

Análisis espacial del riesgo por garrapatas de interés en Salud Pública: impacto del cambio climático.



Verónica Gil Pérez

(Trabajo Fin de Máster realizado en el marco del proyecto I-2010/031, ECDC/09/044, dentro del programa de cooperación entre Unizar y ECDC para el control de las zoonosis transmitidas por artrópodos)

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	Pág. 3
REVISIÓN: Fiebre Hemorrágica de Crimea- Congo.....	Pág. 6
- Origen.....	Pág. 6
- Evolución histórica.....	Pág. 6
- La situación actual.....	Pág. 7
- El ciclo de transmisión de FHCC.....	Pág. 8
1. Etiología.....	Pág. 8
2. Epidemiología.....	Pág. 9
3. El vector.....	Pág. 9
4. Entorno, clima y ecología.....	Pág. 10
5. Transmisión.....	Pág. 11
- Estrategias de intervención.....	Pág. 12
1. Vigilancia.....	Pág. 12
2. Diagnóstico.....	Pág. 13
3. Tratamiento.....	Pág. 13
4. Prevención y control.....	Pág. 13
MATERIAL Y MÉTODOS.....	Pág. 15
- Planteamiento.....	Pág. 15
- Datos climáticos.....	Pág. 16
- Modelado.....	Pág. 16
- Análisis estadístico.....	Pág. 17
- Clasificación del territorio en función de las tasas fisiológicas de <i>H. marginatum</i>	Pág. 18
- Evaluación de riesgos.....	Pág. 20
RESULTADOS.....	Pág. 21
DISCUSIÓN	Pág. 23

Introducción

Las enfermedades emergentes son en la actualidad una cuestión de creciente importancia, tanto en medicina humana como en sanidad animal, más aún cuando hablamos de zoonosis y de forma especial las enfermedades transmitidas por vectores (Tabachnick, 2010; Patz y Hahn, 2012)

Hasta tal punto han adquirido importancia que en 2014 la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha dedicado el día mundial de la salud a las enfermedades transmitidas por vectores. *“Los mosquitos, las moscas, las garrapatas y los caracoles de agua dulce pueden propagar patógenos que provocan enfermedades graves y la muerte”*. La OMS afirma que más de la mitad de la población mundial corre el riesgo de contraer alguna de estas enfermedades. El incremento de los viajes, el comercio y la migración ponen a todavía más personas en una posición vulnerable y así, se considera que el 40% de la población mundial corre el riesgo de contraer el dengue y que cada año se producen 1,3 millones de nuevos casos de leishmaniosis.

La OMS define **enfermedad emergente**, como la aparición de una enfermedad nueva que surge con gravedad y se difunde rápidamente en una zona, o de enfermedades ya conocidas y que incrementan su presencia y aparecen en zonas nuevas y/o en hospedadores nuevos, que incrementan su gravedad o en las que se manifiestan nuevos tipos de transmisión.

Cualquier enfermedad o infección que es transmitida naturalmente por los animales vertebrados a los seres humanos y viceversa se clasifica como una **zoonosis**, de acuerdo con la publicación de la PAHO "Zoonoses and communicable diseases common to man and animals" (PAHO, 2001)

Así pues, la emergencia de zoonosis es un hecho que no excluye a ninguna especie animal, ni a ningún tipo de agente infeccioso que potencialmente pudiera transmitirse entre las personas y animales vertebrados. Hoy en día, se considera que existen alrededor de 1.415 microorganismos patógenos para el hombre, de ellos el 61-65% son zoonosis y en torno al 12% de los mismos se definen como emergentes.

Un ejemplo claramente representativo de esas zoonosis antiguas que están emergiendo claramente es el caso de una enfermedad que ya en el 323 A.C. mató a Alejandro Magno como consecuencia de una encefalitis original de aves y que tiene un insecto como intermediario (vector), enfermedad que en 1999 emergió en los Estados Unidos y se extendió por todo el país afectando a personas y caballos, y que hoy conocemos como el virus West Nile.

Existen diferentes mecanismos que explican la emergencia de las zoonosis (Gandon *et al*, 2012). En la mayoría de casos, la aparición de enfermedades emergentes, ya sean nuevas enfermedades o la reaparición de otras “olvidadas”, también denominadas de la “pobreza” (neglected disease), puede estar asociada con cambios del entorno, especialmente ecológicos, que han favorecido el aumento de vectores.

La construcción de presas, zonas de regadío artificial y otros proyectos de desarrollo, la urbanización y la deforestación, el gran aumento de viajes y comercio internacional, así como el movimiento de los animales, ya sea consecuencia de la actividad ganadera o de forma natural como las aves migratorias, los cambios en las prácticas agrícolas o el propio clima, han expandido los agentes infecciosos, introduciéndolos dentro de áreas, en las cuales estaban ausentes hasta ahora, de manera que algunos vectores son capaces de moverse a distancias considerables.

Todo esto explica que uno de los tipos de zoonosis emergentes de mayor relevancia en los últimos años, son las enfermedades transmitidas por vectores. La relación que se establece entre vector, patógeno y hospedador puede ser muy estrecha, determinando un ciclo de vida del patógeno muy específico y condicionado por la biología, ecología y distribución del vector y su hospedador, hecho que muy probablemente esté ligado al cambio climático en gran parte de los casos.

Existen muchos vectores transmisores de zoonosis emergentes, pero entre ellos hay que recalcar el papel que desempeñan las garrapatas, consideradas el vector de una mayor variedad de zoonosis, como la Babesiosis, la encefalitis por garrapatas, la Borreliosis de Lyme o la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, que también están incluidas dentro de esas denominadas “zoonosis emergentes”. Estos vectores tienen ciclos biológicos que dependen de muchos factores, si bien se ha observado que las condiciones climáticas así como las diferentes poblaciones de vertebrados hospedadores pueden condicionar en gran medida ese ciclo vital (Medlock *et al.*, 2013).

El plan específico de estrategias emitido por el Centro Europeo de Control de Enfermedades (ECDC) para el periodo 2010-2013 (*Strategies for disease-specific programmes 2010–2013*), incluye un programa para las enfermedades emergentes y transmitidas por vectores, identificándolo como uno de los principales y más importantes problemas de Salud Pública que afecta a Europa. De 2010 a 2012, el programa da prioridad a las actividades relacionadas con las enfermedades transmitidas por garrapatas, centrándose principalmente en la enfermedad de Lyme, la encefalitis transmitida por garrapatas y la fiebre hemorrágica de Crimea Congo, y en segundo lugar de rickettsiosis. Se trata pues de un asunto de indiscutible actualidad e importancia por sus claras implicaciones sanitarias, sociales y económicas.

Dentro del carácter multifactorial de este tipo de enfermedades, debemos destacar el “inquietante” papel que juega el clima y/o el paisaje, por la cada vez más evidente presión que ambos ejercen sobre la distribución de vectores y microorganismos, y su dimensión, tan dependiente de la actividad del hombre así como de la naturaleza misma. Se ha venido especulando sobre el impacto que las tendencias del clima pueden tener sobre los artrópodos y las enfermedades que transmiten (Ostfeld *et al.*, 2005; Ogden *et al.*, 2008; Jaenson *et al.*, 2009).

Partiendo de esta premisa, en este proyecto se pretende evaluar el impacto de la tendencia del clima en los últimos 100 años en Europa, en el ciclo vital de una especie de garrapata con importancia en Salud Pública, *Hyalomma marginatum*. Esta garrapata, que en la

actualidad se encuentra ampliamente repartida por toda la región Mediterránea, es el único vector reconocido de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, una enfermedad vírica de pronóstico grave en seres humanos, que presenta la distribución más extensa de todos los virus transmitidos por artrópodos (Ergonul y Whitehouse, 2007). La reciente epidemia de la enfermedad en Turquía, la tendencia al alza del número de casos en áreas que no eran consideradas tradicionalmente como endémicas y el hallazgo de un foco activo del virus en España (Estrada-Peña *et al* 2012), obligan a revisar el estatus de este artrópodo en Europa.

Como otros artrópodos, las garrapatas dependen de un ajuste preciso en una serie de parámetros de temperatura y humedad relativa, que definen no solamente las zonas en las que pueden estar presentes, sino la velocidad de desarrollo de su ciclo vital y la mortalidad que se puede producir durante el mismo.

El modelo de simulación que pretendemos aplicar fue desarrollado, evaluado y comparado con la finalidad de establecer una línea base de distribución del parásito en la cuenca Mediterránea (Estrada-Peña *et al.*, 2011).

Este modelo se ha proyectado con un sentido retrospectivo, hasta el año 1900, para estudiar el impacto que el clima ha podido tener sobre el desarrollo y la supervivencia de *H. marginatum*, y, en suma, evaluar la influencia del clima.

Revisión: Fiebre hemorrágica de Crimea Congo

Origen

La fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (FHCC) es una de las enfermedades víricas transmitidas por garrapatas con mayor extensión a nivel mundial, afectando a habitantes de diversas partes de África, Asia, Europa del Este y Oriente Medio. La FHCC cobró importancia en la medicina moderna en 1944-1945, cuando unos 200 militares soviéticos se vieron infectados mientras ayudaban a los campesinos en la Crimea devastada por la guerra.

No fue hasta 1967, cuando un equipo soviético fue capaz de aislar y estudiar el virus de la FHCC, caracterizándolo antigenicamente mediante técnicas de inoculación en ratones blancos recién nacidos. La colaboración en 1968 entre los expertos soviéticos y americanos demostró las propiedades serológicamente idénticas entre las cepas de virus de pacientes y cadáveres humanos, mamíferos inferiores, y las garrapatas de las zonas asiáticas y europeas de la URSS y de Bulgaria, Congo (Zaire), Nigeria y Pakistán. (Hoogstraal, 1979).

Evolución Histórica

La distribución geográfica del virus de la FHCC es la más extensa entre las enfermedades transmitidas por la picadura de una garrapata. Se ha notificado el aislamiento del virus y/o la enfermedad en más de 30 países de África, Asia, Europa y Oriente Medio.

Es una enfermedad endémica en determinadas áreas de **Bulgaria** donde se notifican unos 10-15 casos al año, según fuentes oficiales. Se ha sugerido (Ivanov, 1960) que el virus llegó a estas regiones por la introducción de caballos soviéticos infectados con garrapatas durante la II Guerra Mundial. El mayor brote ocurrido en este país data de los años 50, entre 1954 y 1955, en el que aparecieron un total de 487 casos. Entre 1953 y 1974 se notificaron un total de 1.101 casos, 20 de los cuales fueron infecciones nosocomiales. La tasa de letalidad fue del 17%. Entre 1975 y 1996 el desarrollo de la vacuna de uso en humanos favoreció una reducción en la notificación del número de casos con un total de 271 y una letalidad algo más baja. Desde 1997, ha habido 196 casos sospechosos o confirmados con una letalidad

del 22%. Los últimos datos disponibles son del 2008, en que se notificaron 6 casos sospechosos al Sudoeste del país, en la frontera con Grecia y Macedonia.

