

# Paràsits trematodes al tritó del Montseny (*Calotriton arnoldi*): una nova amenaça?

ALBERT MARTÍNEZ-SILVESTRE<sup>1</sup>, ROSER VELARDE<sup>2</sup>, ALEXIS RIBAS<sup>3</sup>, BARBORA THUMSOVÁ<sup>4</sup> i JAIME BOSCH<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Centre de Recuperació d'Amfibis i Rèptils de Catalunya (CRARC)

<sup>2</sup>Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona

<sup>3</sup>Institut de Recerca de la Biodiversitat (UB-IRBio). Universitat de Barcelona

<sup>4</sup>Museo Nacional de Ciencias Naturales; CSIC; Asociación Herpetológica Española (AHE)

<sup>5</sup>Instituto Mixto de Investigación en Biodiversidad. CSIC-Universidad de Oviedo

## Resum

Entre el 2018 i el 2021 es van trobar dos exemplars de tritó del Montseny morts. D'altra banda, es van analitzar 5 tritons il·legals captius procedents de llibertat. L'estudi *post mortem* va incloure la necròpsia, la qPCR de pell per descartar la presència dels fongs *Batrachochytrium dendrobatidis* i *B. salamandrivorans*, la qPCR d'òrgans interns (fetge, melsa i estómac) per descartar la presència del virus *Ranavirus* i un estudi histològic. Totes les qPCR van resultar negatives. Histològicament es van detectar, en el 100% dels animals, nombrosos quists al fetge que podrien correspondre a formes larvàries de paràsits platihelminths (classe Trematoda). La infecció per metacercàries influeix en el cicle vital, els fa més vulnerables i en condiciona clarament els plans de conservació. Cal que els controls sanitaris incloguin l'estudi d'aquests patògens en el programa de recuperació de l'espècie.

## Paraules clau

Parasitologia, *Calotriton arnoldii*, Mesomycetozoea, Trematoda

## Resumen

### Parásitos trematodos en el tritón del Montseny (*Calotriton arnoldi*): ¿Una nueva amenaza?

Entre 2018 y 2021 se encontraron dos ejemplares de tritón del Montseny muertos. Además, se analizaron 5 tritones ilegales cautivos procedentes de libertad. El estudio *post mortem* incluyó necropsia, la qPCR de piel para descartar la presencia de los hongos *Batrachochytrium dendrobatidis* y *B. salamandrivorans*, la qPCR de órganos internos (hígado, bazo y estómago) para descartar la presencia del virus *Ranavirus* y un estudio histológico. Todas las qPCR resultaron negativas. Histológicamente se detectaron, en el 100% de los animales, numerosos quistes en el hígado que podrían corresponder a formas larvarias de parásitos platihelminths (clase Trematoda). La infección por metacercarias influye en el ciclo vital, les hace más vulnerables y condiciona claramente sus planes de conservación. Es necesario que los controles sanitarios incluyan el estudio de estos patógenos en el programa de recuperación de la especie.

## Palabras clave

Parasitología, *Calotriton arnoldii*, Mesomycetozoea, Trematoda

## Abstract

### Trematode Parasites on the Montseny Brook Newt (*Calotriton arnoldi*): a new threat?

Between 2018 and 2021, two Montseny brook newts were found dead. In addition, five illegal captive newts from the wild were also analysed. The post mortem study included necropsy, skin qPCR to rule out the presence of the fungi *Batrachochytrium dendrobatidis* and *B. salamandrivorans*, qPCR of internal organs (liver, spleen and stomach) to rule out the presence of *Ranavirus* and a histological study. All the qPCRs were negative. In the histology, numerous cysts were detected in the liver in all of the animals which might be larval forms of platyhelminth parasites (Trematoda class). Infection by metacercariae influences their life cycle, makes them more vulnerable and strongly affects their conservation plans. Health controls should include studying these pathogens in the species' recovery programme.

