al menos una especie salvaje y/u otro huésped doméstico, son relevantes para el mantenimiento de la infección (Gortázar *et al.*, 2016).

Diferentes trabajos han establecido los vínculos entre la ecología de las enfermedades y la gestión de la vida silvestre (Ferroglio *et al.*, 2010; Gortázar *et al.*, 2007; 2016; Rhyan *et al.*, 2010; Martin *et al.*, 2011), poniendo de manifiesto la necesidad de una mejor comprensión de la dinámica de las enfermedades que afectan a las poblaciones de especies silvestres, con el fin de poder predecir su comportamiento y diseñar líneas de control (Gavier-Widen *et al.*, 2015).

1. LOS CAMBIOS EN EL USO DEL SUELO EN ANDALUCÍA EN LAS ÚLTIMAS DÉCADAS.

El uso del suelo en Andalucía, entre las décadas de los años 60 y 90 del siglo pasado, sufrió importantes cambios definidos por el aumento de las zonas urbanizadas, así como una intensificación de zonas agrícolas. La urbanización aumentó en Andalucía un 367% durante este periodo. La mayor parte de las zonas que se urbanizaron fueron terrenos que hasta ese momento se habían destinado a cultivo. Paralelamente, los cultivos herbáceos en regadío se incrementaron en un 181%, al mismo tiempo que los cultivos herbáceos en secano vieron reducida su extensión al 62% de la que ocupaban en los años 60 (Junta de Andalucía, 2009). De la superficie

perdida de cultivos herbáceos en secano, el 58% fue transformada en cultivos leñosos y el 23% en cultivos en regadío; estos cambios se produjeron principalmente en el valle del Guadalquivir. En las zonas de montaña, gran parte de las parcelas que se cultivaban en secano en los años 60, lo que supone el 12 % de la superficie transformada, fueron abandonadas, pasando a ser pastizales y áreas de matorral (Gargano *et al.*, 2012) lo que supuso una homogenización del paisaje (Fernández-Ales *et al.*, 1992). Se produjo, por tanto, una intensificación de la agricultura en las zonas más favorables y mecanizables, así como una renaturalización del medio en las zonas rurales de montaña. Estos cambios son similares a los identificados en otras zonas mediterráneas (Geri *et al.*, 2010).

1.1. CAMBIOS EN LA GANADERÍA EXTENSIVA.

Desde los años cincuenta del siglo pasado, la economía agraria existente hasta aquel momento comenzó a transformarse, provocando una fuerte crisis de los aprovechamientos agrarios tradicionales (Roux, 1975; Rivera, 1991). El principal motivo fue la imposibilidad de importar las lógicas de la etapa desarrollista a las zonas rurales que, aplicada a la ganadería, significó la importación de unos modelos poco adaptados a las características naturales del territorio. La industrialización del país supuso un éxodo rural masivo hacia las grandes ciudades, y la subida de los salarios en el campo hizo que las prácticas extensivas dejasen de ser competitivas. El encarecimiento de los jornales, las dificultades de mecanización, el envejecimiento de la población por la escasa incorporación de nuevas generaciones a las actividades ganaderas, la dependencia climática, las deficientes vías de comercialización y la producción a pequeña escala, han sido las causas que han motivado esta situación (Mata Moreno *et al.*, 2004). Aún así, el informe de “Caracterización socioeconómica de la dehesa de Andalucía”, el único censo oficial disponible, expuso los censos de ganado en extensivo del año 2005 en Andalucía (Junta de Andalucía, 2008). En él se señalaba que el 95% del ovino, el 60% del caprino, el 71% del bovino y el 28% del porcino de Andalucía se mantenía en sistemas de producción extensivos, si bien se experimenta una continua reducción del censo de ganado y del número de productores.

Durante el periodo de 2003 al 2014, la cabaña de ovino descendió en 1.102.751 (33,82%) animales, la de caprino en 365.088 (27,05%) cabezas y la de vacuno en 166.875 (24,2%) animales. El sector porcino en su conjunto, se mantuvo más estable perdiendo 125.106 (5,28%) cabezas (Junta de Andalucía 2016) (Gráfico 1). No obstante, la cabaña ganadera de porcino ibérico andaluza experimentó un incremento en el año 2014 de algo más de un 30% en relación al 2013, según el Registro General Informativo de Organismos Independientes de Control del Ibérico (Riber) del Ministerio de Agricultura.

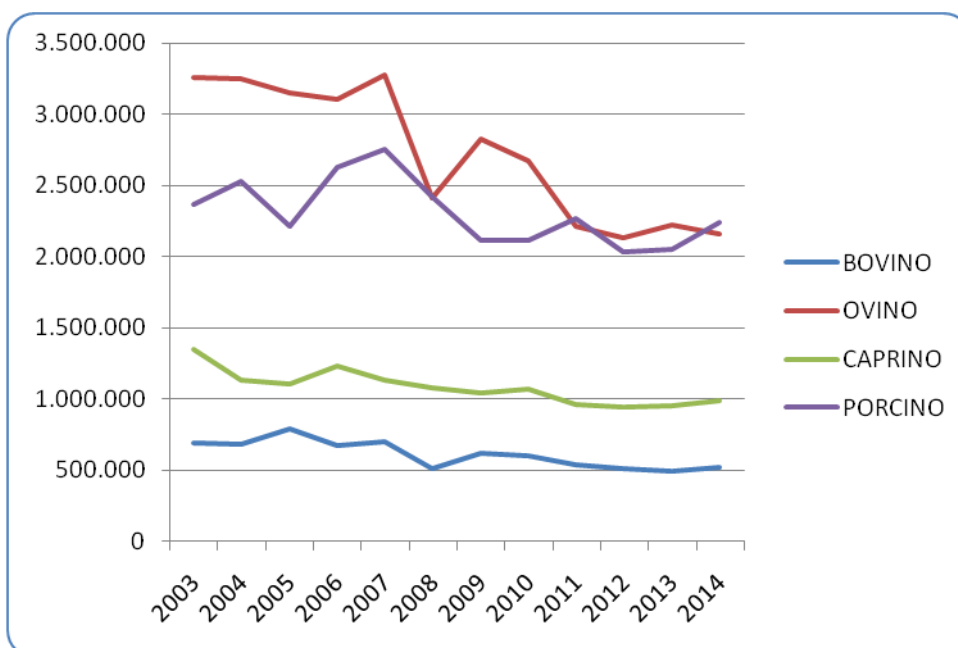


Gráfico 1: Evolución de los censos ganaderos en Andalucía durante el periodo 2003-2014. Fuente Junta de Andalucía, 2016.

1.2. CAMBIOS EN LAS POBLACIONES DE ARTIODÁCTILOS SILVESTRES.

Si bien el aprovechamiento ganadero en Andalucía ha descendido en las últimas décadas, todo lo contrario ha ocurrido en relación a las poblaciones de artiodáctilos silvestres, las cuales han sufrido una brusca transformación en España. Hasta mediados del siglo XX, el aprovechamiento cinegético de estas poblaciones era una actividad tradicional de baja intensidad, con una mínima trascendencia económica. Sin embargo, los cambios acaecidos, especialmente desde mediados de los años 80 del siglo XX, la han convertido en una actividad económica de primer orden, que afecta a gran parte de la Península Ibérica y que ha incrementado su intensidad de un modo muy significativo.

Esta nueva situación está causada por varios factores. La homogenización del paisaje como consecuencia de la renaturalización de las parcelas antiguamente dedicadas a la agricultura (Fernández-Ales et al., 1992; Geri et al., 2010), la disponibilidad de refugio y alimento y la ausencia de molestias debidas a la actividad humana, han favorecido sensiblemente el desarrollo de los artiodáctilos silvestres en estos ambientes mediterráneos. Así mismo, el proteccionismo, los intereses cinegéticos y la ausencia de depredadores también han contribuido al momento de expansión de estas poblaciones (Acevedo et al., 2005; 2006; Apollonio et al., 2010; Acevedo et al., 2011; Herruzo y Martínez-Jauregui, 2013). Este crecimiento se pone de manifiesto en el incremento en sus aprovechamientos. Durante el periodo comprendido entre los años 2001 y 2011, las capturas de piezas de caza mayor experimentaron un incremento anual del 10% (Garrido, 2012), convirtiendo a España en el primer y tercer país europeo en cuanto al número de ciervos (*Cervus elaphus*) y jabalíes (*Sus scrofa*) cazados (Apollonio et al., 2010). En Andalucía, la tendencia de las capturas de piezas de caza mayor ha experimentado un aumento del doble desde la temporada 2003/2004 a la 2013/2014 (Gráfico 2).

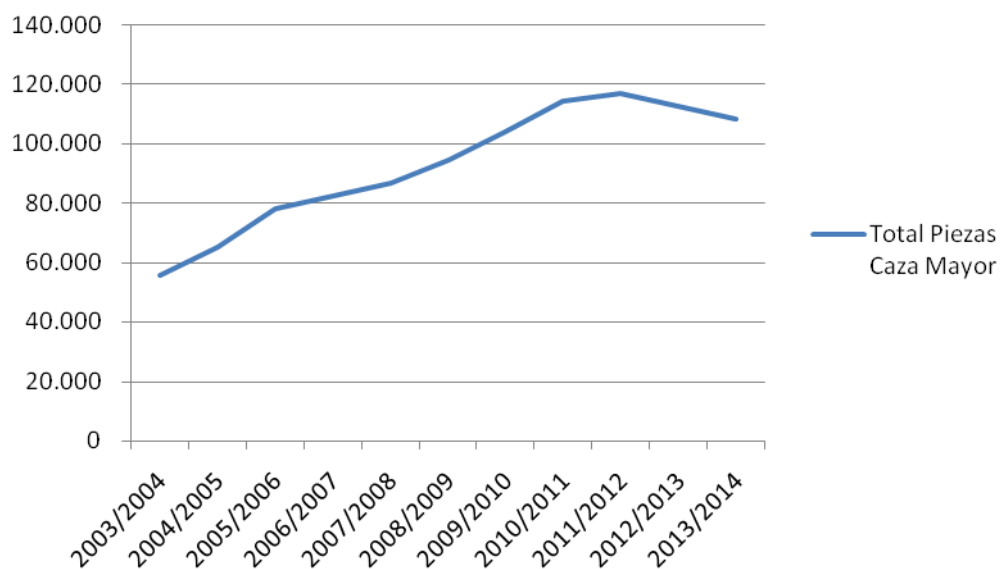


Gráfico 2: Evolución capturas piezas de caza mayor en Andalucía. Fuente: Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio. Red de Información Ambiental de Andalucía (Rediam, 2016).

El ciervo y el jabalí representan el 52,32% y el 36,55%, respectivamente, del total de capturas promedio para dicho periodo; alrededor del 89% de las piezas abatidas en dicho periodo corresponden a ciervo y jabalí (Gráfico 3).

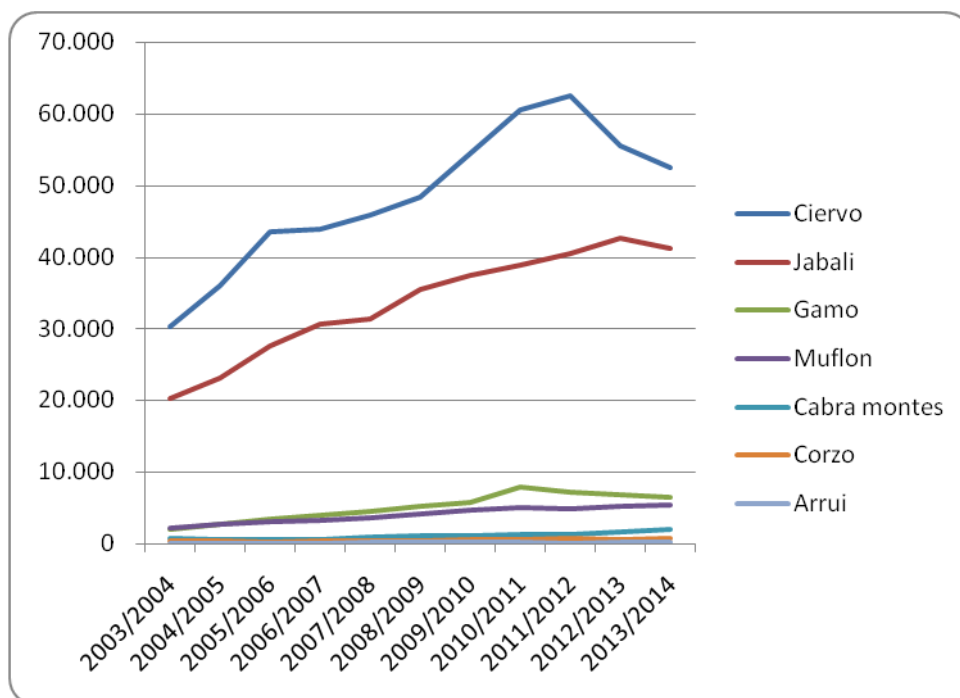


Gráfico 3: Evolución de capturas de las distintas especies de caza mayor existentes en Andalucía. Fuente: Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio (Rediam, 2016).

1.3. CAMBIOS SOCIALES.

La sociedad española, eminentemente urbana, ha aumentado un 24% en las últimas tres décadas, mientras que la población en pequeños municipios (inferiores a 10.000 habitantes) se ha visto reducida del 27,12% al 21,04% (INE, 2014), provocando un importante despoblamiento del medio rural.

Las sociedades occidentales están experimentando un creciente interés por la conservación de especies silvestres amenazadas; a su vez, la percepción negativa de la caza está creciendo, particularmente en contextos urbanos, y ya no se percibe como el aprovechamiento de un recurso natural renovable. La conciencia medioambiental crece y en algunos casos empieza a generar conflicto entre los colectivos conservacionistas más exigentes y aquellos que se resisten a un modo de vida que consideran “impuesto” desde las grandes urbes. La conservación del medio ambiente

pasa por la creciente concepción de mantenerla de la manera más natural, incluso eliminando, si fuera posible, la actividad humana, a pesar de que el ser humano ha generado y moldeado muchos de estos ecosistemas (Perea, 2014). Además, los consumidores demandan una producción animal bajo unas condiciones adecuadas de bienestar animal, así se está fomentando el desarrollo de explotaciones de carácter extensivo, lo que supone una reducción del confinamiento de los animales y, en definitiva, aumenta su exposición a determinados agentes patógenos (Gortázar *et al.*, 2007).

Por otra parte, según Herruzo y Jauregui (2013), el aumento del número de piezas de caza mayor que se está dando en España tiene como uno de sus factores el mayor poder adquisitivo de las familias y un mayor número de cazadores urbanos desvinculados del campo que persiguen este tipo de caza y sus trofeos. Dichos autores establecieron que la evolución de la caza, por ser un bien económico, se puede explicar por los parámetros que rigen los mercados. Así, hasta 1989, la razón que explica el aumento de capturas es la limitación del acceso libre a la caza, y su sustitución por la gestión de estas zonas para la caza comercial. Desde 1989 hasta 2007, la caza mayor crece debido a la demanda inducida por un mayor interés del turismo urbano por este tipo de actividades.

2. LOS ARTIODÁCTILOS SILVESTRES Y SU APROVECHAMIENTO EN ANDALUCÍA.

2.1. EL MEDIO.

Andalucía, con una extensión de 87.597 km² (el 17.3 % del territorio español), presenta una elevada heterogeneidad en cuanto al espectro de variantes bioclimáticas locales, desde la costa al interior, desde las tierras bajas a los altiplanos y altas cumbres, y desde los ambientes más semidesérticos a los subtropicales. También existe una gran variedad orográfica, pudiendo encontrar bosques de quejigos (*Quercus canariensis*) de influencia atlántica, zonas desérticas, llanuras cerealistas o zonas de montaña con vegetación mediterránea (Rivas-Martínez, 1987). Es uno de los 20 puntos relevantes de biodiversidad del planeta. Casi dos millones de hectáreas del territorio

andaluz se encuentran incluidos en los hábitats de interés comunitario que recoge la Directiva 92/43 CEE, de las que alrededor del 60% se corresponden con hábitats exclusivos y el 27% con hábitats prioritarios.

En cuanto a las especies vegetales, con sus 4.000 taxones, Andalucía contiene el 60% de la flora vascular de la Península Ibérica y el 40% de la de la Unión Europea. Además, presenta 446 endemismos ibéricos y 463 taxones exclusivos de la región. En lo referente a la fauna, alberga 46 especies de peces, 16 de anfibios, 27 de reptiles, 300 de aves y 86 de mamíferos.

En base a las características bioclimáticas y de distribución y abundancia de la fauna silvestre, desde un punto de vista sanitario, podemos agrupar el territorio español en 6 bioregiones en las que se basa la planificación territorial del programa de vigilancia sanitaria en fauna silvestre (PVSFS) que se viene aplicando en España desde 2013 (Muñoz *et al.*, 2010; RASVE 2013) (Figura 1).

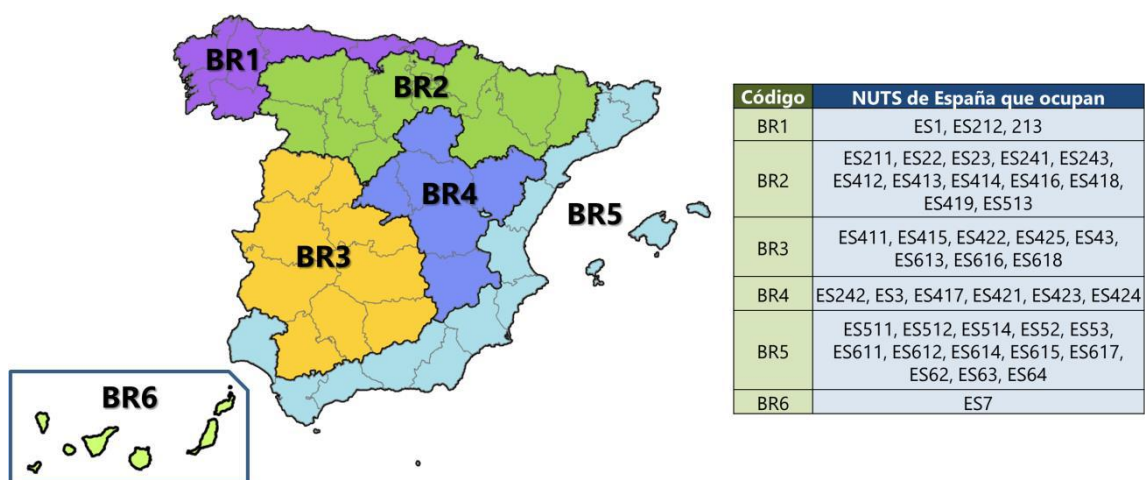


Figura 1: Mapa de las bioregiones de España [Fuente: adaptación de RASVE, 2013]

Andalucía está incluida en dos bioregiones. La bioregión 3, “ecosistemas mediterráneos continentales”, está representada por las provincias que no tienen costa, es decir, Córdoba, Sevilla y Jaén. Ésta se caracteriza por densidades medias-altas de ciervo y jabalí, manejo artificial frecuente y fuerte interacción con ganadería extensiva. La bioregión 5, “costa y sur oriental”, está representada por las provincias costeras de Huelva, Cádiz, Málaga, Granada y Almería, caracterizada por sus

humedales y su clima templado, con baja densidad de ungulados, a excepción de jabalí y cabra montés en puntos concretos.

Andalucía dispone, además, de una zonificación más precisa; dividida en áreas cinegéticas, las unidades territoriales básicas sobre las cuales se establece el Programa Andaluz de Vigilancia Epidemiológica de la Fauna Silvestre. El área cinegética se puede definir como un territorio geográfico de extensión variable, ambiental y cinegéticamente homogéneo, que alberga unas especies cinegéticas cuyas densidades se inscriben dentro de unos márgenes definidos, con una vegetación y unos usos del suelo similares y, a su vez, distintos de otras áreas vecinas. Esta división más detallada permite adecuar la gestión administrativa a la potencialidad y problemática de cada una de las entidades naturales existentes mediante el establecimiento de planes de ordenación específicos. El Plan Andaluz de Caza establece 23 Áreas Cinegéticas que presentan continuidad territorial con características físicas, biológicas y ambientales comunes, y caracterizadas por especies cinegéticas representativas (Junta de Andalucía, 2007) (Figura 2).

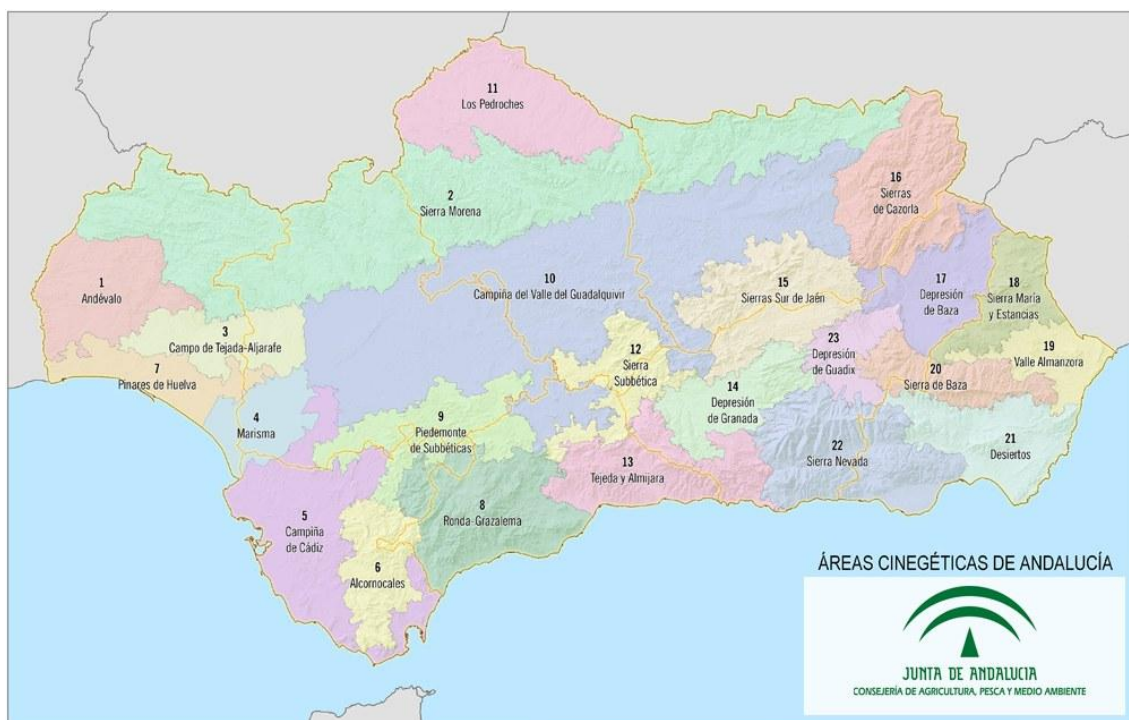


Figura 2: Áreas Cinegéticas de Andalucía. Fuente: Plan Andaluz de Caza.

2.2. LA GESTIÓN CINEGÉTICA.

2.2.1. LOS TERRENOS CINEGÉTICOS EN ANDALUCÍA.

En Andalucía, la caza sólo se puede practicar en los terrenos cinegéticos, incluyéndose en tal categoría las reservas andaluzas de caza (RAC), los cotos de caza en sus distintas modalidades y las zonas de caza controlada (ZCC) (Ley 8/2003). Las RAC son zonas de aprovechamiento cinegético, gestionadas por la administración autonómica con el fin de promover y conservar hábitats favorables para el desarrollo de poblaciones cinegéticas de calidad. En la actualidad existen cuatro Reservas Andaluzas de Caza: la de Cazorla y Segura, la de Cortes de la Frontera, la de la Serranía de Ronda y la de las Sierras de Tejeda y Almijara.

Por su parte, las ZCC son aquellas áreas constituidas por la administración, con carácter temporal, sobre terrenos no declarados RAC o cotos de caza, en los que se considere conveniente establecer un plan técnico de caza, elaborado por la administración competente en materia de Medio Ambiente en Andalucía. Finalmente, se define como *Coto de Caza* toda superficie continua de terreno susceptible de aprovechamiento cinegético declarada como tal por la Junta de Andalucía a instancia del propietario o de quien ostente los derechos cinegéticos (Ley 8/2003). En Andalucía, durante la temporada de caza 2013-2014, existían 7.484 cotos de los cuales 1.436 (22.324km²) tenían la caza mayor como aprovechamiento principal, y en 2.904 (21.496km²) como aprovechamiento secundario (Rediam, 2016). Un 58% de los cotos existentes (43.820 km²) realizaba algún tipo de aprovechamiento de especies de caza mayor (Figura 2) estando incluidas la cabra montés (*Capra pyrenaica*), el ciervo, el corzo (*Capreolus capreolus*), el gamo (*Dama dama*), el muflón (*Ovis musimon*), el arruí (*Ammotragus lervia*) y el jabalí (Junta de Andalucía, 2005).

2.2.2. PRINCIPIOS DE LA GESTIÓN CINEGÉTICA DE ARTIODÁCTILOS SILVESTRES.

Ordenación Cinegética es el proceso de análisis, diagnóstico y planificación de un territorio que da lugar al establecimiento de un plan de gestión. Este plan recoge una serie de actuaciones cuyo objetivo es conseguir la máxima rentabilidad en piezas

de caza garantizando la sostenibilidad, económica y ecológica. Las actuaciones se definirán en función de las condiciones naturales de la zona, de los otros usos y aprovechamientos existentes, de la legalidad vigente y de los objetivos pretendidos (Covisa, 1998).

El “monte mediterráneo” se define como un mosaico de vegetación compuesta por las manchas más o menos naturales de bosque y matorral y por las áreas adehesadas donde el bosque ha sido ahuecado para mantener pastizales arbolados con quercineas, principalmente encinas (*Quercus ilex*) y alcornoques (*Q. suber*) y donde se mantiene una gestión agrosilvopastoral de su aprovechamiento (Díaz *et al.*, 1997).