En **Turquía**, el primer caso humano se notificó en 2002, aunque estudios serológicos realizados en 1974 mostraron presencia de anticuerpos frente al virus en 26 de los 1.100 sueros analizados (2,4%).

En **Grecia**, en los años 70 y 80, se llevaron a cabo estudios seroepidemiológicos que pusieron en evidencia la circulación del virus de la FHCC. Desde los años 80 se han realizado varios estudios en Grecia con el fin de detectar el grado de exposición de la población humana al virus y se ha visto que los habitantes de la región tenían antecedentes de infección sin enfermedad en el 6,1% de los casos (4 de 65 residentes), asociadas a cepas menos virulentas. En otros estudios realizados a nivel nacional, un 1,1% de 3000 sueros analizados procedentes de granjeros y cabreros mostraron antecedente de infección sin enfermedad (0,6-2% dependiendo de la zona).

El **primer caso sintomático humano** diagnosticado en Grecia se confirmó en una mujer de 46 años, fallecida en junio de 2008, que había estado expuesta a la **picadura de una garrafa** durante la realización de actividades de granja en el área rural de Komotini (en la región de Tracia).

En la península de los Balcanes, en el territorio de **Kosovo**, el primer caso humano data de 1954; desde 1995 hasta 2008 se han notificado 487 casos de los que 140 han sido confirmados. La letalidad fue de un 7,2%.

Los primeros casos notificados en **África** datan de los años 50 en **República Democrática del Congo** y **Uganda** con 2 y 12 casos respectivamente y una tasa de letalidad, en el caso de Uganda, de un 8%. A partir de los años 80, se han notificado 32 casos en **Sudáfrica**, con una letalidad del 30%.

En **China**, en 1965 y 1997 han tenido lugar dos brotes, con 260 casos y 26 respectivamente y unas tasas de letalidad del 21% y 24%.

En **Oriente Medio**, entre la década de los 80 y 90, se han notificado 55 casos en **Irak** con una tasa de letalidad del 64%, **Emiratos Árabes Unidos**, **Arabia Saudí** y **Omán** (Maltezou *et al.* 2010; Ernögul 2006; Zavitsanou *et al.* 2009).

La situación actual

En Europa, la FHCC es endémica en Bulgaria. Sin embargo, durante la pasada década se ha producido un aumento en el número de casos y han sido notificados brotes en otros países de la región, como Albania, el territorio de Kosovo, Turquía y Ucrania así como en regiones del Sudoeste de la Federación Rusa.

Después de casi 27 años sin notificación de casos humanos, a partir de 1999 la FHCC ha re-emergido en las regiones del Sur y Oeste de la **Federación Rusa**. Entre los años 2000 y 2009

se han diagnosticado más de 1.300 casos con una tasa de letalidad de hasta el 3,2% en el periodo de 2000- 2007. La mayor parte de los casos han sido registrados en el Territorio de Stavropol, la República de Kalmykia y en la provincia de Rostov donde la tasa de incidencia anual fue de 1,7; 10,1 y 0,7 por 100.000 habitantes, respectivamente.

En 2009, también notificaron casos los estados de **Georgia, Kazajstán, Tayikistán, Irán y Pakistán**. En la **República Islámica de Irán**, entre el 2000 y 2007 se notificaron 1.550 casos de FHCC, de los cuales 434 fueron confirmados, con una letalidad del 4,1%.

La emergencia y/o reemergencia de esta enfermedad en el Sur y Este de Europa así como en los países vecinos se atribuye a cambios climáticos y ecológicos además de a factores como el cambio en el uso de la tierra, las prácticas agrícolas, la caza y el desplazamiento del ganado que parece tener un impacto en la población de garrapatas y sus huéspedes (Maltezou *et al*, 2010). El aumento en la población de liebres como consecuencia del abandono de la caza y la aparición de maleza en el campo tras la reducción de la actividad agrícola, se han relacionado también con el aumento en la población de garrapatas *Hyalomma* y de los reservorios del virus (Gale *et al*, 2010).

El hallazgo del virus de la FHCC en garrapatas capturadas de ciervos procedentes de Cáceres, Extremadura, en las lindes del río Tajo en la frontera portuguesa, encontrado por un grupo de investigadores en el marco de un proyecto español financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (PS 09/02492) y de otro europeo llamado *ArboZoonet*, ha supuesto una señal de alerta. Además, aunque en España no se ha detectado ningún caso humano de FHCC, su ubicación geográfica de proximidad a África, el ser lugar de tránsito obligado de aves migratorias, el continuo movimiento de personas y las condiciones climáticas similares a zonas donde se ha evidenciado la transmisión, le hace un país con potencial riesgo de aparición de casos.

El ciclo de transmisión de FHCC

1. Etiología

El virus de la FHCC pertenece al género *Nairovirus*, de la familia *Bunyaviridae*. Es un virus de cadena simple RNA cuyo genoma se encuentra fragmentado en 3 segmentos que reciben el nombre de segmento grande (L), mediano (M) y pequeño (S). Al tratarse de un virus con genoma segmentado pueden generarse nuevas variantes genéticas al combinarse los segmentos de dos cepas diferentes que hayan coinfectado a un mismo individuo (infecciones dobles). Este fenómeno puede tener consecuencias patogénicas y epidemiológicas y contribuye a la gran variabilidad genética presentada por este virus (Carrol *et al*; 2010).

De acuerdo con la clasificación de Deyde (2006), atendiendo al segmento S del genoma hay 6 grupos genéticos principales. Esta forma de agrupación demuestra que las diferentes cepas del virus de la FHCC se mueven a través de largas distancias geográficas. Este movimiento de

los diversos tipos de grupos genéticos por varios territorios geográficos puede estar en relación con el comercio entre países de ganado infectado o portador de garrapatas infectadas.

Possiblemente, es importante el papel de las aves migratorias infectadas o portadoras de garrapatas infectadas (Deyde *et al*, 2006).

2. Epidemiología

El virus de la FHCC, es trasmítido por la picadura de garrapatas duras (*Ixodidae*), principalmente del género *Hyalomma*. Los estudios seroepidemiológicos realizados en diferentes regiones endémicas de Europa, África y Asia han demostrado que los grandes herbívoros (principales hospedadores de las formas adultas de *Hyalomma* spp.) presentan la mayor prevalencia de anticuerpos frente al virus.

El virus de la FHCC puede infectar una amplia gama de animales domésticos y salvajes y alcanzar tasas de seroprevalencia del 13-36% (Mardani, 2007). Se han detectado anticuerpos frente al virus en el suero de diversos animales domésticos como vacas, burros, caballos, cabras, ovejas o cerdos en diversas regiones de Europa, Asia y África. En éstos, al contrario que en humanos, la infección no causa enfermedad y, generalmente, evoluciona de forma subclínica; sin embargo, los animales infectados sí suponen un riesgo de transmisión a las personas durante la primera semana de infección, momento en el que se encuentran en fase virémica (Mardani *et al*, 2007; Nabeth *et al*, 2004). La transmisión del virus se produce por la picadura de una garrapata infectada, generalmente, y de forma más eficiente, la del género *Hyalomma* (Hoogstraal H, 1979). También es posible que el hombre se infecte de forma directa durante el sacrificio y desolladura de animales virémicos o bien, mediante la transmisión nosocomial como se ha demostrado en numerosas ocasiones (Nabeth *et al* 2004; Mardani *et al*, 2007), produciendo una enfermedad de evolución grave con una alta tasa de letalidad (3-30%). Ésta última ha sido la causa de numerosos brotes en los que la transmisión percutánea se convierte en el mayor riesgo de infección. Los trabajadores sanitarios presentan alto riesgo de contagio, durante la atención a los enfermos con formas hemorrágicas, por contacto directo con sangre y/o por aerosolización de fluidos contaminados de pacientes infectados en estadios avanzados de la enfermedad (Williams, 2000).

3. El vector

El virus de la FHCC ha sido aislado en al menos 30 especies de garrapatas diferentes, incluyendo 28 ixódidos y 2 argásidos, aunque estos últimos no actúan como agentes vectores de la enfermedad por su imposibilidad para la replicación del virus en su interior. Dentro del grupo de las garrapatas *Ixodidae*, hay varias especies como *Hyalomma*

marginatum, *Rhipicephalus rossicus* y *Dermacentor marginatus* que tienen ciertas características que las hacen ser vectores principales de la enfermedad ya que son capaces de:

- Adquirir la infección a partir de un hospedador en estadio virémico.
- Favorecer la persistencia de la infección de forma transestadial (larva-ninfa-adulta) y así poder ser transmitida a un segundo huésped;.
- Ser capaces de transmitir la infección de manera transovárica a sus descendientes.
- Ser capaces, las garrapatas inmaduras, de infectarse a partir de huéspedes portadores de garrapatas infectadas en la naturaleza.
- Los machos de las garrapatas son capaces de transmitir la infección vía venérea a la garrapata hembra (Charrel *et al.*, 2004).

Los estudios epidemiológicos basados en los casos de infección por virus de la FHCC en humanos y los estudios serológicos **confirman que las garrapatas del género *Hyalomma* son los vectores más eficientes de esta enfermedad** (Hoogstraal H, 1979). Actúan como vector y reservorio del virus de la FHCC y la aparición de casos de FHCC en Europa, Asia y África coincide, en general, con la distribución global de la garrapata *Hyalomma* (Zavitsanou *et al.*, 2009). *Hyalomma marginatum* se alimenta sólo una vez en cada etapa de su desarrollo (larva-ninfa-adulta) por lo tanto para actuar como vector ésta debe ingerir el virus en un estadio, infectarse, transmitir el virus transestadialmente o transováricamente al siguiente estadio, y así transmitir el virus horizontalmente mediante la picadura a otro vertebrado (Gale *et al.*, 2009).

4. Entorno, clima y ecología

Al igual que ocurre con otros agentes que se transmiten por la picadura de una garrapata, el virus circula en la naturaleza en un ciclo garrapata-vertebrado-garrapata. Las garrapatas actúan a la vez como vector y reservorio del virus y la distribución geográfica de la enfermedad coincide con la distribución global de las garrapatas del género *Hyalomma* (Charrel *et al.*, 2004).

Las garrapatas dependen para su supervivencia del ser vivo al que parasitan, sin embargo, su supervivencia también está determinada por las **condiciones medioambientales** (Anderson JF, 2002). Se ha mencionado que el cambio en las condiciones climáticas poTDía tener un papel importante en el aumento de la población de garrapatas y, por lo tanto, en el aumento en la incidencia de la FHCC. Sin embargo, los estudios realizados a partir del inicio de la epidemia en Turquía concluyen que no hay diferencias en ninguna variable climática entre los sitios en los que existen o no existen casos clínicos, dentro del área de distribución del vector principal (Estrada-Peña *et al.*, 2012).

