

PREVALENCIA DE BRUCELOSIS, TUBERCULOSIS Y PARATUBERCULOSIS EN CORZOS CAZADOS EN GALICIA (NO DE ESPAÑA) EN 2007-2008

FRANCISCO JAVIER PATO*, LUIS VÁZQUEZ, VICENTE DACAL, CEFERINO MANUEL LÓPEZ,
ROSARIO PANADERO, NOELIA LAGO, PATROCINIO MORRONDO & GONZALO FERNÁNDEZ

Enfermedades Infecciosas y Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Departamento de
Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela.
27002 Lugo (España). (franciscoj.pato@rai.usc.es)*

RESUMEN

El propósito de este estudio es contribuir al conocimiento de algunas infecciones bacterianas que afectan al corzo (*Capreolus capreolus*). Entre mayo de 2007 y octubre de 2008 un total de 367 corzos se cazaron en diferentes áreas de Galicia (NO de España). La mayoría de los animales eran machos con edades comprendidas entre tres y diez años. Por otro lado, se utilizaron las técnicas de Rosa de Bengala (RB; como test de cribado) y el test de fijación de complemento (FC; como test de confirmación) para el diagnóstico de la brucelosis en 299 muestras de suero. Sólo un suero resultó finalmente positivo a la FC. El diagnóstico de la paratuberculosis en 65 corzos fue llevado a cabo mediante las técnicas de tinción de Ziehl-Neelsen (ZN), examen histopatológico y cultivo de tejidos. No se encontraron lesiones macroscópicas o microscópicas compatibles con paratuberculosis ni se detectó por ninguna de las técnicas empleadas presencia y/o crecimientos bacterianos. El estudio de tuberculosis se llevó a cabo en 55 corzos mediante tinción Ziehl-Neelsen (ZN) y cultivo bacteriano utilizando diferentes tejidos (pulmón y nódulos linfáticos mediastínicos o retrofaríngeos). En ninguna de las muestras se identificaron lesiones macroscópicas compatibles con tuberculosis y tampoco presencia ni crecimiento de micobacterias con las técnicas del ZN y cultivo bacteriológico. Los resultados demuestran que en una zona como Galicia donde la prevalencia de las enfermedades estudiadas en rumiantes domésticos es muy baja (paratuberculosis: 1.47%, tuberculosis: 0.19% y brucelosis: 0.11%; Diéguez *et al.* 2007, RASVE 2007) el nivel de infección de los corzos es muy bajo o nulo. Este hecho permite suponer que los corzos en Galicia no actúan como reservorios para los animales domésticos.

Palabras clave: brucelosis, corzo, Galicia, paratuberculosis, tuberculosis

ABSTRACT

*Prevalence of brucellosis, tuberculosis and paratuberculosis in roe deer hunted
from Galicia (N.W. of Spain) in 2007-2008*

The purpose of this study is to contribute to the knowledge of some bacterial infections which affect roe deer (*Capreolus capreolus*). From May 2007 to October 2008 a total of 367

roe deer were captured from different areas in Lugo province (N.W. Spain). All the animals were males aged between 3 and 10 years old. On the other hand rose Bengal test (RBT) and complement fixation test (CFT; as confirmatory test) were techniques performed to accomplish the diagnosis of brucellosis of 299 serum samples. The diagnosis of paratuberculosis in 65 roe deer was performed by the Ziehl-Neelsen stain (ZNS), histopatological examination and by tissue culture techniques. Individual ileocecal valve stamps were ZN stained previously to search the presence of single acid fast bacilli and later a bacteriological culture was carried out. Using these techniques neither paratuberculosis lesions nor the presence or growth were detected. The diagnosis of tuberculosis was realized by the Ziehl-Neelsen stain and tissue culture techniques in 55 roe deer. In any samples were identified lesions compatible with tuberculosis and neither presence nor growth of micobacteriae after ZNS and bacteriological culture were detected. The results show that in an area like Galicia, where the prevalence of diseases studied in domestic ruminants is very low (paratuberculosis: 1.47%, tuberculosis: 0.19% and brucellosis: 0.11%; Diéguez et al. 2007, RASVE 2007), the level of infection of roe deer is very low or zero. This fact suggests that roe deer in Galicia do not act as reservoirs for domestic ruminants.