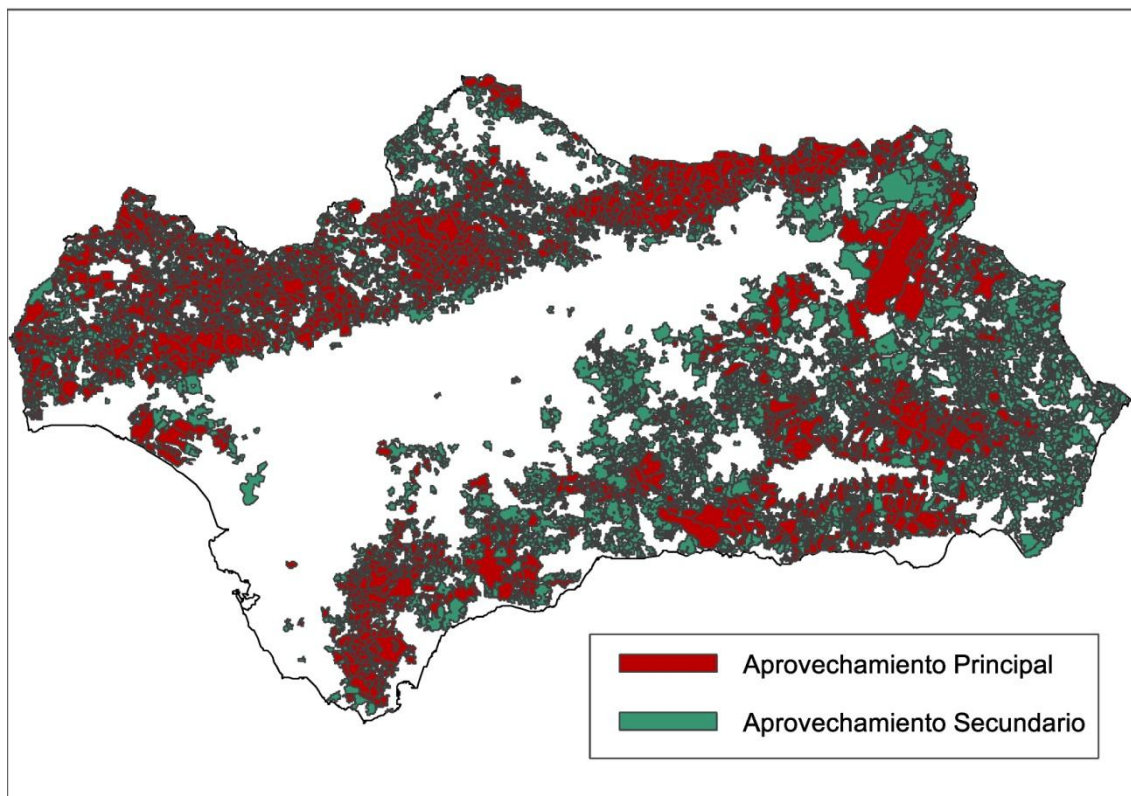


Figura 3: Terrenos cinegéticos de Andalucía con aprovechamientos de especies de caza mayor en la temporada cinegética 2013-2014. Elaboración propia. Fuente: Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio (Rediam, 2016).

Estos montes se desarrollan sobre suelos pobres, predominantemente ácidos, con un clima de marcada sequía estival y temperatura media anual superior a 13°C (dominios meso- y termo-mediterráneo). Estas áreas asientan la mayor parte de la

gestión de las poblaciones de artiodáctilos silvestres en Andalucía. Los montes con mejores condiciones para su aprovechamiento cinegético tienden a situarse en áreas serranas entre 400 y 1200 metros de altitud. En la gran mayoría de los casos, los grandes cotos de caza acogen una parte de “mancha” ligada a las laderas serranas y una porción adyacente de llanura adehesada, siendo la complementariedad ecológica de estas unidades paisajísticas la base de la gestión cinegética (Sáenz de Buruaga y Carranza, 2008).

Tradicionalmente, el aprovechamiento cinegético del monte mediterráneo ha estado condicionado por fuertes limitaciones de origen topográfico, climático y de productividad de los suelos. La complementariedad de los cambios en la producción de pastos y frutos forestales en el monte mediterráneo a lo largo del año se ajusta a las necesidades de los diferentes herbívoros silvestres. Las diferentes especies cinegéticas aprovechan los máximos de producción de hierba que se dan en abril-mayo y en octubre-noviembre, quedando el periodo estival cubierto por la oferta de ramón del matorral o del arbolado, y el invernal por la producción de bellotas y frutos carnosos del matorral noble (Carranza, 1999; San Miguel, 2001; Moreno y Pulido, 2008).

La producción de hierba y frutos está sometida al nivel de precipitaciones, lo que impone una notable incapacidad de predecir la oferta anual. Para una densidad animal determinada, los años favorables ofrecerán un excedente no aprovechado de producción herbácea y leñosa, mientras que en los años secos se asistiría a una sobrepresión de los herbívoros, viéndose obligados a desviar sus preferencias hacia el ramoneo. Para tratar de compensar la variabilidad intra e interanual de recursos alimenticios para los rumiantes silvestres, bien se recurre a la mejora o implantación de pastizales y/o de cultivos agrícolas (San Miguel *et al.*, 2004), o se realiza suplementación alimenticia (Carranza, 1999).

En la gestión cinegética de los artiodáctilos silvestres, parámetros poblacionales como la densidad y la estructura de sexo y edades, tienen gran trascendencia en el uso sostenible de sus aprovechamientos. Las limitaciones ecológicas y productivas

determinan el máximo nivel admisible de utilización de los recursos naturales (San Miguel *et al.*, 1997). La estructura poblacional y el equilibrio de sexos también afectan a los indicadores denso-dependientes.

La excesiva presión de caza sobre los machos jóvenes provoca un doble efecto, la escasez de machos maduros y el sesgo en la proporción de sexos hacia las hembras. Esto conduce a una reducción del tamaño efectivo de la población, es decir la cantidad de individuos diferentes (sobre todo machos) que en la práctica llegan a transmitir su herencia genética a la siguiente generación. La consecuencia puede ser un empobrecimiento genético progresivo de las poblaciones (Pérez-González *et al.*, 2012).

2.2.3. SISTEMAS DE GESTIÓN CINEGÉTICA DE LOS ARTIODÁCTILOS SILVESTRES.

Paralelamente a la consolidación de la caza mayor como actividad alternativa o complementaria de los aprovechamientos tradicionales del suelo en Andalucía, tuvo lugar una ordenación de los acotados. Éstos comenzaron a manejarse con criterios de mercado, dando lugar la explotación cinegética. Ésta sustituyó al coto tradicional, en el que se cazaba por “invitación” y donde primaba el disfrute y las relaciones sociales. Esta nueva gestión busca la rentabilidad económica basada en la venta de los puestos para cazar y de la carne de las piezas abatidas, y en algunos casos la comercialización de ejemplares para repoblar otros cotos (Mulero, 2013).

En cualquier explotación cinegética es necesario realizar una valoración económica o “renta bruta”, a la que debemos deducir los costos necesarios, que nos determinarán la viabilidad económica. No obstante, hoy en día, muchos cotos, sobre todo los cercados, no se plantean la explotación de los mismos con criterios puramente empresariales y tienen en cuenta otros valores como el ocio, balances consolidados, prestigio, incremento de patrimonio, entre otros, razones por las cuales, las cuentas de resultados pasan a un segundo plano (Leiva, 2001).

La revalorización de la caza mayor como alternativa agraria ha provocado una tendencia hacia la intensificación de sus manejos (Mysterud, 2010). Los sistemas de producción de artiodáctilos cinegéticos se pueden clasificar como extensivos, intensivos y mixtos (Carranza, 1999). En los sistemas extensivos, los ungulados se encuentran formando parte de la comunidad faunística de un ecosistema, próximo al que encontraríamos en condiciones naturales, pero con una serie de limitantes antropogénicos, como el vallado perimetral de la finca y el suministro de comida y agua. Este sería el caso de la mayoría de fincas del centro-sur peninsular, donde la tendencia actual es la de desarrollar una gestión enfocada a mantener altas densidades de ungulados, y donde la montería es la principal modalidad de caza y la que mayores retornos económicos genera.

En los sistemas intensivos o granjas cinegéticas (disponen la condición legal de explotación ganadera), los animales se encuentran en un estado de semi-libertad. Como explotación ganadera, realiza selección animal, programas oficiales de erradicación de enfermedades así como programas sanitarios de vacunación y de desparasitación. El sistema de reproducción más habitual de los sistemas intensivos es la monta natural dirigida, donde la selección de los animales está enfocada a obtener mejores trofeos o mayores tasas reproductivas. Este tipo de explotaciones suelen estar dirigidas a la venta de estos individuos seleccionados, para la mejora de las poblaciones de cotos. Entre el sistema extensivo y el intensivo podemos encontrar multitud de variantes y combinaciones (Arenas, 2009).

La existencia de cercados determina en gran medida las posibilidades de gestión de las poblaciones, pudiéndose clasificarse los cotos por lo tanto en cerrados (vallados) y abiertos (Torres-Porras *et al.*, 2014). Se define como cercado cinegético de gestión aquél destinado a impedir el tránsito de las especies cinegéticas de caza mayor, aislando del exterior un determinado aprovechamiento cinegético (Junta de Andalucía, 2003). En el proceso de intensificación de la caza mayor, la necesidad de garantizar buenos resultados en número de piezas y calidad de los trofeos impulsó, entre otras medidas, la instalación de estos cercados. Éstos permiten la posibilidad de

manejar las poblaciones y facilitan el control sobre la dinámica de la población y el desarrollo de trofeos. La instalación de estos cercados obliga a la auto-suficiencia del acotado, al menos en los tres requerimientos básicos: agua, alimento y refugio (San Miguel *et al.*, 1997).

En contraposición a los cercados cinegéticos, la gestión de las fincas abiertas puede influir en las poblaciones de ungulados de las fincas vecinas, hecho que promueve, por ejemplo, la recolección máxima del número de machos antes de que sean cazados por los cotos vecinos. Torres-Porras *et al.*, 2014, confirmó este hecho, exponiendo que la caza de ciervo macho es moderada en fincas cercadas, pero muy intensa en las abiertas, probablemente debido a la competencia entre propietarios vecinos por las mismas poblaciones de ciervos. Por el contrario, la caza de ciervas es baja en fincas abiertas en comparación con los cercados. En definitiva, los gestores de fincas abiertas tratan de maximizar la producción con poca inversión mediante el mantenimiento de una alta densidad de hembras y la caza de machos en su mayoría jóvenes.

Sin embargo, no se puede desarrollar plenamente este objetivo debido a que los desequilibrios en la estructura poblacional tienen consecuencias negativas en diversos aspectos reproductivos y morfológicos como el desarrollo de los animales, la fertilidad de las hembras, la proporción de sexos y el inicio del periodo de celo (Ginsberg y Milner-Gulland, 1994; Holand *et al.*, 2006)

Los cercados cinegéticos anulan los procesos naturales de dispersión de los artiodáctilos silvestres. Esto provoca un aumento de su número si no existe una presión de caza suficiente, pudiendo llegar a superar la capacidad de carga del medio. En este punto es necesario el suplemento de alimento para mantener las altas densidades de animales, un mayor éxito reproductivo, y obtener una mejor calidad de los trofeos (Rodríguez-Hidalgo *et al.*, 2010). El suplementación alimenticia debe tenerse en cuenta, además, debido a la enorme fluctuación estacional de la oferta de alimento en los ecosistemas mediterráneos. Esta alimentación suplementaria debería

limitarse a la época de escasez, el verano, y no suponer un modo mediante el cual aumentar excesivamente la densidad de animales (Carranza y Sáenz de Buruaga, 2008). En los cotos abiertos, la suplementación alimenticia se realiza en fechas inmediatamente anteriores a la celebración de la actividad cinegética con el objetivo fundamental de atraer las reses a la zona donde se va a cazar, y así aumentar las capturas.

Todo ello conduce a que el actual modelo de gestión de la caza mayor en el centro y sur de España tenga como uno de sus principales objetivos mantener altas densidades de animales. Este hecho se puede comprobar en la evolución de la bolsa de caza, donde año tras año es superado el número de capturas (Garrido, 2012) (Gráfico 3) y en la bibliografía existente. El rango de densidades de ciervo que se puede encontrar en esta zona de la Península oscila entre 10-100 individuos/Km², con promedios en muchas áreas cercanos a 35-40 individuos/Km² (Carranza *et al.*, 2006). Igual ocurre con el jabalí, con densidades medias que muchas veces superan los 10 individuos / 100 ha, llegando incluso a valores de 90 jabalíes /Km² (Fernández-Llario y Carranza, 1996; Acevedo *et al.*, 2007). En algunos casos, estas elevadas densidades se incrementan por la presencia de otros rumiantes silvestres y domésticos, provocando una carga muy superior a la sostenible, y sensiblemente superiores a las que existen en otras áreas de Europa (Apollonio *et al.*, 2010; Burbaité y Csányi, 2010). Conviene recordar que las situaciones de sobreabundancia en los artiodáctilos silvestres no son exclusivas de cotos privados de caza, sino que grandes superficies de titularidad pública, como reservas de caza y espacios protegidos, también las presentan.

La sobreabundancia de animales afecta a parámetros biológicos densodependientes derivados de procesos de competencia intra e interespecie. Esta sobreabundancia ha demostrado ser el principal factor de efectos adversos en el desarrollo corporal, de los trofeos y el éxito reproductivo en las poblaciones de cérvidos (Stewart *et al.*, 2005), así como de alteraciones en la dinámica normal del suelo, la vegetación y el resto de fauna silvestre (Warren, 1997; Augustine y DeCalesta, 2003; Carpio *et al.*, 2014a; 2014b). En este sentido, Perea *et al.* (2014) calcularon que

una densidad de ciervo superior a 30 individuos /Km² durante 30 años en ecosistemas mediterráneos supuso una disminución del 30,4 % en la diversidad de las plantas leñosas con mayor grado de palatabilidad para los ciervos, debido a la falta de regeneración. Además de estos efectos negativos, hay que tener presente la relación positiva entre la presencia de determinados agentes infecciosos y/o enfermedades y la gestión cinegética intensiva, que se tratará en esta tesis doctoral en un apartado específico.

Existen diferentes maneras de proporcionar alimento a la fauna silvestre. La más natural estriba en la mejora hábitats con adecuado manejo de pastos o áreas de siembra (San Miguel, 2004). Estas siembras pueden quedar a libre disposición de los animales o pueden ser manejadas mediante diferentes cerramientos haciéndolas accesibles en aquellas épocas que existe una menor disponibilidad natural de alimento. No obstante, estas prácticas pueden ser de difícil aplicación en muchos cotos por las características edáfica y de relieve que poseen, además de ser costosa y difícil de mantener.

El aporte de alimento de forma artificial en puntos concretos o comederos es la práctica más habitual y extendida. Según las infraestructuras que posea el acotado, se puede suministrar el alimento directamente en el suelo, accesible para todo tipo de artiodáctilos incluidos los domésticos si los hay, o utilizar diferentes tipos de comederos, más o menos selectivos para las distintas especies. Existe una gran variedad alimento suministrado. Subproductos agrícolas, pienso compuesto comercial en forma de tacos o pellets, y forrajes como la paja de cereales y el heno de alfalfa son los más habituales. Dentro de los piensos compuestos utilizados, se utilizan desde formulaciones realizadas para otras especies, normalmente para ovino campero, hasta específicos según la especie, la edad o estado fisiológico.

En cuanto a la disponibilidad de agua para las reses, ésta debe ser suficiente en cantidad, calidad y distribución. La distribución del agua debe ser suficiente para las necesidades hídricas, y uniforme para que la carga cinegética sea homogénea en el acotado. Habitualmente, se suele recurrir a la creación de pequeñas charcas

aprovechando los cauces de arroyos estacionales. Su recarga se produce de forma natural durante los periodos de lluvia o artificialmente suministrando el agua mediante el empleo de cubas o cisternas.

Si bien el suplemento de comida y agua puede mejorar la condición corporal y el sistema inmunitario de las poblaciones salvaje, especialmente en épocas de escasez como el verano, existe la posibilidad de que también pueda ser contraproducente para la sanidad animal de dichas poblaciones (Putman y Staines, 2004). En este sentido, existen varios estudios que relacionan positivamente la concentración animal en torno a puntos de comida y agua con altas prevalencias de enfermedades como la tuberculosis o la enfermedad de Aujeszky (Ruiz-Fons *et al.* 2007; Vicente *et al.*, 2007; Cowie *et al.*, 2014; Barasona *et al.*, 2014).

En los sistemas de gestión del jabalí, en los últimos años se ha producido la proliferación de los denominados “*cercones*”. Éstos consisten en diferentes cercados prácticamente impermeables al paso de jabalíes, que contravienen la normativa en relación a los cerramientos en el medio natural, y que provocan el hacinamiento de esta especie, con el único objetivo de asegurar unos resultados cinegéticos sorprendentes. En estos *cercones* se aporta alimento suplementario de forma continua. Los riesgos sanitarios derivados de estas elevadas densidades y la agregación espacial son evidentes (Gortázar *et al.*, 2006; Ruiz-Fons *et al.*, 2008).

3. LAS ENFERMEDADES COMPARTIDAS Y SUS CONDICIONANTES ECOLÓGICOS.

El concepto *One Health* busca promover, mejorar y defender la salud y el bienestar de todas las especies (humanos, animales y plantas) mediante la mejora de la cooperación y la colaboración entre profesionales de salud pública, sanidad animal y salud ambiental. En consecuencia, el concepto *One Health* busca potenciar el abordaje multidisciplinar de los riesgos sanitarios en la interfaz humano-animal-ecosistema integrando factores genéticos, biológicos, sociales, económicos, políticos, ecológicos, medioambientales, y sus interacciones (Hudson, 2002; Wilcox y Gubler,

2005). Dicho concepto está experimentando un resurgimiento importante en las últimas décadas debido al creciente interés sobre las relaciones epidemiológicas de los agentes infecciosos entre el ser humano, los animales domésticos, la fauna silvestre y el medioambiente (Kahn *et al.*, 2007; Kaplan *et al.*, 2009; Zinsstag *et al.*, 2011). En este sentido, los animales silvestres juegan un papel epidemiológico importante en el mantenimiento, transmisión y dispersión de los agentes infecciosos, por lo que su estudio es fundamental para la comprensión de esta “única salud” (Tompkins *et al.*, 2011; Turner *et al.*, 2013).

Las diferentes relaciones que se establecen entre humanos, ganado doméstico, fauna silvestre y el medio ambiente crea una red de conexiones dinámicas (interfaz) que permite el intercambio de patógenos en todas las direcciones (Wilcox y Gubler, 2005). Dentro de la complejidad existente en las relaciones epidemiológicas entre los diferentes factores, el aumento en la interacción conlleva el aumento de la probabilidad de la emergencia de nuevos patógenos (Rhyon y Spraker, 2007), ya que se incrementan las oportunidades de evolución y adaptación de los patógenos de un componente hacia otro (Siembieda *et al.*, 2011).

Los agentes patógenos, y los brotes de enfermedad que pueden desarrollar, juegan un papel trascendente en la ecología y en el medio natural, ya que contribuyen a regular las poblaciones silvestres mediante el efecto de presión selectiva en el proceso de evolución (Sommer, 2005). Los brotes de enfermedad se producen cuando el equilibrio existente entre los patógenos y su población de hospedadores se rompe a consecuencia de factores como la superpoblación, los cambios en el hábitat y en la disponibilidad de alimento, evolución del agente infeccioso, o factores climáticos, entre otros. En algunos casos, estos factores desequilibrantes tienen un origen antropogénico, lo que puede ocasionar la alteración o distorsión de la vía natural de regulación ejercida por las enfermedades (Yale *et al.*, 2013).

En el estudio de las enfermedades compartidas, es necesario definir la función que desempeñan los múltiples hospedadores estructurados (comunidad de

hospedadores) en el mantenimiento de dichos procesos. Dado que la capacidad de transmitir los patógenos varía entre las diferentes especies, es esperable que las diferencias en la diversidad y la estructura de las comunidades de hospedadores sean capaces de influir en la dinámica de transmisión (Huang *et al.*, 2013). No obstante, todavía no se tiene suficiente comprensión de la generalidad de este principio.

Históricamente, la atención a las enfermedades de la fauna silvestre ha tenido lugar cuando podían suponer una amenaza para la ganadería y/o la salud pública, culpando a los animales silvestres de ser el reservorio y origen de patógenos (Daszak *et al.*, 2000; Fischer y Gerhold, 2002). Actualmente se reconoce que la transmisión de patógenos entre animales domésticos y silvestres puede ser bidireccional, e incluso puede variar en el tiempo o en el espacio dependiendo de cambios en los diferentes elementos epidemiológicos (Bengis *et al.*, 2002; Nugent *et al.*, 2011). Son muchos los ejemplos de introducción de patógenos desde el ganado a la fauna silvestre. Algunos de éstos son la tuberculosis bovina (Palmer *et al.*, 2012), el parvovirus canino tipo 1 en lobo de Etiopía (Daszak *et al.* 2000) o la sarna sarcóptica en cánidos salvajes de Norte América, Europa y Australia (Pence y Ueckermann, 2002).

En algunos casos, las afecciones de las poblaciones silvestres pueden complicar los esfuerzos de conservación de las mismas (Brook y McLachlan, 2006), e incluso una magnificación de los efectos en las poblaciones silvestres podría promover la relajación en el control de enfermedades en los animales domésticos (Guta *et al.*, 2014). Los patógenos adaptados al hombre y mantenidos en las poblaciones humanas, a su vez pueden causar infecciones en los animales, “zooantroponosis” o “zoonosis inversa” (Messenger *et al.*, 2014). Algunos ejemplos son el virus de la influenza tipo A (H1N1; Berhane *et al.*, 2010; Scotch *et al.*, 2011), la giardiasis (Johnston *et al.*, 2010) o *Mycobacterium tuberculosis* que puede afectar a la fauna silvestre, al ganado o a los animales de compañía (Cosivi *et al.*, 1995; Michel *et al.*, 2003; Hackendahl *et al.*, 2004; Romero *et al.*, 2011).

El conocimiento de la frecuencia, intensidad y dirección de las interacciones entre hospedadores de un ecosistema específico proporciona evidencias sobre los mecanismos de transmisión de patógenos (Morand *et al.*, 2012). Además, el conocimiento de los aspectos relacionados con la estructura espacial y uso del espacio de la fauna silvestre y el ganado es fundamental para el control de infecciones compartidas y puede contribuir a generar medidas que reduzcan la tasa de transmisión intra e interespecífica (Bohm *et al.*, 2009).

Actualmente, la epidemiología espacial junto a la epidemiología molecular son dos de las disciplinas con mayor potencial para la predicción y gestión de la enfermedad en sistemas multi-hospedador, aportando información muy valiosa acerca del mantenimiento y transmisión de la infección en los diferentes hospedadores, así como sobre la identificación de fuentes de patógenos ambientales (Aranaz *et al.*, 2004). Su combinación con el estudio de la ecología espacial de los hospedadores permite dilucidar las vías de transmisión inter e intraespecíficas de diferentes patógenos, así como los factores de riesgo que potencian su transmisión y mantenimiento (Kukielka *et al.*, 2013; Drewe *et al.*, 2014).

Otro de los hechos clave a la hora de entender la circulación de patógenos en sistemas multihospedador es, precisamente, la variedad de vías de transmisión (Jones *et al.*, 2011). Estas vías de transmisión, que determinan la circulación de patógenos, están condicionadas por una gran variedad de factores intrínsecos y extrínsecos del patógeno. Entre los factores intrínsecos se encuentra todo lo relativo a la interacción entre patógeno-hospedador (especificidad, patogenicidad, virulencia del agente infeccioso, respuesta inmune, etc) y la capacidad del agente infeccioso para resistir infectivo en el medio ambiente. Entre los factores extrínsecos se agrupan aquellos factores medioambientales y etológicos que modulan las relaciones espacio-temporales entre patógenos y hospedadores. Todos estos factores determinan la capacidad de persistencia del patógeno en el medio, así como la efectividad en el contacto entre especies y el ambiente (Gortázar *et al.*, 2014), refiriéndose a aquellos factores

ecológicos, etológicos y de manejo que determinan que el contacto entre dos especies sea efectivo para la transmisión del patógeno.

Es importante señalar que esta interfaz sanitaria no solo se produce por la interacción física directa hospedador-hospedador o el uso del espacio compartido por éstos al mismo tiempo, sino que también incluye los contactos e interacciones indirectas a través del medio. Parece lógico pensar que la transmisión de agentes infecciosos entre animales silvestres y domésticos es más probable cuando éstos comparten territorio, pastos y puntos de agua, en sus zonas de campeo (Boehm *et al.*, 2007; Kukielka *et al.*, 2013; Carrasco-García *et al.*, 2016). Estos hechos facilitan que el ganado pueda entrar en contacto con la fauna silvestre y viceversa (Van Campen y Rhyan, 2010), aumentando la probabilidad de infectarse con el patógeno a través de fómites, vectores, secreciones, etc. (Fenner, 1982; Kock, 2005). Por ejemplo, existen evidencias de transmisión indirecta de tuberculosis al ganado a través de alimentos contaminados por ciervos (Palmer *et al.*, 2004) y tejones (Drewe *et al.*, 2013).

Existen otros factores ecológicos, muchos de los cuales son de tipo antropogénico que influyen en la regulación de las poblaciones silvestres y modulan la manera en la que los patógenos pueden transmitirse (Gortázar *et al.*, 2000). Así por ejemplo, la sobreabundancia de especies puede jugar un papel decisivo en el estatus sanitario de las poblaciones silvestres. Si bien existen mecanismos naturales que regulan la densidad de animales silvestres, las situaciones provocadas por la acción del hombre son las que entrañan un mayor riesgo, especialmente en especies de valor cinegético. Existen evidencias de los efectos de la abundancia de hospedadores sobre la condición de los mismos, la agregación de individuos, la tasa de transmisión de patógenos, el riesgo de infección, la exposición a múltiples agentes infecciosos y, en definitiva, el estatus sanitario de la fauna silvestre (Gortázar *et al.*, 2006).

Así mismo es necesario considerar lo que ha supuesto el fenómeno de la globalización en el incremento sin precedentes de la movilización de humanos, animales, vectores incluidos, alimentos y productos. Este fenómeno facilita la difusión

de agentes infecciosos a nivel mundial en periodos muy cortos de tiempo (Daszak *et al.*, 2001). Por otra parte, el cambio climático, especialmente el calentamiento global, afecta la dinámica de presentación de enfermedades transmitidas por artrópodos vectores como la lengua azul, el dengue y la infección por los virus de Chikungunya, West Nile o fiebre del Valle de Rift, entre otras (Purse *et al.*, 2008; Reiter *et al.*, 2008), en algunas de las cuales también intervienen reservorios silvestres (Zeller *et al.*, 2010).