## Key words

Parasitology, *Calotriton arnoldii*, Mesomycetozoea, Trematoda

## Introducció

Les malalties que afecten la població salvatge de *Calotriton arnoldi* són poc conegudes. Essencialment s'han descrit cromatoforomes (tumors del tipus dels melanomes) de característiques benignes (MARTÍNEZ-SILVESTRE *et al.*, 2011) així com anomalies del desenvolupament i malformacions (MARTÍNEZ-SILVESTRE *et al.*, 2014). Ambdós processos patològics no s'ha vist que afectin la conservació de les poblacions salvatges. Tanmateix, dins del pla de vigilància sanitària passiva, cada any es fan anàlisis d'exemplars capturats malalts o morts per descartar la presència de patògens concrets i de malalties emergents. Dins d'aquest pla es descarten moltes malalties bacterianes, fúngiques, víriques i parasitàries. En el transcurs dels darrers quatre anys, s'han analitzat animals procedents de vida lliure als quals s'ha detectat la presència d'un tipus de paràsit que té una morbiditat elevada, i es desconeix si pot afectar el pla de conservació.

## Material i mètodes

En aquest estudi s'han analitzat un total de set animals:

Dos exemplars trobats morts en llibertat: el primer, trobat el 29 de juny de 2018, i el segon, trobat el 25 de juliol de 2021. Tots dos estaven molt a prop del rierol que es prospectava en aquell moment, però fora de l'aigua.

Cinc exemplars salvatges que es mantenien il·legalment en un domicili de Barcelona i van ser decomissats per Mossos d'Esquadra el mes d'abril de 2020. Els animals pertanyien a un grup de deu tritons d'aquest domicili que havien estat capturats en llibertat i que van estar diagnosticats prèviament del bacteri *Chlamydia*. En conseqüència, els animals quedaven exclosos de qualsevol pla de cria o d'alliberament. Van ser tractats però, a causa del caràcter recidivant del bacteri, els animals es debiliten i apareixen morts al cap d'un temps.

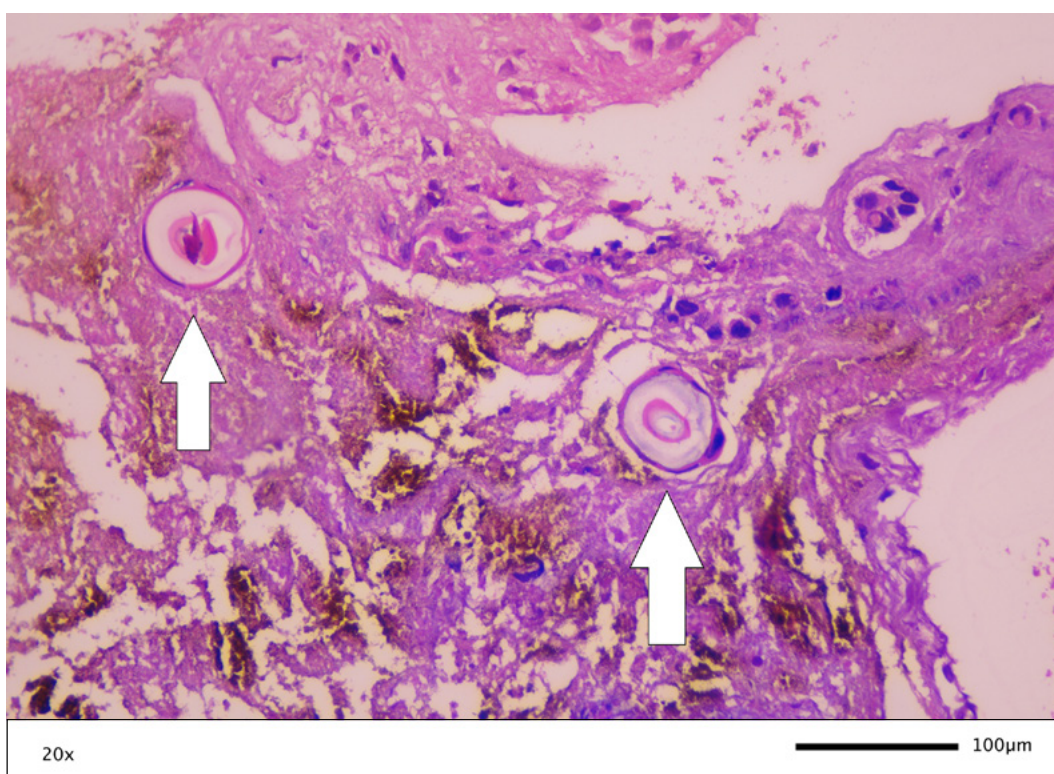
A tots els animals se'ls va fer un estudi *post mortem* que va consistir en la necròpsia, la qPCR cutània per descartar els fongs *Batrachochytrium dendrobatidis* i *B. salamandrivorans*, la PCR d'òrgans interns (fetge, melsa i estómac) per descartar el virus Ranavirus, i un estudi histològic complet (fetge, estómac, pell, greix, pulmons, intestí, ronyons i gònades).