Keywords: brucellosis, roe deer, Galicia, paratuberculosis, tuberculosis.

INTRODUCCIÓN

El estudio de las enfermedades que afectan a la fauna silvestre en libertad comenzó centrándose en la transmisión de las mismas desde los animales silvestres al hombre (zoonosis). De hecho, organismos internacionales como la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) o la Organización Mundial de la Salud (OMS) reafirman la relevancia de la fauna silvestre con respecto a la salud en humanos. Sin embargo, en los últimos años se tiene muy en cuenta la salud de los propios animales silvestres y la posibilidad de que los mismos estén actuando como reservorios de diversas enfermedades que afectarían al ganado doméstico. La protección de la de la sanidad en los animales silvestres es una manera de preservar la salud de los animales domésticos y por ende la del hombre; además de mantener un patrimonio y un equilibrio biológico natural (Diez-Baños e Hidalgo-Argüello 2006).

Los animales, y más concretamente la fauna silvestre, son considerados como la fuente de más del 70% de todas las enfermedades emergentes (Gortázar *et al.* 2008). Además en la última década, la fauna silvestre ha participado en diversas emergencias sanitarias veterinarias en la Unión Europea como la Lengua Azul o la Influenza Aviar.

El corzo, el más pequeño de los cérvidos españoles, está ampliamente distribuido en el noroeste de España y especialmente en Galicia, donde es considerada una especie de caza que genera múltiples ventajas económicas. Existen determinados factores que pueden repercutir negativamente sobre el estado sanitario de los corzos, como el que exista contacto con otros ungulados domésticos y silvestres, que se den situaciones de elevadas densidades poblacionales o incluso restricciones en los recursos alimentarios. En Europa aproximadamente la mitad de los corzos que mueren por causas no traumáticas lo hacen a consecuencia de enfermedades víricas, bacterianas (las más frecuentes) o fúngicas, o complicaciones de las mismas (Gortázar y Vicente 2008).

Desde hace aproximadamente dos décadas se están realizando diferentes estudios sobre las principales infecciones de etiología parasitaria en corzos abatidos en Galicia, comprobando la existencia de prevalencias e intensidades de infección muy elevadas (Morrondo *et al.* 2008). Sin embargo, no existen estudios previos sobre enfermedades infecciosas de estos cérvidos en nuestra comunidad.

Tanto la tuberculosis como la brucelosis son objeto, al igual que en muchos países del mundo, de programas de erradicación basados en sistemas de vigilancia y eliminación de animales afectados, que han conseguido disminuir su prevalencia en especies domésticas a niveles muy bajos (Morris *et al.* 1994). En el caso de la paratuberculosis, es objeto de control por medio de programas voluntarios desarrollados por las Agrupaciones de Defensa Sanitaria (A.D.S). La prevalencia de las tres enfermedades estudiadas en ganado doméstico en Galicia es muy baja: 1,47% de paratuberculosis (Diéguez *et al.* 2007), 0,19% de tuberculosis y 0,11% de brucelosis (RASVE 2007). Sin embargo, debido a la dificultad de alcanzar una completa erradicación de estas enfermedades se contempla la posibilidad de que las especies salvajes puedan ser reservorios de estas enfermedades y transmitir las

al ganado doméstico. Así, se ha citado al tejón (*Meles meles*) como reservorio de la tuberculosis en el Reino Unido (Donelli *et al.* 2005), y al jabalí (*Sus scrofa*) o el ciervo (*Cervus elaphus*) en nuestro país (Serraino *et al.* 1999, Gortázar *et al.* 2002, 2008). El corzo comparte diversos hábitats como pastos y praderas con el ganado doméstico (especialmente en producción extensiva), lo que podría favorecer el intercambio de ciertas enfermedades de etiología infecciosa.

