

negativamente en la biodiversidad local, ya que pueden transmitir enfermedades y desplazar a especies autóctonas (Abarca, 2006).

Resulta oportuno resaltar que éste es el segundo registro en que *S. manisorum* depreda un vertebrado del orden Squamata, puesto que en 2010 se reportó en Honduras la depredación de *Anolis lemuringus* (Frazier *et al.*, 2010). Sin embargo, ésta es la primera vez que se reporta la depredación sobre una especie de la familia Gekkonidae, como lo

es *Hemidactylus* sp. Por lo tanto, se sugiere realizar estudios para determinar la funcionalidad de *S. manisorum* en el control de las poblaciones de este reptil alóctono, que podrían contribuir a comprender el valor ecológico de esta rana.

AGRADECIMIENTOS: Se agradece a M. Pacheco, propietaria del lugar donde ocurrió el evento, por no intervenir en el proceso natural de depredación. También se agradece a C. Marín y A. Lara por la revisión del manuscrito.

REFERENCIAS

- Abarca, J. 2006. Gecos caseros (*Hemidactylus*): biología e impacto en Costa Rica. *Ambientico*, 159: 2-6.
- Barragán, J. & Woolrich, G. 2016. *Smilisca baudinii* (tree frog, Mexican *Smilisca*). Diet. Other Contributions. Nature Notes. Nayarit, México. *Mesoamerican Herpetology*, 3: 710-711.
- Díaz, L. 2012. *Respiración, transpiración y tolerancia a la desecación de Agalychnis callidryas y Smilisca baudinii (Anura: Hylidae) a temperatura actual y elevada*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Yucatán. Yucatán. México.
- Frazier, J., Montgomery, C. & Boback, S. 2010. Natural History Notes. *Smilisca baudinii* (Mexican Treefrog). Diet. *Herpetological Review*, 41: 207-208.
- Leenders, T. 2016. *Amphibians of Costa Rica*. Zona Tropical Publication. Ithaca, New York. USA.
- McCranie, J.R. 2017. Morphological and systematic comments on the Caribbean lowland population of *Smilisca baudinii* (Anura: Hylidae) in northeastern Honduras, with the resurrection of *Hyla manisorum* Taylor. *Mesoamerican Herpetology*, 4: 513-526.
- Muñoz, F. & Dennis, R. 2013. *Amphibians and Reptiles of Costa Rica*. Zona Tropical Publication. Ithaca, New York. USA.
- Pinto, K. & Bruno, E. 2018. Natural history notes: *Smilisca baudinii* (Mexican Treefrog) and *Incilius luetkenii* (Yellow Toad). Interspecific amplexus. *Herpetological Review*, 49: 101-102.
- Recuero, E., Martínez, I. & Parra, G. 2004. *Smilisca baudinii* (Anura: Hylidae) in Baja California Sur, México. *Herpetological Review*, 35(3): 296.
- Savage, J. 2002. *The amphibians and reptiles of Costa Rica*. The University of Chicago Press. Chicago. USA.
- Thompson, M., Ray, C. & Donnelly, M. 2015. Microhabitat use of recently metamorphosed mexican treefrogs in Palo Verde National Park, Guanacaste province, Costa Rica. *Herpetological Review*, 46: 168-170.

Primer caso documentado de ranavirrosis en Castilla y León en una población de gallipato, *Pleurodeles waltl* Michahelles, 1830

M. Fabio Flechoso*, Gonzalo Alarcos & Ricardo Jara

Servicio Territorial de Medio Ambiente de Zamora. Junta de Castilla y León. España. *C.e.: fabioflechoso@hotmail.com

Fecha de aceptación: 7 de abril de 2019.

Key words: amphibian, emerging disease, massive mortality, Spain, ranavirus.