## Resultats

Totes les qPCR van resultar negatives per a la presència de *B. dendrobatidis*, *B. salamandrivorans* i Ranavirus. Histològicament es van veure alguns quists al fetge que, primerament (en l'exemplar de 2018), feien dubtar sobre la seva classificació com a protozous paràsits descrits dins del grup protista de la classe Mesomyceto-

zoea (*Ichthyophonus*). Tanmateix, un examen més detallat i de la resta d'animals afectats, amb molts més quists identificats ([figura 1](#)), va permetre veure que coincideixen amb formes larvàries (metacercàries) de paràsits digenis (classe Trematoda). Els quists es van detectar no només al fetge, sinó també a la serosa intestinal, als lligaments, al teixit adipós i molt rarament al teixit muscular. Els quists van ser fotografiats i identificats, i en el moment de la redacció d'aquesta comunicació s'apliquen tècniques moleculars per confirmar a quin grup taxonòmic dins dels trematodes pertanyen els paràsits detectats, a partir de mostres de fetge dels animals infectats.

**Figura 1. Imatge histològica del fetge d'un tritó del Montseny. S'aprecien dos quists disposats dins del parènquima hepàtic i amb una reacció inflamatòria gairebé absent al seu voltant (fletxes). Tinció d'hematoxilina-eosina. X 200**



## Discussió

Els tritons captius provinents de llibertat també són positius per la presència de metacercàries, amb un resultat d'un 100% d'incidència. En altres espècies de tritons, la infecció per estadis larvaris de trematodes influeix en el cicle vital, els fa més vulnerables i afecta clarament els plans de conservació *in situ*.

El fet que els dos exemplars hagin estat trobats morts fora de l'aigua es pot explicar pel canvi comportamental possiblement provocat per aquest paràsit als seus hostes, que els fa més vulnerables a la depredació.

Els amfibis poden acollir una varietat àmplia de trematodes i cestodes, i aquesta situació es complica encara més perquè l'amfibi pot servir com a hoste definitiu o intermediari del paràsit, o fins i tot com a hoste paratènic. Les formes larvàries sovint es troben dins del cos de l'amfibi amb un mínim d'efectes patològics associats un cop enquistat. Aquests quists són el que hem detectat en el 100 % dels animals analitzats. Normalment no generen una malaltia evident i, si ho fan, estan en equilibri amb el nombre d'afectats. No obstant això, la migració de les formes larvàries pot provocar malaltia i dificultat de la supervivència. Els trematodes adults es troben habitualment al pulmó, bufeta urinària, ronyó, tracte gastrointestinal i pell. Un trematode (*Ribeiroia ondatrae*) s'ha relacionat amb el desenvolupament de les extremitats supranumeràries en un bufonid (*Bufo boreas*) i altres anomalies de les extremitats (WHITAKER; WRIGHT, 2019). Aquesta anomalia els predisposa a ser caçats i menjats pels seus depredadors per tal de tancar el cicle vital del paràsit. Els altres no provoquen malformacions anatòmiques però, sí comportamentals, que també els deixen més vulnerables a ser depredats. El nostre cas podria ser coincident en aquest darrer fet.

La detecció *ante mortem* és rara, a menys que el trematode sigui visible, com pot ser el cas de les infeccions cutànies, o si el trematode adult excreta ous, de manera que es poden detectar amb exàmens rutinaris de paràsits (per exemple, trematodes del tracte gastrointestinal o urinari). Aquest no sembla que sigui el cas nostre, ja que no s'ha observat cap estadi adult en els tritons analitzats ni en estudis previs (COMAS; RIBAS, 2015).