4. INTERFAZ SANITARIA EN EL SUR DE ESPAÑA.

Actualmente, en el centro y sur de España, cotos de caza mayor se compaginan con un uso ganadero, intentando separar ambas actividades espacialmente. En estos casos, las áreas más abiertas, como las dehesas, se dedican a la ganadería extensiva, mientras que en la parte más forestal se aprovecha para la caza mayor. Esta separación teórica se rompe en la realidad. En muchas ocasiones, la permeabilidad de la frontera teórica entre las zonas de uso ganadero y cinegético origina numerosas oportunidades de interacción entre las especies domésticas y las silvestres; la anteriormente denominada “interfaz” entre ganado y fauna (Kock, 2005). Estas posibles interacciones también se pueden producir entre el ganado y la fauna silvestre, sin que ésta se encuentre sometida a aprovechamiento cinegético, como consecuencia de la expansión natural debida al aumento de las poblaciones silvestres ocurrida en las últimas décadas (Acevedo *et al.*, 2011).

En lo que respecta a artiodáctilos silvestres (rumiantes y jabalí), los agentes patógenos tienen gran repercusión, no solo por ser un factor fundamental en la dinámica poblacional de estas especies, sino por su incidencia y repercusión en la conservación de especies (Pérez *et al.*, 2001; Vicente *et al.*, 2005), la sanidad animal del ganado doméstico o la del hombre (Artois, 1997; Gibbs, 1997).

La dinámica de transmisión de la mayor parte de las enfermedades presentes en las poblaciones de ungulados salvajes de España está ligada a la densidad de dichas poblaciones, la cual favorece la diseminación y el mantenimiento de la enfermedad

(May y Anderson, 1979; Vicente *et al.*, 2006). La densidad de las poblaciones está influenciada, a su vez, por diversos factores como el comportamiento de las especies que las forman.

En el sur de España, entre los factores que más influyen el comportamiento y la densidad de las poblaciones de ungulados están los de origen antropogénico, como es la disposición de puntos artificiales de agua y comida, en especial en aquellas épocas del año donde estos recursos escasean, como es el verano en los ambientes mediterráneos (Kukielka *et al.*, 2013; Carrasco-García *et al.*, 2016). Se ha demostrado que la agregación espacial en torno a comederos y bebederos está correlacionada con altas prevalencias de tuberculosis (TB) en jabalí (Acevedo *et al.*, 2007; Vicente *et al.*, 2007a). En el centro-sur de España, un reciente estudio ha determinado mediante PCR en muestras de barro de la orilla, que el 55% de los puntos de agua analizados resultaron positivos a micobacterias del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) (Barasona *et al.*, 2016).

Por otro lado, los subproductos animales no destinados al consumo humano (SANDACH) generados en las diferentes actividades cinegéticas y abandonados en el medio natural, favorecen la transmisión de enfermedades infectocontagiosas hacia especies carroñeras facultativas, entre éstas, algunos mamíferos (Gortázar *et al.*, 2002; Vicente *et al.*, 2011). Sus consecuencias epidemiológicas, aún no evaluadas, podrían cobrar importancia de cara al control de la enfermedad en el medio silvestre, allí donde la disposición de los restos de caza conlleve un riesgo sanitario. Así, se ha descrito una posible magnificación en la transmisión de enfermedades, como la TB, debido al efecto de cascada trófica que se produce al consumir tejidos infectados (Bruning-Fann *et al.*, 2001; Delahay *et al.*, 2002; Michel, 2002; Renwick *et al.*, 2007; Gortázar *et al.*, 2008). Del mismo modo, el consumo de cadáveres entre congéneres ha sido implicado en fenómenos de transmisión de enfermedades como la enfermedad de Aujeszky en el jabalí en España (Gortázar *et al.*, 2002).

5. IMPLICACIÓN DE LA FAUNA SILVESTRE EN LAS ENFERMEDADES COMPARTIDAS.

Se considera que la fauna silvestre, está implicada en más del 70% de las enfermedades emergentes a nivel mundial (Jones *et al.*, 2008). La presencia de una determinada enfermedad en una especie silvestre puede tener importantes implicaciones en su variación poblacional y la de otras especies, al alterar la competencia por el espacio y la comida, la depredación o la necrofagia entre otros.

Como ejemplos, tenemos la enfermedad de Aujeszky, los virus de la mixomatosis y de la enfermedad hemorrágica vírica del conejo, o la sarna sarcóptica. El virus de Aujeszky puede producir tasas considerables de mortalidad en especies cinegéticas como el jabalí, afectando también a otras especies que depreden o carroñen sobre éstos, como es el caso del lobo (*Canis lupus*) (Gortázar *et al.*, 2002; Verpoest *et al.*, 2014). El virus de la mixomatosis y el de la enfermedad hemorrágica vírica en las poblaciones de conejo (*Oryctolagus cuniculus*) determinó el declive de la población de lince ibérico (*Lynx pardina*) y de águila imperial ibérica (*Aquila adalberti*) (Moreno *et al.*, 2004; Delibes-Mateos *et al.*, 2008). De igual modo, la sarna sarcóptica, que es endémica en muchas poblaciones de rebeco (*Rupicapra pyrenaica parva*) del norte de España y de la de cabra montés en algunos sistemas béticos, puede afectar a otras especies tan distintas como el ciervo, el corzo, el zorro (*Vulpes vulpes*) o el lobo (Oleaga *et al.*, 2015).

El estudio de la interfaz doméstico-silvestre adquiere su máxima relevancia en las enfermedades erradicadas y en vías de erradicación. Ejemplos claros de esta situación son la brucelosis y la tuberculosis bovina (TBb). La brucelosis se encuentra erradicada en muchas áreas de Europa y los últimos brotes de esta enfermedad en países como Dinamarca, Francia o Alemania han sido atribuidos a la presencia de reservorios silvestres, principalmente jabalí (Godfroid y Kahlsbohrer, 2002; Cvetnic *et al.*, 2009).

En España, tiene una especial trascendencia la presencia de TBb en los artiodáctilos silvestres. Desde la implantación del Programa Nacional de erradicación de la TBb, la prevalencia de la enfermedad en rebaños bovinos ha descendido de forma sostenida desde el 12% en 1987 al 2,81% en 2015. Sin embargo, los resultados obtenidos en la última década indican un estancamiento en la evolución del programa de erradicación, e incluso un repunte en los últimos años (MAGRAMA, 2015).

Si bien la actividad cinegética no es el único factor implicado en esta situación, los cuantiosos antecedentes en España y en el resto del mundo hacen considerar a los reservorios silvestres como una pieza fundamental en el control de la TBb (Gortázar *et al.*, 2012, 2015). La presencia de reservorios silvestres complica enormemente esta situación, viéndose dificultado el progreso en su control. El jabalí es considerado el principal reservorio silvestre de TBb en España (Naranjo *et al.*, 2008). Así mismo, el ciervo y el gamo también pueden serlo en determinadas zonas donde son abundantes (Gortázar *et al.*, 2008; Vicente *et al.*, 2013).

Por último, la fauna silvestre puede actuar como reservorio y transmitir patógenos que afectan gravemente a las personas (Jones *et al.*, 2008; Wacheck *et al.*, 2010). Son las denominadas zoonosis, definidas como “*todos los procesos contagiosos en cuyo ciclo biológico existe alguna relación hombre-animal, sea de forma directa o en su relación ecológica*”. Las infecciones por el virus Nipah o por algunas cepas de la influenza aviar altamente virulenta pueden ser ejemplos que ilustran perfectamente esta situación. La infección por el virus Nipah es una zoonosis emergente que causa cuadros graves (encefalitis) tanto en animales (cerdos, cabras, ovejas, caballos, perros, gatos) como en el ser humano, siendo el huésped natural del virus los murciélagos frugívoros del género *Pteropus* (Wong *et al.*, 2002). De igual modo, la fauna silvestre desempeña un papel fundamental en la expansión de la influenza aviar altamente patógena, especialmente debido a las migraciones de las aves silvestres y a los contactos con las granjas avícolas intensivas y de traspatio (Bell *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2005). En ambos casos, la presencia de hospedadores silvestres y la producción ganadera con escasas o nulas medidas de bioseguridad y el íntimo contacto entre animales y personas, han

sido evidenciados como el caldo de cultivo idóneo para la emergencia o re-emergencia de las enfermedades.

6. VIGILANCIA SANITARIA DE LA FAUNA SILVESTRE.

El seguimiento de los sistemas de vigilancia en el espacio y en el tiempo permite conocer cuáles son las infecciones más importantes, así como su nivel basal en las poblaciones silvestres (Williams *et al.*, 2002). Esta monitorización permanente, cuando tiene una base estadística, proporciona una fuente fiable para analizar el riesgo de las enfermedades para o desde la fauna silvestre (Mörner y Beasley, 2012). La diferencia existente entre la vigilancia y la monitorización, radica en que el objetivo último de la vigilancia es el control de la enfermedad, mientras que la monitorización trata de determinar la presencia de las enfermedades y conocer sus tendencias espaciotemporales. Así pues, la vigilancia y seguimiento tiene como finalidades el conocer cómo se distribuyen los patógenos en la fauna silvestre, el rango de hospedadores, la detección de patógenos emergentes y el fortalecimiento de la capacidad de control e incluso erradicación de las enfermedades (Warns-Petit, 2009).

El Código Sanitario de los Animales Terrestres de la OIE define la vigilancia epidemiológica de la fauna silvestre como la recogida, el cotejo y el análisis sistemático y continuo de la información relacionada con la sanidad de la fauna silvestre, así como la diseminación oportuna de tal información de manera que se puedan tomar decisiones e iniciar una acción sanitaria. En principio, las acciones relacionadas con la vigilancia pueden dividirse en vigilancia pasiva (también denominada vigilancia general) y vigilancia activa (o específica). Ambos tipos de vigilancia son necesarios en cualquier programa nacional de salud de los animales silvestres.

La vigilancia pasiva se caracteriza por el uso de información recogida de rutina o de manera eventual para algún otro propósito. La mayoría de los programas de vigilancia pasiva de los patógenos de los animales silvestres se basa en el examen de los animales hallados muertos; los cuales representan el recurso más valioso de

cualquier programa de vigilancia. Un ejemplo de ello es la investigación que sigue a un incremento anormal en la tasa de individuos localizados enfermos o muertos. Así las actividades desarrolladas en este tipo de vigilancia, sirven como indicadores precoces en la vigilancia de enfermedades infecciosas emergentes. La investigación de estos eventos poco corrientes resulta, por tanto, esencial para determinar las posibles causas de estos brotes y su potencial repercusión en las poblaciones humanas y animales (Mörner *et al.*, 2002).

La vigilancia activa engloba a aquellas acciones en las que se va a buscar el patógeno de manera deliberada (Hoinville *et al.*, 2013). La vigilancia activa se diferencia de la pasiva en que la primera pretende medir la presencia de un determinado patógeno y en que las muestras pueden tomarse a veces sobre la base de un plan estadístico o probabilístico. Por consiguiente, las estimaciones y los análisis epidemiológicos estadísticos estándar pueden aplicarse más fácilmente a los datos de esta vigilancia que en el caso de la vigilancia pasiva (OIE, 2010). Para realizar una vigilancia activa óptima son necesarios 1) un diseño del muestreo mediante métodos estadísticos adecuados para poder establecer el tipo y la cantidad de muestras a tomar con el objeto que estos muestreos sean representativos de la población; 2) el uso de técnicas diagnósticas directas y/o indirectas adecuadas; y 3) el análisis de los resultados mediante las herramientas estadísticas necesarias.

La prevalencia también debería ser considerada en la definición del muestreo, ya que por debajo de unos niveles, conviene usar evidencias epidemiológicas más que estadísticas (Hugh-Jones *et al.*, 2000). Sin embargo, en el caso de la fauna silvestre, en muchas ocasiones la toma de muestras se limita a animales abatidos o encontrados muertos, por lo que el muestreo tiene una naturaleza más bien de oportunidad o conveniencia, dada la dificultad de acceder a los individuos de la fauna silvestre.

6.1. DIFICULTADES Y LIMITACIONES DE LA VIGILANCIA SANITARIA DE LA FAUNA SILVESTRE.

La vigilancia en las poblaciones silvestres no se encuentra tan desarrollada como para los animales domésticos. Así, normalmente el número de especies domésticas y áreas geográficas cubiertas por dicha vigilancia son sensiblemente menores en comparación con la multitud de especies silvestres existentes y su distribución a nivel mundial (Kuiken *et al.*, 2005). La principal restricción que presenta la vigilancia pasiva es que dichos eventos no son siempre fáciles de reconocer a tiempo, ya que suelen ser de corta duración o pasar inadvertidos. Así, en muchos casos, su alcance se restringe al envío de muestras aisladas a laboratorios de sanidad animal. Para que tengan la máxima utilidad, estos muestreos deberían acompañarse de la máxima información epidemiológica y medioambiental y debería intentar estimarse el número de animales afectados para determinar el alcance del brote en la población silvestre expuesta (Mörner *et al.*, 2002). Con el objeto de mejorar el valor de la vigilancia pasiva es fundamental el establecimiento de campañas de concienciación entre los sectores relacionados con la fauna silvestre y el público general.

Diferentes motivos explican la complicación para aplicar los sistemas de vigilancia en la fauna silvestre. En relación a las razones biológicas, cabe indicar el acceso limitado a estas poblaciones debido a distintos factores ambientales, etológicos y de hábitat (Giovannini, 2006; Warns-Petit *et al.*, 2009). Estas circunstancias favorecen a la detección tardía, o no detección, de los posibles focos de enfermedad. Además, la variedad taxonómica de la fauna silvestre dificulta la determinación de la especie silvestre involucrada en un brote infeccioso (Moutou, 2004). En las especies migratorias, los sistemas de vigilancia pueden llegar a ser muy complejos por la posible rapidez en la dispersión de los patógenos más allá de las fronteras políticas, así como por la dificultad de un diseño adecuado de los muestreos (Mörner y Beasley, 2012).

Así mismo, el comportamiento huidizo de la fauna silvestre dificulta su captura y toma de muestras, así como su posterior recaptura para realizar un adecuado

seguimiento (Fischer y Gerhold, 2002). También las situaciones de estrés al que se ven expuestos los animales en estas condiciones de captura, puede determinar un estado fisiológico que modifique los resultados de las pruebas de diagnóstico o incluso la muerte de los mismos (Thorne *et al.*, 2000), por lo que no siempre es una buena opción para el muestreo de determinadas especies.

Otro inconveniente es la toma de muestras, su procesado y envío al laboratorio de sanidad animal. Este proceso, realizado tras la caza o captura, presenta inconvenientes como son el tiempo desde la toma de muestra, la alteración de la muestra. que pueden condicionar la validez de los resultados laboratoriales (Boadella y Gortázar, 2011; Arenas-Montes *et al.*, 2013) y el riesgo, tanto de dispersión de patógenos animales como en salud pública.

El diagnóstico directo para detectar o aislar el agente etiológico suelen tener una sensibilidad y especificidad similar tanto para las especies domésticas como para la mayor parte de las silvestres (Fischer y Gerhold, 2002). Sin embargo, la utilización de técnicas serológicas desarrolladas para su aplicación en las especies domésticas debe ser precedida de una validación de dichas técnicas para la especie a estudio ante la posibilidad de que no reconozca los anticuerpos de manera óptima de dichas especies (Gardner *et al.*, 1996). Esta validación se ve dificultada por la gran variedad taxonómica de especies silvestres existentes. También hay que tener en cuenta los problemas que pueden surgir en el diagnóstico de ciertos patógenos por reacciones inespecíficas con otros relacionados taxonómicamente.

Así mismo, las estimaciones de prevalencia de enfermedades en la fauna silvestre suele hacerse a través de muestreos convenientes o de oportunidad (Staubach *et al.*, 2002), por lo que conllevan un sesgo inherente dadas las variaciones en el tamaño de muestra o las dependencias espaciales entre áreas vecinas (Staubach *et al.*, 2002; Hardstaff *et al.*, 2013). Además, la amplitud del muestreo suele ser limitada por razones logísticas o económicas, hecho que dificulta la detección de

patrones epidemiológicos espaciales entre las poblaciones silvestres (Müller *et al.*, 1998; Tackmann *et al.*, 1998).

6.2. LA VIGILANCIA SANITARIA EN LA FAUNA SILVESTRE EN EL CONTEXTO INTERNACIONAL.

Los primeros países en desarrollar sistemas específicos de vigilancia para la fauna silvestre fueron Dinamarca y Suecia. Éstos se basaban en los animales silvestres que llegaban a los laboratorios de sanidad animal nacionales. Sin embargo, no fue hasta principios de los años 90 del siglo pasado que creció el interés de la vigilancia de las enfermedades de la fauna silvestre en Europa. El impulso de dicho interés lo dieron las primeras reuniones científicas para tratar la vigilancia sanitaria de las poblaciones salvajes: el Symposium sobre la salud y la gestión en poblaciones de mamíferos silvestres (1994, Nancy, Francia) y la primera conferencia de European Wildlife Disease Association (EWDA) (1994, París, Francia).

La detección de las enfermedades relevantes en la fauna silvestre está identificada como un factor determinante de la estructura y función de los sistemas de vigilancia europeos (Leighton, 1995). A escala mundial, la Organización Mundial de la Sanidad Animal estableció el grupo de trabajo sobre enfermedades de la fauna en 1994. En la actualidad, se reconoce que los países que disponen de sistemas de vigilancia de enfermedades en sus poblaciones de animales salvajes se encuentran más capacitados para detectar la presencia de enfermedades infecciosas y adoptar rápidamente medidas de control y lucha (Mörner *et al.*, 2002). A partir de entonces, otros países como Reino Unido, Italia, España, Francia, Suiza, Noruega y Finlandia han ido desarrollando y mejorando programas de gestión sanitaria de la fauna silvestre.

No obstante, la EWDA se propuso organizar una reunión en 2009 con miembros representantes de los países europeos para conocer el nivel de vigilancia en fauna silvestre en Europa. Según las conclusiones obtenidas tras la reunión, solo 14 de los 25 países europeos representados habían realizado en los últimos años algún tipo de

actividad de vigilancia en las poblaciones de animales silvestres (Kuiken *et al.*, 2011). Actualmente, todavía existe en Europa la necesidad de impulsar la vigilancia de la fauna silvestre a nivel internacional y sugerir un conjunto de actividades adecuadas que puedan ser puestas en marcha por los países con relativa facilidad.

6.3. PROGRAMAS DE VIGILANCIA SANITARIA PARA LA FAUNA SILVESTRE EN ESPAÑA.

En España, el interés por las actividades de vigilancia de los animales silvestres surgió en la década de los 80, promovido por la emergencia de la enfermedad hemorrágica vírica del conejo (Boadella *et al.*, 2011). En el año 2013 se creó el programa de vigilancia sanitaria en fauna silvestre (PVSFS). Este programa contempla la vigilancia tanto activa como pasiva y tiene como objetivos conocer la situación sanitaria de la fauna silvestre en España, prevenir la difusión de enfermedades entre animales domésticos y silvestres y proteger la salud pública (RASVE, 2013). Las actividades incluidas en este programa se aplican a todo el territorio nacional, siempre en coordinación con las medidas contempladas en los programas de vigilancia nacionales, los programas autonómicos y regionales específicos, los programas de fauna propios de espacios naturales y la información aportada por otras entidades, tales como ONGs, centros de recuperación de especies amenazadas, etc.

Para la vigilancia activa, el PVSFS dispone de una lista de enfermedades relevantes en función del taxón, especificándose las muestras y las pruebas diagnósticas de elección para cada enfermedad. Así, se establece la siguiente lista:

- Aves silvestres: enfermedad de West Nile e influenza aviar altamente patógena.
- Cérvidos: Encefalopatías espongiiformes transmisibles, *Brucella abortus* y *B. mellitensis*, y tuberculosis bovina.
- Bovinos: Infecciones por Pestivirus (específicamente para las poblaciones de rebeco), *Brucella abortus* y *B. mellitensis* y sarna sarcóptica.
- Carnívoros: moquillo, rabia, así como tuberculosis bovina en el tejón, y equinococosis/hidatidosis y sarna sarcóptica.

- Lagomorfos y roedores: tularemia en la liebre y en micrótidos.
- Jabalíes: infecciones por *B. suis*, tuberculosis bovina y triquinelosis.

Desde 2014, está en marcha un programa de vigilancia serológica activa específica para jabalíes en el territorio peninsular (RASVE, 2014) con el fin de garantizar la ausencia de tres enfermedades infecciosas de gran impacto, las pestes porcinas (clásica y africana) y la enfermedad vesicular. También tiene como objetivo monitorizar espaciotemporalmente la distribución de la enfermedad de Aujeszky, de la que se sabe que prevalece en nuestro país en las poblaciones de jabalí de manera muy variable según la región.

Todas las actividades de vigilancia activa en fauna silvestre contemplan muestreos aleatorios en base a una prevalencia de diseño específica para cada taxón y enfermedad. Asimismo, el número de muestras a recoger en cada una de las provincias se reparte en función de la abundancia de especies y de las Biorregiones (BRs) (Figura 1). Debido a la dificultad de muestrear determinadas especies, la vigilancia activa se vale de otras actividades para alcanzar sus objetivos, fundamentalmente eventos cinegéticos y ciertas operaciones de manejo de la fauna. El valor que tienen estas muestras hace que su conservación sea un hecho imprescindible. Por ello, el PVSFS potencia la creación de serotecas e histotecas para poder acceder a ellas con el fin de realizar estudios retrospectivos.

6.4. PROGRAMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA FAUNA SILVESTRE EN ANDALUCÍA.

Andalucía se encuentra entre las comunidades autónomas pioneras en la aplicación de los programas de vigilancia epidemiológica de la fauna silvestre, ya que en el año 2009 se puso en marcha el Programa de Vigilancia de la Fauna silvestre de Andalucía (PVE), en base en los establecido en la ley 8/2003. El PVE cuenta con 15 protocolos específicos de especies o grupos de especies, incluyendo especies cinegéticas y protegidas. En relación a las especies de caza mayor, existe un protocolo

específico para cérvidos que incluye al ciervo, gamo y corzo, y otro protocolo para el jabalí. Los objetivos fijados en el PVE son:

1. Determinar el estatus sanitario de los cérvidos en Andalucía, estableciendo las prevalencias de las enfermedades más relevantes.
2. Poner en marcha un dispositivo de Emergencia Sanitaria para la detección precoz de posibles mortandades en cérvidos, debidas a procesos infecciosos.
3. Determinar la distribución espacial por áreas cinegéticas de las enfermedades más relevantes de los cérvidos en Andalucía. Establecer los factores de riesgo asociados a estas enfermedades.
4. Establecer las medidas para la elaboración de programas de lucha (control y prevención) de las enfermedades principales de los cérvidos mediante recomendaciones y propuestas de medidas de gestión, pero solo para el caso de enfermedades que no estén incluidas en el Real Decreto 617/2007.

7. CONTROL DE LAS ENFERMEDADES COMPARTIDAS SOBRE LA FAUNA SILVESTRE.

El control de las enfermedades compartidas con la fauna silvestre requiere el establecimiento de estrategias apropiadas que reduzcan la transmisión de patógenos entre la vida silvestre, los animales domésticos y los seres humanos. La instauración de una vigilancia epidemiológica de la fauna silvestre adecuada, así como un correcto plan de seguimiento, tanto en lo referente a la enfermedad como a el desarrollo de las poblaciones, es la prioridad absoluta, incluso antes tomar la decisión en lo referente a si debe o no intervenir (Gortázar *et al.*, 2015).

Después de la detección de una determinada enfermedad, se necesitan estudios epidemiológicos descriptivos con el fin de evaluar si dicha enfermedad y el papel de la vida silvestre en la misma, es relevante para la salud pública o animal o para la conservación y gestión de vida silvestre. Si este es el caso, entonces las enfermedades de la fauna deben ser monitorizadas mediante la definición de los hospedadores principales en la fauna silvestre, antecedentes de la población de

acogida, la elección de los métodos apropiados para su diagnóstico, así como para el análisis de tendencias espacio-tiempo y el establecimiento de un esfuerzo de razonable muestreo, con una estratificación adecuada de la muestra (Boadella *et al.*, 2011).

Entre las principales opciones de control se encuentran las acciones preventivas, el control de artrópodos vectores, el control de la población de acogida a través del sacrificio aleatorio o selectivo, la gestión del hábitat o control reproductivo y la vacunación. Idealmente, las herramientas de varias de estas diferentes medidas se deben combinar en una estrategia de control integrado. Las alternativas como la zonificación (Artois *et al.*, 2011) o la no realización de ninguna acción también debe ser considerada, teniendo en cuenta la evaluación del coste/beneficio de la posible medida utilizada, pero con la premisa de que el monitoreo de la enfermedad y de la población siempre debe ser aplicada.

Entre las posibles acciones preventivas a aplicar en la interfaz animal silvestre-animal doméstico-ser humano se encuentra el control de las translocaciones, teniendo por objetivo prevenir la introducción o reintroducción de patógenos a través de los movimientos de fauna silvestre infectada libre o criada en cautividad. El comercio mundial de vida silvestre afecta a millones de individuos al año, con consecuencias graves para la emergencia de enfermedades (Karesh *et al.*, 2005). Otra de las medidas preventivas posibles es la utilización de cercados o cualquier otra barrera física, utilización de perros, elementos de disuasión, las barreras a vectores, entre otros, para evitar la transmisión de enfermedades entre distintas poblaciones animales disminuyendo el contacto entre ellos.

La utilización de cercados a gran escala, como por ejemplo la instalación de vallas de 500 km de longitud a prueba de la ganadería y especies silvestres fue aplicada con éxito en el sur de África para evitar la propagación de la peste bovina y la fiebre aftosa (Schneider 2012), si bien pudieron suponer limitaciones a las migraciones naturales de animales silvestres (Owens y Owens, 1980). La aplicación de medidas de

bioseguridad, como la instalación de cercados a menor escala y otros elementos de disuasión, se están convirtiendo en métodos importantes para prevenir la transmisión de enfermedades infecciosas y reducir las interacciones de la fauna y ganadería. En Reino Unido, la aplicación medidas de exclusión simples (puertas de hojas de metal, cercados, tolvas y cercas eléctricas) en granjas, fueron totalmente efectivas para prevenir que el tejón (*Meles meles*) entrara en las diferentes instalaciones de las granjas, pudiendo disminuir el riesgo de de transmisión de *Mycobacterium bovis* entre tejones y ganado vacuno (Judge *et al.*, 2015).