La ranavirrosis es una patología que se encuentra dentro de las denominadas nuevas enfermedades emergentes infecciosas, las cuales están asolando y diezmando las poblaciones de anfibios a nivel mundial. Esta enfermedad se considera una infección sistémica provoca-

da por un miembro del género *Ranavirus* de la familia Iridoviridae. Desde la descripción de la enfermedad en anfibios en el año 1986, se han aislado ranavirus en anuros, urodelos y reptiles en América, Europa, Asia y Australia (Speare & Smith, 1992; Drury *et al.*, 1995; Zupanovic

et al., 1998; Chinchar, 2002; Hyatt *et al.*, 2002; Xia *et al.*, 2009; Martínez-Silvestre *et al.*, 2017). A nivel descriptivo, los ranavirus presentan viriones grandes de 150–170 nm, icosaédricos con un genoma de ADN bicatenario de 150-170 kb, replicándose tanto en el núcleo como en el citoplasma (Chinchar *et al.*, 2005).

Los anfibios se ven afectados tras una exposición por baño o después de abrasiones provocadas en el laboratorio (Cunningham *et al.*, 2007; 2008). No obstante, se conocen bastantes casos de infecciones naturales incluyendo larvas, metamorfos y adultos en anuros y urodelos sabiéndose que, además de los anfibios, pueden infectarse de la misma forma peces y reptiles (Carey *et al.*, 2003a, 2003b; Cullen & Owens, 2002; Daszak *et al.*, 2003). Los vectores o vehículos de transmisión son múltiples, incluyendo cualquier tipo de arte o cebo de pesca. También se ha comprobado que las aves son posibles vectores mecánicos, puesto que los ranavirus pueden ser vehiculados en el intestino, en las plumas, en las patas y en el pico (Whittington *et al.*, 1996). Aunque los ranavirus probablemente resulten inactivados por las temperaturas corporales habituales de las aves (40–44° C), no se descarta que los ranavirus puedan propagarse por regurgitación de material ingerido en cues-

tión de pocas horas tras la ingesta. Además, se han observado casos de infección en anfibios por la exposición al sedimento de lugares donde se han producido muertes por ranavirus (Whittington *et al.*, 1996). También pueden producirse infecciones por ranavirus por contacto entre animales, por la ingesta de animales infectados, moribundos o muertos (Cullen & Owens, 2002; Picco & Collins, 2008).

Los ranavirus son extremadamente resistentes, tanto a la desecación como a la congelación (Langdon, 1989; Whittington *et al.*, 1996), aunque se inactivan con etanol al 70%, con concentraciones de 200 mg·litro⁻¹ de hipoclorito de sodio o por calentamiento a 60° C durante 15 minutos. También se ha comprobado que se ven afectados por una solución de 150 mg·litro⁻¹ de clorhexidina (Novasan® al 0,75%), 180 mg·litro⁻¹ de hipoclorito de sodio (lejía al 3%) o 200 mg·litro⁻¹ de peroximonosulfato de potasio (Virkon® al 1%) (Bryan *et al.*, 2009).

Existen varias técnicas de detección de *Ranavirus*, entre las que destaca la reacción en cadena de la polimerasa o PCR. Esta técnica se puede llevar a cabo en menos de 24 horas a un coste relativamente bajo (Manual Acuático de la OIE, 2012). En este caso se optó por la técnica PCR cuanti-



Figura 1: Charca 1. Medio acuático donde se observaron los ejemplares adultos y larvas de gallipato muertos (*Pleurodeles waltl*). 19/07/2018.



Figura 2: Charca 2. Medio acuático cercano a la charca de incidencia. Se observa vegetación acuática y sin alteraciones de orillas. 19/07/2018.

tativa (qPCR), una variante de la PCR, que permite cuantificar de forma absoluta el ADN vírico con una precisión muy alta, permitiendo la detección de niveles muy bajos del ADN diana.

El día 15 de julio de 2018 observamos 20–30 ejemplares de gallipato muertos y/o moribundos en una charca de unos 400 m² de superficie (charca 1; Figura 1) ubicada en el término municipal de Corrales del Vino (Zamora). Teniendo en cuenta la superficie muestreada y el volumen de agua de la charca se estimó que la mortalidad en masa podría alcanzar a 60–70 ejemplares.