La **brucelosis** es una enfermedad contagiosa del ganado doméstico que produce abortos y/o alteraciones reproductivas. Es una zoonosis producida por bacterias del género *Brucella* con importantes consecuencias económicas. En diversos estudios se han descrito casos de brucelosis en fauna silvestre, afectando a jabalí, cérvidos, cabra montés y liebre europea entre otros (Godfroid 2002, Gortázar 2008). Las prevalencias por brucelosis en ungulados silvestres son bajas o nulas y sólo hay excepciones en el caso de especies más gregarias o por circunstancias en las que se favorece un mayor contacto entre animales. (Hubalek *et al.* 1993, Gaffuri *et al.* 2006).

La **paratuberculosis** (enfermedad de Johne) es una infección de distribución mundial que afecta a animales domésticos y silvestres. Se caracteriza por pérdida de peso y de la condición corporal. El agente etiológico es *Mycobacterium avium paratuberculosis* (MAP), que causa una enteritis inflamatoria crónica. Los hospedadores naturales son el ganado vacuno, caprino y ovino, así como cérvidos y camélidos. No se ha demostrado aún su carácter zoonótico, pero sin embargo se sigue discutiendo su relación con la enfermedad de Crohn en humanos. Su importancia radica en su largo período de incubación, las elevadas pérdidas económicas, su cronicidad, una elevada resistencia en el medio y las limitaciones de su diagnóstico en el laboratorio. En las últimas décadas se ha estudiado la transmisión del patógeno entre rumiantes domésticos y silvestres, siendo el riesgo muy alto cuando se comparten los pastos. MAP está bien documentada en vacuno, ovino y caprino pero hay poca información en cérvidos silvestres (Jessup y Williams 1999, Marco *et al.* 2002, Reyes-García *et al.* 2008). Algunos estudios han mostrado que otros animales pueden actuar como reservorios y vectores de esta enfermedad, por lo que la epidemiología del MAP puede ser muy compleja (Greig *et al.* 1999, Beard *et al.* 2001).

La **tuberculosis** está causada por *Mycobacterium bovis*, y en los últimos años está emergiendo como uno de los patógenos más importantes de los mamíferos silvestres (Morris *et al.* 1994). Este patógeno presenta un rango muy amplio de hospedadores incluyendo al hombre, la mayoría del ganado doméstico y a la fauna silvestre en general (O'Reilly y Daborn 1995). En el corzo sólo se ha descrito esporádicamente casos de tuberculosis en diversos países, a pesar de la amplia distribución y abundancia de este cérvido. En España, Balseiro *et al.* (2009) han notificado el primer caso de corzo afectado por *Mycobacterium bovis* en Valdés (Asturias). El estudio de estas enfermedades en el corzo es de gran utilidad tanto para la gestión de las poblaciones de este rumiante salvaje como para los programas de control y erradicación en los rumiantes domésticos

ÁREA Y POBLACIÓN DE ESTUDIO

Galicia es la Comunidad española con mayor densidad de corzo, siendo éste el ungulado silvestre con mayor crecimiento demográfico, aunque existen grandes diferencias territoriales respecto a su densidad. El corzo tiene un gran interés cinegético y las diferentes administraciones públicas y los particulares que gestionan los TECORES (Terrenos Cinegéticamente Ordenados) gallegos están realizando un gran esfuerzo e inversión para que se incremente el número de cazadores que acudan desde otras partes de España y de Europa (Vázquez *et al.* 2007).

El corzo es un rumiante silvestre capaz de adaptarse a distintos medios, encontrándose poblaciones de este ungulado en una gran variedad de hábitats. En Galicia en los últimos tiempos el abandono del rural ha provocado que el estrato agrario esté conformado por un mosaico de parcelas de cultivo y extensiones medias o pequeñas de monte, que constituyen el hábitat ideal para este pequeño rumiante silvestre.

La expansión del corzo en nuestra comunidad es un hecho relativamente reciente que se ha producido en los últimos treinta años del siglo pasado y que continúa en la actualidad hacia el occidente de la comunidad, expansión limitada principalmente por el trazado de la autopista AP-9. Esta expansión se produjo, principalmente, a partir de las poblaciones de las áreas montañosas de la provincia

de Ourense, de la Sierra de los Ancares (Lugo y Ourense) y de la Sierra do Xistral (Lugo) (Figura 1).