La **temperatura** es parcialmente determinante de la supervivencia de la garrapata. Pueden sobrevivir a temperaturas de hasta -7°C, recuperando la actividad vital a los 4-5°C. En el

hemisferio Norte, *Hyalomma marginatum* se activa con el aumento de la temperatura en la primavera, sobre todo entre los meses de abril y mayo y, las formas inmaduras, están activas en verano, entre mayo y septiembre.

La cantidad de **vapor agua** en la atmósfera es la variable de mayor importancia en la supervivencia de la garrapata. En este caso, la disminución de vapor de agua (aumento del déficit de saturación) reduciría considerablemente la viabilidad de las fases en desarrollo. Un ligero cambio climático poTDía cambiar el período estacional de transmisión y desplazar la distribución hacia zonas más septentrionales.

5. Transmisión

Es posible que la fuente más importante de adquisición del virus sean las **formas inmaduras** de *Hyalomma*, que se alimentan a partir de la sangre de **pequeños vertebrados** (liebres, erizos, ratones), los cuales podrían actuar como hospedadores amplificadores. Una vez infectadas, las garrapatas permanecen infectadas toda su vida y así las formas **adultas** pueden transmitir la infección a **grandes vertebrados** (cabras, ovejas, caballos, cerdos, camellos o burros) (Mardani *et al*, 2007) o a los humanos.

El tiempo de alimentación de las formas inmaduras de *Hyalomma* es largo (12-26 días) lo cual permite el transporte pasivo de las formas inmaduras a través de las aves migratorias en sus recorridos a largas distancias. Las aves parecen ser **refractarios a la infección** (Vorou *et al*, 2007) con la excepción de los avestruces, que desarrollan una respuesta serológica. A pesar de esto, las aves migratorias tienen un papel en la diseminación de la enfermedad que no puede ser ignorado, ya que las aves portadoras de garrapatas infectadas pueden estar implicadas en la extensión del virus a regiones no endémicas.

El movimiento de ganado con formas adultas de *H. marginatum* desde los Balcanes a Centroeuropa es una ruta potencial de diseminación de garrapatas infectadas. Además, *H. marginatum* es un parásito común en los animales domésticos en el Sur de Europa por lo que se consideran que éstos tienen un función importante a la hora de evaluar el riesgo de introducción de garrapatas en zonas del Norte de Europa (Gale *et al*, 2009).

El ser humano es el único vertebrado en el que se desarrolla la enfermedad. La **FHCC afecta fundamentalmente a trabajadores expuestos a poblaciones de garrapatas**, siendo el mayor grupo de riesgo el de los granjeros que viven en áreas endémicas, agricultores o trabajadores en contacto con animales, produciéndose la transmisión de la enfermedad por exposición de piel o mucosas no intactas al ganado infectado (Hoogstraal, 1979; Sang, 2011). En este contexto, también está descrito el contagio a partir de los aerosoles generados por los excrementos de los roedores en el campo (Mardani *et al*, 2007).

En España, las formas inmaduras de *H. marginatum* se han encontrado en varias especies de aves, y las formas adultas en rumiantes, burros, zorros, jabalíes o liebres (Hylliard 1996). En España, el virus de la FHCC han sido detectadas garrapatas *H. lusitanicum*, una especie de la

misma familia que la *H. marginatum*, cuyo hábitat, por los estudios disponibles hasta el momento, se restringe a zonas con abundancia de conejos de la cuenca mediterránea, especialmente oeste de España, sur de Portugal, norte de Marruecos, Menorca y Sicilia. Es la primera vez que se encuentra el virus en esta garrapata.

Estrategias de intervención

1. Vigilancia

La transmisión de este tipo de zoonosis está solo parcialmente descrita en zonas endémicas y muy poco documentada en áreas de reciente aparición. La OMS está colaborando con sus asociados para apoyar la vigilancia de la FHCC, la capacidad de diagnóstico de esta enfermedad y las actividades de respuesta a los brotes en Europa, Oriente Medio, Asia y África.

Además la OMS facilita documentación para contribuir a la investigación y el control de la enfermedad, y ha creado un recordatorio sobre las precauciones generales a adoptar en el entorno asistencial, a fin de reducir el riesgo de transmisión de agentes patógenos por la sangre y por otras vías. (Nota descriptiva N°208 OMS, Enero de 2013)

Dentro de la estrategia general de vigilancia de la enfermedad en la especie humana, el conocimiento de algunos aspectos clínicos y epidemiológicos de la misma, son fundamentales para que la vigilancia sea eficaz. Entre estos aspectos, cabe destacar:

La duración del **periodo de incubación** depende de la carga viral y la vía de exposición al virus. Después de la picadura de garrapata, la fase de incubación es generalmente de uno a tres días, con un máximo de nueve días.

Los síntomas comienzan de forma súbita, en forma de fiebre (39-40°C), mialgia (dolor muscular), mareo, dolor y rigidez de cuello, lumbago, cefalea, irritación de los ojos y fotofobia (hipersensibilidad a la luz). Puede haber náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal y dolor de garganta al principio, seguidos de bruscos cambios de humor y confusión. Este cuadro constituye el denominado **periodo prehemorrágico**.

A continuación, existe un **periodo hemorrágico** en el que aparecerán manifestaciones hemorrágicas que van desde petequias a grandes hematomas en piel y mucosas. Los principales lugares de sangrado son la nariz, aparato digestivo, útero, tracto urinario o respiratorio. En esta fase es frecuente la hepatoesplenomegalia. Normalmente hay signos de hepatitis, y los pacientes muy graves pueden sufrir un rápido deterioro renal, o insuficiencia hepática o pulmonar repentina después del quinto día de enfermedad.

La tasa de mortalidad asociada a la FHCC es de aproximadamente un 30%, y la muerte sobreviene durante la segunda semana. Entre los pacientes que se recuperan, la mejoría comienza generalmente al noveno o décimo día tras la aparición de la enfermedad.

2. Diagnóstico

La infección por el virus de la FHCC puede diagnosticarse mediante distintas pruebas de laboratorio:

ELISA;

- detección de antígeno;
- seroneutralización;
- reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR);
- aislamiento del virus en cultivos celulares.

En los pacientes en que la infección será mortal, y en general durante los primeros días de la enfermedad, por lo habitual no se produce una respuesta de anticuerpos medible, de modo que en esos casos el diagnóstico se realiza mediante la detección del virus o de su ARN en muestras de sangre o tejidos.

3. Tratamiento

El tratamiento sintomático general es la principal opción terapéutica. Se ha utilizado el antiviral ribavirina para tratar la infección, con efectos claramente beneficiosos aunque no hay ensayos clínicos que demuestren su eficacia, que solo se ha demostrado en estudios observacionales.

4. Prevención y control

Control de la FHCC en animales y garrapatas

Es difícil prevenir o controlar la infección en los animales y las garrapatas, debido a que tanto el ciclo garrapata-animal-garrapata como la infección de los animales domésticos suelen pasar desapercibidos. Además, las garrapatas que pueden actuar como vector son numerosas y están muy extendidas, de modo que combatirlas con acaricidas (productos químicos) solo es una opción viable en las instalaciones ganaderas bien gestionadas.

Reducir el riesgo de infección humana

Aunque se ha desarrollado una vacuna inactivada derivada de cerebro de ratón contra la FHCC, utilizada a pequeña escala en Europa oriental, actualmente no hay ninguna vacuna segura y eficaz ampliamente disponible para uso humano.

En los años 90 se desarrolló una inmunoglobulina a partir de plasma de pacientes convalecientes que se utiliza como profilaxis en personas que han estado en contacto con enfermos con FHCC, en pacientes con sospecha clínica de la enfermedad, tratamiento de pacientes y para la prevención en situaciones de una posible amenaza de bioterrorismo (ECDC 2008).

A falta de vacuna, la única manera de reducir la infección humana es la sensibilización sobre los factores de riesgo y la educación de la población acerca de las medidas que pueden adoptarse para reducir la exposición al virus. Paralelamente a la dispensación de atención a los pacientes con fiebre hemorrágica de Crimea-Congo presunta o confirmada, las recomendaciones para controlar la infección deben basarse en las ya formuladas por la OMS para el Ebola y la fiebre hemorrágica de Marburgo, ampliamente descritas y documentadas y a libre disposición en su página web. (<http://www.who.int/csr/disease/ebola/en/>)

Material y Métodos

Planteamiento

La inexorabilidad del cambio climático y las amenazas que éste puede representar sobre la tasa de transmisión de agentes patógenos transmitidos por garrapatas ha motivado la evaluación del potencial de adaptación de estos artrópodos en un clima cambiante. La distribución espacial de los organismos a menudo se ha modelado relacionando datos de presencia-ausencia con datos de clima y/o variables topográficas (por ejemplo, la temperatura, las precipitaciones, la fragmentación del hábitat), comúnmente llamadas variables abióticas, para definir el llamado nicho abiótico y proyectarlo sobre el espacio geográfico. De esta manera se produce una estimación espacial de la idoneidad abiótica para un organismo concreto.

Desde una perspectiva de salud pública, es importante obtener información sobre las zonas geográficas que son favorables para un vector y cómo ha cambiado la idoneidad del nicho abiótico en base a los registros históricos del clima. Sin embargo, el complejo ciclo vital de las garrapatas ha obstaculizado el desarrollo de modelos versátiles para evaluar el impacto relativo del clima en los procesos de su ciclo de vida. Debido a la complejidad del clima y a las correlaciones entre sus componentes hacen que las predicciones del impacto del cambio climático sobre las garrapatas sean imprecisas si sólo se utiliza un enfoque correlativo. La proyección de los modelos correlativos con nuevas combinaciones de variables (por ejemplo, en las evaluaciones de clima del pasado o para escenarios de las condiciones futuras) puede ser propensa a resultados poco fiables. En su lugar, se ha propuesto que el modelado de los procesos del ciclo vital de las garrapatas es la herramienta más adecuada para inferir la respuesta de las poblaciones de garrapatas al clima.

Con estas premisas se construyó un modelo que describe el desarrollo y las tasas de mortalidad del ciclo de vida de *H. marginatum* a partir de datos obtenidos en el laboratorio bajo una variedad de condiciones de temperatura y humedad controladas (Estrada-Peña *et al.*, 2011). Tal modelo estima la tasa de desarrollo de la garrapata, la mortalidad durante los períodos de desarrollo, y estima la supervivencia de las fases libres en ausencia de contacto con su hospedador como funciones del tiempo, la temperatura y el vapor de agua. Este modelo es capaz de calcular objetivamente las tasas de desarrollo y de mortalidad de esta garrapata bajo una variedad de condiciones climáticas, lo que lo hace adecuado para las evaluaciones de los efectos del clima.

En el presente estudio se ha utilizado este modelo de forma retrospectiva para evaluar los cambios en las tasas de mortalidad y de desarrollo de *H. marginatum* en Europa durante el período 1901-2009. La evaluación se basa en un conjunto de datos climáticos (datos de temperatura y humedad). Específicamente se ha tratado de evaluar las tendencias en los procesos fisiológicos de la garrapata (tasas de desarrollo y mortalidad) en Europa con el fin de averiguar si los cambios experimentados en el clima han ejercido un impacto mensurable sobre los procesos del ciclo de *H. marginatum*.