Acciones para prevenir la transmisión de enfermedades en los puntos de agua y lugares de alimentación se puede aplicar dispersando o modificando los puntos de agua disponibles y sustituyendo la alimentación en el suelo con alimentadores selectivos que son menos accesibles para ciertas especies. Por ejemplo, en una granja en España se logró una aparente reducción del 66% en los reactores positivos en vacuno mediante el uso de vallas para separar el ganado y la fauna en los puntos de agua (Barasona *et al.*, 2013). Medidas de bioseguridad aplicadas a ganado doméstico incluyen la sincronización en el uso de ciertos pastos, la alimentación en el interior de edificios o el cambio de las especies de ganado susceptibles a determinadas enfermedades por otras menos sensibles (Ward *et al.*, 2009). Otro ejemplo que se ha mostrado eficaz es la utilización de cercas simples y baratas para prevenir que carroñeros oportunistas, entre los que se encuentra el jabalí, tengan acceso a la comida dispensada para aves carroñeras en peligro de extinción (Moreno-Opo *et al.*, 2012).

El control de las enfermedades compartidas transmitidas por vectores ha sido necesario en el caso del virus de West Nile (WNV). Dado que no existen vacunas eficaces ni otros tratamientos disponibles, los esfuerzos se centran en el control de vectores, principalmente mediante el uso de insecticidas. Sin embargo, existe una creciente preocupación acerca de los efectos tóxicos de los insecticidas en el resto de insectos, en los seres humanos y en el medio ambiente (Siptroth *et al.*, 2011). Otro ejemplo es el control de la enfermedad de Lyme mediante la eliminación de garrapatas

del género *Ixodes*, incluyendo la gestión del hábitat a través de la quema, el uso de acaricidas y la eliminación del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*). Estas medidas se han demostrado eficaces para reducir las poblaciones *I. scapularis* hasta en un 94%, y la aplicación acaricida de ciervos disminuyeron las poblaciones de ninfas de *I. scapularis* hasta en un 83%. Sin embargo, el efecto de estas estrategias sobre la incidencia de la enfermedad de Lyme en seres humanos sigue siendo desconocido (Stafford *et al.*, 2009).

El control de las poblaciones de fauna silvestre en situaciones de sobreabundancia se puede aplicar mediante el uso de las acciones de manejo relativamente simples, como la prohibición de alimentación o el aumento de la presión de caza (O'Brien *et al.*, 2011; Boadella *et al.*, 2012). La caza tiene limitaciones en su capacidad de controlar las poblaciones de fauna silvestre cinegética, por ejemplo, en las áreas protegidas o hábitats urbanos, y los efectos del sacrificio son sólo temporales si el control de la población no es sostenida en el tiempo. Así mismo, se sabe que la eliminación o reducción sustancial del número de especies abundantes puede tener efectos indirectos sobre otras especies. Harrison *et al.* (2010) propusieron que el uso del sacrificio en fauna silvestre para el control de las enfermedades se debe proponer sólo cuando: (i) el ciclo de la transmisión de patógenos es completamente conocido incluyendo todas las interacciones de los hospedadores; (ii) la respuesta de las poblaciones de vida silvestre al sacrificio es conocida; y (iii) si el análisis coste-beneficio muestra que el aumento de beneficio por reducirse la prevalencia de la enfermedad es mayor que el coste de la aplicación de los sacrificios.

Las diferentes estrategias de sacrificio en fauna silvestre es más probable que tengan éxito en poblaciones aisladas que en grandes escalas geográficas y los resultados probablemente consistirán en una cierta reducción de la prevalencia de la enfermedad en hospedadores, domésticos y silvestres, más que en la erradicación total del agente infeccioso (Pybus *et al.*, 2012). La combinación del sacrificio con métodos como el control de la fertilidad o prohibiciones de la alimentación suplementaria, son percibidos por la opinión pública como una forma más aceptable

para limitar las poblaciones de la fauna, que cuando se aplica únicamente medidas de sacrificio (Fagerstone *et al.*, 2002).

El control de enfermedades compartidas a través de la vacunación de los reservorios silvestres puede tener ventajas sobre otros enfoques. A diferencia del sacrificio, la vacunación puede ser más aceptada socialmente, ya que es un método no destructivo y sostenible en el tiempo (Beltrán-Beck *et al.*, 2012). La vacunación oral de la fauna es la única herramienta de gestión de la enfermedad con eficacia probada en grandes escalas espaciales. Esto se ha demostrado con mayor claridad en el caso de control de la rabia en el zorro en Europa Occidental (Müller *et al.*, 2005). Las vacunas deben ser bioseguras para especies a las que no están dirigidas y poseer estabilidad física para soportar las condiciones ambientales. La medicación de los animales silvestres raramente se puede utilizar para reducir la incidencia de las enfermedades en estas poblaciones, existiendo muy pocos ejemplos en la literatura de la medicación de la vida silvestre. En este sentido, una preocupación importante radica en la bioseguridad de liberar fármacos en el medio ambiente (Boxall *et al.*, 2004).

La zonificación o compartimentación se basa en definir un área geográfica en la que existe una infección con el fin de diferenciar su estado de infección de otras zonas aledañas y ha sido aplicada en diferentes países con el fin de definir subpoblaciones con diferentes estatus sanitario para el control de la enfermedad. Esto podría convertirse en una herramienta para el control de enfermedades en la interfaz de la vida silvestre-ganadera en el futuro (Artois *et al.*, 2011).

La inacción es una decisión frecuente en el control de las enfermedades de la fauna silvestre. Esto se debe al hecho de que, para la mayoría de las enfermedades, no existe una justificación suficiente para la intervención, tanto en términos salud pública, sanidad animal y de conservación o, si se da dicha justificación, no hay disponibles herramientas de control adecuadas y rentables. En cualquier caso, la decisión de no adoptar ninguna medida debe ir acompañada de la vigilancia sanitaria de la fauna silvestre, con el fin de poder evaluar el efecto de esta falta de acción en el

mantenimiento de los patógenos en las poblaciones silvestres y su posible incidencia en la salud humana y animal. Esto permitiría modificar nuestra estrategia si el seguimiento de la enfermedad demuestra que nuestra decisión debe ser reconsiderada (Wobeser, 2007).

La combinación de diferentes sistemas de control de las enfermedades compartidas en estrategias integradas puede reducir el costo y el esfuerzo necesarios para conseguir unos mejores resultados. El éxito en el control de enfermedades en la fauna silvestre dependerá de factores como las características tanto de los patógenos como de las poblaciones de los hospedadores implicados, las herramientas de diagnóstico disponibles, la existencia de vectores, el nivel de esfuerzo de los programas de control y la actitud de las partes implicadas (Gortazar *et al.*, 2015).

OBJETIVOS/OBJETIVES

OBJETIVOS:

1. Establecer la seroprevalencia de bacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MtC) en artiodáctilos silvestres de Andalucía y proporcionar información sobre los factores de riesgo asociados a esta infección. **(Capítulo 1. Artículo: García-Bocanegra et al., 2011. Seroprevalence and risk factors associated to *Mycobacterium bovis* in wild artiodactyl species from Southern Spain, 2006–2010. Vet Res PLoS One. 2012; 7(4):e34908).**
2. Determinar la prevalencia, diversidad genética y resistencias antimicrobianas de diferentes especies de *Campylobacter* termotolerantes en poblaciones de artiodáctilos silvestres del sur de España, así como los factores de riesgo potencialmente asociados en infección. **(Capítulo 2. Artículo: Carbonero et al., 2014. *Campylobacter* infection in wild artiodactyl species from southern Spain: occurrence, risk factors and antimicrobial susceptibility. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2014 Mar; 37(2):115-21).**
3. Evaluar el papel de los rumiantes domésticos y silvestres en la epidemiología de los *Pestivirus* en Andalucía. **(Capítulo 3. Artículo: Paniagua et al., 2016. Absence of circulation of Pestivirus between wild and domestic ruminants in southern Spain. Vet Rec. 2016 Feb 27; 178(9):215).**
4. Detectar circulación de virus de la Fiebre del Valle del Rift (VFVR) entre las poblaciones de rumiantes domésticos y silvestres del sur de España durante el periodo comprendido entre los años 2009 y 2015. **(Capítulo 4. Artículo: García-Bocanegra et al., 2016. Absence of Rift Valley fever virus in domestic and wild ruminants from Spain. Vet Rec. 2016 Jul 9; 179(2):48).**
5. Determinar las tendencias espacio-temporales y los factores de riesgo asociados a la exposición de flavivirus antigénicamente relacionados en rumiantes silvestres en España, en particular virus de West Nile (WNV), virus Usutu (USUV) y virus de Meaban (MBV). **(Capítulo 5. Artículo: García-Bocanegra et al., 2016. Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile virus and related flavivirus exposure in Spanish wild ruminants. BMC Vet Res. Aceptado).**
6. Establecer la seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la infección por *Toxoplasma gondii* en ungulados silvestres y domésticos en el sur de España. **(Capítulo 6. Artículo: Paniagua et al. *Toxoplasma gondii* in the wildlife-livestock interface from southern Spain. Vet Parasitol. Enviado).**

OBJETIVES.

1. To determine the seroprevalence of *Mycobacterium tuberculosis* Complex (MtC) in wild artiodactyls from Andalusia and to define the risk factors associated to MtC infection. **(Chapter 1. Article: García-Bocanegra et al., 2011. Seroprevalence and risk factors associated to *Mycobacterium bovis* in wild artiodactyl species from Southern Spain, 2006–2010. Vet Res PLoS One. 2012; 7(4):e34908).**
2. To determine the prevalence, genetic diversity, risk factors and antimicrobial resistance of thermotolerant *Campylobacter* spp. in wild artiodactyl species in southern Spain. **(Chapter 2. Article: Carbonero et al., 2014. Campylobacter infection in wild artiodactyl species from southern Spain: occurrence, risk factors and antimicrobial susceptibility. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2014 Mar; 37(2):115-21).**
3. To evaluate the role of domestic and wild ruminants in the epidemiology of Pestivirus in Andalusia. **(Chapter 3. Article: Paniagua et al., 2016. Absence of circulation of Pestivirus between wild and domestic ruminants in southern Spain. Vet Rec. 2016 Feb 27; 178(9):215).**
4. To provide evidence to support the absence of RVFV circulation in domestic and wild ruminants in Southern Spain between 2009 and 2015. **(Chapter 4. Article: García-Bocanegra et al., 2016. Absence of Rift Valley fever virus in domestic and wild ruminants from Spain. Vet Rec. 2016 Jul 9; 179(2):48).**
5. To determine the spatio-temporal trends and the risk factors associated to antigenically-related mosquito and tick-borne flaviviruses (West Nile Virus, Usutu Virus and Meaban Virus) infection in wild ruminants in Spain. **(Chapter 5. Article: García-Bocanegra et al., 2016. Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile virus and related flavivirus exposure in Spanish wild ruminants. BMC Vet Res. Aceptado).**
6. To analyze the seroprevalence and risk factors affecting *Toxoplasma gondii* infection in wild and domestic artiodactyl species from Southern Spain. **(Chapter 6. Article: Paniagua et al. *Toxoplasma gondii* in the wildlife-livestock interface from southern Spain. Vet Parasitol. Enviado).**

ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO

CAPÍTULO 1º:

SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A *MYCOBACTERIUM BOVIS* EN ESPECIES DE ARTIODÁCTILOS SILVESTRES EN EL SUR DE ESPAÑA, 2006-2010.

García-Bocanegra, I., Perez de Val, B., Arenas-Montes, A., Paniagua, J., Boadella, M., Gortázar, C., Arenas, A. (2012). **Seroprevalence and risk factors associated to *Mycobacterium bovis* in wild artiodactyl species from southern Spain, 2006–2010.** *PloS one*, 7(4), e34908.

RESUMEN:

El control de la tuberculosis bovina (TBb) se encuentra en un punto crítico en la última etapa del programa de erradicación en el ganado. En las últimas décadas, diferentes especies silvestres se han identificado como reservorios naturales de la TBb en Europa, especialmente los artiodáctilos silvestres en la Península Ibérica. Por lo tanto, es necesario realizar estudios epidemiológicos para determinar las especies implicadas, prevalencia, factores de riesgo asociados y métodos de diagnóstico más adecuados en los países afectados. Se llevó a cabo un estudio transversal en especies de artiodáctilos salvajes de España, incluyendo jabalí (*Sus scrofa*), ciervo (*Cervus elaphus*), corzo (*Capraeius capraeius*), gamo (*Dama dama*), cabra montés (*Capra pyrenaica hispanica*) y muflón (*Ovis musimon*), para evaluar la seroprevalencia frente a *Mycobacterium bovis* o otros miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MtC), y proporcionar información sobre los factores de riesgo asociados a la infección. Previamente, se desarrollaron dos ensayos inmunoenzimáticos indirectos “ELISA *in-house*” (ELISA-bPPD y ELISA-MPB83), utilizando sueros controles. Los sueros positivos de referencia fueron seleccionados de animales infectados confirmados por cultivo. Los espologotipos de *M. bovis* aislados fueron SB0121, SB0120, SB0295, SB0265 y SB0134. Un total de 202 de los 1367 ungulados silvestres analizados presentaron anticuerpos frente a *M. bovis* tanto por ELISA-bPPD como por ELISA-MPB83 (7,5%; IC_{95%}: 6,1-8,9). Se observó una seroprevalencia significativamente más elevada en jabalí comparado con las otras especies de rumiantes silvestres analizadas. No se encontró seropositividad frente a *M. bovis* en ninguna de 460 cabras montesas analizadas. El modelo de regresión logística para el jabalí indicó que la seropositividad frente a *M. bovis* se asoció con la edad, la localización y el año de muestreo, mientras que el único factor de riesgo asociado con la seroprevalencia frente a *M. bovis* en ciervos y gamos fue la edad. La seroprevalencia observada indica una extensa distribución de MtC en diferentes especies de artiodáctilos silvestres en el sur de España, lo cual podría tener importantes implicaciones no sólo para la Conservación sino también para la Salud Pública y la Sanidad Animal.

Seroprevalence and Risk Factors Associated to *Mycobacterium bovis* in Wild Artiodactyl Species from Southern Spain, 2006–2010

Ignacio García-Bocanegra^{1*}, Bernat Pérez de Val², Antonio Arenas-Montes¹, Jorge Paniagua¹, Mariana Boadella³, Christian Gortázar³, Antonio Arenas¹

1 Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba-Agrifood Excellence International Campus (ceiA3), Córdoba, Spain, **2** Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), UAB-IRTA, Barcelona, Spain, **3** Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos IREC (CSIC-UCLM-JCCM), Ciudad Real, Spain

Abstract

The control of bovine tuberculosis (bTB) is at a critical point in the last stage of eradication in livestock. Wildlife species recently have emerged infected with TB in Europe, particularly ungulates in the Iberian Peninsula. Epidemiological information regarding TB in wild ungulates including affected species, prevalence, associated risk factors and appropriate diagnostic methods need to be obtained in these countries. A cross-sectional study was carried out on wild artiodactyl species, including Eurasian wild boar (*Sus scrofa*), red deer (*Cervus elaphus*), roe deer (*Capreolus capreolus*), fallow deer (*Dama dama*), Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) and mouflon (*Ovis musimon*), in Spain to assess the seroprevalence against *Mycobacterium bovis* or cross-reacting members of the *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC), and to provide information on associated risk factors. Previously, two in-house indirect enzyme linked immunosorbent assays (bPPD-ELISA and MPB83-ELISA) were developed using known TB status sera. Positive reference sera were selected from infected animals confirmed by culture. The *M. bovis* isolates belonged to spoligotypes SB0121, SB0120, SB0295, SB0265 and SB0134. Two hundred and two out of 1367 (7.5%; 95% CI: 6.1–8.9) animals presented antibodies against *M. bovis* by both bPPD-ELISA and MPB83-ELISA. Significantly higher TB seroprevalence was observed in wild boar compared to the other species analyzed. Interestingly, seropositivity against *M. bovis* was not found in any out of 460 Spanish ibex analyzed. The logistic regression model for wild boar indicated that the seropositivity to *M. bovis* was associated with age, location and year of sampling, while the only risk factor associated with *M. bovis* seroprevalence in red deer and fallow deer was the age. The seroprevalence observed indicates a widespread exposure to MTBC in several wild artiodactyl species in southern Spain, which may have important implications not only for conservation but also for animal and public health.

Citation: García-Bocanegra I, Pérez de Val B, Arenas-Montes A, Paniagua J, Boadella M, et al. (2012) Seroprevalence and Risk Factors Associated to *Mycobacterium bovis* in Wild Artiodactyl Species from Southern Spain, 2006–2010. PLoS ONE 7(4): e34908. doi:10.1371/journal.pone.0034908

Editor: T. Mark Doherty, Statens Serum Institute, Denmark

Received: November 17, 2011; **Accepted:** March 7, 2012; **Published:** April 16, 2012

Copyright: © 2012 García-Bocanegra et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This is a contribution to Ministry of Science and Innovation (MCINN) Plan Nacional research grant AGL 2011-30041, National Institute for Agriculture and Food Research and Technology (INIA) grant FAU2008-00019-C03-01 and European Regional Development Fund (FEDER), and to EU grant TBSTEP 212414. Studies on diseases shared between domestic animals and wildlife are also supported by Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (SDGSPP), and Grupo Santander - Fundación Marcelino Botín. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: nacho.garcia@uco.es

Introduction

Tuberculosis (TB) caused by *Mycobacterium bovis*, a member of the *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC), is an infectious disease worldwide extended in a large rank of hosts including humans, livestock and wildlife [1]. Because of its zoonotic nature and the high economic impact in livestock production and in animal health policies, the eradication of bovine TB (bTB) has been a major concern of public health authorities during the last three decades. In Spain, eradication programs are mainly based on intradermal tuberculin (IDT) and interferon- γ (IFN- γ) tests and culling of reactor animals [2]. Even though the application of these programs reduced bTB prevalence from 11.1% in 1986 to 1.6% by the end of 2009 with an estimated cost of €34.7 m, bTB eradication has not yet been achieved and prevalence has reached an asymptote in the last ten years [2].

In Spain, the control of the disease in wildlife is a critical point in the last stages of the eradication programs of bTB [3]. It is well acknowledged that the reduction in bTB prevalence in cattle is less effective in areas where cattle are extensively managed, sharing habitat with wildlife [3]. In addition, the artificial management of large game species for hunting (e.g. feeding and fencing) has significantly increased in different regions of central and southern Spain during the last decades [4]. Intensive management measures in hunting areas influence not only the population dynamics but also the behavior of the animals, promoting their aggregation, facilitating contact between individuals and favouring, therefore, the transmission of diseases among wildlife and livestock species [5]. In this sense, epidemiological, pathological and microbiological evidence strongly suggests that wild ungulates, predominantly wild boar (*Sus scrofa*) and red deer (*Cervus elaphus*), act as true TB wildlife reservoirs in the Mediterranean ecosystem [6–10].

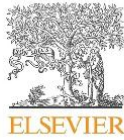
CAPÍTULO 2º:

INFECCIÓN POR CAMPYLOBACTER EN ARTIODÁCTILOS SILVESTRES DEL SUR DE ESPAÑA: OCURRENCIA, FACTORES DE RIESGO Y SUBCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA.

Carbonero, A., Paniagua, J., Torralbo, A., Arenas-Montes, A., Borge, C., García-Bocanegra, I. (2014). ***Campylobacter* infection in wild artiodactyl species from southern Spain: Occurrence, risk factors and antimicrobial susceptibility.** *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*,37(2), 115-121.

RESUMEN:

Se realizó un estudio transversal para evaluar la presencia de especies de *Campylobacter* e identificar los posibles factores de riesgo asociados a la infección en especies de artiodáctilos silvestres en el sur de España. *Campylobacter* spp. fue aislado en 55 de las 363 (15,2%) muestras fecales analizadas. Se detectó infección por *Campylobacter* en jabalí (49/126; 38,9%), ciervo (5/179; 2,8%) y muflón (1/13; 7,7%), pero no en gamo (0/45). Las especies de *Campylobacter* aisladas se identificaron como *C. jejuni* (2 aislados; 3,6%), *C. coli* (11 aislados; 20,0%) y *C. lanienae* (37 aislados; 67,3%). Cinco aislados (9,1%) no pudieron ser identificados a nivel de especie. Este es el primer estudio que describe la infección por *C. lanienae* en especies de rumiantes silvestres. Se detectó resistencia a la eritromicina (4,8%), ciprofloxacina (37,5%), tetraciclina (52,9%) y estreptomina (55%). *C. lanienae* presentó un número significativamente mayor de aislados susceptibles a ciprofloxacina y tetraciclina que *C. coli*. Debido al bajo número de rumiantes silvestres positivos, el modelo de ecuaciones de estimación generalizada para establecer factores de riesgo solo se realizó en jabalí. El modelo indica que los factores de riesgo potencialmente asociados a la infección por *Campylobacter* fueron la densidad de jabalí ($> 10/\text{Km}^2$) (OR: 3,05; IC_{95%}: 2,2 – 4,3), la presencia de puntos artificiales de agua (OR: 3,67; IC_{95%}: 1,03 – 10,5) y la estación invernal (OR: 3,30; IC_{95%}: 1,9 – 5,8). Los resultados muestran una amplia diseminación de infecciones por *Campylobacter* spp. en las poblaciones de jabalíes en el sur de España. Estos hallazgos sugieren que los artiodáctilos silvestres, especialmente el jabalí, constituyen un reservorio de diferentes especies de *Campylobacter*, incluyendo cepas resistentes y multirresistentes, lo que podría tener implicación directa en Salud Pública.



Contents lists available at ScienceDirect

Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cimid

Campylobacter infection in wild artiodactyl species from southern Spain: Occurrence, risk factors and antimicrobial susceptibility



A. Carbonero*, J. Paniagua, A. Torralbo, A. Arenas-Montes, C. Borge, I. García-Bocanegra

Department of Animal Health, University of Cordoba (Spain), Edificio de Sanidad Animal, Campus de Rabanales, 14014 Cordoba, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 February 2013

Received in revised form 8 November 2013

Accepted 4 January 2014

Keywords:

Wild artiodactyls

Campylobacter

Laniænae

Antimicrobial resistance

Risk factors

Spain

ABSTRACT

A cross-sectional study was performed to assess the occurrence of *Campylobacter* species and to identify potential associated risk factors for wild artiodactyl species in southern Spain. *Campylobacter* species were isolated in 55 of 363 (15.2%) faecal samples. *Campylobacter* was identified in faeces from wild boar (49/126; 38.9%), red deer (5/179; 2.8%) and mouflon (1/13; 7.7%) but not from fallow deer (0/45). The isolated *Campylobacter* species were identified as *C. jejuni* (2 isolates; 3.6%), *C. coli* (11 isolates; 20.0%) and *C. laniænae* (37 isolates; 67.3%). Five isolates (9.1%) could not be identified at the species level. This report is the first to describe *C. laniænae* infection in wild ruminant species. Resistance to erythromycin (4.8%), ciprofloxacin (37.5%), tetracycline (52.9%) and streptomycin (55%) were detected. *C. laniænae* presented a significantly higher number of susceptible isolates to ciprofloxacin and tetracycline than *C. coli*. Due to the low number of positive wild ruminants, a Generalised Estimating Equations model was only carried out for wild boar. The model indicated that the risk factors associated with *Campylobacter* infection were the density of wild boar (>10/100 ha) (OR: 3.05; CI_{95%}: 2.2–4.3), the presence of artificial waterholes (OR: 3.67; CI_{95%}: 1.3–10.5) and the winter season (OR: 3.30; CI_{95%}: 1.9–5.8). *Campylobacter* infection is widespread in wild boar populations in southern Spain. These findings suggest that wild artiodactyls, particularly wild boar, constitute a reservoir of *Campylobacter* species, including resistant and multi-resistant strains, which may be of public health concern.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

With 212,064 confirmed cases, campylobacteriosis was the most frequent zoonosis in the European Union in 2010, accounting for over 65% of all reported cases of zoonoses [1]. *Campylobacter* infection in animals is usually asymptomatic, but it is the leading cause of human gastroenteritis around the world. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* are the primary species involved in human cases [2].

The handling and consumption of chicken are considered the most important sources for *Campylobacter* infection in humans [3]. However, even though the prevalence of *Campylobacter* infection in broilers did not exhibit major variations during the last 5 years in the European Union, the number of human cases increased considerably in the same period [1]. Consequently, other risk factors not related to chicken, such as the handling and consumption of meat from other species, contact with both pets and livestock or ingestion of untreated milk and water have been suggested to be involved in the increase of campylobacteriosis in human [3,4].

The role of domestic reservoirs for zoonotic *Campylobacter* species has been thoroughly studied [2,5].

* Corresponding author. Fax: +34 957218725.

E-mail addresses: espargen@hotmail.com, salcamaa@uco.es (A. Carbonero).

CAPÍTULO 3º:

AUSENCIA DE CIRCULACIÓN DE PESTIVIRUS ENTRE RUMIANTES DOMÉSTICOS Y SILVESTRES DEL SUR DE ESPAÑA.

Paniagua, J., García-Bocanegra, I., Arenas-Montes, A., Berriatua, E., Espunyes, J., Carbonero, A., Rosell, R., Marco, I., Cabezón, O. (2016). **Absence of circulation of Pestivirus between wild and domestic ruminants in southern Spain.** *The Veterinary record*, 178(9), 215-215.