Figura 1. Expansión del corzo en Galicia y evolución de la densidad de las poblaciones en la última década.

MATERIAL Y MÉTODOS

A través de los presidentes o responsables de los TECORES se coordinó la obtención de datos y muestras. Para cada corzo muestreado se rellenó una ficha de campo numerada, identificando las vísceras con el número correspondiente, y se obtuvieron dos tubos al vacío (Vacutainer®) sin anticoagulante.

En total fueron tomadas muestras de 367 corzos: 48 de uno a dos años de edad (todos machos) y 319 de tres a diez años de edad (278 machos y 41 hembras). Se analizaron 299 para brucelosis, 65 para detectar paratuberculosis y 55 para tuberculosis.

Las técnicas empleadas en el diagnóstico serológico para brucelosis fueron el Rosa de Bengala (test de cribado) y la Fijación de Complemento (test de confirmación). En una placa se dispensaron 30 microlitros de cada suero para analizar con los correspondientes controles positivo y negativo y 30 microlitros del antígeno para cada caso. Se mezcló cuidadosamente el antígeno y cada suero

agitando la placa durante 4 minutos para su lectura inmediata. La presencia de aglutinación (incluso leve) se consideró positiva. Un total de 67 sueros presentaron diferentes grados de aglutinación por lo que posteriormente fueron remitidos al Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Galicia (LA.SA.PA. GA), laboratorio oficial para el diagnóstico de la brucelosis en Galicia, donde fue realizada la Fijación de Complemento.

En cuanto a las pruebas diagnósticas empleadas, tanto el RB como la FC son pruebas descritas en el Manual de Diagnósticos de la Organización Internacional de Epizootias (OIE 2004). El RB por su sencillez y elevada sensibilidad es la prueba de elección para ensayos de cribado. El alto porcentaje de positivos a RB se debe al criterio de interpretación utilizado para asegurar la máxima sensibilidad en esta prueba a la hora de seleccionar las muestras a las que se realizó posteriormente la prueba de FC para su confirmación.

El diagnóstico de la paratuberculosis se llevó a cabo sobre 65 corzos mediante examen histopatológico, cultivo y tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) de improntas de válvula ileocecal. Para el cultivo bacteriológico, cada válvula ileocecal fue descontaminada mediante el método del Cloruro de hexadecilpiridinio (HPC) y cultivada en medios de yema de huevo Herrold (HEYM), tres con micobactina y uno sin micobactina (para determinar la dependencia de micobactina). A continuación estos medios fueron colocados en sus correspondientes gradillas inclinadas y sin cerrar durante los primeros días hasta que secaron del todo. Se incubaron en una estufa a 37°C durante veinte semanas. Los medios se observaron periódicamente desde la primera semana de incubación para el control del crecimiento macroscópico bacteriano.

Para el estudio histopatológico de cada válvula ileocecal las muestras se fijaron en formol tamponado al 10% durante 24 horas. Tras el tallado de las muestras, se introdujeron en un procesador automático de tejidos, donde fueron deshidratadas en gradientes crecientes de etanol. A continuación se pasaron a xilol y se incluyeron finalmente en parafina líquida (51-53°C). Se valoraron a 400 aumentos cortes de cuatro micras de grosor realizadas con un microtomo y teñidos con la tinción ZN. El estudio de **tuberculosis** se llevó a cabo mediante tinción Ziehl-Neelsen (ZN) y cultivo bacteriano en 55 corzos. Las muestras empleadas fueron pulmón y

nódulos mediastínicos y para siete de esos animales también se procesaron los nódulos retrofaríngeos, ya que por las condiciones del estudio no se pudieron obtener todas las muestras deseables para el diagnóstico de la enfermedad.

Se exploró la superficie de cada pulmón buscando lesiones compatibles con la infección por micobacterias. En los casos en los que no se encontró lesión en los órganos se recogieron muestras, para aislamiento, de al menos tres zonas distintas del pulmón (≥ 5 g en total). Las muestras se conservaron a -20°C hasta su posterior uso.