Datos climáticos

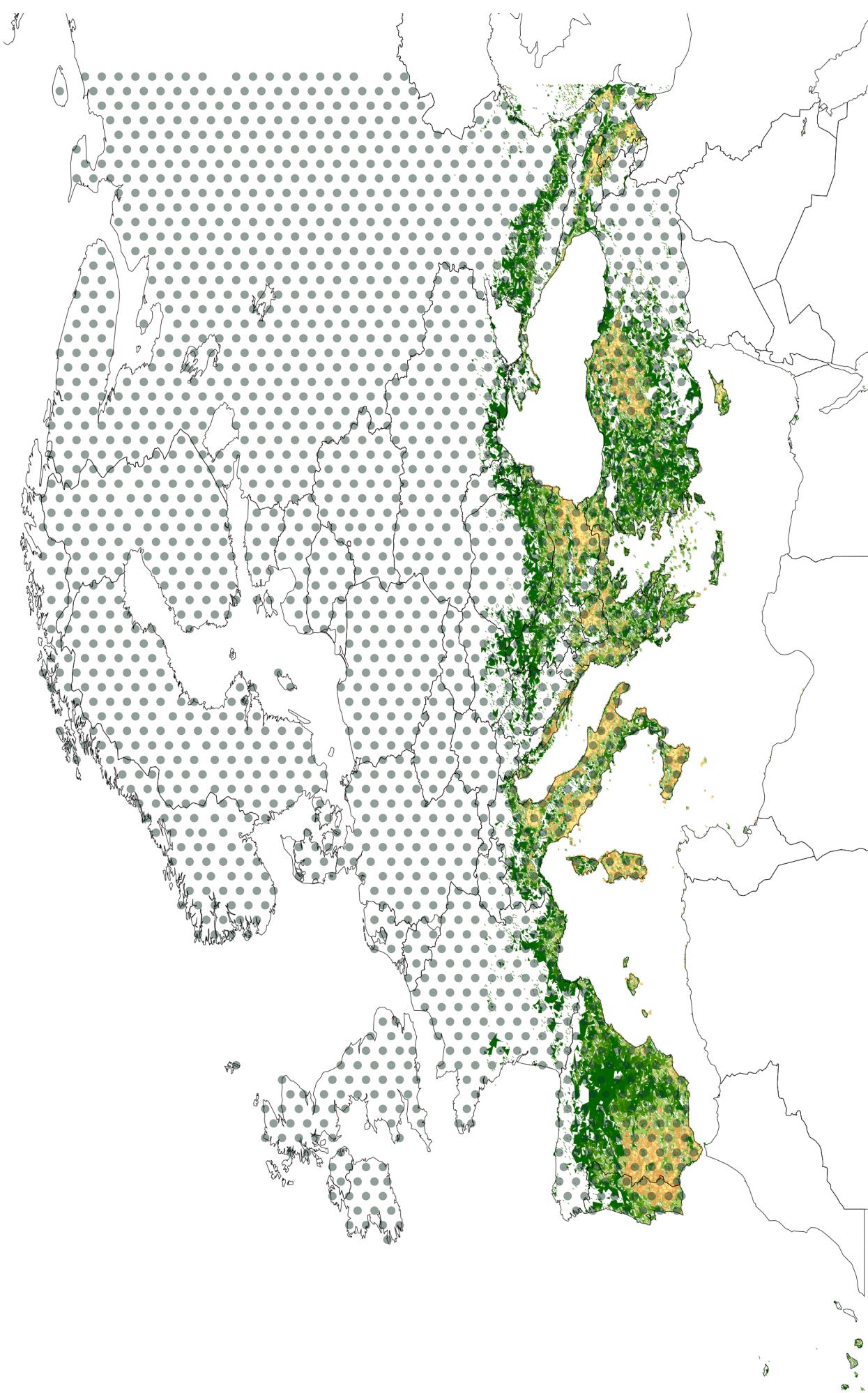
Los datos climáticos se han obtenido de la Unidad de Investigación del Clima (CRU, University of East Anglia, UK). Consisten en datos de temperatura y humedad relativa, entre otros, recogidos de estaciones climáticas e interpolados a un marco temporal y espacial común (CRU TS 2.1). El conjunto de datos cubre todo el mundo, su resolución temporal es de un mes y la resolución espacial es de 0,5°. Para este estudio, se ha seleccionado un territorio entre 69°N - 10°W (esquina superior izquierda) y 71°N - 49° E (esquina inferior derecha). Nos hemos centrado explícitamente en dicho territorio, ya que incluye la distribución completa de *H. marginatum* en el Mediterráneo europeo, así como otros territorios donde la garrapata ha sido encontrada ocasionalmente.

Modelado

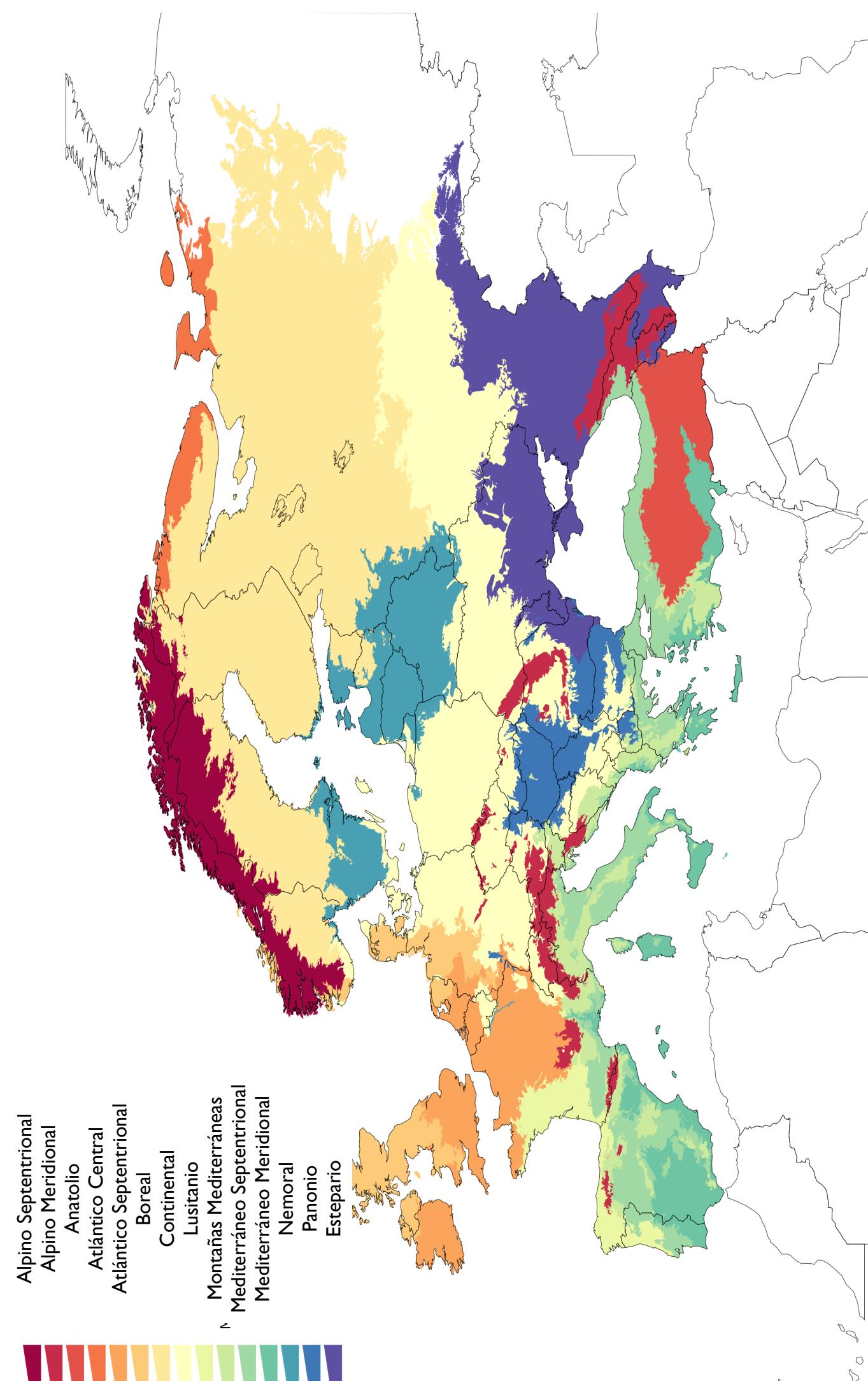
Como se ha mencionado, hemos usado un modelo que calcula el ciclo de vida de *H. marginatum* en sus términos más simples posibles: tasas de desarrollo interestadiales, incluyendo la oviposición, la incubación y la muda ninfa-adulto; las tasas de mortalidad específicas para cada fase y estado (búsqueda de hospedador, alimentación y repleción). El modelo expresa la probabilidad de las garrapatas en cada etapa para avanzar a la siguiente etapa y la mortalidad asociada a ese evento del ciclo de vida. Las tasas de desarrollo y de mortalidad se calcularon usando la temperatura (T) y el déficit de vapor de agua (VD). Los métodos para obtener los parámetros del ciclo de vida de las poblaciones de garrapatas en el laboratorio, la calibración del modelo y validación, y el análisis de sensibilidad se han descrito en detalle (Estrada-Peña *et al.*, 2011).

El modelo utilizado no pretende obtener la densidad de las poblaciones de garrapatas ya que depende en gran medida de la abundancia de hospedadores. La abundancia de garrapatas es el resultado de complejas interacciones entre los componentes bióticos y abióticos del ecosistema, de los cuales el clima es sólo una parte de ellos. El modelo se hizo trabajar sobre

A



B



1

intervalos de temperatura de 10 días, que se interpolaron a partir de los datos básicos de CRUTS 2.1.

Se calculó una tasa de desarrollo anual (TD) como el promedio obtenido por las ecuaciones que describen el desarrollo. El índice es un valor entre 0 y 100, y es proporcional a las tasas de desarrollo de la garrapata en un año completo. También se calculó una tasa de mortalidad anual para las etapas de desarrollo (MD) como el promedio de los valores de 10 días dado por las ecuaciones que describen esta fase del ciclo. También se calculó una tasa de supervivencia para los estadios libres (SFL). Los índices posteriores tienen valores entre 0 y 100 y son proporcionales a la mortalidad en los períodos de desarrollo o la supervivencia de las diferentes etapas libres, respectivamente. Decidimos producir enfoques separados para MD y SFL en lugar de calcular un solo índice ya que el clima ejerce una regulación distinta sobre el desarrollo y los estados libres. TD, MD, y SFL se denominan en lo sucesivo "índices fisiológicos". Todas estas ecuaciones se proporcionan en material al final de esta memoria, junto con un script en el lenguaje de programación "R".