RESUMEN:

Los Pestivirus (familia *Flaviviridae*) de rumiantes afectan a especies domésticas y silvestres a nivel mundial, causando trastornos reproductivos y graves pérdidas económicas. Se analizaron rumiantes silvestres (n = 1442) y domésticos (n = 373) procedentes del sur de España para determinar la presencia de anticuerpos frente a Pestivirus. Se detectó seropositividad empleando técnicas ELISA y test de seroneutralización vírica en 1 de 892 (0,1 %) ciervos, 29 de 125 (23,2 %) vacas y 17 de 157 (10,8 %) ovejas. Se detectaron anticuerpos específicos frente al virus de la diarrea vírica bovina (BVDV) y virus de la enfermedad de la frontera (BDV). Títulos de anticuerpos significativamente mayores frente a BDV-4 en comparación con BVDV-NADL fueron encontrados en una granja de ganado vacuno. Los resultados indican que los rumiantes silvestres pueden actuar como hospedadores accidentales en la zona de estudio, y por lo tanto no representan un riesgo para los rumiantes domésticos en el sur de España. La amplia distribución de Pestivirus entre ovejas y vacuno sugiere la posibilidad de transmisión entre estas especies.

Paper

Absence of circulation of *Pestivirus* between wild and domestic ruminants in southern Spain

J. Paniagua, I. García-Bocanegra, A. Arenas-Montes, E. Berriatua, J. Espunyes, A. Carbonero, R. Rosell, I. Marco, O. Cabezón

Ruminant pestiviruses (family *Flaviviridae*) affect both wild and domestic ruminants worldwide, causing reproductive disorders and severe economic losses. Wild (n=1442) and domestic (n=373) ruminants from southern Spain were tested for the presence of antibodies to pestiviruses. Seropositivity was detected by both ELISA and virus neutralisation test in 1/892 (0.1 per cent) red deer, 29/125 (23.2 per cent) cattle and 17/157 (10.8 per cent) sheep. Pestivirus-specific antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and border disease virus (BDV) genotypes 1, 4 and 5 were detected. Significantly higher antibody titres to BDV-4 compared with BVDV-NADL were found in one cattle farm. Results indicate that wild ruminants may act as spillover hosts from domestic ruminants, and therefore they do not represent a risk for domestic ruminants in southern Spain. The wide distribution of pestiviruses among sheep and cattle suggests that transmission between these species may occur.

Introduction

Ruminant pestiviruses—bovine viral diarrhoea virus-1 (BVDV-1), BVDV-2 and border disease virus (BDV; genogroups 1–6) are considered some of the main aetiological agents causing reproductive disorders in ruminants worldwide.

BVDV and BDV horizontal infections course with a wide range of clinical manifestations ranging from subclinical infections to a severe, highly fatal form referred to as mucosal disease (Baker, 1995, Nettleton and others 1998). However, BVDV and BDV vertical infections take place in horizontally infected pregnant females, causing reproductive disorders due to the ability of *Pestivirus* to cross the placenta and to infect the fetus. Such intra-uterine infections may lead to abortion, stillbirth, fetal malformation, or weak or apparently healthy offspring. Of particular importance is the capability of BVDV and BDV to establish persistent infections in fetuses not yet immunocompetent. These fetuses will become persistently infected (PI) animals shedding

high titres of virus in their secretions and excretions during all their lives, representing the major source of pestiviruses transmission among domestic ruminants (Baker, 1995, Nettleton and others 1998).

The capacity of pestiviruses to cross the interspecies barrier, together with their ability to generate PI animals, confer these viruses a high capacity for persistence in ruminant populations (Nettleton and others 1998).

Presence of pestiviruses (BDV and BVDV) in wild artiodactyls has been reported worldwide. In some of these wild species, the presence of pestiviruses has represented important ecological and economic implications. Even though pestivirus infection has been reported in other different wild ungulates species such as roe deer (*Capreolus capreolus*), red deer (*Cervus elaphus*), Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*), European mouflon (*Ovis aries musimon*), Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica*), Alpine chamois (*Rupicapra rupicapra*) and Alpine ibex (*Capra ibex*) (Vilecek and Nettleton, 2006, Marco and others 2009, 2011, Fernández-Sirera and others 2011, 2012a, 2012b), the information about the epidemiology, pathogenesis and clinical outcome of *Pestivirus* species in wild artiodactyls in Europe is still very limited.

In Spain, *Pestivirus* infections have been reported in both domestic and wild ruminant species in the north of the country (Valdazo-González and others 2006, Marco and others 2009). However, little is known about the presence of pestiviruses in ruminants from the South of Spain. Wild ruminant populations in this area have increased substantially in the last decades, resulting in the frequent sharing of habitats with domestic livestock, and the subsequent increase in the risk of diseases transmission. The objective of this study was to assess the roles of domestic and wild ruminants in the epidemiology of pestiviruses in southern Spain.

Materials and methods

A total of 1442 wild ruminants were sampled in 65 hunting estates from Andalusia, southern Spain during hunting seasons between 2006 and 2013 (Fig 1). Blood was collected by veterinarians from red deer (*Cervus elaphus*) (n=892), fallow deer (*Dama*

Veterinary Record (2016)

doi: 10.1136/vr.103490

J. Paniagua, DVM,

I. García-Bocanegra, DVM, PhD, ECZM-WPH,

A. Arenas-Montes, DVM, PhD, A. Carbonero, DVM,

Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba (UCO), Campus Universitario de Rabanales, Córdoba 14071, Spain

E. Berriatua, DVM, PhD,

J. Espunyes, DVM,

Animal Health Department, Regional Campus of International Excellence "Campus Mare Nostrum", Universidad de Murcia, Murcia, Spain

R. Rosell, BSc,

Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA),

Campus UAB, Bellaterra, Barcelona 08193, Spain

R. Rosell, BSc,

Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural, Generalitat de Catalunya, Barcelona 08007, Spain

I. Marco, DVM, PhD,

O. Cabezón, DVM, PhD, ECZM-WPH, Servei d'Ecopatologia de Fauna Salvatge, Departament de Medicina i Cirurgia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193, Spain

E-mail for correspondence:

ocabezon@yahoo.com

Provenance: Not commissioned; externally peer reviewed

Accepted January 18, 2016

CAPÍTULO 4º:

AUSENCIA DEL VIRUS DE LA FIEBRE DEL VALLE DEL RIFT EN RUMIANTES DOMÉSTICOS Y SALVAJES DE ESPAÑA.

García-Bocanegra, I., Paniagua, J., Cano-Terriza, D., Arenas-Montes, A., Fernández-Morente, M., Napp, S. (2016). **Absence of Rift Valley fever virus in domestic and wild ruminants from Spain.** *Veterinary Record*, vetrec-2016 -103696.

RESUMEN:

En los últimos años, existe una mayor preocupación de que el virus de la Fiebre del Valle del Rift (RVFV) alcance la zona del Magreb, en tal caso, el riesgo de introducción en España podría aumentar considerablemente debido a proximidad con África y la posibilidad de que vectores infectados sean transportados por el viento. En el caso de introducción de FVRV en España, las condiciones ambientales y la presencia de vectores competentes y hospedadores, podrían favorecer la transmisión. Por lo tanto, se realizó un estudio seroepidemiológico en rumiantes domésticos (bovino, ovino y caprino) y rumiantes silvestres (ciervo, gamo y muflón) en Andalucía, la región más próxima al norte de África, para determinar si el RVFV circuló durante el periodo comprendido entre 2009 y 2015. No se detectaron anticuerpos en ninguno de los 977 rumiantes domésticos ni en los 1016 rumiantes silvestres analizados mediante un ELISA específico de bloqueo comercial. Nuestros resultados proporcionan evidencias de la ausencia de circulación de RVFV en Andalucía durante el periodo de estudio.

Short Communication

Absence of Rift Valley fever virus in domestic and wild ruminants from Spain

I. García-Bocanegra, J. Paniagua, D. Cano-Terriza, A. Arenas-Montes, M. Fernández-Morente, S. Napp

Rift Valley fever virus (RVFV) is a mosquito-borne virus, member of the genus *Phlebovirus* (family *Bunyaviridae*), which affects mainly ruminant species. It may cause severe economic losses through abortions and high mortality among newborns, and through the heavy control costs and the trade restrictions imposed. Rift Valley fever (RVF) is also a zoonotic disease with potentially severe consequences for infected people, including haemorrhagic fever, meningoencephalitis, renal failure, blindness and, in some cases, death. RVFV is transmitted through the bites of various species of mosquitoes (typically the *Aedes* or *Culex* genera) and also through infected tissues such as aborted fetuses, meat and blood (EFSA 2013).

RVF is considered to be endemic in sub-Saharan African countries, with sporadic major outbreaks associated with periods of heavy rainfall and flooding. In the last few years, Mauritania and Senegal have been repeatedly affected by RVF (OIE-WAHID 2015). RVFV was thought to be restricted to Africa; however, in 2000, the virus emerged in Yemen and Saudi Arabia. Currently, the risk of expansion of RVFV to North African countries is considered high, and in the event of RVFV introduction into Morocco, the risk to Spain would significantly increase (CCAES 2014). The aim of the present study was to detect RVFV circulation in Andalusia (southern Spain), the highest risk area in Spain (Sánchez-Vizcaíno and others 2013), or alternatively provide evidence of its absence.

A series of surveillance activities for RVFV detection were implemented in Andalusia between 2009 and 2015. They included the collection, between 2013 and 2015, of 977 blood samples from domestic ruminants, including 449 cattle, 439 sheep and 89 goats, from 76 flocks located in the provinces of Cadiz, Cordoba, Malaga, Seville and Huelva (Table 1 and Fig 1).

Veterinary Record (2016)

doi: 10.1136/vr.103696

I. García-Bocanegra, DVM, PhD,
J. Paniagua, DVM,
D. Cano-Terriza, DVM,
A. Arenas-Montes, DVM, PhD,
Departamento de Sanidad Animal,
Facultad de Veterinaria, Universidad de
Córdoba-Agrifood Excellence
International Campus (ceiA3), Córdoba
14071, Spain
M. Fernández-Morente, DVM,
Servicio de Sanidad Animal, Consejería
de Agricultura, Pesca y Desarrollo
Rural de la Junta de Andalucía, Sevilla
41071, Spain

S. Napp, DVM, PhD,
Centre de Recerca en Sanitat Animal
(CRESA)—Institut de Recerca i
Tecnologia Agroalimentàries (IRTA),
Barcelona 08193, Spain
E-mail for correspondence:
nacho.garcia@uco.es
Provenance: Not commissioned;
externally peer reviewed

Accepted April 19, 2016

In addition, 1016 blood samples from free-ranging wild ruminants, including 723 red deer (*Cervus elaphus*), 161 fallow deer (*Dama dama*) and 132 mouflon (*Ovis aries musimon*) from 50 hunting areas, collected between 2009 and 2015, were also analysed (Table 1 and Fig 1). Serum samples were tested for antibodies against the recombinant N protein of the RVFV using a commercial blocking ELISA (bELISA; INgezim FVR COMPAC R.13.FVR.K3, INGENASA, Madrid, Spain) in accordance with the manufacturer's recommendations. The sensitivity and specificity of the bELISA are 97 per cent and 99 per cent, respectively.

RVF has never been officially reported in the Maghreb. However, given that their northernmost areas are considered suitable for RVFV circulation, and that the virus has been reported in countries such as Mauritania and Senegal, the Maghreb is considered at risk of RVFV introduction. In fact, in 2008, 11 of 982 serum samples (461 sheep, 463 goats and 58 camels) collected in the Sahrawi territories (Western Sahara) tested positive for IgG against RVFV (Di Nardo and others 2014). Furthermore, 15 out of the 100 one-humped camels (*Camelus dromedarius*) intercepted at different points of Morocco in 2009 tested positive for RVFV-specific antibodies (El-Harrak and others 2011). Camels have been implicated in the spread of RVF in the past (e.g. into Egypt), and their movement across the Sahara desert may represent the mechanism by which RVF may reach the north of Africa (Kamal 2011).

The main risk to Spain is thought to be associated to the transportation of infected vectors on the wind, as has been previously suggested for other vectorborne diseases such as blue-tongue and West Nile. While for some authors camels seemed to have played a major role in the 1977 RVFV introduction into Egypt from Sudan (Kamal 2011), Sellers and others (1982) suggested that the outbreak was the result of long-distance wind-borne transportation of infected vectors. The geographical proximity to North Africa (less than 15 km) suggests that Andalusia can be considered as a potential risk area for the introduction of arboviruses, including RVFV (Sánchez-Vizcaíno and others 2013). Another possible mechanism of RVF introduction would be through illegal movement of animals from North African countries, mainly during the Muslim sacrifice feast (Eid Al-Adha), in which case Andalusia would be considered the area

TABLE 1 Distribution of the samples by categories

Variable	Categories	No. of samples	Relative frequency (%)
Species	Cattle	449	22.5
	Sheep	439	22.0
	Goat	89	4.5
	Red deer	723	36.3
	Fallow deer	161	8.1
	Mouflon	132	6.6
	Cadiz	167	8.4
Province	Cordoba	1341	67.3
	Huelva	147	7.4
	Jaen	118	5.9
	Malaga	76	3.8
	Seville	144	7.2
	Year	2009	91
	2010	86	4.3
	2011	129	6.5
	2012	138	6.9
	2013	718	36.0
	2014	556	27.9
	2015	275	13.8
Age	Yearling	217	10.9
	Sub-adult	513	25.7
	Adult	1263	63.4
Sex	Female	1071	53.7
	Male	922	46.3

10.1136/vr.103696 | Veterinary Record | 1 of 3

CAPÍTULO 5º:

TENDENCIAS ESPACIO-TEMPORALES Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS QUE AFECTAN A LA EXPOSICIÓN AL VIRUS DE WEST NILE Y FLAVIVIRUS RELACIONADOS EN RUMIANTES SILVESTRES DE ESPAÑA.

García-Bocanegra, I., Paniagua, J., Gutiérrez-Guzmán, A.V., Lecollinet, S., Boadella, M., Arenas-Montes, A., Cano-Terriza, D., Lowenski, S, Gortázar, C., Höfle, U. (2016). **Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile virus and related flavivirus exposure in Spanish wild ruminants.** BMC Vetereniry Research. *Aceptado*

RESUMEN:

El incremento del número de brotes de flavivirus (género Flavivirus) a nivel mundial durante la última década, representa una preocupación emergente para la Salud Pública y la Sanidad Animal. El objetivo del presente estudio fue determinar la utilidad de muestras procedentes de rumiantes silvestres para la vigilancia del virus de West Nile (WNV) y otros flavivirus antigénicamente relacionados, concretamente virus de Usutu (USUV) y virus de Meaban (MBV). Para ello se evaluaron las tendencias espacio-temporales y los factores asociados a la presencia de estos tres virus en España. Un total de 4693 muestras de suero de rumiantes silvestres, incluyendo 3073 ciervos (*Cervus elaphus*) en libertad, 201 gamos (*Dama dama*), 125 muflón (*Ovis aries musimon*), 32 corzo (*Capreolus capreolus*) y 1.262 ciervos de granja obtenidas entre 2003-2014, se analizaron para detectar anticuerpos frente a WNV y otros flavivirus antigénicamente relacionados usando un Elisa de bloqueo (bELISA). Las muestras positivas se confirmaron empleando el test de micro seroneutralización vírica para WNV, USUV y MBV.

La seroprevalencia media a los flavivirus obtenida por bELISA fue de $3,4 \pm 0,5\%$ en ciervo, $1,0 \pm 1,4\%$ en gamo y el $2,4 \pm 2,7\%$ en muflón. El modelo multivariante de regresión logística reveló como principales factores de riesgo asociados a la seropositividad en ciervos; el año (2011), zona de la costa sur Peninsular (bioregión 5) y la presencia de humedales. Se detectaron anticuerpos neutralizantes frente a WNV, USUV y MBV en ciervos. La presencia de anticuerpos frente a WNV en un ciervo de un año de edad, en 2010, confirma la circulación del virus ese año. Los resultados indican una circulación endémica de WNV, USUV y MBV en ciervo, incluso en zonas donde no se han declarado brotes de enfermedad. Se detectaron co-circulaciones de WNV y USUV, así como WNV y MBV en las zonas de muestreo de dos bioregiones (3 y 5) y una bioregión (bioregión 3), respectivamente. El muestreo de especies cinegéticas y de especies silvestres criadas en granja, especialmente en animales de menos de un año de edad, puede ser una herramienta complementaria útil para la vigilancia de flavivirus emergentes.

BMC Veterinary Research

Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile virus and related flavivirus exposure in Spanish wild ruminants

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:		
Full Title:	Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile virus and related flavivirus exposure in Spanish wild ruminants	
Article Type:	Research article	
Section/Category:	Virology	
Funding Information:	Junta de Comunidades de Castilla - La Mancha (PAC08-0296-7771)	Prof. Ursula Höfle
	Ministerio de Economía y Competitividad (AG2008-02504GAN)	Prof. Ursula Höfle
	Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (FAU2008-00019-C03-01)	Dr. Ignacio García-Bocanegra
	Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2013-49159-C2-2-R)	Dr. Ignacio García-Bocanegra
Abstract:	<p>Background During the last decade, the spread of many flaviviruses (Genus Flavivirus) has been reported, representing an emerging threat for both animal and human health. To further study utility of wild ruminant samples in West Nile virus (WNV) surveillance, we assessed spatio-temporal trends and factors associated with WNV and cross-reacting flaviviruses exposure, particularly Usutu virus (USUV) and Meaban virus (MBV), in wild ruminants in Spain. Serum samples from 4693 wild ruminants, including 3073 free-living red deer (<i>Cervus elaphus</i>), 201 fallow deer (<i>Dama dama</i>), 125 mouflon (<i>Ovis aries musimon</i>), 32 roe deer (<i>Capreolus capreolus</i>) and 1262 farmed red deer collected in 2003-2014, were screened for WNV and antigenically related flavivirus antibodies using a blocking ELISA (bELISA). Positive samples were tested for neutralizing antibodies against WNV, USUV and MBV by micro virus neutralization tests.</p> <p>Results Mean flaviviruses seroprevalence according to bELISA was 3.4±0.5% in red deer, 1.0±1.4% in fallow deer and 2.4±2.7% in mouflon. A multivariate logistic regression model revealed as main risk factors for seropositivity in red deer; year (2011), the specific south-coastal bioregion (bioregion 5) and presence of wetlands. Red deer had neutralizing antibodies against WNV, USUV and MBV. WNV antibodies detected in a free-living red deer yearling in 2010, confirmed circulation this year.</p> <p>Conclusions The results indicate endemic circulation of WNV, USUV and MBV in Spanish red deer, even in areas without known flavivirus outbreaks. WNV and USUV, as well as WNV and MBV co-circulations were detected in two (bioregions 3 and 5) and one (bioregion 3) sampling areas, respectively. Sampling of hunter harvested and farmed wild ruminants, specifically of red deer yearlings, could be a complementary way to monitor the activity of emerging flaviviruses.</p>	
Corresponding Author:	Ursula Höfle, PhD Universidad de Castilla-La Mancha Ciudad Real, Ciudad Real SPAIN	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Universidad de Castilla-La Mancha	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	Ursula Höfle, PhD	

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Ursula Höfle, PhD
	Ignacio García-Bocanegra
	Jorge Paniagua
	Ana Valeria Gutierrez-Guzman
	Sylvie Lecollinet
	Mariana Boadella
	Antonio Arenas-Montes
	David Cano-Terriza
	Steve Lowenski
	Christian Gortazar
Order of Authors Secondary Information:	
Opposed Reviewers:	
Manuscript Classifications:	80.040: Emerging infectious disease; 80.090: Seroprevalence; 80.100: Spatial analysis; 80.110: Surveillance

1 **Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile**
2 **virus and related flavivirus exposure in Spanish wild ruminants**
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 **Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile**
2 **virus and related flavivirus exposure in Spanish wild ruminants**
3
4 Ignacio García-Bocanegra¹, Jorge Paniagua¹, Ana V. Gutiérrez-Guzmán², Sylvie
5 Lecollinet³, Mariana Boadella⁴, Antonio Arenas-Montes¹, David Cano-Terriza¹, Steeve
6 Lowenski³, Christian Gortázar² and Ursula Höfle^{2*}
7
8 ¹Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba-
9 Agrifood Excellence International Campus (ceiA3), Rabanales, 14071, Córdoba, Spain.
10 ²Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos IREC, (CSIC-UCLM-JCCM), Ciudad
11 Real, Spain
12 ³ANSES, Laboratoire de Santé Animale de Maisons-Alfort, UMR 1161 Virologie, INRA,
13 ANSES, ENVA, Maisons-Alfort, F-94703, France.
14 ⁴Sabiotec, Camino de Moledores s.n., Ed. Polivalente UCLM, 13005 Ciudad Real, Spain
15 * Corresponding author.
16 IGB: nacho.garcia@uco.es
17 JP: jorgepaniaguariusueno@gmail.com
18 AVGG: vetercor@hotmail.com
19 SL: sylvie.lecollinet@anses.fr
20 MB: mariana@sabiotec.es
21 AAM: anto.a.m@hotmail.com
22 DCT: davidcanovet@gmail.com
23 SL: SteeveLowenski@vet-alfort.fr
24 CG: christian.gortazar@uclm.es
25 UH: Hofle@uclm.es

CAPÍTULO 6º:

***TOXOPLASMA GONDII* EN LA INTERFAZ DOMÉSTICO-SILVESTRE DEL SUR DE ESPAÑA.**

Paniagua, J., Cabezón, O., Almería, S., Cano-Terriza, D., Jiménez-Ruiz, S., Arenas-Montes, A., Dubey, J.P., García-Bocanegra, I., (2016). ***Toxoplasma gondii* in the wildlife-livestock interface from southern Spain.** *Enviado.*

RESUMEN

Toxoplasma gondii es un parásito protozoo intracelular zoonótico de distribución mundial. Este parásito tiene en los felinos su hospedador definitivo (HD) y en resto de especies de mamíferos y aves sus hospedadores intermedios. La toxoplasmosis está considerada como enfermedad de origen alimentario, y también como enfermedad profesional al poder ser contraída por personal de matadero o cazadores durante la manipulación de la carne infectada.

El objetivo del presente estudio es estudiar la epidemiología de *T. gondii* en la interfaz entre fauna silvestre y ganado doméstico en el sur de España. La prevalencia de anticuerpos frente a *T. gondii* fue de 12,8% en fauna silvestre y de 25,3% en ganado doméstico. Los factores de riesgo observados en la fauna silvestre fueron la especie (ciervo, gamo y jabalí), la edad (adulto) y la época de caza (desde la temporada 2011/12 hasta la 2013/14). Los factores de riesgo observados en el ganado doméstico fueron la especie (oveja), la presencia de gatos y las prácticas de manejo “comer en el suelo” y “pastorear en rastrojo”. Los datos observados indican una amplia presencia del parásito *T. gondii* en las especies domésticas y salvajes estudiadas en el Sur Peninsular con unos niveles de prevalencia variables en función de la granja, región y/o especie. El presente estudio ratifica a este parásito como un riesgo para la salud pública debido a que el consumo de carne de cualquiera de las especies estudiadas puede infectar al consumidor. El hecho de que *T. gondii* esté distribuido en las tres especies de ganado doméstico, sugiere pérdidas económicas en el sector de la producción animal de esta región. Finalmente, el presente capítulo, confirma la contaminación ambiental con patógenos relacionados con la presencia humana.

ABSTRACT

Toxoplasma gondii is a zoonotic intra-cellular protozoan of worldwide distribution (Dubey, 2010). This parasite presents an indirect cycle with the domestic and wild felines as definitive hosts (DH) and all warm-blooded species, including human beings, as intermediate hosts for *T. gondii* (Dubey, 2010). Oocysts from *T. gondii* are eliminated through DH feces to the environment where they can persist infective for months or years (Dubey et al., 2010). *T. gondii* is considered as a food-borne pathogen and a professional disease due to abattoir workers, butchers, and hunters can become infected during evisceration and handling of infected meat. In addition, *T. gondii* causes reproductive disorders in livestock with high economic losses worldwide (Dubey, 2010). Information about the seroprevalence of *T. gondii* in wild and domestic artiodactyls is of interest in order to implement future strategies on public health, animal health and environmental protection programs in Mediterranean countries. The aim of the present study was to provide information on the epidemiology of *T. gondii* in the domestic and wild artiodactyls interface in Southern Spain. *Toxoplasma gondii* was detected in 12.8% and 25.3% of wild and domestic artiodactyls from Spain, respectively. The risk factors associated to *T. gondii* infection in wildlife from Southern Spain were the species (red deer, fallow deer and wild boar), the age (adult) and the hunting season (from season 2011/2012 to season 2013/2014). In addition, the main risk factors associated to *T. gondii* infection in livestock were the species (sheep), the presence of cats, feeding on ground and feeding at stubble fields. The present study 1) indicates a widespread exposure to *T. gondii* among domestic and wild ungulates in Southern Spain, with highly variable prevalence levels among farms, regions and species, 2) confirms the potential of *T. gondii* as food-borne parasite is of concern in the Mediterranean areas and in all domestic and wild ungulate species, 3) suggests the possibility of economic losses in livestock caused by *T. gondii* infection as it is a reproductive pathogen, and 4) confirms the environmental contamination with pathogens derived from human settlements/activities.

INTRODUCTION

Toxoplasma gondii (Apicomplexa: Coccidia) is a zoonotic intra-cellular protozoan of worldwide distribution (Dubey, 2010). This parasite presents an indirect cycle with the domestic and wild felines as definitive hosts (DH) and all warm-blooded species, including human beings, as intermediate hosts for *T. gondii* (Dubey, 2010). Oocysts from *T. gondii* are eliminated through DH feces to the environment where they can persist infective for months or years (Dubey et al., 2010).

T. gondii can cause serious illness with fatal consequences in humans (Dubey, 2010). This is the case for immune suppressed patients e.g. AIDS-patients or pregnant women. In AIDS-patients, a latent infection may be reactivated and because of the failure of the immune system cause severe symptoms associated with encephalitis, myocarditis, hepatitis, or pneumonia (Dubey, 2010). In addition, *T. gondii* infection can lead to death or to central nervous system abnormalities in fetus (Jones, 2003). *T. gondii* is considered a food-borne pathogen. According to Centers for Disease Control and Prevention (USA), toxoplasmosis is considered as a neglected parasitic disease and the etiology of the third leading cause of death attributed to foodborne illness in the United States (Anonymous, 2009). Also, *T. gondii* infection is considered as a occupational disease due to groups such as abattoir workers, butchers, and hunters may also become infected during evisceration and handling of meat (Anonymous, 2007).