Se realizaron tres improntas de las lesiones encontradas. En los pulmones que no presentaban lesiones se obtuvieron las tres improntas de tres zonas diferentes del órgano. Una vez secas y fijadas al calor, las improntas se tiñeron con la tinción de ZN para identificar los bacilos ácido-alcohol resistentes. Las muestras fueron descontaminadas por el método del NaCl-NaOH (Mycropep DB). El sedimento resultante se inoculó en dos tipos de medio que contienen piruvato (Lowenstein-Jensen y Colletsos, dos inoculaciones por medio). El crecimiento macroscópico se evaluó semanalmente a lo largo de un periodo de incubación de ocho semanas a 37°C .

Para estas enfermedades, tanto el cultivo en medio de yema de huevo Herrold (paratuberculosis) como en Lowenstein-Jensen y Colletsos (tuberculosis) son los métodos más ampliamente utilizados para diagnosticar las infecciones y son los recomendados por la OIE. Ambos presentan una gran especificidad y una menor sensibilidad (Gilmour 1985, Collins 1996, Adams 2001). En el caso de la tuberculosis, dadas las características del estudio, no se pudieron conseguir las muestras idóneas para su análisis en todos los casos, por lo que no se puede descartar la existencia de animales infectados aunque, de existir, lo serían en baja proporción.

RESULTADOS

En el diagnóstico de **brucelosis**, de las 299 muestras serológicas que fueron inicialmente analizadas con Rosa de Bengala (screening), sólo 67 presentaron alguna reacción de aglutinación visible en algún grado. Sólo un suero resultó finalmente positivo a la FC.

No se encontraron lesiones compatibles con **paratuberculosis** ni se detectó presencia y/o crecimientos bacterianos en ninguno de los 65 corzos incluidos en este estudio.

Asimismo en ninguno de los 55 animales estudiados se hallaron lesiones macroscópicas compatibles con **tuberculosis**. Del mismo modo, en el procesado de las muestras con la tinción Ziehl-Nielsen, no se observó en ningún caso presencia de micobacterias ni crecimiento bacteriano en los aislamientos realizados, ni durante el período de incubación correspondiente.

DISCUSIÓN

La prevalencia de las enfermedades estudiadas en los corzos de nuestra comunidad es baja o nula, lo que coincide con los resultados de otros estudios con esta especie.

En estudios previos sobre brucelosis en diversas especies de cérvidos, incluyendo el corzo, se han encontrado prevalencias muy bajas o nulas (Bourque & Higgins 1984, Kingscote *et al.* 1987, Cuteri *et al.* 1999, Gaffuri *et al.* 2006). Del mismo modo, en trabajos sobre el *Mycobacterium avium paratuberculosis* realizados sobre corzos en Europa, los porcentajes de infección observados oscilaron entre el 0 y el 2,9% (Blancou 1983, Dedek *et al.* 1991, Gennero *et al.* 1993, Aguirre *et al.* 1999, Pavlik *et al.* 2000, Gutiérrez 2000, Machackova *et al.* 2004) y en ningún caso superaron el 13%.

En el caso de *Mycobacterium bovis* las porcentajes de infección en esta especie han sido también nulos o muy bajos (Delahay *et al.* 2007, Zanella *et al.* 2008), a pesar de que en otras especies de cérvidos, como el ciervo (*Cervus elaphus*) o el gamo (*Dama dama*), sí se han observado prevalencias elevadas.

Para explicar estos valores de prevalencia nulos o reducidos, los investigadores apuntan a diferentes causas:

- La mayoría consideran al ganado doméstico como la principal fuente de infección de estas enfermedades para los silvestres, sobre todo a través de pastos compartidos (Jessup *et al.* 1981, Pacetti *et al.* 1994, Pavlik *et al.* 2000, Marco *et al.* 2002, Machackova *et al.* 2004, Gaffuri *et al.* 2006). Lo que concuerda con las bajas prevalencias de estas enfermedades señaladas en el ganado doméstico de

la comunidad de Galicia (Diéguez et al. 2007, RASVE 2007).