Análisis estadístico

Hemos expresado los resultados basados en 2 desagregaciones espaciales del territorio para diferentes divisiones de tiempo. El concepto "desagregar" implica la separación de los resultados en función de una serie de categorías, en este caso espaciales, para comprobar si las tasas de cambios de los datos estudiados han presentado diferentes valores en cada uno de los territorios de interés. El propósito es examinar las tendencias de acuerdo a las clasificaciones ecológicas del territorio e inspeccionar si los cambios del ciclo vital (como respuesta a un impacto del clima) son diferentes según el periodo de tiempo considerado.

Los 109 años de estudio fueron homogéneamente divididos en 5 períodos: 1901-1922, 1923-1944, 1945-1966, 1967-1988, y 1989-2009. Para cada período de tiempo, los análisis estadísticos de TD, MD, o SFL se llevaron a cabo por separado en dos dominios espaciales. La primera representación se refiere a las zonas en las que las poblaciones de *H. marginatum* han sido registradas en los últimos 30 años (la "zona positiva", PZ) y la zona en la que no se han registrado poblaciones permanentes de la garrapata en el mismo período de tiempo (la "zona negativa", NZ). El análisis pretende examinar si las dos zonas tienen diferentes tasas de variación de los procesos fisiológicos de la garrapata durante el período de estudio.

Se llevó a cabo una segunda desagregación espacial de acuerdo con una clasificación estándar de dominios ecológicos en el territorio que se recoge en el documento LANMAP (Mücher *et al.*, 2010). LANMAP es una clasificación del paisaje de Europa con varios niveles

jerárquicos, a partir de datos sobre el clima, altitud, el material parental, y el uso del suelo como factores determinantes (Mücher *et al.*, 2010). LANMAP cuenta con 350 tipos de paisajes en el nivel más detallado. Se utilizó solamente el primer nivel de la jerarquía, que muestra los principales dominios climáticos. El objetivo de este análisis es encontrar hipotéticas diferencias en las tasas de cambio de los procesos fisiológicos de la garrapata, según las clasificaciones ecoclimáticas estándar del territorio para determinar si las tendencias del clima tienen diferentes efectos sobre la fisiología de la garrapata en los diferentes ecosistemas.

Clasificación del territorio en función de las tasas fisiológicas de *H. marginatum*.

Las ecuaciones del modelo producen sólo una estimación cuantitativa de cada proceso fisiológico, y no sabemos *a priori* el umbral de mortalidad y de desarrollo que marcan la supervivencia en un territorio. Así, hemos clasificado el territorio comparando los valores de TD, MD, y SFL y las zonas en las que la garrapata está presente o ausente, junto con los resultados de un modelo correlativo de idoneidad climática (Estrada-Peña *et al.*, 2011). Eso permite conocer los valores de cada uno de los procesos que aseguran su permanencia o su extinción.

Se utilizó un análisis discriminante para interpretar las tasas de ciclo de vida y producir una clasificación cualitativa del territorio de acuerdo con la aptitud del ciclo de vida de la garrapata. Se obtuvieron cinco categorías basadas en el rango de la idoneidad del clima a partir del modelo correlativo, los rangos de TD, MD, y SFL, y la presencia o ausencia registrada de la garrapata (Tabla 1). Este análisis produce un conjunto de categorías: 1 (aptitud máxima, la más alta probabilidad de presencia) a 5 (aptitud mínima, la más alta probabilidad de ausencia). Utilizamos estas categorías para clasificar las áreas del marco LANMAP para cada período de tiempo y para explorar las tendencias en los procesos fisiológicos de la garrapata. Con estas categorías se clasificó el territorio LANMAP, para cada porción de tiempo mencionada, y para estudiar las tendencias de los cambios de los procesos fisiológicos de la garrapata (cambios en los procesos fisiológicos de la garrapata) a lo largo del tiempo.

Tabla 1. Discriminación del hábitat en cinco categorías según el desarrollo, mortalidad durante el desarrollo y supervivencia de las fases libres de *Hyalomma marginatum* en el territorio de estudio, clasificado como zonas de presencia/ausencia y de acuerdo con un modelo correlativo de idoneidad climática. Todas las unidades son en porcentaje.

Categoría	Presencia/Ausencia	Idoneidad climática (modelo correlativo)	Tasas de desarrollo	Tasas de mortalidad durante el desarrollo	Tasas de supervivencia en vida libre
1	+	>80	18.7 ± 1.4	22.6 ± 0.7	70 ± 11
2	+	40-60	14.7 ± 1.2	24.3 ± 0.6	51 ± 11
3	-	<40	11.4 ± 0.8	25.7 ± 0.6	29 ± 17
4	-	<10	9.0 ± 0.8	26.8 ± 0.4	16 ± 15
5	-	0	5.8 ± 1.1	27.9 ± 0.4	7 ± 5

Evaluación de riesgos

En este estudio pretendemos, igualmente, detectar las áreas en las que se han registrado los mayores cambios en el ciclo de la garrapata. Las tendencias a una evolución más rápida y una menor mortalidad por encima de un determinado umbral son coherentes con un modelo de “más garrapatas en menos tiempo”. Si estas áreas se solapan espacialmente con territorios de gran disponibilidad de hospedadores, se debe esperar un alto riesgo, ya sea por la persistencia de las garrapatas de reciente introducción o por el aumento de su densidad. Este análisis tiene dos pasos básicos, a saber, la exposición y la vulnerabilidad. La exposición se interpreta como la idoneidad del clima para la garrapata: la exposición de un territorio es mayor cuanto mayor es la aptitud de la garrapata al clima en dicha zona. La exposición puede ser óptima en zonas donde no existen hospedadores adecuados para la garrapata: estas áreas no son aptas para la colonización y el crecimiento positivo de las garrapatas, ya que falta el componente biótico de su ciclo. La vulnerabilidad es proporcional a la disponibilidad de hospedadores apropiados, que permitan el desarrollo de la garrapata.

La vulnerabilidad depende de la presencia y abundancia de hospedadores vertebrados en las que se alimentan las poblaciones de garrapatas. Incluso en los casos de un clima adecuado, las garrapatas no pueden persistir en ausencia de los hospedadores clave, que son determinantes en muchos casos, de los cambios dramáticos en la densidad de población. Aunque se trata de una garrapata que puede alimentarse sobre una amplia variedad de ungulados silvestres, hemos elegido los datos de densidad de rumiantes domésticos como el factor que regula la vulnerabilidad a esta marca en el territorio de destino. Los datos sobre la densidad de ungulados domésticos se encuentran disponibles en los documentos de FAO (2003, 2007).

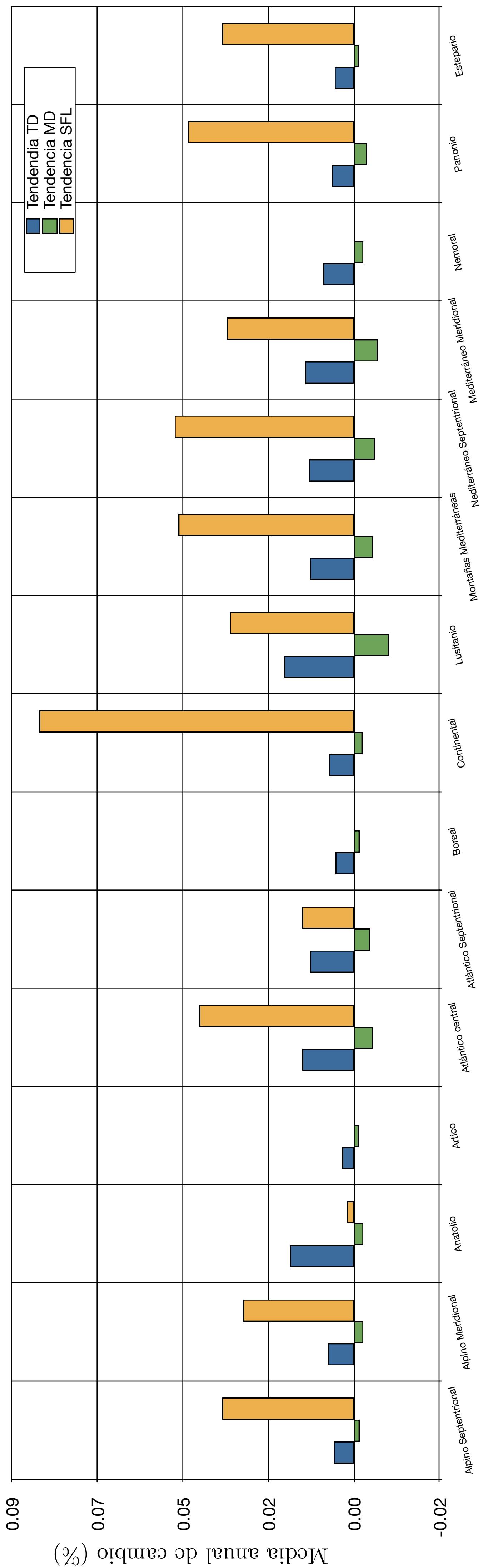
Hemos desarrollado una relación simple entre la exposición a la garrapata y la densidad de ungulados domésticos, produciendo una clasificación del territorio de 0 (mínimo) a 1 (máximo). Esta clasificación refleja la combinación de valores críticos para la supervivencia y la población de la aptitud de la garrapata de ambas variables abióticas y bióticas. Esta clasificación pretende ser tan solo una prueba de concepto y no una evaluación cualitativa de la densidad de garrapatas. Pretendemos demostrar una metodología simple que permita decidir las zonas en las que es necesario realizar muestreos activos, en función de la idoneidad climática y de la abundancia de hospedadores.

RESULTADOS

La media anual de cambio en las tasas de desarrollo (TD), mortalidad (MD) y supervivencia de las fases libres (SFL) calculados para *H. marginatum* para el periodo de tiempo entre 1901-2009, desagregada según los diferentes dominios biogeográficos del territorio se muestran en la Figura 2. Los valores más bajos de TD y más altos MD coinciden con áreas de clima frío (ej. Alpino, Ártico, Boreal, Continental, Nemoral y Panonio). Los valores de SFL fueron más bajos en las áreas Alpina, Ártica, Boreal, Continental, Nemoral, Panonio y Esteparia. Estos resultados son coherentes con las bajas temperaturas registradas en estas zonas que a su vez favorecen bajos niveles de desarrollo y por lo tanto altos niveles de mortalidad. Las tendencias de cambio no fueron las mismas para cada dominio. El aumento o disminución de TD y MD por año fueron mayores en el áreas Anatolia (0,016% y 0,025%, respectivamente), Lusitana (0,018% y 0,019%, respectivamente), y los dominios Mediterráneos (0,012% y 0,006%, respectivamente). Sin embargo, el SFL aumentó más en los dominios Continental y Atlántico, con un crecimiento del 0,08% por año y 0,045% por año, respectivamente.