T. gondii causes reproductive disorders in livestock with high economic losses worldwide (Dubey, 2010). In domestic *Artiodactyla* species, *T. gondii* has reported to be more specific to sheep (Dubey 2007; 2010). However, this parasite has been related to disease in several domestic and wild ungulate species (Dubey, 2010). However, the results of epidemiological studies show wide variations in the prevalence values among countries and between regions within the same country (Tenter et al., 2000; Dubey and Jones, 2008; Dubey, 2010).

Information about the seroprevalence of *T. gondii* in wild and domestic artiodactyls is of interest in order to implement future strategies on public health, animal health and environmental protection programs in Mediterranean countries. The aim of the present study was to provide information on the epidemiology of *T. gondii* in the domestic and wild artiodactyls interface in Southern Spain.

MATERIALS AND METHODS

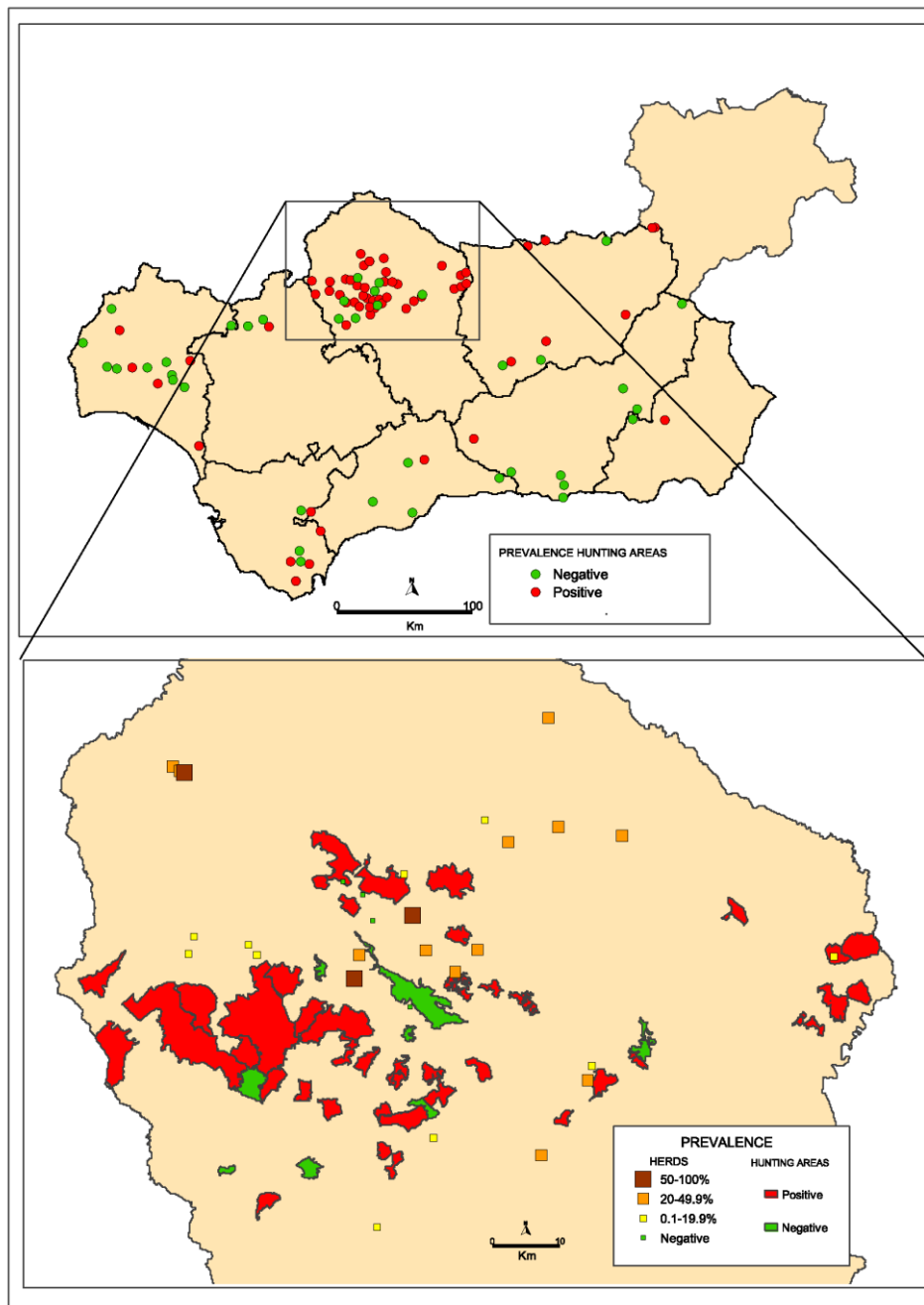
A total of 2351 wild ungulates were sampled in 47 hunting estates from Andalusia, during the hunting seasons between 2011 and 2016 (Figure 1). Blood was collected by veterinarians from red deer (*Cervus elaphus*) (n=1063), wild boar (*Sus scrofa*) (n=666), fallow deer (*Dama dama*) (n=294), European mouflon (*Ovis aries musimon*) (n=216), Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) (n=90) and roe deer (*Capreolus capreolus*) (n=22). Blood samples from 482 extensively reared domestic ruminants, including 199 cattle, 194 sheep and 89 goats, were collected from 29 farms from the province of Córdoba (NW-Andalusia) during 2013. A convenience sampling, based on the proximity of the herds to the hunting areas studied in this province, was carried out in domestic ruminants (Figure 1). Samples were placed into sterile serum-separator tubes and centrifuged at 1200 g for 15 minutes. Sera were stored at -20 °C until tested.

Sera of the 2351 wild ungulates and the 482 domestic ruminants were examined by the modified agglutination test (MAT) to detect IgG antibodies. Sera were tested at 1:25, 1:50, 1:100 and 1:500 dilutions. Positive and negative controls were also included in all tests. Titres of 1:25 or higher were considered positive and those with doubtful results were re-examined (Dubey and Desmonds, 1997).

Additionally, epidemiological questionnaires including data on the wild and domestic animals as well as the hunting estates and farms sampled were completed by direct interview with gamekeepers and farmers at each sampling site. Epidemiological information related to the sampled animals, sampling-site habitat, management, biosecurity measures and environmental data were included in the questionnaire to obtain information on exposure levels to potential risk factors. A total of 35 and 47

explanatory variables were included in the questionnaire for wild and domestic ungulates, respectively.

Figure 1. Geographic distribution of the hunting areas and farms tested for the presence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Andalusia, Southern Spain.



The prevalence of antibodies against *T. gondii* was estimated from the ratio of positives to the total number of samples, with the exact binomial confidence intervals of 95%. Differences between seropositivity to *T. gondii* and explanatory variables were analyzed using a Pearson's chi-square test and by Fisher's exact test when observations with each category were less than six.

A risk factors analysis was conducted in the province of Cordoba, the region with most homogeneous wild ungulates sampling and where the domestic ruminants were collected. A Chi-square and Fisher's exact test was used to test the relevance of the explanatory variables in the risk of an animal being exposed to *T. gondii*. Covariates correlated with a P-value < 0.20 in the bivariate analysis variable in each test were included from further analysis. Biologically plausible confounding factors were assessed using Mantel-Haenszel analysis and confounding was considered to be potentially significant if odd ratios (ORs) shifted appreciably. Variables that altered the coefficients for the independent variables of interest by 30% or more when removed from the model were classified as confounding factors. Finally, a multiple logistic regression analysis (Hosmer and Lemeshow, 2000) was performed including risk factors potentially associated with *T. gondii* exposure (likelihood-ratio Wald's test, $P < 0.05$). The goodness of fit was assessed using the Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit test (Petrie and Watson, 2006). SPSS 22.0 software (IBM Corp., Armonk, NY, USA) was used for statistical analyses.

RESULTS

Antibodies against *T. gondii* were detected in 5.6% of Iberian ibex, 10.5% of red deer, 13.6% of roe deer, 15.6% of fallow deer, 18.6% in wild boar and 5.6% in mouflon (Table 1). Statistically significant differences were observed between the seropositivity to *T. gondii* and the species, present higher statistically significant prevalence the red deer, the fallow deer and the wild boar. Statistically higher prevalence of antibodies against *T. gondii* was observed in adult animals. In addition, the hunting season was also confirmed as a risk factor for *T. gondii* infection, being observed a statistically significant decreasing trend in the overall prevalence of antibodies within the six hunting seasons.

Table 1. Results of the logistic regression model of risk factors associated to *Toxoplasma gondii* seropositivity in domestic ruminant species in southern Spain.

Variable	Category	β	Sig.	OR	95% CI	
Species	Cattle	*	*	*	*	*
	Goat	-1.151	0.022	0.316	0.118	0.850
	Sheep	0.710	0.005	2.034	1.244	3.324
Presence of cat	No	*	*	*	*	*
	Yes	1.068	0.002	2.910	1.469	5.763
Feeding on ground	No	*	*	*	*	*
	Yes	0.59	0.018	1.803	1.105	2.943
Feeding at stubble filed	No	*	*	*	*	*
	Yes	1.344	< 0.001	3.836	2.307	6.377

Regarding the domestic animals analyzed, the prevalence of *T. gondii* antibodies was 41.2% in ovine, 18.6% in cattle and 5.6% in goats, with a herd seroprevalence of 86.21%. The risk factors associated to *T. gondii* infection in domestic ruminants were the presence of cats, the ruminant species (sheep and cattle), feeding on ground, and feeding at stubble filed.

Table 2. Results of the logistic regression model of risk factors associated to *Toxoplasma gondii* seropositivity in wild artiodactyl species in southern Spain.

Variable	Category	β	Sig.	OR	95% CI	
Species	Mouflon	*	*	*	*	*
	Red deer	0.843	0.018	2.324	1.155	4.675
	Fallo deer	1.335	0.001	3.801	1.760	8.212
	Wild boar	1.559	0.000	4.756	2.388	9.471
Age	Juveniles	*	*	*	*	*
	Subadults	-0.166	0.521	0.847	0.511	1.405
	Adults	0.516	0.003	1.675	1.187	2.362
Hunting season	2011-2012	0.817	0.000	2.264	1.509	3.397
	2012-2013	0.944	0.002	2.570	1.418	4.659
	2013-2014	0.839	0.000	2.313	1.497	3.575
	2014-2015	*	*	*	*	*
	2015-2016	0.371	0.121	1.449	0.907	2.317

DISCUSSION

Previous studies have shown widespread distribution of *T. gondii* antibodies in many domestic and wildlife ungulates in Spain (Moreno et al., 1991; Mainar et al., 1996; Panadero et al., 2010; García-Bocanegra et al., 2013). However, epidemiological studies on the livestock and wildlife interface are scarce. Thus, the present study reports additional data of the presence of *T. gondii* infection in areas shared by free-ranging wild and domestic artiodactyls in Southern Spain.

The present study assess the widespread of *T. gondii* in Andalusia and in all the species analyzed. These results reinforce the necessity of Public Health policies addressed to protect human beings from this parasite. Both wild and domestic species analyzed in the present study are introduced in the human food chain. Therefore, exists the possibility of *T. gondii* infection in humans caused by the ingestion of

undercooked meat from any of the species analyzed. In this sense, the results observed in domestic ruminants have identified some risk factors for *T. gondii* infection in livestock. Therefore, farm managements practices in order to eliminate or reduce these risk factors in livestock farms/facilities would be necessary to reduce the food-borne risk of *T. gondii* infection in livestock meat.

The presence of cats was identified as a risk factor to *T. gondii* infection in livestock. This concurs with previous studies carried out in small ruminant flocks and pig farms that reported the positive association between the presence of cats in the farm and *T. gondii* infection (Mainar et al., 1996; García-Bocanegra et al., 2010). Moreover, previous studies have shown high seroprevalence in felid species, such as domestic cats and Iberian lynx (*Lynx pardinus*) (Millán et al., 2009; García-Bocanegra, et al., 2011) in Southern Spain. However, the role of wild felines such as the Iberian linx and wild cat has not been evaluated in the present study.

Also, statistically significant differences were observed among sheep and cattle compared to goat, which concurs with previous studies (Dubey and Thulliez 1993; Gondim et al., 1999; Panadero et al., 2010; Chikweto et al., 2011; García-Bocanegra et al., 2013). Interestingly, García-Bocanegra et al. (2011) reported a high seroprevalence of antibodies against *T. gondii* in domestic ruminants from Seville province (Andalusia, Southern Spain). The prevalences observed in Seville were 83.3% (n=420) in cattle, 49.3% (n=248) in sheep and 25.1% (n=1224) in goat. The prevalences observed in sheep were similar in both studies. However, cattle and goat *T. gondii* prevalences were higher than prevalences observed in the present study. These differences can be explained by several factors such environmental characteristics, presence of Definitive Hosts (felines) in the geographical area or farm facilities, or climatic differences. However, data among these factors are not available in order to confirm the effect of these variables in the prevalence observed.

Interestingly, two risk factors were related to the environmental contamination. These risk factors were feeding on ground and feeding at stubble field. These two managing practices increase the probability of the ingestion of *T. gondii* oocysts. In this sense, it is proved that *T. gondii* oocysts can persist infective in the

environment for months or years (Dubey et al., 2010). Contamination of the environment derived from human activities is a concern worldwide, and the study of the biological effects of these activities in wildlife communities has been aimed as future research by the scientific community (Doney, 2010). The effect of human settlement in specific areas and wildlife populations has proved to cause significant negative impacts, including the dispersion of several pathogens on different habitats and their wildlife species (Daszak et al., 2001; Miller et al., 2010; Shapiro, 2012). In this sense, *Toxoplasma gondii* has been used as a model for the study of human contamination of the environment due to *T. gondii* DH are the cats and its presence and density are close related to human densities (Shapiro et al., 2010; 2014; Cabezón et al., 2016). Monitoring the presence of pathogens such as *T. gondii* in extensively reared livestock or wildlife could be useful in order to evaluate the environmental contamination of human pathogens.

The overall seroprevalence obtained in the wild ungulates showed statistically significant lower values than prevalences observed in livestock. This difference could suggest a different exposition to the parasite. In this sense, the presence of cats in the farms and the high density of livestock could explain this fact. The risk factors observed in wild ruminants were the species, the age of the animals and the hunting season.

The age as risk factor for *T. gondii* infection has been reported in several studies (Moreno et al., 1991; Mainar et al., 1996; Panadero et al., 2010; García-Bocanegra et al., 2010; 2013), due to the increase of the probability of *T. gondii* ingestion throughout the life of the animals. Interestingly, the hunting season was also confirmed as a risk factor for *T. gondii* infection, being observed a statistically significant decreasing trend in the overall prevalence of antibodies within the six hunting seasons. This decreasing trend could be explained by the fact that during the last years the weather in Andalusia region have being the more dry years of the last decade. It is well reported that a wetter environment favors the time that the *T. gondii* oocysts can persist infective in the environment (Dubey, 2010).

The present study 1) indicates a widespread exposure to *T. gondii* among domestic and wild ungulates in Southern Spain, with highly variable prevalence levels

among farms, regions and species, 2) confirms the potential of *T. gondii* as food-borne parasite is of concern in the Mediterranean areas and in all domestic and wild ungulate species, 3) suggests the possibility of economic losses in livestock caused by *T. gondii* infection as it is a reproductive pathogen, and 4) confirms the environmental contamination with pathogens derived from human settlements/activities.

Conflict of interest statement

None of the authors of this study has a financial or personal relationship with other people or organisations that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

Acknowledgements

The authors would like to give special thanks to the farmers and gamekeepers for their collaboration. This work was partially supported by INIA Grant FAU2008-00019-C03-01.

LITERATURE CITED

Anonymous. 2007. Surveillance and monitoring of *Toxoplasma* in humans, food and animals. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. The EFSA Journal 583, 1-64.

Anonymous. Toxoplasmosis—CDC. 2009. Available at www.cdc.gov/toxoplasmosis/prevent.html (accessed september, 2016. Online.)

Chikweto, A., Kumthekar, S., Tiwari, K., Nyack, B., Deokar, M.S., Stratton, G., Macpherson, C.N., Sharma, R.N., and J.P. Dubey. 2011. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs, sheep, goats, and cattle from Grenada and Carriacou, West Indies. Journal of Parasitology **97**: 950-951.

Darwich L, Cabezón O, Echeverria I, Pabón M, Marco I, Molina-López R, Alarcia-Alejos O, López-Gatius F, Lavín S, Almería S. (2012) Presence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* DNA in the brain of wild birds. Vet Parasitol, 183:377-381

- Dubey, J.P. 2010. *Toxoplasmosis of Animals and Humans*. Second edition. CRC Press, Boca Raton, Florida, 313 p.
- Dubey JP, and J. L. Jones. 2008. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *International Journal of Parasitology* **38**: 1257-1278.
- Dubey JP, and P. Thulliez. 1993. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *American Journal of Veterinary Research* **54**: 270-273.
- García-Bocanegra, I., Simon-Grifé, M., Dubey, J.P., Casal, J., Martín, G.E., Cabezón, O., Perea, A., and S. Almería. 2010. Seroprevalence and risk factors associated with *Toxoplasma gondii* in domestic pigs from Spain. *Parasitology International* **59**: 421–6.
- García-Bocanegra, I., Dubey, J.P., Martínez, F., Vargas, A., Cabezón, O., Zorrilla, I., Arenas, A., and S. Almería. 2011. Factors affecting seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Veterinary Parasitology* 167: 36-42.
- García-Bocanegra I, Cabezón O, Hernández E, Martínez-Cruz MS, Martínez-Moreno Á, Martínez-Moreno J. (2013) *Toxoplasma gondii* in ruminant species (cattle, sheep, and goats) from southern Spain. *J Parasitol.* 99:438-440.
- Gondim, L. F. P., Barbosa, H.V., Ribeiro Filho, CH., and H. Saeki. 1999. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. *Veterinary Parasitology* 82: 273-276.
- Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied Logistic Regression*, 2nd ed. New York: Wiley; 2000
- Jones J, Lopez A, Wilson M. (2003) Congenital toxoplasmosis. *Am Fam Physician.* 67:2131-2138. Review
- Mainar, R.C., de la Cruz, C., Asensio, A., Domínguez, L., and J.A. Vázquez-Boland. 1996. Prevalence of agglutinating antibodies to *Toxoplasma gondii* in small ruminants of the Madrid region, Spain, and identification of factors influencing seropositivity by multivariate analysis. *Veterinary Research Communication* **20**: 153-159.

- Millán, J., Candela, M.G., Palomares, F., Cubero, M.J., Rodríguez, A., Barral, M., de la Fuente, J., Almería, S., and L. León-Vizcaíno. 2009. Disease threats to the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *The Veterinary Journal* **182**: 114-124.
- Moreno, T., Martínez-Gómez, F., Hernández-Rodríguez, S., Martínez-Cruz, M.S., and A. Martínez-Moreno. 1991. The seroprevalence of ovine toxoplasmosis in Cordoba, Spain. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **85**: 287-288.
- Panadero, R., Panceira, A., López, C., Vázquez, L., Paz, A., Díaz, P., Dacal, V., Cienfuegos, S., Fernández, G., Lago, N., Díez-Baños, P., and P. Morrondo. 2010. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain). *Research in Veterinary Science* **88**: 111-115.
- Petrie A, Watson P. Additional techniques. In: *Statistics for Veterinary and Animal Science*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2006, pp. 191-211.
- Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., and L.M. Weiss. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal of Parasitology* **30**, 1217-1258. Review. Erratum in: *International Journal of Parasitology* 2001: **31**, 217-220.

SINTESIS

SÍNTESIS

El concepto One Health busca promover, mejorar y defender la salud y el bienestar de los animales, incluido el hombre, mediante la colaboración entre profesionales de los ámbitos de salud pública, sanidad animal y salud ambiental. La OIE, además, considera importante la implicación de actores que estén en contacto constante con la fauna silvestre y el medio ambiente como cazadores o los gestores de los espacios protegidos.

Los animales silvestres juegan un papel epidemiológico importante en el mantenimiento, transmisión y dispersión de los agentes infecciosos, por lo que su estudio es fundamental para la comprensión de esta “única salud” (Tompkins et al., 2011; Turner et al., 2013). En este sentido, la OIE estima que el 60% de los agentes infecciosos capaces de ser zoonóticos provienen de los animales (incluyendo la fauna silvestre). Además, algunos autores consideran que la fauna silvestre, está implicada en más del 70% de las enfermedades emergentes a nivel mundial (Jones *et al.*, 2008).

En consecuencia, el concepto One Health busca potenciar el abordaje multidisciplinar de los riesgos sanitarios en la interfaz humano-animal-ecosistema a nivel local, nacional y mundial (OIE, 2016). Por este motivo, es importante realizar una vigilancia sanitaria distribuida en el territorio recogiendo la gran variabilidad de escenarios epidemiológicos que encontramos en la geografía de cada país y determinar los diferentes factores que modulan el equilibrio existente entre los patógenos y las poblaciones de hospedadores (Yale et al., 2013).

Los trabajos realizados que se presentan en esta Tesis Doctoral tienen como objetivo general el estudio de diferentes agentes infecciosos de importancia significativa para la salud pública, la sanidad animal, y la salud ambiental de Andalucía. Los presentes estudios epidemiológicos estudian la presencia de estos patógenos, y sus factores de riesgos asociados, en las poblaciones de artiodáctilos silvestres de Andalucía con la excepción del **capítulo 5**, donde las muestras de ciervo estudiadas proceden de las cinco bio-regiones peninsulares en las que se basa la planificación

territorial del PVSFS (RASVE 2013). Además, los **capítulos 3, 4 y 6**, también analizan artiodáctilos domésticos que comparten hábitats con los silvestres. El **capítulo 5** también incluye poblaciones de ciervos criados en granjas cinegéticas. En cuanto a los agentes infecciosos estudiados, los **capítulos 1 y 2** abordan procesos bacterianos (Tuberculosis y Cappylobacteriosis), los **capítulos 3, 4 y 5** analizan agentes víricos (Pestivirus, Virus del Nilo Occidental, Virus Usutu, Virus Meaban y Virus de la Fiebre del Valle del Rift) y el **capítulo 6** se centra en el parásito zoonótico *Toxoplasma gondii*.

La presente Tesis Doctoral confirma la utilidad de la fauna salvaje en la monitorización de agentes infecciosos para la salud pública y la animal.

En cuanto a las enfermedades transmitidas por vectores, los **capítulos 4º y 5º** muestran los resultados obtenidos en el estudio serológico de diferentes virus zoonóticos como son el Virus de la Fiebre del Valle del Rift (RVFV) y tres flavivirus (Virus de West Nile – WNV, Virus Meaban – MBV y Virus Usutu – USUV).

Los resultados negativos obtenidos frente al RVFV en fauna silvestre (ciervo, gamo y muflón) coincidieron con los resultados, también negativos, obtenidos en el ganado doméstico (vacuno, ovino y caprino) y confirmando que el virus no circuló en Andalucía entre los años 2009 y 2015 (**Capítulo 4º**). Sin embargo, la abundancia de vectores competentes para la transmisión del RVFV (*Aedes vexans*, *Ochlerotatus caspius*, *Culex theileri*, *Culex pipiens* y *Culex perexiguus/univittatus*), la alta densidad de rumiantes domésticos y silvestres, las condiciones climáticas características de la zona de estudio y los escenarios ecológicos posibles proporcionan las condiciones adecuadas para la transmisión RVFV en el caso de que se produjera la entrada del virus en Andalucía (EFSA, 2005, CCAES, 2014). En cuanto al **Capítulo 5º**, éste analiza las tendencias espacio-temporal y los factores de riesgo asociados a la exposición de los rumiantes silvestres (gamo, muflón, corzo y ciervo libre y de granja) al WNV y a otros *flavivirus* relacionados. Los resultados obtenidos mostraron detectaron la circulación de *flavivirus* en las poblaciones de ciervo (3,4%), gamo (1,0%) y muflón (2,4%) mediante técnicas serológicas. La prevalencia general detectada (3,3%) fue consistente

con lo observado recientemente en artiodáctilos de zoológico en España (Cano-Terriza *et al.*, 2015). Sin embargo, los rumiantes silvestres mostraron menor seroprevalencia a los *flavivirus* estudiados que otras especies de artiodáctilos, como el jabalí de las mismas regiones y períodos de estudio (Gutiérrez-Guzmán *et al.*, 2012; Boadella *et al.*, 2012), sugiriendo una susceptibilidad inferior del ciervo ibérico a los *flavivirus* objeto de este trabajo. Los resultados obtenidos generaron información básica para la gestión de los planes de vigilancia epidemiológica así como futuros planes de gestión de enfermedades y de salud pública. En este sentido, la regresión logística multivariante identificó el año 2011, la bioregión 5 y las áreas de humedales como factores de riesgo para la exposición a los tres *flavivirus* estudiados en ciervo ibérico. Además, la seroprevalencia a *flavivirus*, principalmente WNV, fue mayor en el suroeste de España (bio-región 5) (Gutiérrez-Guzmán *et al.*, 2012; Figuerola *et al.*, 2007; López *et al.*, 2010). Esta bio-región incluye las provincias con mayor número de brotes de WNV reportados en caballos y los seres humanos y el área donde la infección causada por el virus Bagaza (BAGV) causó elevada mortalidad en las aves de caza silvestres en 2010 (García-Bocanegra *et al.*, 2013). Aun así, anticuerpos específicos frente al WNV se han confirmado en cuatro de las cinco bioregiones. Este trabajo constituye el primer informe de la circulación del virus en la bioregión 4, en donde las condiciones del hábitat no favorecen la actividad del WNV. La presencia de animales seropositivos al WNV durante todo el periodo de muestreo (2003-2014), sugiere una circulación endémica del virus del Nilo Occidental en el sur de España. Los capítulos 4º y 5º ponen en valor la vigilancia sanitaria en la fauna salvaje y aportan una situación epidemiológica de referencia para futuros trabajos sobre la presencia de este virus en el Sur de España.

En cuando a los agentes infecciosos zoonóticos no transmitidos por vectores, los capítulos 1º y 2º mostraron resultados preocupantes en cuanto a la presencia de *Mycobacterium bovis* y otros miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, así como de bacterias del género *Campylobacter*. Ambos trabajos detectaron una amplia distribución de ambos agentes infecciosos en artiodáctilos silvestres, especialmente en jabalí. Además, se observó que los ciclos epidemiológicos de ambos agentes

infecciosos son compartidos entre la fauna silvestre y el ganado doméstico. Finalmente, el capítulo 2º confirma la resistencia de *Campylobacter* spp. a diferentes antibióticos, dato importante a tener en cuenta para futuras medidas preventivas en el uso de antibióticos en el campo de la veterinaria y para la protección de la salud pública, animal y medioambiental.