El día 19 de julio observamos siete larvas de gallipato muertas dentro de la charca, más un ejemplar adulto muerto y momificado a unos metros fuera de la misma. No detectamos a simple vista ninguna otra larva ni adulto de ninguna otra especie de anfibio en toda la charca, pero sí la presencia de una garza real (*Ardea cinerea*) probablemente alimentándose de los ejemplares muertos. La charca apenas presentaba macrófitos y su perímetro estaba desprovisto de vegetación, probablemente como consecuencia de las operaciones de limpieza y aumento del vaso, efectuadas el año anterior. El agua de la charca presentaba un color oscuro por probables aportes de materia orgánica, y a simple vista la fauna de insectos

acuáticos parecía reducida. Por otro lado, no tenemos conocimiento de especies invasoras ni ningún tipo de actividad piscícola en la zona.

El mismo día visitamos otra charca de superficie similar distante unos 1300 metros y, aparentemente, en mejor estado de conservación (charca 2; Figura 2). Aparentemente, esta segunda charca no presentaba ninguna agresión, y su vegetación acuática, tanto dentro como en las orillas, era abundante, no observándose ejemplares de anfibios enfermos o muertos. Observamos larvas de tritón jaspeado *Triturus marmoratus* (Latreille, 1800), gallipato y abundantes ranas comunes *Pelophylax perezi* (López Seoane, 1885) en diferentes estadios vitales (larvas, metamórficos y adultos), así como numerosas especies de odonatos.

El día 23 de julio recogimos un ejemplar muerto de gallipato en la charca 1 (Figura 3) y la muestra conservada en hielo seco se envió para su análisis al laboratorio del Dr. J. Bosch en el Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC. Se confirma el positivo para *Ranavirus* mediante qPCR del tejido hepático, estimándose una carga viral superior a $3 \cdot 10^7$ copias, incompatible con la vida. La muestra resultó negativa para el hongo quitridio *Batrachochytrium dendrobatidis* mediante qPCR. Los resultados de los análisis fueron comunicados a la Junta de Castilla y León con fecha 6 de agosto, al tratarse de una enfermedad de declaración obligatoria.

El día 9 de agosto realizamos una última visita a ambas charcas, no observándose en la charca 1 ningún ejemplar de gallipato muerto y unas 6–8 ranas vivas (juveniles) en la orilla. En la charca 2 no apreciamos cambios respecto de la visita anterior. Visitamos dos nuevas charcas cercanas, donde observamos metamórficos, larvas y adultos vivos y en aparente buen estado de rana verde común, pero no larvas ni adultos.



Figura 3: Larva de gallipato moribunda hallada en la charca 1 y afectada por *Ranavirus*. 15/07/2018.

Tras las visitas realizadas a la zona, todo el material de trabajo fue desinfectado cuidadosamente con hipoclorito sódico, siguiendo estrictamente el protocolo de desinfección adoptado.

El hecho de que no se haya observado incidencia de la ranavirrosis en otras masas de agua cercanas que no han sufrido agresiones ambientales, apoya la hipótesis ampliamente aceptada en la literatura del papel del estrés ambiental en el desarrollo de la enfermedad y su mortalidad masiva asociada.

Este caso representa el primero confirmado de ranavirrosis en la provincia de Zamora. También sería el primer caso documentado en la Comunidad Autónoma de Castilla y León, ya que en la provincia de Burgos se confirmó en junio de 2017 un brote de ranavirrosis en sapo partero (*Alytes obstetricans*), que fue comunicado a las autoridades y para el que se realizaron labores de desinfección (Jaime Bosch, comunicación personal). En España existen casos bien documentados de mortalidad masiva asociada a *Ranavirus* en Galicia y Asturias (Price *et al.*, 2014) y Cataluña (Martinez-Silvestre *et al.*, 2017), y casos puntuales de mortalidad en varias provincias como Hues-

ca, Zaragoza, Guipúzcoa, Albacete y Madrid (Jaime Bosch, comunicación personal).