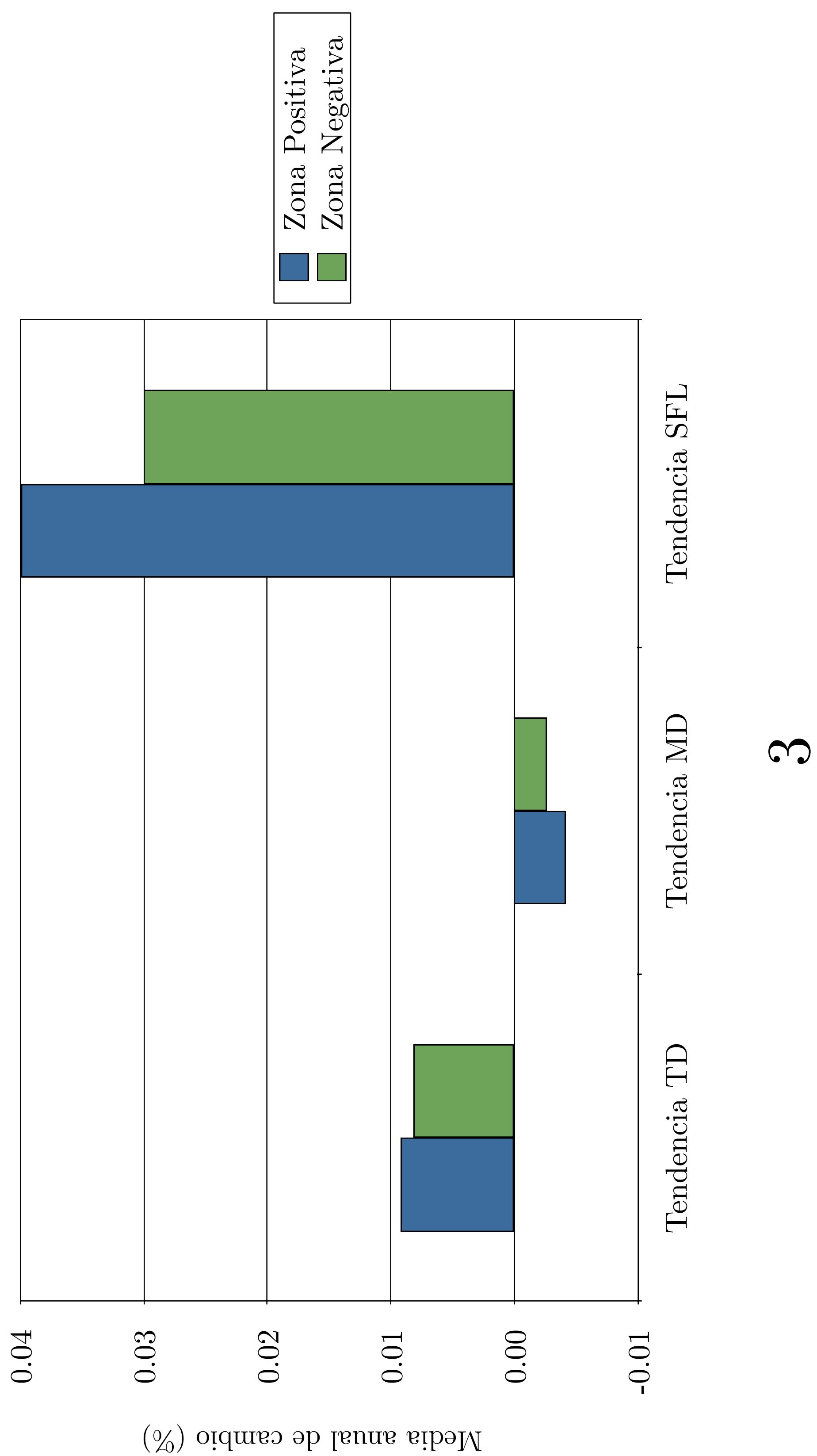
Las tendencias de TD, MD y SFL durante el periodo 1901-2009 fueron desagregadas para los sitios donde la garrapata se había registrado como presente (ZP) o ausente (ZN) (Figura 3). En la zona positiva, el cambio porcentual en TD y MD fue 0,092% anual y -0,042% por año, respectivamente, y el porcentaje de cambio en SFL fue de 0,04% por año. En la NZ, estos valores fueron de 0,0082% ($p = 0,005$), -0,0026% ($p = 0,005$), y el 0,03% ($p < 0,001$) por año para TD, MD y SFL, respectivamente. Por lo tanto, las tasas de cambio en los procesos fisiológicos críticos del ciclo de vida de la garrapata son más altas en la ZP que en la ZN. En otras palabras, la tendencia del clima provoca cambios más acentuados en el ciclo vital de la garrapata en las zonas en las que ya tiene poblaciones estables, que en aquellas que aún no han sido colonizadas.

La figura 4 resume todos los resultados anteriores, produciendo una clasificación del territorio en categorías de idoneidad climática para *H. marginatum*. En estos mapas, las áreas marcadas como 1 y 2 tienen máxima idoneidad y, por lo tanto, el máximo de la aptitud porque tienen las más altas TD y SFL y la MD más baja. Las categorías 4 y 5 tienen la TD más baja, junto con los valores más altos de SFL y MD. Las condiciones mínimas para la supervivencia de garrapata no existen en las categorías 4 y 5. La categoría 3 tiene unas características de clima intermedias, a modo de frontera entre ambos grupos de valores adecuados o inadecuados. Mientras que el territorio clasificado como de categoría 3 es



Dominios biogeográficos

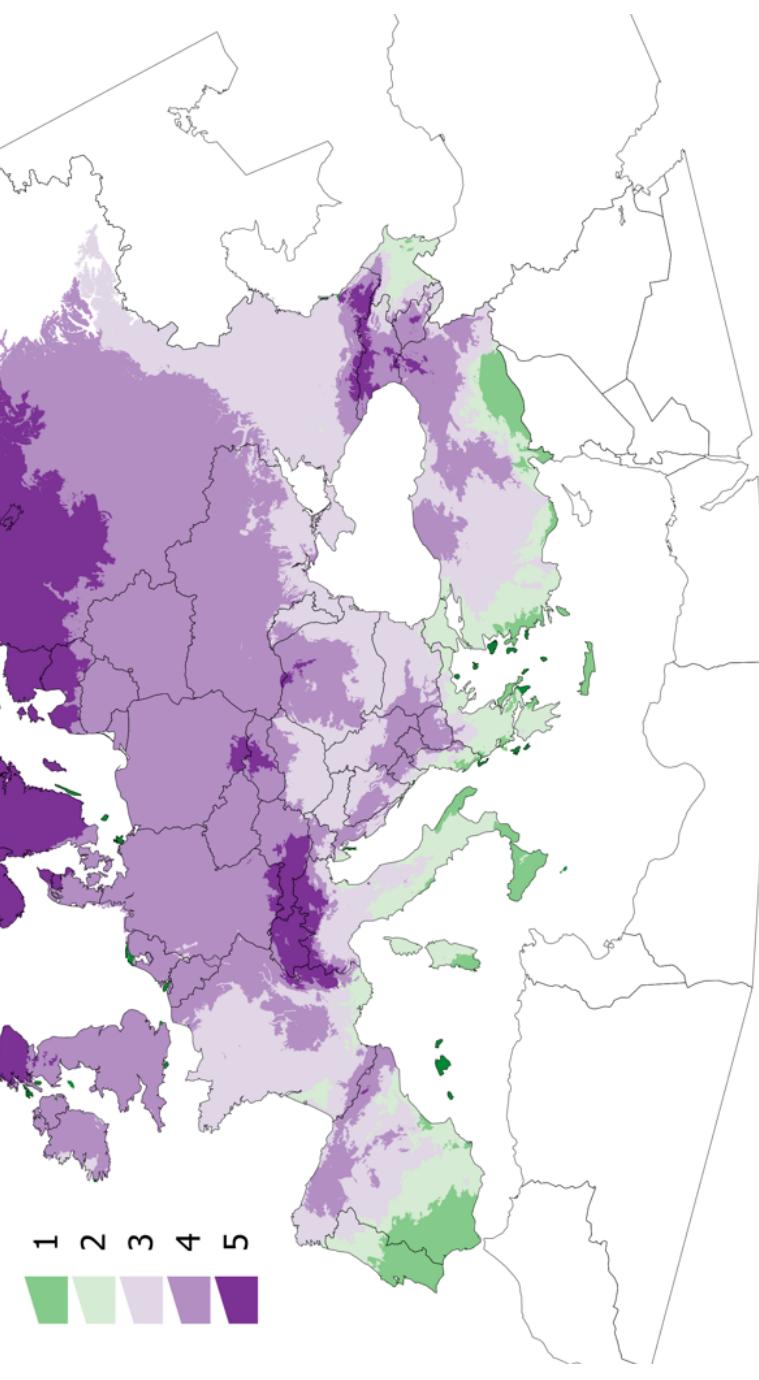
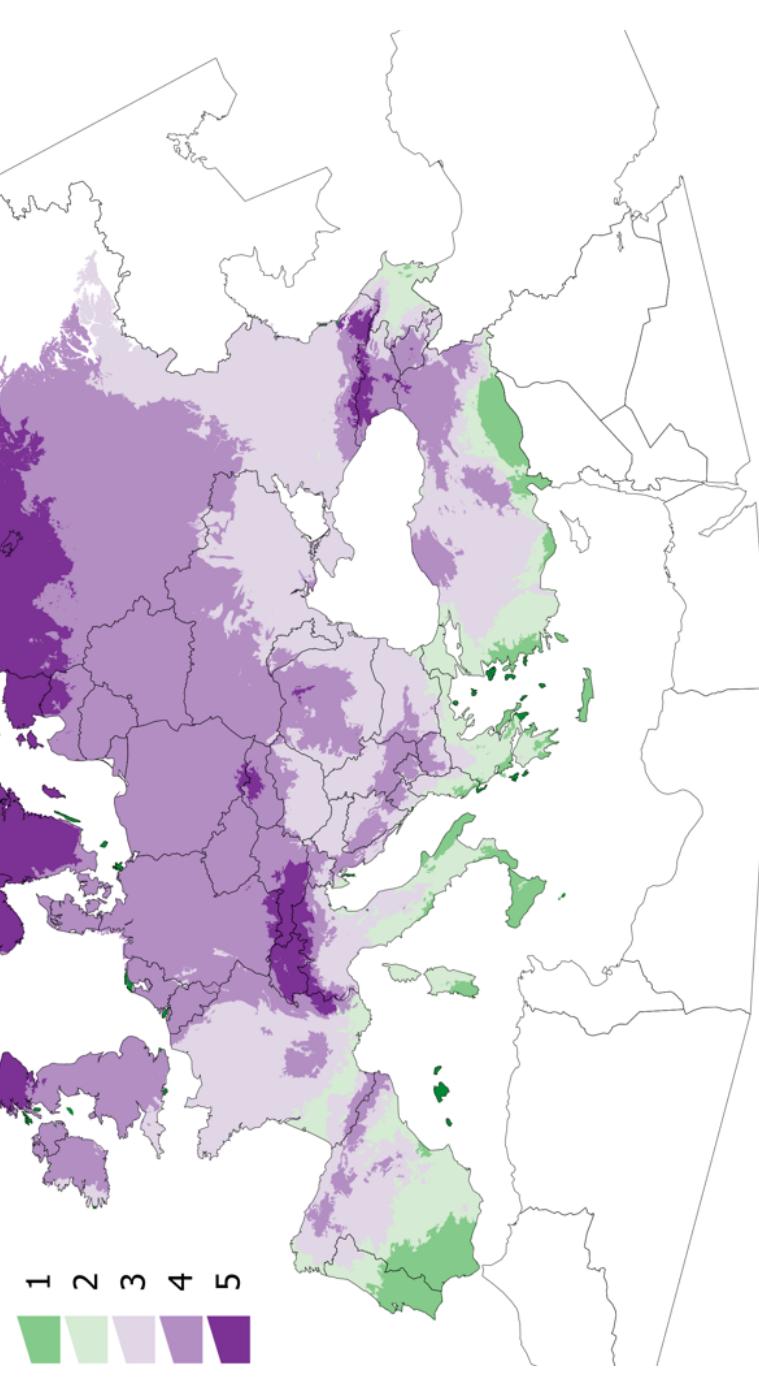
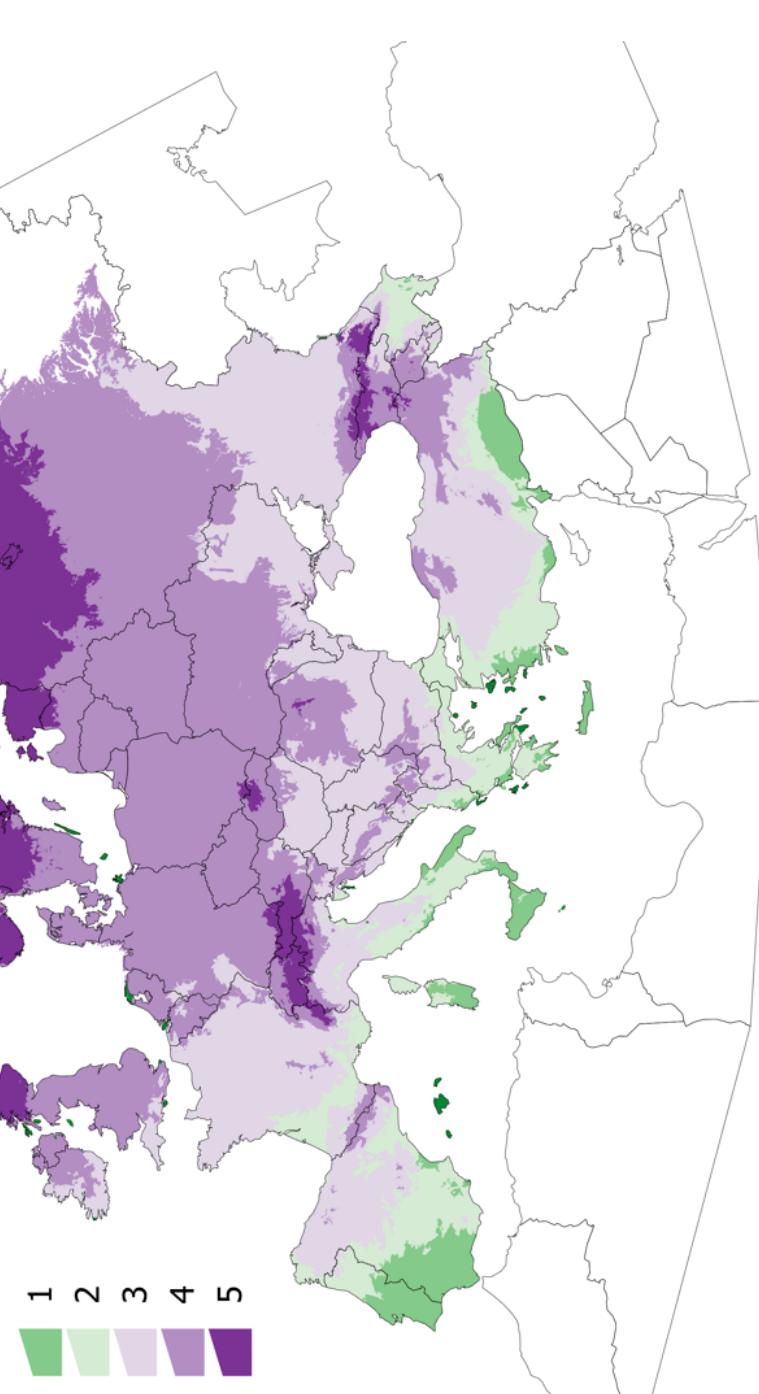
2