- Otros autores sostienen que el corzo posee una menor susceptibilidad a las infecciones que otros cérvidos, al tratarse de un animal muy selectivo en cuanto a alimentación (Mussa et al. 2003) y conociéndose además que son menos gregarios que otras especies de cérvidos (Delahay et al. 2007, Zanella et al. 2008) lo que disminuiría la potencialidad de adquirir y mantener enfermedades infecciosas.

CONCLUSIONES

- No se ha detectado infecciones por tuberculosis ni paratuberculosis y una muy baja prevalencia de brucelosis en corzos de la comunidad de Galicia, lo que puede estar asociado a una baja prevalencia de estas enfermedades en rumiantes domésticos en Galicia.
- A la vista de los resultados obtenidos podemos decir que el corzo no está actuando como un reservorio de infecciones para el ganado doméstico y en caso de infectarse lo más probable es que sea debido a contacto con rumiantes domésticos.

AGRADECIMIENTOS

Queremos manifestar nuestro agradecimiento a la Federación Gallega de Caza, a la Asociación del Corzo Español y muy especialmente a los presidentes, guías de rececho y, en general, a todos los cazadores de gallegos que nos han facilitado la recogida de muestras para este estudio. Asimismo, agradecemos al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (MEC) y a la Xunta de Galicia la concesión de los Proyectos de Investigación FAU2006-00006-00-00 y 07MRU034261PR, respectivamente.

REFERENCIAS

- 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: 1671-1680.
- Adams L.G. 2001. *In vivo* and *in vitro* diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection. *Revue des Sciences et Technologies* (OIE), 20(1): 304-3024.

- Aguirre A.A., Bröjer C. & Mörner T. (1999). Descriptive epidemiology of roe deer mortality in Sweden. *Journal of Wildlife Diseases*, 35(4): 753-762.
- Balseiro A., Oleaga A., Orusa R., Robetto S., Zoppi S., Dondo A., Gorla M., Gortázar C., Marín F.J. & Domenis L. 2009. Tuberculosis in roe deer from Spain and Italy. *The Veterinary Record*, 164 (15): 468-470.
- Beard P.M., Henderson D., Daniels M.J., Pirie A., Rudge K., Buxton D., Rhind S., Greig A., Hutchings M.R., Mckendrick I., Stevenson K. & Sharp J.M. 2001. Paratuberculosis infection of nonruminant wildlife in Scotland. *Journal Clinical Microbiology*, 39: 1517-1521.
- Blancou J. 1983. Serological testing of wild roe deer (*Capreolus capreolus*) from the Trois Fontaines Forest region of Eastern France. *Journal of Wildlife Diseases*, 19 (3): 271-273.
- Bourque M.E & Higgins R. 1984. Serologic studies on brucellosis, leptospirosis and tularemia in moose (*Alces alces*) in Quebec. *Journal Wildlife Disease*, 20(2): 95-99.
- Collins M.T. 1996. Diagnosis of Paratuberculosis. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 12: 357- 371.
- Cuteri V., Diverio S., Carnieletto P., Turilli C. & Valente C. 1999. Serological survey for antibodies against selected infectious agents among fallow deer (*Dama dama*) in central Italy. *Zentralbl Veterinarmed B*, 46 (8): 545-549.
- Dedek J., Witt W., Loepelmann H., Nattermann H. & Knopke C. 1991. Results of serological tests of red deer, roe deer, fallow deer and mouflon for selected infections. *Monatshefte für Veterinarmedizin*, 46: 101-104.
- Delahay R.J., Smith G.C., Barlow A.M., Walker N., Harris A., Clifton-Hadley R.S. & Cheeseman C.L. 2007. Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the south-west region of England: a survey of prevalence and a semiquantitative assessment of the relative risks to cattle. *Veterinary Journal*, 173: 287-301.
- Diéguez F.J., Arnaiz I., Sanjuán M.L., Vilar M.J., López M. & Yus E. 2007. Prevalence of serum antibodies to *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in cattle in Galicia (northwest Spain). *Preventive Veterinary Medicine*, 14, 82 (3-4): 321-326.
- Diez-Baños N.E. & Hidalgo-Argüello M.R. 2006. Análisis del estado parasitario de rumiantes silvestres en el norte de Castilla y León. *Libro de Actas del 14º Congreso Internacional de la Fe.Me.S.P.Rum. Veinte años de Buiatría*. 95-102.
- Donnelly C.A. & Woodroffe R. 2005. Positive and negative effects of widespread badger culling on tuberculosis in cattle. *PNAS Applied Biological Sciences*, 103 (40): 14713-14717.
- Gaffuri A., Giacometti M., Tranquillo V.M., Magnino S., Cordioli P. & Lanfranchi P. 2006. Serosurvey of roe Deer, chamois and domestic Sheep in the Central Italian Alps. *Journal of Wildlife Diseases*, 42 (3): 685-690.