El **capítulo 1** realiza un estudio transversal para evaluar la seroprevalencia frente a *Mycobacterium bovis* y otros miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, y proporcionar información sobre los factores de riesgo asociados en jabalí, ciervo, corzo, gamo, cabra montesa y muflón, entre los años 2006 y 2010. Además, los aislados obtenidos se caracterizaron molecularmente. La conclusión principal del estudio fue la confirmación de la circulación generalizada de la TBb en Andalucía, principalmente mantenida en las poblaciones de jabalí en las que se detectó una afectación del 52,3% de los animales estudiados. Además, la seropositividad total a la TBb se situó en un 7.5%, habiendo sido determinada sólo por las muestras positivas para ambas ELISAs, así como por el aislamiento de *M. bovis* en medios de cultivo apropiados, por lo que la seroprevalencia podría haber sido subestimada. Estos resultados son de la misma magnitud que los anteriormente obtenidos en España basado en métodos de diagnóstico directos e indirectos de diagnóstico (Vicente *et al.*, 2006; Gortázar *et al.*, 2008), confirmando el papel del jabalí como reservorio silvestre de la TBb en los ecosistemas mediterráneos de la Península Ibérica (Naranjo *et al.*, 2008). La especie (jabalí), la edad (adultos) y el origen geográfico (Córdoba y Sevilla) se confirmaron como factores de riesgo para una mayor prevalencia de infección. Los cultivos positivos de micobacterias, realizados a partir de lesiones compatibles con TBbse, caracterizaron molecularmente mediante una PCR múltiple para la amplificación de los fragmentos que codifican rRNA 16 S y la proteína MPB70. Los resultados confirmaron la circulación de los mismos espigotipos de *M. bovis* entre la vida silvestre y las especies domésticas en el sur de España. El espigotipo aislado con mayor frecuencia fue el SB0121 (67%), lo que es concordante con lo previamente reportado para la vida silvestre y el ganado en la Península Ibérica (Duarte *et al.*, 2008).

El **Capítulo 2** evalúa la presencia de diferentes especies de *Campylobacter* en jabalí, ciervo, gamo y muflón e identifica posibles factores de riesgo asociados a su presencia. La prevalencia total de *Campylobacter* spp. fué del 15,2% y pudo ser aislado en el 38,9% de las heces de jabalí analizadas, siendo significativamente mayor que en el muflón (7,7%), el ciervo (2,8%) y en en gamo (0%). Los resultados obtenidos refuerzan estudios anteriores (Diaz-Sanchez *et al.*, 2013), y sugieren una mejor adaptación de *Campylobacter* spp al tracto entérico de los suidos, aunque también podría ser debido a un contacto más estrecho entre el jabalí y el ganado doméstico (Kukielka *et al.*, 2013), su mayor densidad poblacional o el hábito de jabalí de revolcarse en el barro, el cual podría albergar especies de *Campylobacter*. En cuando a la caracterización molecular, se detectaron las especies *C. jejuni* (2 aislamientos; 3,6%), *C. coli* (11 aislamientos; 20,0%) y *C. lanienae* (37 aislamientos; 67,3%). El hecho que *C. lanienae*, la especie más aislada, haya sido descrita previamente en los rumiantes domésticos, así como en cerdos y jabalíes, sugiere la conexión epidemiológica en cuando a poblaciones salvajes y animales domésticos en el mantenimiento de *Campylobacter* spp. en el medio. En cuando a la resistencia a antibióticos, se detectó resistencia a la eritromicina (4,8%), ciprofloxacina (37,5%), tetraciclina (52,9%) y estreptomina (55%). La alta resistencia a los antibióticos antimicrobianos de *C. coli* podría estar relacionada con la transmisión de esta especie de *Campylobacter* desde el ganado, en el que se utilizan con frecuencia antimicrobianos. El papel de las especies silvestres como reservorios de cepas resistentes y multirresistentes podría ser importante para la sanidad animal y la salud pública.

Los capítulos 1º y 2º detectaron factores de riesgo comunes asociados con la infección por *Campylobacter* y *Mycobacterium bovis* en jabalí. Éstos fueron la densidad de jabalíes (> 10 individuos/100 Km²) y la presencia de puntos artificiales de agua (charcas). Ambos factores de riesgo están directamente relacionados con la gestión de las poblaciones cinegéticas de los artiodáctilos silvestres estudiados en esta Tesis Doctoral. Los planes de gestión cinegética se basan en una serie de actuaciones cuyo objetivo es conseguir la máxima rentabilidad en piezas de caza garantizando la sostenibilidad, económica y ecológica. Las actuaciones se definen en función de las

condiciones naturales de la zona, de los otros usos y aprovechamientos existentes, de la legalidad vigente y de los objetivos pretendidos (Covisa, 1998).

A parte de los agentes infecciosos descritos anteriormente, el capítulo 6º realizó un estudio serológico para la determinación del parásito zoonótico *Toxoplasma gondii*. Dicho trabajo determinó una amplia distribución del parásito en el territorio, tanto en ganado doméstico como fauna silvestre. Hay que tener en cuenta que *T. gondii* tiene un ciclo indirecto en el que el hospedador definitivo son los felinos, con el gato doméstico como actor principal, los cuales no han podido ser evaluados en el trabajo. *T. gondii* puede provocar muerte fetal, abortos y enfermedad perinatal y es una de las principales causas infecciosas de muerte en personas inmunodeprimidas (Dubey, 2010). El ser humano se infecta a través de la ingestión de ooquistes presentes en el medio (agua contaminada o vegetales) así como de bradizoítos presentes en la carne de otros hospedadores intermediarios (cualquier ungulado, por ejemplo). La toxoplasmosis es la tercera causa de muerte atribuida a enfermedad transmitida por alimentos en USA, según un informe de el Centers for Disease Control and Prevention (USA) (Anonymous, 2009). Además, la *European Food Safety Agency* (EFSA) asumió la infección por *T. gondii* infection como una enfermedad profesional ligada a trabajadores de mataderos o cazadores, que pueden infectarse durante la evisceración o la manipulación de la carne (Anonymous, 2007). En el capítulo 6º de esta tesis se detecta prevalencias comprendidas entre 5,6% y el 41,2%. Estas prevalencias demuestran la amplia distribución del parásito en las poblaciones de ungulados domésticos y silvestres en Andalucía y refuerzan la necesidad de tener medidas de precaución en relación a las mujeres embarazadas y personas inmunodeprimidas. Más allá de la Salud Pública, *T. gondii* tiene un valor como modelo de agente infeccioso, indicador de la contaminación antropogénica del medio debido a que la presencia de gatos está directamente relacionada con la presencia humana. La presencia de anticuerpos en distintas especies de fauna salvaje ha servido como indicador de la degradación del medio ambiente (eliminación de marismas, alteración de las características ecológicas de los cursos de agua, etc).

El capítulo 3º analiza la presencia de *Pestivirus*, patógeno relacionado exclusivamente con la sanidad animal. Ambos trabajos han aportado resultados interesantes en cuanto futuras exposiciones ambos agentes infecciosos.

El **Capítulo 3º**, analizó la posible presencia de anticuerpos frente a diferentes especies de *Pestivirus*, en vacuno, ovino y caprino, así como en ciervo, gamo, corzo, muflón y cabra montés. La seropositividad de anticuerpos frente a *Pestivirus* fue sensiblemente diferente en cuanto a las poblaciones de rumiantes silvestres (0.1% en ciervo) en relación a las poblaciones de rumiantes domésticos (23,2% en vacuno; 10,8% en ovino). El Virus de la Enfermedad de la Frontera (BDV) se confirmó como la especie de virus circulante.

La variabilidad de escenarios epidemiológicos relacionados con los *Pestivirus* se ha demostrado muy amplia. En este sentido, la especificidad patógeno-huésped juega un papel fundamental en la epidemiología de los diferentes *Pestivirus* en las poblaciones de fauna salvaje. Existen dos situaciones a nivel mundial en el que la fauna salvaje ha sido capaz de mantener por sí misma este patógeno en sus poblaciones, independientemente del ganado doméstico. Éstas son la presencia de DVBV en las poblaciones de ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en USA, y la presencia de DBV en rebeco pirenaico (*Rupicapra pyrenaica*) en el Pirineo (España, Francia y Andorra). La baja seropositividad frente a DBV encontrada en las especies silvestres incluidas en el capítulo 3º refuerza los datos presentados anteriormente en muflones, corzos y cabras monteses en el sur de España (López-Olvera *et al.*, 2009; Boadella *et al.*, 2010; Astorga-Márquez *et al.*, 2014).

Los resultados obtenidos tienen una implicación en la sanidad animal ya que confirman que los rumiantes silvestres no mantienen *Pestivirus* en sus poblaciones y no suponen un riesgo para el ganado doméstico. Sin embargo, esta situación alberga la posibilidad de futuros escenarios epidemiológicos que comprometan la sanidad animal de los rumiantes silvestres de Andalucía. Éstos se darían en el caso de la introducción de *Pestivirus* en las poblaciones de rumiantes silvestres debido a la repoblación de las

mismas o a la presencia de Pestivirus proveniente en ganado doméstico que comparta los mismos pastos. En esta situación, se esperarían infecciones agudas (Nettleton *et al.*, 1998) en los ruminantes silvestres, que si se dieran durante el período de gestación, podrían dar lugar a abortos y animales PI, favoreciendo la persistencia de estos virus en dichas poblaciones (Nettleton *et al.*, 1998), y pasando a ser un problema para la sanidad animal del ganado doméstico.

El actual modelo de gestión de la caza mayor en el centro y sur de España tiene como uno de sus principales objetivos mantener altas densidades de animales. Para conseguir este objetivo, la gestión del ser humano en estos espacios y las poblaciones de especies cinegéticas que los habitan se considera imprescindible. Esta tesis doctoral aporta la descripción y el análisis de resultados derivados de diferentes estudios relacionados con la epidemiología de diversos agentes infecciosos en los ungulados de aprovechamiento cinegético en Andalucía. Las conclusiones derivadas de dicho análisis pretenden mejorar la vigilancia epidemiológica de la fauna silvestre en Andalucía así como la gestión cinegética de dichas poblaciones.

CONCLUSIONES/CONCLUSIONS

CONCLUSIONES

PRIMERA: La seroprevalencia hallada en artiodáctilos silvestres del sur de España frente a antígenos del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MtC), presentó amplias variaciones espaciales y temporales, alcanzando un 7,5 por ciento, siendo particularmente elevada en el jabalí, con un 52,3 por ciento. . **(Capítulo 1. Artículo: García-Bocanegra et al., 2011. Seroprevalence and risk factors associated to *Mycobacterium bovis* in wild artiodactyl species from Southern Spain, 2006–2010. Vet Res PLoS One. 2012; 7(4):e34908).**

SEGUNDA: En este primer estudio sobre infección por *Campylobacter* spp. en artiodáctilos silvestres en España, la prevalencia de aislamientos fecales alcanzo un 15,2 por ciento, siendo significativamente elevada en jabalí, con un 38,9 por ciento, y muy similar en ciervo y muflón, aunque no se pudo aislar en gamo. Así mismo, se describe por vez primera la infección por *C. lanienae* en estas especies. Un 4,8 por ciento de los aislados fueron resistentes a la eritromicina, un 37,5 por ciento a la ciprofloxacina, un 52,9 por ciento a la tetraciclina y un 55,0 por ciento a la estreptomicina; estas tasas de resistencia, pueden tener implicaciones en Salud Pública. Finalmente, los factores de riesgo asociados con la infección por *Campylobacter* spp. en jabalí en los cotos de caza estudiados fueron: la densidad elevada, la existencia de puntos de agua artificial y la estación invernal. **(Capítulo 2. Artículo: Carbonero et al., 2014. Campylobacter infection in wild artiodactyl species from southern Spain: occurrence, risk factors and antimicrobial susceptibility. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2014 Mar; 37(2):115-21).**

TERCERA: Las diferentes seroprevalencias halladas entre los rumiantes silvestres, con un 0,1 por ciento, y los domésticos, con el 16,3 por ciento, frente a los Pestivirus de la diarrea vírica bovina (BVDV) y de la enfermedad de la frontera (BDV), sugieren que las poblaciones domésticas y silvestres mantienen ciclos epidemiológicos independientes. **(Capítulo 3. Artículo: Paniagua et al., 2016. Absence of circulation of Pestivirus between wild and domestic ruminants in southern Spain. Vet Rec. 2016 Feb 27; 178(9):215).**

CUARTA: La ausencia de animales seropositivos frente al virus de la fiebre del valle del Rift sugiere que este virus no ha circulado en las poblaciones de rumiantes domésticos y silvestres en Andalucía durante el periodo comprendido entre 2009 y 2015. **(Capítulo 4. Artículo: García-Bocanegra et al., 2016. Absence of Rift Valley fever virus in domestic and wild ruminants from Spain. Vet Rec. 2016 Jul 9; 179(2):48).**

QUINTA: Un 3,4 por ciento de los ciervos, un 1,0 por ciento en gamos y un 2,4 por ciento de los muflones muestreados resultaron positivos a flavivirus antigénicamente relacionados, particularmente los virus de West Nile, virus Usutu y virus Meaban. El hecho de que se detectaran animales seropositivos a lo largo de todo el periodo de estudio, sugiere una circulación endémica de estos virus, incluso en áreas donde no se han detectado brotes en animales domésticos. La vigilancia epidemiológica en rumiantes silvestres podría ser una herramienta muy eficaz para monitorizar la actividad de estos flavivirus emergentes. **(Capítulo 5. Artículo: García-Bocanegra et al., 2016. Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile virus and related flavivirus exposure in Spanish wild ruminants. BMC Vet Res. Aceptado).**

SEXTA: El 12,8 por ciento de los artiodáctilos silvestres y el 25,3 por ciento de los rumiantes domésticos en el sur de España mostraron seropositividad frente a *T. gondii*. La especie (ciervo, gamo y jabalí), la edad (adulto) y la temporada cinegética (2011/2012 hasta 2013/2014) son factores de riesgo relacionados con la infección por *T. gondii* en artiodáctilos silvestres en el sur de España. Así mismo, los principales factores de riesgo asociados a la infección por este protozoo en rumiantes domésticos son: la especie (ovino), la presencia de gatos, dispensar el alimento en el suelo y la alimentación en rastrojos. **(Capítulo 6. Artículo: Paniagua et al. *Toxoplasma gondii* in the wildlife-livestock interface from southern Spain. Vet Parasitol. Enviado).**

CONCLUSIONS.

FIRST: The seroprevalence against *Mycobacterium tuberculosis* complex (MtC) found in artiodactyl species from Southern Spain showed wide spatial and temporal variations. The overall seroprevalence was 7.5%, being specifically higher in wild boar (52.3%). **(Chapter 1. Article: García-Bocanegra et al., 2011. Seroprevalence and risk factors associated to *Mycobacterium bovis* in wild artiodactyl species from Southern Spain, 2006–2010. Vet Res PLoS One. 2012; 7(4):e34908).**

SECOND: The prevalence of *Campylobacter* spp. isolations in feces was 15.2%, being statistically higher in wild boar (38.9%) and similar to those observed in red deer and mouflon. *Campylobacter* spp. could not be isolated in fallow deer. The present study is the first report on *C. lanienae* in these wild ungulates. From the *Campylobacter* spp. isolates, a 4.8% showed resistance to eritromicine, 37.5% to ciprofloxacin, 52.9% to tetracycline and 55.0% to streptomycin. These resistance rates may be of Public Health concern. The risk factors associated with *Campylobacter* spp. infection in wild boar were high density of wild boar, presence of artificial waterholes and the winter season. **(Chapter 2. Article: Carbonero et al., 2014. Campylobacter infection in wild artiodactyl species from southern Spain: occurrence, risk factors and antimicrobial susceptibility. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2014 Mar; 37(2):115-21).**

THIRD: Differences in the seroprevalences of Pestivirus between wild (0.1%) and domestic (16.3%) ruminants suggest independent epidemiological cycles between wildlife and livestock in Southern Spain. **(Chapter 3. Article: Paniagua et al., 2016. Absence of circulation of Pestivirus between wild and domestic ruminants in southern Spain. Vet Rec. 2016 Feb 27; 178(9):215).**

FOURTH: The absence of seropositivity against Rift Valley Fever Virus in livestock and wildlife, confirms that this virus did not circulate in wild and domestic populations from Southern Spain between the period 2009 and 2015. **(Chapter 4. Article: García-Bocanegra et al., 2016. Absence of Rift Valley fever virus in domestic and wild ruminants from Spain. Vet Rec. 2016 Jul 9; 179(2):48).**

FIFTH: A 3.4% of red deer, 1.0% of fallow deer and 2.4% of mouflon analyzed resulted positive against antigenically-related flaviviruses, including West Nile Virus, Usutu Virus and Meaban Virus. The presence of seropositive animals along the study period suggests an endemic circulation of these viruses, even in areas where WNV outbreaks have not been reported to date. Sampling of wild ruminants could be a complementary way to monitor the activity of these emerging flaviviruses. **(Chapter 5. Article: García-Bocanegra et al., 2016. Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile virus and related flavivirus exposure in Spanish wild ruminants. BMC Vet Res. Aceptado).**

SIXTH: Seropositivity against *Toxoplasma gondii* was detected in 12.8% and 25.3% of wild and domestic artiodactyls from Spain, respectively. The risk factors associated to *T. gondii* infection in wildlife from Southern Spain were the species (red deer, fallow deer and wild boar), the age (adult) and the hunting season (from season 2011/2012 to 2013/2014). In addition, the main risk factors associated to *T. gondii* infection in livestock were the species (sheep), the presence of cats, feeding on ground and feeding at stubble field. **(Chapter 6. Article: Paniagua et al. *Toxoplasma gondii* in the wildlife-livestock interface from southern Spain. Vet Parasitol. Enviado).**

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, P., Delibes-Mateos, M., Escudero, M. A., Vicente, J., Marco, J., Gortázar, C. (2005). **Environmental constraints in the colonization sequence of roe deer (*Capreolus capreolus* Linnaeus, 1758) across the Iberian Mountains, Spain.** *Journal of Biogeography*, 32(9), 1671-1680.
- Acevedo, P., Escudero, M. A., Muñoz, R., Gortázar, C. (2006). **Factors affecting wild boar abundance across an environmental gradient in Spain.** *Acta Theriologica*, 51(3), 327-336.
- Acevedo, P., Vicente, J., Höfle, U., Cassinello, J., Ruiz-Fons, F., Gortázar, C. (2007). **Estimation of European wild boar relative abundance and aggregation: a novel method in epidemiological risk assessment.** *Epidemiology and Infection*, 135(03), 519-527.
- Acevedo, P., Ruiz-Fons, F., Vicente, J., Reyes-García, A. R., Alzaga, V., Gortázar, C. (2008). **Estimating red deer abundance in a wide range of management situations in Mediterranean habitats.** *Journal of Zoology*, 276(1), 37-47.
- Apollonio, M., Andersen, R., Putman, R. (2010). **European ungulates and their management in the 21st century.** Cambridge University Press.
- Acevedo, P., Farfán, M. A., Márquez, A. L., Delibes-Mateos, M., Real, R., Vargas, J. M. (2011). **Past, present and future of wild ungulates in relation to changes in land use.** *Landscape Ecology*, 26(1), 19-31.
- Arenas, A. (2009). **Granjas cinegéticas. In: Gestión cinegética en los ecosistemas mediterráneos.** Ed.: Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. pp. 203-218. ISBN-978-84-96776-81-4
- Augustine, D.J., DeCalesta, D. (2003). **Defining deer overabundance and threats to forest communities: From individual plants to landscape structure.** *Ecoscience*, 10: 472-486.
- Aranaz, A., de Juan, L., Montero, N., Sánchez, C., Galka, M., Delso, C., Alvarez, J., Romero, B., Bezos, J., Vela, A.I., Briones, V., Mateos, A., Domínguez, L. (2004). **Bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in wildlife in Spain.** *Journal of Clinical Microbiology*, 42(6), 2602-2608.
- Artois, M. (1997). **Managing problem wildlife in the "Old World": a veterinary perspective.** *Reproduction Fertility and Development*, 9: 17-25.
- Barasona, J.A., Torres, M.J., Aznar, J., Gortázar, C., Vicente, J. (2016). **DNA detection reveals *Mycobacterium tuberculosis* complex shedding routes in its wildlife reservoir the Eurasian wild boar.** *Transboundary and Emerging Diseases*, in press. DOI: 10.1111/tbed.12458.

Bengis, R. G., Kock, R. A., Fischer, J. (2002). **Infectious animal diseases: the wildlife/livestock interface**. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 21(1), 53-66.

Berhane, Y., Ojkic, D., Neufeld, J., Leith, M., Hisanaga, T., Kehler, H., Ferencz, A., Wojcinski, H., Cottam-Birt, C., Sumerman, M., Handel, K., Alexandersen, S., Pasick, J. (2010). **Molecular characterization of pandemic H1N1 influenza viruses isolated from turkeys and pathogenicity of a human pH1N1 isolate in turkeys**. *Avian Diseases*, 54(4), 1275-1285.

Boadella, M., Gortázar, C. (2011). **Effect of haemolysis and repeated freeze-thawing cycles on wild boar serum antibody testing by ELISA**. *BMC Research Notes* 4, 498.

Boadella, M., Gortázar, C., Acevedo, P., Carta, T., Martín-Hernando, M. P., de la Fuente, J., Vicente, J. (2011b). **Six recommendations for improving monitoring of diseases shared with wildlife: examples regarding mycobacterial infections in Spain**. *European Journal of Wildlife Research*, 57(4), 697-706.

Boehm, M., White, P.C.L., Chambers, J., Smith, L., Hutchings, M.R. (2007). **Wild deer as a source of infection for livestock and humans in the UK**. *Veterinary Journal*, 174: 260-276.

Böhm, M., Hutchings, M. R., White, P. C. (2009). **Contact networks in a wildlife-livestock host community: identifying high-risk individuals in the transmission of bovine TB among badgers and cattle**. *PLoS ONE*, 4(4), e5016.

Brook, R.K., McLachlan, S.M. (2006). **Factors influencing farmers' concerns regarding bovine tuberculosis in wildlife and livestock around Riding Mountain National Park**. *J Environ Manage* 80:156–166. doi:10.1016/j.jenvman.2005.08.022

Bruning-Fann, C.S., Schmitt, S.M., Fitzgerald, S.D., Fierke, J.S., Friedrich, P.D., Keneene, J.B., Clarke, K.A., Butler, K.L., Payeur, J.B., Whipple, D.L., Cooley, T.M., Miller, J.M., Muzo, D.P. (2001). **Bovine tuberculosis in free-ranging carnivores from Michigan**. *Journal of Wildlife Diseases*, 37: 58-64.

Burbaitė, L., Csányi, S. (2010). **Red deer population and harvest changes in Europe**. *Acta Zoologica Lituanica*, 20(4), 179-188.

Buttke, D. E., Decker, D. J., Wild, M. A. (2015). **The role of one health in wildlife conservation: a challenge and opportunity**. *Journal of wildlife diseases*, 51(1), 1-8.

Carpio, A.J, Guerrero-Casado, J., Ruiz-Aizpurúa, L., Vicente, J., Tortosa, F.S. (2014a). **The high abundance of wild ungulates in a Mediterranean region: is this compatible with the European rabbit?**. *Wildlife Biology*, 20: 161-166.

Carpio, A.J, Castro-López, J., Guerrero-Casado, J., Ruiz-Aizpurúa, L., Vicente, J., Tortosa, F.S. (2014b). **Effect of wild ungulate density on invertebrates in a Mediterranean ecosystem.** *Animal Biodiversity and Conservation*, 37(2).

Carranza, J. (1999). **Aplicaciones de la Etología al manejo de las poblaciones de ciervo en el suroeste de la Península Ibérica: producción y conservación.** *Etología*, 7, 5-18.

Carranza, J., Torres, J., Alarcos, S., Pérez-González, J., Sánchez-Prieto, C., Mateos, C., Castillo, L., Valencia, J. (2006). **Sustainable population density of red deer in Mediterranean ecosystems.** 6th International Deer Biology Congress. Prague.

Caley, P., Hickling, G.J., Cowan, P.E., Pfeiffer, D.U. (1999). **Effects of sustained control of brushtail possums on levels of *Mycobacterium bovis* infection in cattle and brushtail possum populations from Hohotaka, New Zealand.** *New Zealand Veterinary Journal*, 47: 133-142.

Cosivi, O., Meslin, F.X., Daborn, C.J., Grange, J.M. (1995) **.Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans, with particular reference to Africa.** *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 14, 733–746.

Coker, R., Rushton, J., Mounier-Jack, S., Karimuribo, E., Lutumba, P., Kambarage, D., Pfeiffer, D.U., Stärk, K., Rweyemamu, M. (2011). **Towards a conceptual framework to support one-health research for policy on emerging zoonoses.** *The Lancet Infectious Diseases*, 11(4), 326- 331.

Daszak, P., Cunningham, A. A., Hyatt, A. D. (2000). **Emerging infectious diseases of wildlife--threats to biodiversity and human health.** *Science*, 287(5452), 443-449.

Daszak, P., Cunningham, A. A. Hyatt, A. D. (2001). **Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife.** *Acta Tropica* 78(2), 103-116.

Delahay, R.J., De Leeuw, A.S., Barlow, A.M., Clifton-Hadley, R.S., Cheeseman, C.L. (2002). **The status of *Mycobacterium bovis* infection in UK wild mammals: a review.** *Veterinary Journal*, 164: 90-105.

Delibes-Mateos, M., Ferreira, C., Carro, F., Escudero, M. A., Gortázar, C. (2014). **Ecosystem Effects of Variant Rabbit Hemorrhagic Disease Virus, Iberian Peninsula.** *Emerging Infectious Diseases*, 20(12), 2166.

Pain, D. J., Pienkowski, M. W. (1997). **Farming and birds in Europe: the Common Agricultural Policy and its implications for bird conservation.** Academic Press.

Drewe, J.A., O'Connor, H.M., Weber, N., McDonald, R.A., Delahay, R.J. (2013). **Patterns of direct and indirect contact between cattle and badgers naturally infected with tuberculosis.** *Epidemiology and Infection*, 141: 1467-1475.