C: 1945-1966

B: 1923-1944

A: 1901-1922



D: 1967-1988

E: 1989-2009

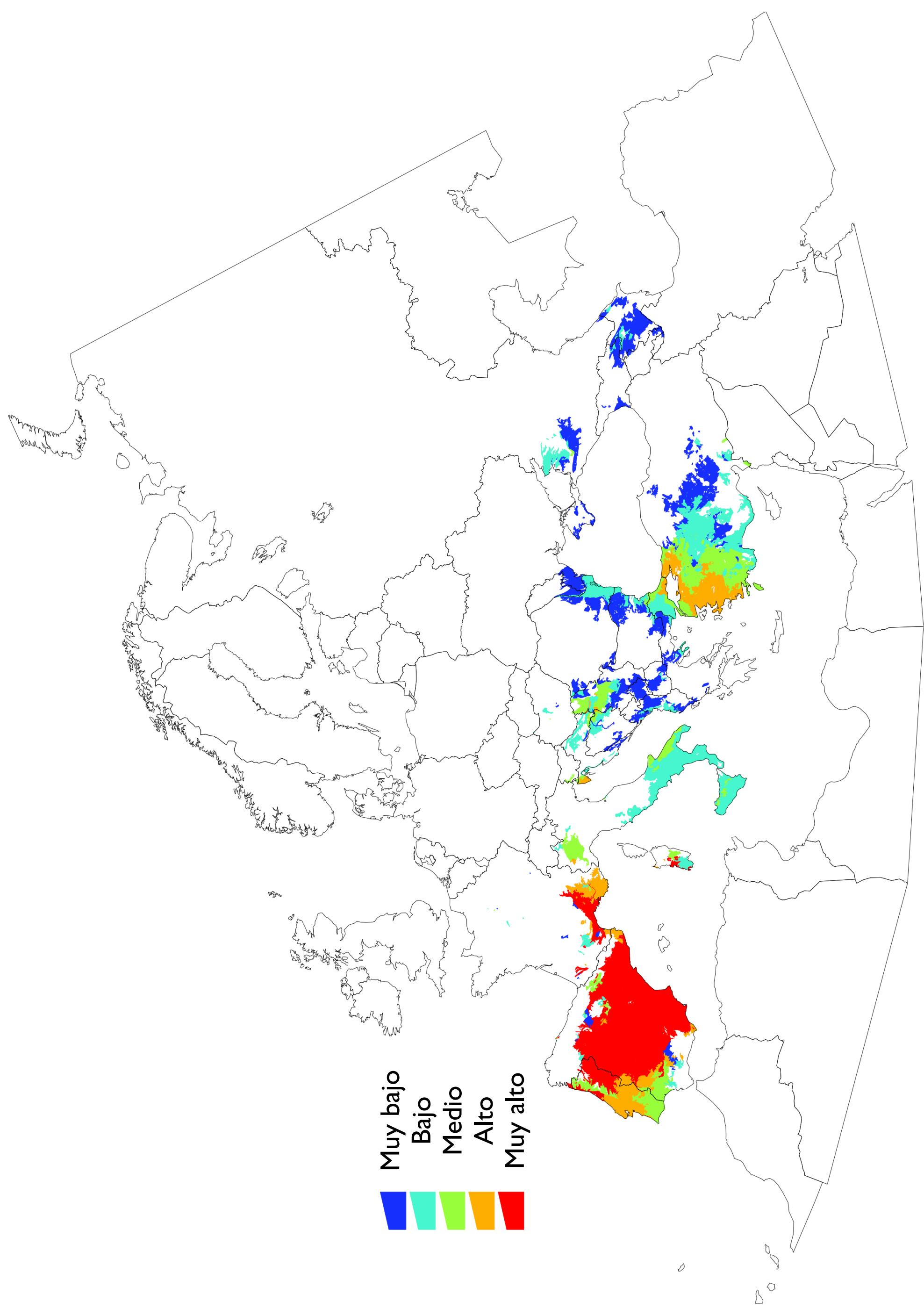
F: Resumen



difícil que albergue poblaciones estable de *H. marginatum*, sí es factible que en pequeñas zonas del mismo (que no se capturan con la resolución utilizada en este trabajo) las garrapatas puedan sobrevivir o mudar.

Los mayores cambios en la idoneidad se observan en las áreas occidentales del territorio de estudio. Se han encontrado grandes zonas de condiciones climáticas adecuadas en la Península Ibérica, partes de Francia, y en menor medida las porciones occidentales de Europa Central. Casi toda Europa Central y los Países Escandinavos se mantuvieron inadecuados para la supervivencia de *H. marginatum* durante el período 1901-2009. Sin embargo, durante el transcurso del tiempo estudiado, han comenzado a aparecer zonas de idoneidad adecuada en algunas partes de la costa atlántica de Francia. El mayor cambio en el incremento de la de idoneidad climática para la garrapata fue durante los períodos 1967-1988 y 1989-2009.

La figura 5 muestra una evaluación combinada de la exposición del territorio a la garrapata (debido a su aptitud climática) y la vulnerabilidad del mismo (debido a la densidad de ungulados domésticos). Como se ha mencionado, este análisis no incluye los hospedadores silvestres, porque es imposible obtener unas estimaciones realistas de sus densidades a esta escala del territorio. Esta figura (y el análisis que conlleva) deben considerarse como una línea base de análisis, que utiliza los rumiantes domésticos como una estimación básica (una prueba de concepto). La figura muestra cinco niveles de riesgo, donde cabe esperar cambios en la población de garrapatas, bien porque el clima favorece su presencia, o bien porque la cantidad de hospedadores es lo suficientemente elevada como para esperar que las poblaciones del parásito se alimenten rápidamente con mortalidad mínima. Dicha evaluación debe ser interpretada desde dos perspectivas diferentes: si la garrapata ya tiene poblaciones permanentes, la coincidencia espacial de alta idoneidad climática y alta densidad de hospedadores, hace que estas áreas son sugestivas de una alta proliferación de garrapatas; si se trata de territorios en los que todavía no se ha establecido la garrapata, los resultados deben ser interpretados como áreas en las que, si se introducen, las poblaciones de garrapatas podrían prevalecer debido al clima adecuado y la disponibilidad de hospedadores. En ambos casos, estos territorios deben ser considerados candidatos para la vigilancia activa de la garrapata.