- Gennero M.S., Mandola M.L., Masoero L., Meneguz P.G., Meneghi D. & Derossi L. 1993. Serological survey in wild ruminants from Piedmont. *Societa Italiana delle Scienze Veterinarie*. 47. *National meeting. Session 3. Contagions diseases and pathologic anatomy*. Riccione, Forli (Italy).
- Gilmour N.J.L. 1985. *Mycobacterium paratuberculosis*. In: H. Blobel & T. Schlisser (eds). *Handbuch der Bakteriellen Infektionen bei Tieren*. Tomo V. Ed. Gustav Fisher, Jena. 658 pp.
- Gilmour N. & Nyange J. 1989. Paratuberculosis (Johne's disease) in deer. *Practice*, 11: 193-196.
- Goddard P.J. 1994. Johne's disease in red deer. *Veterinarity Deer Society Annual Meeting*.
- Godfroid J. 2002. Brucellosis in wildlife. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 21 (2): 277-286.
- Gortázar C. 2008. *Papel de la fauna silvestre como reservorio de zoonosis*. Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC). Centro Superior de Investigaciones Científicas-Universidad de Castilla La Mancha-Junta de Castilla la Mancha (online).
- Gortázar C. & Vicente J. 2008. *Breve revisión sobre enfermedades del corzo*. Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC). Centro Superior de Investigaciones Científicas-Universidad de Castilla La Mancha-Junta de Castilla la Mancha (online).
- Gortázar C., Boadella M. & Vicente J. 2008. Causas y soluciones para las enfermedades emergentes. *Club de caza*, 282.
- Greig A., Stevenson K., Henderson D., Perez V., Hughes V., Pavlik I., Hines I., Mckendrick I. & Sharp J.M. 1999. Epidemiological study of paratuberculosis in wild rabbits in Scotland. *Journal Clinical Microbiology*, 37: 1746-1751.
- Hubálek Z., Juricova Z., Svobodova I. & Halouzka J. 1993. A Serologic Survey for Some Bacterial and Viral Zoonoses in Game Animals in the Czech Republic. *Journal of Wildlife Diseases*, 29 (4): 604-607.
- Jessup D.A., Abbas B. & Behymer D. 1981. Paratuberculosis in tule elk in California. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 179: 1252-1254.
- Jessup D.A. & Williams E.S. 1999. Paratuberculosis in free-ranging wildlife in North America. In: M.E. Fowler & R.E. Miller (eds). *Zoo and wild animal medicine. Current Therapy 4*, W.B. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania. 616-620.
- Kingscote B.F., Yates W.D. & Tiffin G.B. 1987. Diseases of wapiti utilizing cattle range in southwestern Alberta. *Journal Wildlife Disease*, 23(1): 86-91.
- Machackova M., Svastova P., Lamkaa A.J.B., Parmova I., Liska V., Smolik J., Fischer O.A. & Pavlik I. 2004. Paratuberculosis in farmed and free-living wild ruminants in the Czech Republic (1999-2001). *Veterinary Microbiology*, 101: 225-234.
- Marco I., Ruiz M., Juste R., Garrido J.M. & Lavin S. 2002. Paratuberculosis in free-ranging fallow deer in Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, 38: 629-232.