La extrema resistencia y rápida dispersión de este patógeno altamente peligroso para la herpetofauna hace necesario cumplir estrictamente los protocolos de limpieza y desinfección del material que haya estado en contacto con medios acuáticos, con objeto de evitar la transmisión de éste y otros patógenos de anfibios. Además, el caso aquí descrito aconseja la puesta en marcha de trabajos de campo para analizar la incidencia real de la ranavirrosis en el territorio. De hecho, tras la comunicación del caso a las autoridades competentes se ha puesto en marcha un estudio por parte de la Asociación Herpetológica Española, y financiado por la Junta de Castilla y León, por el que se están llevando a cabo los muestreos periódicos y análisis moleculares de muestras.

AGRADECIMIENTOS: A la Junta de Castilla y León y a la Asociación Herpetológica Española (A.H.E.) por su interés, colaboración y rapidez en la gestión y elaboración de un protocolo de actuación, así como al Dr. J. Bosch por el análisis molecular de las muestras aportadas. La Junta de Castilla y León ha otorgado las autorizaciones de muestreo de anfibios correspondientes para la elaboración de este trabajo.

REFERENCIAS

- Bryan, L.K., Baldwin, C.A., Gray, M.J. & Miller, D.L. 2009. Efficacy of select disinfectants at inactivating *Ranavirus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 84: 89–94.
- Carey, C., Bradford, D.F., Brunner, J.L., Collins, J.P., Davidson, E.W., Longcore, J.E., Ouellet, M., Pessier, A.P. & Schock, D.M. 2003a. Biotic factors in amphibian population declines. *In*: Linder, G., Sparling, D.W. & Krest, S.K. (eds.). *Multiple stressors and declining amphibian populations*. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC). Pensacola, Florida, USA.
- Carey, C., Pessier, A.P. & Peace, A.D. 2003b. Pathogens, infectious disease, and immune defenses. 127–136. *In*: Semlitsch, R.D. (ed.). *Amphibian conservation*. Smithsonian Institution, Washington, DC. USA.
- Chinchar, V.G. 2002. Ranaviruses (family Iridoviridae): emerging cold-blooded killers – brief review. *Archives of Virology*, 147: 447–470.
- Chinchar, G., Essbauer, S., He, J.G., Hyatt, A., Miyazaki, T., Selig, V. & Williams, T. 2005. Family Iridoviridae. 145–161. *In*: Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U. & Ball, L.A., (eds.). *Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Eight Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses*. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Cullen, B.R. & Owens, L. 2002. Experimental challenge and clinical cases of Bohle Iridovirus (IVB) in native Australian anurans. *Diseases of Aquatic Organisms*, 49: 83–92.
- Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., Russell, P. & Bennett, P.M. 2007. Emerging epidemic diseases of frogs in Britain are dependent on the source of ranavirus agent and the route of exposure. *Epidemiology and Infection*, 135: 1200–1212.