Fenner, F. (1982). **Transmission cycles and broad patterns of observed epidemiological behavior in human and other animal populations.** En: Anderson, R.M., May, R.M., Anderson, R.C. (Eds). *Population Biology of Infectious Diseases*. Dahlem Workshop Reports, Springer-Verlag. Berlin, Germany.

Fernández-Alés, R. F., Martín, A., Ortega, F., Ales, E. E. (1992). **Recent changes in landscape structure and function in a Mediterranean region of SW Spain (1950–1984).** *Landscape Ecology*, 7(1), 3-18.

Fernández-Llario, P., Carranza, J. 1996. **La abundancia del jabalí en Doñana y sus implicaciones en la conservación de los ecosistemas.** *Quercus*, 120: 24-27

Ferroglio, E., Gortazar, C., Vicente, J., Putman, R., Apollonio, M., Andersen, R. (2010). **Wild ungulate diseases and the risk for livestock and public health.** *Ungulate management in Europe: problems and practices*, 192-214.

Fischer, J. R., Gerhold, R. (2002) **La fauna silvestre como factor de riesgo para la salud animal y las zoonosis.** *Asamblea Mundial de los Delegados de la OIE 2002*, 281-289.

Gardner, L. A., Hietala, S., Boyce, W. M. (1996). **Validity of using serological tests for diagnosis of diseases in wild animals.** *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties* 15(1), 323-335.

Gargano, D., Mingozzi, A., Massolo, A., Rinaldo, S., & Bernardo, L. (2012). **Patterns of vegetation cover/dynamics in a protected Mediterranean mountain area: Influence of the ecological context and protection policy.** *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 146(sup1), 9-18.

Garrido, J. L. (2012). **La caza. Sector económico. Valoración por subsectores.** *FEDENCA–EEC: Madrid*.

Gavier-Widén, D., Gortázar, C., Ståhl, K., Neimanis, A. S., Rossi, S., Hård av Segerstad, C., Kuiken, T. (2015). **African swine fever in wild boar in Europe: a notable challenge.** *Vet Rec*, 176, 199-200.

Geri, F., Amici, V., Rocchini, D. (2010). **Human activity impact on the heterogeneity of a Mediterranean landscape.** *Applied geography*, 30(3), 370-379.

Giacometti, M., Frey, J., Abdo, E. M., Janovsky, M., Krawinkler, M., Schlatter, S., Belloy, R., Fatzer, R., Nicolet, J. (2000). **Infectious keratoconjunctivitis.** *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 142(5), 235.

Gibbs, E.P. (1997). **The public health risks associated with wild and feral swine.** *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties (OIE)*, 16: 594-598.

Ginsberg, J. R., Milner-Gulland, E. J. (1994). **Sex-Biased Harvesting and Population Dynamics in Ungulates: Implications for Conservation and Sustainable Use.** *Conservation Biology*, 8(1), 157-166.

Giovannini, A. (2006). **National monitoring and surveillance.** *Veterinaria Italiana* 42(4), 407-429.

Gortázar, C., Herrero, J., Villafuerte, R. y Marco, J. (2000). **Historical examination of the status of large mammals in Aragon, Spain.** *Mammalia* 64(4), 411-422.

Gortázar, C., Vicente, J., Fierro, Y., León-Vizcaíno, L., Cubero, M.J., González, M. (2002). **Natural Aujeszky's disease in a Spanish wild boar population.** *Annals New York Academic of Sciences*, 969: 210-212.

Gortázar, C., Acevedo, P., Ruiz-Fons, F., Vicente, J. (2006). **Disease risks and overabundance of game species.** *European Journal of Wildlife Research* 52(2), 81-87.

Gortázar, C., Ferroglio, E., Höfle, U., Frölich, K., Vicente, J. (2007). **Diseases shared between wildlife and livestock: a European perspective.** *European Journal of Wildlife Research* 53(4), 241-256.

Gortázar, C., Torres, M.J., Vicente, J., Acevedo, P., Reglero, M., de la Fuente, J., Negro, J.J., Aznar-Martín, J. (2008). **Bovine tuberculosis in Doñana Biosphere Reserve: the role of wild ungulates as disease reservoirs in the last Iberian lynx strongholds.** *PLoS ONE*, 3(7): e2776.

Gortázar, C., Reperant, L. A., Kuiken, T., de la Fuente, J., Boadella, M., Martínez-Lopez, B., Ruiz-Fons, F., Estrada-Pena, A., Drosten, C., Medley, G. Ostfeld, R., Peterson, T., VerCauteren, K. C., Menge, C., Artois, M., Schultsz, C., Delahay, R., Serra-Cobo, J., Poulin, R., FKeck, F., Aguirre, A. A., Henttonen, H., Dobson, A.P., Kutz, S., Lubroth, J., Mysterud, A. (2014). **Crossing the interspecies barrier: opening the door to zoonotic pathogens.** *PLoS Pathogens*, 10(6), e1004129.

Gortázar, C., Ruiz-Fons, J. F., Höfle, U. (2016). **Infections shared with wildlife: an updated perspective.** *European Journal of Wildlife Research*, 62(5), 511-525.

Guta, S., Casal, J., Napp, S., Saez, J.L., Garcia, A., Perez, B., Romero, B., Alvarez, J., Allepuz, A. (2014). **Epidemiological investigation of the causes of bovine tuberculosis herd breakdowns in Spain.** *Plos ONE* 9(8): e104383.

Holand, Ø., Mysterud, A., Røed, K. H., Coulson, T., Gjøstein, H., Weladji, R. B., & Nieminen, M. (2006). **Adaptive adjustment of offspring sex ratio and maternal**

reproductive effort in an iteroparous mammal. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 273(1584), 293-299.

Huang, Z. Y., de Boer, W. F., van Langevelde, F., Xu, C., Jebara, K. B., Berlingieri, F., Prins, H. H. (2013). **Dilution effect in bovine tuberculosis: risk factors for regional disease occurrence in Africa.** *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1765), 20130624.

Hudson, P. J. (2002). **The ecology of wildlife diseases** (P. J. Hudson, Ed.). Oxford University Press, Oxford.

Johnson, P. T., Preston, D. L., Hoverman, J. T., Richgels, K. L. (2013). **Biodiversity decreases disease through predictable changes in host community competence.** *Nature*, 494(7436), 230-233.

Johnston, A. R., Gillespie, T. R., Rwego, I. B., McLachlan, T. L. T., Kent, A. D., Goldberg, T. L. (2010). **Molecular epidemiology of cross-species *Giardia duodenalis* transmission in western Uganda.** *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(5), e683.

Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., & Daszak, P. (2008). **Global trends in emerging infectious diseases.** *Nature*, 451(7181), 990-993.

Jones, B., McKeever, D., Grace, D., Pfeiffer, D., Mutua, F., Njuki, J., McDermott, J., Rushton, J., Said, M., Ericksen, P., Kock, R. y Alonso, S. (2011). **Zoonoses (Project 1). Wildlife/domestic livestock interactions. A final report to the UK Department for International Development and ILRI.** Nairobi, Kenia: ILRI and Londres, Reino Unido: Royal Veterinary College.

Junta de Andalucía. (2003). **Ley 8/2003** de 28 de octubre, de la flora y la fauna silvestres.

Junta de Andalucía. (2005). **Decreto 182/2005**, de 26 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de Ordenación de la Caza

Junta de Andalucía (2007). **Decreto 232/2007** de 31 de julio por el que se aprueba el Plan Andaluz de Caza.

Junta de Andalucía (2008). **Caracterización socioeconómica de la dehesa de Andalucía.** *Consejería de Agricultura y Pesca*, 437 pp.

Junta de Andalucía (2009). **Mapa de usos y coberturas vegetales de Andalucía 1956-1999-2003, escala 1:25,000.** Consejería de Medio Ambiente, Sevilla, España.

Junta de Andalucía (2016).

<http://www.juntadeandalucia.es/organismos/agriculturapescaydesarrollorural/consejeria/sobre-consejeria/estadisticas/paginas/ganaderia-censos-ganaderos.html>

- Hackendahl, N. C., Mawby, D. I., Bemis, D. A., Beazley, S. L. (2004). **Putative transmission of *Mycobacterium tuberculosis* infection from a human to a dog.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225(10), 1573-1577.
- Hardstaff, J. L., Marion, G., Hutchings, M. R., White, P. C. (2013). **Evaluating the tuberculosis hazard posed to cattle from wildlife across Europe.** *Research in Veterinary Science*. doi: 10.1016/j.rvsc.2013.12.002.
- Herruzo, A. C., Martinez-Jauregui, M. (2013). **Trends in hunters, hunting grounds and big game harvest in Spain.** *Forest Systems*, 22(1), 114-122.
- Hoinville, L. J., Alban, L., Drewe, J. A., Gibbens, J. C., Gustafson, L., Hasler, B., Saegerman, C., Salman, M., Stark, K. D. (2013). **Proposed terms and concepts for describing and evaluating animal-health surveillance systems.** *Preventive Veterinary Medicine* 112(1-2), 1-12.
- Hugh-Jones, M. E., Hubbert, W. T., Hagstad, H. V. (2000). **Zoonoses: recognition, control and prevention.** Iowa State University Press, Iowa (EEUU).
- INE Instituto Nacional de Estadística (2014). **Cifras de población y Censos demográficos.** http://www.ine.es/inebmenu/mnu_cifraspob.htm
- Kahn, L. H., Kaplan, B., Steele, J. H. (2007). **Confronting zoonoses through closer collaboration between medicine and veterinary medicine (as 'one medicine').** *Veterinaria Italiana Series* 43, 5-19.
- Kaplan, B., Kahn, L. H., Montath, T. P. (2009). **The brewing storm.** *Veterinaria Italiana Series* 45, 9-18.
- Keesing, F., Holt, R. D., Ostfeld, R. S. (2006). **Effects of species diversity on disease risk.** *Ecology Letters*, 9(4), 485-498.
- Kock, R.A. (2005). **What is this infamous "wildlife/livestock disease interface?" A review of current knowledge for the African continent.** En: Osofsky, S.A. (Eds). *Conservation and development interventions at the wildlife/livestock interface: implications for wildlife, livestock and human health.* IUCN, Gland, Switzerland.
- Kuiken, T., Leighton, F. A., Fouchier, R. A. M., LeDuc, J. W., Peiris, J. S. M., Schudel, A., Stohr, K., Osterhaus, A. D. M. E. (2005). **Pathogen surveillance in animals.** *Science* 309(5741), 1680-1681.
- Kuiken, T., Ryser-Degiorgis, M. P., Gavier-Widen, D., Gortazar, C. (2011). **Establishing a European network for wildlife health surveillance.** *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties* 30(3), 755-761.

Kukielka, E., Barasona, J. A., Cowie, C. E., Drewe, J. A., Gortázar, C., Cotarelo, I., Vicente, J. (2013). **Spatial and temporal interactions between livestock and wildlife in South Central Spain assessed by camera traps.** Preventive Veterinary Medicine, 112(3), 213-221.

Langedijk, J. P., Middel, W. G., Meloen, R. H., Kramps, J. A., de Smit, J. A. (2001). **Enzyme-linked immunosorbent assay using a virus type-specific peptide based on a subdomain of envelope protein E(rns) for serologic diagnosis of pestivirus infections in swine.** *Journal of Clinical Microbiology* 39(3), 906-912.

Leighton, A. (1995). **Surveillance of wild animal diseases in Europe.** *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 14(3), 819-830.

Leiva, J.E. (2001). **El manejo de poblaciones de ungulados salvajes en el suroeste español.** XXVI Jornadas Científicas y V Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Sevilla.

León-Vizcaíno, L., Ruiz de Ybañez, M.R., Cubero, M.J., Ortiz, J.M., Espinosa, J., Pérez, L., Simón, M.A. Alonso, F. (1999). **Sarcoptic mange in Spanish ibex from Spain.** *Journal of Wildlife Diseases*, 35: 647-659.

Marco, I., Lavin, S. (1999). **Effect of the method of capture on the haematology and blood chemistry of red deer (Cervus elaphus).** *Research in veterinary science*, 66(2), 81-84.

Martin, C., Pastoret, P. P., Brochier, B., Humblet, M. F., Saegerman, C. (2011). **A survey of the transmission of infectious diseases/infections between wild and domestic ungulates in Europe.** *Veterinary research*, 42(1), 1.

May, R.M., Anderson R.M. (1979). **Population biology of infectious diseases.** *Nature*, 280: 455-461.

Messenger, A. M., Barnes, A. N., Gray, G. C. (2014). **Reverse Zoonotic Disease Transmission (Zooanthroponosis): A Systematic Review of Seldom-Documented Human Biological Threats to Animals.** *PLoS ONE*, 9(2), e89055.

Michel, A.L. (2002). **Implications of tuberculosis in African wildlife and livestock.** *Annals of the New York Academy of Sciences*, 969: 251-255.

Michel, A. L., Venter, L., Espie, I. W., Coetzee, M. L. (2003). **Mycobacterium tuberculosis infections in eight species at the National Zoological Gardens of South Africa, 1991-2001.** *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 34(4), 364-370.

Moran, J. (1993). **Calf Rearing – A Guide to Rearing Calves in Australia.** AgMedia. NSW Feedlot manual Feb (1997), NSW Agriculture.

Moreno, G., Pulido, F. J. (2009). **The functioning, management and persistence of dehesas**. In *Agroforestry in Europe* (pp. 127-160). Springer Netherlands.

Mörner, T., Obendorf, D. L., Artois, M., Woodford, M. H. (2002). **Surveillance and monitoring of wildlife diseases**. *Revue Scientifique et Technique de L'Office International des Epizooties* 21(1), 67-76.

Mörner, T., Beasley, V. (2012). **Chapter 22: Monitoring for Diseases in Wildlife Populations**. En *Ecosystem Health and Sustainable Agriculture* (L. Norrgren, and J. Levenson, Eds.), pp. 186-190. The Baltic University Programme, Uppsala (Suecia).

Moutou, F. (2004). **Même en épidémiologie, un peu de zoologie ne peut pas faire de mal**. *Épidémiologie et Santé Animale* 45, 121-123.

Müller, T., Teuffert, J., Ziedler, K., Possardt, C., Kramer, M., Staubach, C., Conraths, F. J. (1998). **Pseudorabies in the European wild boar from eastern Germany**. *Journal of Wildlife Diseases* 34(2), 251-258.

Mulero-Mendigorry, A. (2013). **El paisaje forestal-cinegético en Sierra Morena**. *Cuadernos Geográficos*, 52, 108-128.

Mulvey, M., Aho, J.M. (1993). **Parasitism and mate competition: liver flukes in white tailed deer**. *Oikos* 66: 187-192.

Muñoz, P. M., Boadella, M., Arnal, M., de Miguel, M. J., Revilla, M., Martínez, D., Vicente, J., Acevedo, P., Oleaga, A., Ruiz-Fons, F., Marín, C., Prieto, J.M., DE la Fuente, J., barral, M., Barberán, M., Fernández de Luco, D., Blasco, J.M., Gortazar, C. (2010). **Spatial distribution and risk factors of Brucellosis in Iberian wild ungulates**. *BMC infectious diseases*, 10(1), 1.

Mysterud, A. (2010). **Still walking on the wild side? Management actions as steps towards 'semi-domestication' of hunted ungulates**. *Journal of Applied Ecology*, 47(4), 920-925.

Nugent, G. (2011). **Maintenance, spillover and spillback transmission of bovine tuberculosis in multi-host wildlife complexes: a New Zealand case study**. *Veterinary Microbiology*, 151(1), 34-42.

OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal) (2010). **Manual de formación sobre las enfermedades y la vigilancia de los animales silvestres**. Disponible *online* en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/International_Standard_Setting/docs/pdf/WGWildlife/E_Training_Manual_Wildlife.pdf

Palmer, M.V., Waters, W.R., Whipple, D. (2004a). **Investigation of the transmission of *Mycobacterium bovis* from deer to cattle through indirect contact**. *American Journal of Veterinary Research*, 65: 1483-1489.

Palmer, M. V., Thacker, T. C., Waters, W., Gortázar, C., Corner, L. A. (2012). ***Mycobacterium bovis*: a model pathogen at the interface of livestock, wildlife, and humans.** *Veterinary Medicine International*. ID 236205.

Pence D.B., Ueckermann E. (2002). **Sarcoptic mange in wildlife.** *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties (OIE)*, 21: 385-398.

Perea, R. (2014). **El papel de la caza mayor en la gestión y conservación de los hábitats.** *Ambienta*, 108: septiembre 2014.

Perea, R., Girardello, M., San Miguel, A. (2014). **Big game or big loss? High deer densities are threatening woody plant diversity and vegetation dynamics.** *Biodiversity and conservation*, 23(5), 1303-1318.

Pérez, J., Calzada, J., León-Vizcaíno, L., Cubero, M.J., Velarde, J., Mozos, E. (2001). **Tuberculosis in an Iberian lynx (*Lynx pardinus*).** *Veterinary Record*, 148: 414-415.

Pérez-González, J., Frantz, A. C., Torres-Porras, J., Castillo, L., Carranza, J. (2012). **Population structure, habitat features and genetic structure of managed red deer populations.** *European journal of wildlife research*, 58(6), 933-943.

Purse, B. V., Brown, H. E., Harrup, L., Mertens, P. P., Rogers, D. J. (2008). **Invasion of bluetongue and other orbivirus infections into Europe: the role of biological and climatic processes.** *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 27(2), 427-442.

Putman, R. J., Staines, B. W. (2004). **Supplementary winter feeding of wild red deer *Cervus elaphus* in Europe and North America: justifications, feeding practice and effectiveness.** *Mammal Review*, 34(4), 285-306.

RASVE (Red de Alerta Sanitaria Veterinaria) (2013). **Plan nacional de vigilancia sanitaria en fauna silvestre.** Disponible *online* en:
<http://rasve.mapa.es/publica/programas/NORMATIVA%20Y%20PROGRAMAS%5CPROGRAMAS%5CFAUNA%20SILVESTRE%5CPLAN%20NACIONAL%20DE%20VIGILANCIA%20EN%20FAUNA%20SILVESTRE.PDF>

RASVE (Red de Alerta Sanitaria Veterinaria) (2014). **Programa nacional de vigilancia epidemiológica de peste porcina clásica, peste porcina africana, enfermedad vesicular porcina y enfermedad de Aujeszky en poblaciones de jabalíes.** Disponible *online* en:
<http://rasve.magrama.es/Publica/Programas/NORMATIVA%20Y%20PROGRAMAS/PROGRAMAS/FAUNA%20SILVESTRE/PROGRAMA%20NACIONAL%20DE%20VIGILANCIA%20SANITARIA%20EN%20JABALIES%202014.PDF>

Rhyan, J. C., Spraker, T. R. (2010). **Emergence of diseases from wildlife reservoirs.** *Veterinary Pathology Online*, 47(1), 34-39.

Rediam 2016

<http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/vem/?c=Tabla/indicador/1326>

Renwich, A.R., White, P.C.L., Bengis, R.G. (2007). **Bovine tuberculosis in African wildlife: a multispecies host-pathogen system.** *Epidemiology and Infection*, 135: 529-540.

Rivera, M.(1991). **Caza y agricultura en zonas de montaña.** *Agricultura y sociedad*, (58), 113-146.

Rodríguez-Prieto, V., Martínez-López, B., Barasona, J. Á., Acevedo, P., Romero, B., Rodríguez-Campos, S., Gortazar, C., Sánchez-Vizcaino, J.M., Vicente, J. (2012). **A Bayesian approach to study the risk variables for tuberculosis occurrence in domestic and wild ungulates in South Central Spain.** *BMC veterinary research*, 8(1), 1.

Rodríguez-Hidalgo, P., Gortázar, C., Tortosa, F. S., Rodríguez-Vigal, C., Fierro, Y., Vicente, J. (2010). **Effects of density, climate, and supplementary forage on body mass and pregnancy rates of female red deer in Spain.** *Oecologia*, 164(2), 389-398.

Romero, B., Rodríguez, S., Bezos, J., Díaz, R., Copano, M.F. de Juan, L. (2011). **Humans as source of *Mycobacterium tuberculosis* infection in cattle, Spain.** *Emerging and Infectious Diseases* 17: 2393–2395.

Roux, B. (1975). **Crisis agraria en la sierra andaluza.** Universidad Sevilla, Universidad de Sevilla-Instituto de Desarrollo Regional.

Ruiz-Fons, F., Vidal, D., Höfle, U., Vicente, J., Gortázar, C. (2007). **Aujeszky's disease virus infection patterns in European wild boar.** *Veterinary microbiology*, 120(3), 241-250.

Ruiz-Fons, F., Segalés, J., Gortázar, C. (2008). **A review of viral diseases of the European wild boar: effects of population dynamics and reservoir role.** *The Veterinary Journal*, 176(2), 158-169.

Ruiz-Fons, F. (2015). **A review of the current status of relevant zoonotic pathogens in wild swine (*Sus scrofa*) populations: changes modulating the risk of transmission to humans.** *Transboundary and emerging diseases*.

Sáenz de Buruaga, M. y Carranza, J. (2008). **Gestión cinegética en los ecosistemas mediterráneos.** *Consejería de Medio Ambiente.* Junta de Andalucía. 540 págs.

San Miguel, A. (2004). **Gestión de pastos para la caza mayor.** *Trofeo* 432: 88-96.

- Scotch, M., Brownstein, J. S., Vegso, S., Galusha, D., Rabinowitz, P. (2011) **Human vs. animal outbreaks of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic.** *Ecohealth*, 8, 376–380.
- Siembieda, J. L., Kock, R. A., McCracken, T. A., Newman, S. H. (2011). **The role of wildlife in transboundary animal diseases.** *Animal Health Research Reviews*, 12(1), 95.
- Sommer, S. (2005). **The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation.** *Frontiers in Zoology*, 2:16.
- Staubach, C., Schmid, V., Knorr-Held, L., Ziller, M. (2002). **A Bayesian model for spatial wildlife disease prevalence data.** *Preventive Veterinary Medicine* 56(1), 75-87.
- Stewart, K.M., Bowyer, R.T., Dick, B.L., Johnson, B.K., Kie, J.G. (2005). **Density-dependent effects on physical condition and reproduction in North American elk: an experimental test.** *Oecologia*, 143: 85-93.
- Tackmann, K., Löschner, U., Mix, H., Staubach, C., Thulke, H. H., Conraths, F. J. (1998). **Spatial distribution patterns of *Echinococcus multilocularis* (Leuckart 1863) (Cestoda: Cyclophyllidae: Taeniidae) among red foxes in an endemic focus in Brandenburg, Germany.** *Epidemiology and Infection* 120(1), 101-109.
- Thorne, E. T., Miller, M. W., Schmitt, S. M., Kreeger, T. J., Williams, E. S. (2000). **Conflicts of authority and strategies to address wildlife diseases.** En *104th Annual Meeting of the United States Animal Health Association*. 20-27 de octubre de 2000, Birmingham, Alabama (EEUU), 123-137.
- Tompkins, D. M., Dunn, A. M., Smith, M. J., Telfer, S. (2011). **Wildlife diseases: from individuals to ecosystems.** *Journal of Animal Ecology* 80(1), 19-38.
- Torres-Porras, J., Carranza, J., Pérez-González, J., Mateos, C., Alarcos, S. (2014). **The tragedy of the commons: unsustainable population structure of Iberian red deer in hunting estates.** *European journal of wildlife research*, 60(2), 351-357.
- Turner, M. M., Deperno, C. S., Conner, M. C., Eyler, T. B., Lancia, R. A., Klaver, R. W. Stoskopf, M. K. (2013). **Habitat, wildlife, and one health: *Arcanobacterium pyogenes* in Maryland and Upper Eastern Shore white-tailed deer populations.** *Infection, Ecology & Epidemiology*. doi: 10.3402/iee.v3i0.19175.
- Van Campen, H., Rhyan, J. (2010). **The role of wildlife in diseases of cattle.** *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*, 26: 147-161.
- Vicente, J., Ruiz-Fons, F., Vidal, D., Höfle, U., Acevedo, P., Villanúa, D., Fernández-de-Mera, I.G., Martín, M.P., Gortázar, C. (2005). **Serosurvey of Aujeszky's disease virus infection in European wild boar in Spain.** *Veterinary Record*, 156: 408-412.

Vicente, J., Höfle, U., Garrido, J.M., Fernández-De-Mera, I.G., Juste, R., Barral, M., Gortázar, C. (2006). **Wild boar and red deer display high prevalences of tuberculosis-like lesion in Spain.** *Veterinary Research*, 37: 107-119.

Vicente, J., Höfle, U., Garrido, J.M., Acevedo, P., Juste, R., Barral, M., Gortázar, C. (2007). **Risk factors associated with the prevalence of tuberculosis-like lesions in fenced wild boar and red deer in south central Spain.** *Veterinary Research*, 38: 451-464.

Warns-Petit, E., Artois, M., Calavas, D. (2009). **Biosurveillance de la faune sauvage.** *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France* 162(3), 205-213.

Warren, R.J. (1997). **The challenge of deer overabundance in the 21st century.** *Wildlife Society Bulletin*, 25: 213-214.

Williams, E. S., Yuill, T., Artois, M., Fischer, J. Haigh, S. A. (2002). **Emerging infectious diseases in wildlife.** *Revue Scientifique et Technique de L'Office International des Epizooties* 21(1), 139-157.

Wilcox, B. A. Gubler, D. J. (2005). **Disease ecology and the global emergence of zoonotic pathogens.** *Environmental Health and Preventive Medicine* 10(5), 263-72.

Yale, G., Bhanurekha, V., Ganesan, I. (2013). **Anthropogenic factors responsible for emerging and reemerging infectious diseases.** *Current Science*, 105: 940-946.

Zinsstag, J., Schelling, E., Waltner-Toews, D. Tanner, M. (2011). **From "one medicine" to "one health" and systemic approaches to health and well-being.** *Preventive Veterinary Medicine* 101(3-4), 148-156.

AGRADECIMIENTOS.

A mis compañeros del Departamento de Sanidad Animal por su apoyo y ayuda en el desarrollo de esta Tesis, muy especialmente a Nacho García Bocanegra, Antonio Arenas Casas y Anselmo perea Ramujo.

A Oscar Cabezón por su inestimable apoyo.

A Prado por su ayuda y paciencia.