- Morris R.S. & Pfeiffer D.U. 1994. Directions and issues in bovine tuberculosis epidemiology and control in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 43, 256-265.
- Morrondo P., Vázquez L., Pardo M., Dacal V., Díaz P., Paz A., Sánchez-Andrade R., Arias M.S., Uriarte J. & Díez-Baños P. 2008. Roe deer (*Capreolus capreolus*) as a reservoir of parasitic infections in domestic ruminants under field conditions in Galicia. *Libro de Actas del 16º Congreso Internacional de la Fe.Me.S.P.Rum*, 129-132.
- Mussa P.P., Aceto P., Abba C., Sterpone L. & Meineri G. 2003. Preliminary study on the feeding habits of roe deer (*Capreolus capreolus*) in the western Alps. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 87: 105-108.
- Organización Animal de Epizootias. 2004. *Manual of Diagnostic Tests & Vaccines for Terrestrial Animals*. Part 2, Section 2.2, Chapter 2.2.6.
- O'Reilly L. & Daborn C.J. 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle and Lung Disease*, 76: 1-46.
- Pacetti A., Belletti G., Fabbi M., Mutinelli F. & Genchi C. 1994. Paratuberculosis del cervo. *Obiettivi e documenti veterinari*, 4: 67-70.
- Pavlik I., Bartl J., Dvorska L., Svastova P., Du Maine R., Machackova M., Ayele W.Y. & Horvathova A. 2000. Epidemiology of paratuberculosis in wild ruminants studied by restriction fragment length polymorphism in the Czech Republic during the period 1995–1998. *Veterinary Microbiology*, 77: 231–251.
- Perumaalla V.S., Adams L.G., Payeur J.B., Jarnagin J.L., Baca D.R., Suarez-Guemes F. & Ficht T.A. 1996. Molecular epidemiology of *Mycobacterium bovis* in Texas and Mexico. *Journal Clinical Microbiology*, 34 (9): 2066-2071.
- RASVE (Red de Alerta Sanitaria Veterinaria). 2007. *Históricos sanitarios, Resumen Anual del Programa Nacional de Erradicación de Tuberculosis Bovina*.
- Reyes-García R., Pérez de la Lastra J.M., Vicente J., Ruiz-Fons F., Garrido J.M. & Gortázar C. 2008. Large-scale ELISA testing of Spanish red deer for paratuberculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 124: 75-81.
- Robino P., Nebbia P., Tramuta C., Martinet M., Ferroglio E. & De Meneghi D. 2007. Identification of *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* in wild cervids (*Cervus elaphus hippelaphus* and *Capreolus capreolus*) from Northwestern Italy. *Europe Journal Wildlife Research*, 54: 357- 360.
- Rodríguez-Rajo F.J., Frenguelli G. & Jato M.V. 2003. Effect of air temperature on forecasting the start of the *Betula* pollen season at two contrasting sites in the south of Europe (1995-2001). *International Journal of Biometeorology*, 47 (3): 117-125.
- Serraino A., Marchetti G., Sanguinetti V., Rossi M.C., Zanoni R.G., Catozzi L., Bandera A., Dini W., Mignone W., Franzetti F. & Gori A. 1999. Monitoring of transmission of tuberculosis between wild boars and cattle: genotypical analysis of strains by

molecular epidemiology techniques. *Journal Clinical Microbiology*, 37 (9): 2766-2771.

Vázquez L., Pardo M., Dacal V., Paz A., Panadero R., López C., Sánchez-Andrade R., Díez-Baños P. & Morrondo P. 2007. Importancia del conocimiento de las enfermedades parasitarias que afectan al corzo en Galicia. *Caza e Pesca Galega*, 32: 28-31.

Zanella G., Durand B., Hars J., Moutou F., Garin-Bastuji B., Duvauchelle A., Fermé M., Karoui C. & Boschioli M. L. 2008. *Mycobacterium bovis* in wildlife in France. *Journal of Wildlife Diseases*, 44: 99-108.