- Cunningham, A.A., Tams, C.A. & Russell, P.H. 2008. Immunohistochemical demonstration of Ranavirus antigen in the tissues of infected frogs (*Rana temporaria*) with systemic haemorrhagic or cutaneous ulcerative disease. *Journal of Comparative Pathology*, 138 (1): 3–11.
- Daszak, P., Cunningham, A.A. & Hyatt, A.D. 2003. Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*, 9: 141–150.
- Drury, S.E.N., Gough, R.E. & Cunningham, A.A. 1995. Isolation of an iridovirus-like agent from common frogs (*Rana temporaria*). *Veterinary Record*, 137: 72–73.
- Hyatt, A.D., Williamson, M., Coupar, B.E.H., Middleton, D., Hengstberger, S.G., Gould, A.R., Selleck, P., Wise, T.G., Kattenbelt, J., Cunningham, A.A. & Lee, J. 2002. First identification of a ranavirus from green pythons (*Chondropython viridis*). *Journal of Wildlife Diseases*, 38: 239–252.
- Langdon, J.S. 1989. Experimental transmission and pathogenicity of epizootic haematopoietic necrosis virus (VNHE) in redbfin perch, *Perca fluviatilis* L., and 11 other teleosts. *Journal of Fish Diseases*, 12: 295–310.
- Manual Acuático de la OIE. 2012. Capítulo 2.1.2. *Infección por ranavirus*. Versión adaptada en la Asamblea Mundial de Delegados de la OIE en mayo de 2011.
- Martinez-Silvestre, A., Montori, A., Oromi, N., Soler, J. & Marsang, R. 2017. Detection of a Ranavirus in introduced newts in Catalonia (NE Spain). *Herpetology Notes*, 10: 23–26.
- Picco, A.M. & Collins, J.P. 2008. Amphibian commerce as a likely source of pathogen pollution. *Conservation Biology*, 22: 1582–1589.
- Price, S.J., Garner, T., Nichols, R., Balloux, F., Ayres, C., Mora-Cabello de Alba, A. & Bosch, J. 2014. Collapse of amphibian communities due to an introduced ranavirus. *Current Biology*, 24: 2586–2591.
- Speare, R. & Smith, J.R. 1992. An iridovirus-like agent isolated from the ornate burrowing frog *Limnodynastes ornatus* in northern Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*, 14: 51–57.
- Whittington, R.J., Kearns, C., Hyatt, A.D., Hengstberger, S. & Rutzou, T. 1996. Spread of epizootic haematopoietic necrosis virus (VNHE) in redbfin perch (*Perca fluviatilis*) in southern Australia. *Australian Veterinary Journal*, 73: 112–114.
- Xia, L., Cao, J., Huang, X. & Qin, Q. 2009. Characterization of Singapore grouper iridovirus (SGIV) ORF086R, a putative homolog of ICP18 involved in cell growth control and virus replication. *Archives of Virology*, 154 (9): 1409–1416.
- Zupanovic, Z., Musso, C., Lopez, G., Loureiro, C.L., Hyatt, A.D., Hengstberger, S. & Robinson, A.J. 1998. Isolation and characterisation of iridoviruses from the giant toad *Bufo marinus* in Venezuela. *Diseases of Aquatic Organisms*, 33: 1–9.

Primer espirúrido adulto encontrado en *Calotriton asper*

Alberto Gosá¹, Pilar Navarro², Ion Garin-Barrio¹ & Ane Fernández¹

¹ Departamento de Herpetología. Sociedad de Ciencias Aranzadi. Cl. Zorroagaina, 11. 20014 San Sebastián. España. C.e.: agosa@aranzadi.eus

² Departamento de Zoología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universitat de València. Cl. Doctor Moliner, 50. 46100 Burjassot (Valencia). España.

Fecha de aceptación: 3 de junio de 2019.

Key words: Spiruromorpha, Nematoda, Pyrenean Brook Salamander, Navarra.

En el transcurso de un censo poblacional de anfibios en la Zona Especial de Conservación Roncesvalles-Selva de Irati (Navarra), el 1 de septiembre de 2018 se capturó un macho subadulto de *Calotriton asper* (longitud cabeza-cuerpo: 55,01 mm) en el arroyo Loibeltza (coordenadas datum ETRS89: 656271; 4762488; altitud de 1009 msnm). El ejemplar contenía un nematodo que afloraba al exterior por la cloaca (Figura 1). El parásito fue extraído en su totalidad para su posterior identificación, pero no pudo ser almacenado en las debidas condiciones: permaneció deshidratado durante las 48 horas posteriores a su extracción, mo-

mento en que fue medido (longitud de 53,89 mm) y preservado en alcohol. Los restos fueron enviados posteriormente al departamento de Zoología de la Universidad de Valencia para su identificación.

El helminto pudo ser adscrito, a pesar de su deterioro, al infraorden Spiruromorpha De Ley & Blaxter, 2002, fundamentalmente sobre la base de los caracteres de su región anterior, que parece hallarse provista de dos pseudolabios laterales y de un esófago muscular en su porción anterior (Figura 2). Puede apreciarse la existencia de espinas cuticulares a lo largo del cuerpo y de un ano,