En comparació amb altres treballs fets en *Calotriton asper*, cal destacar que en aquesta espècie es troba una prevalença molt baixa de paràsits. Així doncs, al Pirineu aragonès Cerler i Oza descriuen una prevalença del 0,8 % de larves de nematodes de l'ordre *Spirurida* enquistades a la paret gàstrica, i una prevalença del 0,8 % de metacercàries de *Leptophallus nigrovenosus* al múscul i la pell (HORNERO; LLUCH; NAVARRO, dades no publicades, a MONTORI *et al.*, 2014). Al Pirineu català (Vall de Pi i d'Inglà, a Lleida) es descriu una prevalença del 17,9 % de larves de nematodes de l'ordre *Spirurida* i una prevalença de 3,1 % de metacercàries de *L. nigrovenosus* (NAVARRO; LLUCH; MONTORI, dades no publicades). Aquestes prevalences són molt baixes comparades amb el 100 % detectat al nostre estudi, cosa que fa preocupar sobre la salut poblacional del tritó del Montseny. El trematode *L. nigrovenosus* és típic de colúbrids, per tant, caldria suposar que *Natrix natrix* i *N. maura* podrien ser depredadores de *Calotriton asper* a la zona. Aquests dos depredadors podrien ser els mateixos en el cas dels nostres animals estudiats.

Per acabar, i a fi de donar pes a la necessitat de confirmació de l'espècie de paràsit, cal recordar que hi ha una espècie (*Renifer raniarium*) que és un paràsit americà que pertany al mateix grup però és una espècie introduïda (invasora) que ha començat a afectar amfibis italians (SANTORO *et al.*, 2011). Es desconeix com un paràsit introduït podria ser reconegut o no pel sistema immunitari del tritó del Montseny, i en podria afectar en major o menor grau la conservació.

En conseqüència, cal recomanar que els controls sanitaris han d'incloure sens falta l'estudi d'aquests patògens en el programa de recuperació del tritó del Montseny.

## Agraïments

A Fèlix Amat, Albert Montori, Daniel Fernández i els guardes del Parc del Montseny per la recollecció i el dipòsit dels animals. A Francesc Padrós (Dep. de Biologia, Fac. de Veterinària, UAB) per la seva orientació en la identificació parasitària.

## Bibliografia

- MARTINEZ-SILVESTRE, A.; AMAT, F.; BARGALLO, F.; CARRANZA, S. (2011): «Incidence of pigmented skin tumors in a population of wild Montseny Brook newt (*Calotriton arnoldi*)». *Journal of Wildlife Diseases*; núm. 47(2); p. 410-414. <<https://doi.org/10.7589/0090-3558-47.2.410>>.
- MARTINEZ-SILVESTRE, A.; AMAT, F.; CARRANZA, S. (2014). «Natural incidence of body abnormalities in the Montseny newt, *Calotriton arnoldi* Carranza and Amat, 2005». *Herpetology Notes*, núm. 7; p. 277-279.
- MONTORI, A.; LLORENTE, G. A. (2014): «Tritón pirenaico - *Calotriton asper*». A: SALVADOR, A., MARTÍNEZ-SOLANO, I. (ed.). *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Madrid: Museo Nacional de Ciencias Naturales. <<http://www.vertebradosibericos.org/>>.
- SANTORO, M.; TKACH, V. V.; MATTIUCCI, S.; KINSELLA, J. M.; NASCETTI, G. (2011): «*Renifer aniarum* (Digenea: Reniferidae), an introduced North American parasite in grass snakes *Natrix natrix* in Calabria, southern Italy». *Diseases of Aquatic Organisms*, núm. 95; p. 233-240.
- COMAS, M; RIBAS, A (2015): «Why are the prevalence and diversity of helminths in the endemic Pyrenean brook newt *Calotriton asper* (Amphibia, Salamandridae) so low?». *Journal of Helminthology*, núm. 89; p. 175-181.
- WHITAKER, B. R.; WRIGHT, K. M. (2019): «Amphibian Medicine». A: DIVERS, S. J.; STAHL, S. J. (ed.). *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. St Louis Missouri: Elsevier, p. 892-1013.