5

DISCUSIÓN

Este estudio ha pretendido evaluar los cambios en las tasas de supervivencia y de desarrollo de *H. marginatum*, una garrapata importante para la salud pública, en un territorio en el que se ha venido informando del aumento de su densidad o la introducción accidental (Estrada-Peña *et al.*, 2013; Nijhof *et al.*, 2007; Hornok y Horvath, 2012). En otras palabras, hemos verificado a partir de ecuaciones sencillas obtenidas en condiciones de laboratorio, que la tendencia del clima en los últimos 109 años ha operado una serie de cambios en el desarrollo y supervivencia de la garrapata estudiada. Esta tendencia, cuando se aplica al amplio territorio geográfico elegido, muestra una serie de zonas en las que puede ser introducida y mantener poblaciones permanentes. Hemos utilizado estas estimaciones para clasificar el territorio en categorías, lo que demuestra que la “idoneidad climática” para la garrapata ha mejorado a lo largo de un patrón latitudinal durante el período 1901-2009. Los resultados presentados en nuestra evaluación son objetivos y coherentes, ya que se obtuvieron usando ecuaciones que describen los procesos del ciclo de vida. Por lo tanto, las tasas de cambio deben considerarse una evaluación objetiva de los efectos del clima sobre el desarrollo y la mortalidad de la garrapata, lo que permite una estimación simple pero realista de cómo las tendencias climáticas afectaron estos procesos en un período de 109 años. Los resultados de los modelos de los procesos fisiológicos de la garrapata permitieron una clasificación del hábitat en categorías simples. Este enfoque está en consonancia con la aplicación de un modelo de decisión multi-criterio (Kiker *et al.*, 2005; Baltussen y Niessen, 2006) que permite encontrar una decisión de consenso entre las diferentes variables (Hongoh *et al.*, 2011).

Hemos asumido que la respuesta de la garrapata al clima es la misma en cualquier lugar de su área de distribución geográfica, es decir, que todas las poblaciones de *H. marginatum* presentan la misma respuesta al clima que la obtenida para la población estudiada en el laboratorio, como se ha demostrado para otras especies animales (Evans *et al.*, 2009; Tingley *et al.*, 2009). También hemos asumido que las garrapatas no se adaptan a nuevas condiciones climáticas, por lo que su capacidad de colonización vendrá condicionada por la existencia de un entorno favorable (en términos climáticos) y por la presencia de hospedadores adecuados. En cualquier caso, diversos estudios de campo con otros organismos han especulado acerca de la posibilidad de adaptación fenotípica a entornos variables, algo que no puede rechazarse para las garrapatas en la ausencia de trabajos adecuados.

Las tasas calculadas de cambio en los procesos del ciclo de vida de *H. marginatum* no deben traducirse directamente en una mayor abundancia de garrapatas. Tales tasas de cambio pueden ser mayores en las zonas donde la idoneidad del clima actual para la garrapata es muy baja, como ciertas partes de Escandinavia, que impiden su supervivencia. Para que una población persista en un hábitat particular, las tasas de desarrollo deben superar a las de mortalidad para que pueda permanecer a través de generaciones. Por lo tanto, se deben evaluar tanto las tasas de cambio como los valores reales de desarrollo y mortalidad para caracterizar la situación epidemiológica de un área. La toma de decisiones en salud pública requiere habitualmente la consideración de factores complejos más allá de la distribución geográfica que implican la determinación de riesgo de la enfermedad (Hongoh *et al.*, 2011).

Nuestros resultados muestran una tendencia hacia la mejora de la aptitud del clima para la garrapata a lo largo de un gradiente latitudinal. Sin embargo, la mejora de las condiciones abióticas en los diferentes períodos de tiempo no es lineal. El cambio fue mayor durante los períodos 1901-1922 y 1989-2009, y estos resultados concuerdan con otras conclusiones sobre la magnitud del cambio climático en las últimas décadas (Schönwiese y Rapp, 1997; Patz *et al.*, 2005) que no tiene precedentes en los registros históricos. El impacto del clima en las tasas de supervivencia y de desarrollo de *H. marginatum* es mayor en el área donde la garrapata ha sido ya detectada en las últimas décadas. Sin embargo, dentro de la zona históricamente negativa, existen grandes regiones en el dominio Atlántico que han experimentado aumentos en la tasa de desarrollo de hasta un 60% - 80% y un aumento de más del 80% en las tasas de supervivencia durante el desarrollo y fases libres. Estos valores son importantes porque se refieren a las áreas donde la garrapata se ha registrado de forma esporádica durante los últimos años. Este hallazgo concilia esos registros, que son probablemente una introducción accidental, con las conclusiones que se extraen de los efectos del clima sobre la garrapata, y contribuyen a apoyar las afirmaciones de que las condiciones abióticas están mejorando para *H. marginatum* en algunas partes de Europa. Existen grandes zonas en Europa occidental y central y los Balcanes que han experimentado un aumento importante en su aptitud climática para *H. marginatum*, pero a un ritmo inferior. Las TD y MD están mejorando en Europa occidental, mientras que las SFL estás mejorando en las áreas de los Balcanes, lo que coincide con informes anteriores (Estrada-Peña *et al.*, 2012). Sin embargo, estas mejoras en la aptitud para las garrapatas parecen estar por debajo del umbral crítico necesario para el establecimiento permanente de las poblaciones según los criterios del estudio.

Un punto importante de nuestros resultados es que las tendencias del clima en la región del centro de Turquía considerada como el epicentro de la epidemia de FHCC (Ergonul y Whitehouse, 2007) apenas ha tenido impacto sobre el ciclo vital de *H. marginatum*. Esto es de interés debido a que el efecto directo del clima sobre la densidad de la garrapata se ha considerado una razón probable de la epidemia (Gunaydin *et al.*, 2010; Uyar *et al.*, 2011), sin tener en cuenta otros factores tales como los cambios en los hábitos sociales o en los hospedadores. Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que existen factores distintos de las consecuencias directas del clima sobre las garrapatas, que podrían estar detrás del aumento de la incidencia de FHCC en la región. Es importante destacar que los hospedadores tienen un papel central en la persistencia de los focos de garrapatas y los patógenos transmitidos, ya que son tanto la fuente de sangre para las garrapatas como los reservorios adecuados para los agentes patógenos (Estrada-Peña *et al.*, 2011). Una simple regla es que cuando la idoneidad del clima es adecuada para la persistencia de la garrapata, una mayor densidad de hospedadores impulsa el crecimiento de la población de garrapatas. Una gran densidad de hospedadores puede incluso compensar los efectos de un entorno que es ligeramente desfavorable para la supervivencia de la garrapata (Randolph *et al.*, 2002).

Los resultados sugieren que las poblaciones de *H. marginatum* pueden experimentar grandes cambios en los sitios que ya han sido colonizados, como la mayor parte de la Península Ibérica, donde una alta abundancia de hospedadores puede producir un rápido aumento del volumen de la población. Los resultados también sugieren que debería llevarse a cabo una vigilancia activa de forma rutinaria en puntos específicos de Europa, donde tanto las condiciones climáticas como la densidad de hospedadores pueden proporcionar un fondo adecuado para el establecimiento de las garrapatas en caso de introducción. En este estudio hemos incluido solamente la densidad de ungulados domésticos como motor de la estimación de las zonas susceptibles de colonización. Estos hospedadores son habitualmente usados por los adultos de *H. marginatum* (Estrada-Peña *et al.*, 2011), pero los ungulados salvajes pueden servir igualmente como hospedadores a un gran número de garrapatas (Ruiz-Fons *et al.* 2006). Dado que se carece de un mapa fiable de la densidad de ungulados silvestres en un gran territorio como Europa, a la resolución espacial utilizada en nuestro estudio, la estimación de las áreas de vigilancia activa se plantea simplemente como una aproximación al problema y la demostración del concepto de que es posible determinar tales territorios de muestreo con modelos simples.

El presente estudio pretende ser un marco para evaluar la extensión del territorio afectado por las tendencias del clima que mejoran la aptitud de un artrópodo que afecta a la salud

humana. Esta investigación también se entiende como un modelo que puede incorporar datos de una variedad de fuentes y dar cabida a otros procesos transmitidos por vectores. Los resultados se han categorizado con las regiones bioclimáticas del territorio de estudio, lo que facilita la descripción del cambio. Además de estos aspectos metodológicos, este estudio ha demostrado que las tendencias del clima a largo plazo han afectado a las tasas de los procesos del ciclo de vida de *H. marginatum*, y que los cambios a lo largo de las últimas décadas son excepcionalmente elevados. A pesar de que nuestra evaluación indica la existencia de algunas áreas críticas en Europa, el riesgo de que las garrapatas se establezcan con éxito en las latitudes septentrionales parece ser aún bajo. De cualquier modo, cualquier evaluación de riesgo debería estar basada en los hallazgos de campo. Sin embargo, la vigilancia activa para las garrapatas de importancia sanitaria en el territorio de referencia es actualmente inexistente.

Leyenda de las figuras:

Figura 1: Mapa de la región de estudio, en el que se indica la zona para la que existen datos climáticos y su resolución espacial (puntos en A), así como los resultados de la distribución de la garrapata *Hyalomma marginatum* basados en modelos correlativos (tonos de verde-marrón en A). La distribución y denominación estándar de las regiones bioclimáticas de Europa se muestra en B.

Figura 2: Media anual de cambio (en %) de la tasa de desarrollo (TD), la mortalidad durante el desarrollo (MD) y la supervivencia de las fases en vida libre (SFL), estudiadas espacialmente según los dominios geográficos de la región de estudio.

Figure 3: Media anual de cambio (en %) de la tasa de desarrollo (TD), la mortalidad durante el desarrollo (MD) y la supervivencia de las fases en vida libre (SFL), estudiadas espacialmente según las zonas en las que la garrapata ha sido colectada de forma persistente en las últimas décadas (Zona Positiva, ZP) o no (Zona Negativa, ZN).

Figura 4: Distribución espacial de las diferentes categorías del hábitat según las condiciones climáticas para *Hyalomma marginatum*. Cada valor entre 1 y 5 corresponde a las clasificaciones efectuadas y detalladas en la Tabla 1. Cada mapa, entre A y E, incluye un intervalo temporal, como se indica. El mapa en la Figura F resume los datos anteriores, indicando mediante tres colores la tendencia del cambio. Las zonas azules indican zonas que han cambiado desde las categorías 4 y 5 a la categoría 3; las zonas amarillas indican un cambio desde la categoría 3 a la categoría 2; las zonas rojas indican un cambio desde la categoría 2 a la 1.

Figura 5: Evaluación del territorio basada en la tendencia de los cambios del ciclo vital de *Hyalomma marginatum* (exposición) y la densidad de ruminantes domésticos (vulnerabilidad). El mapa pretende indicar las zonas donde podría ser necesario llevar a cabo una vigilancia activa para comprobar los cambios de las poblaciones de la garrapata. El mapa se basa en reglas de lógica difusa con un umbral mínimo de 7 hospedadores/ha, y un incremento anual de 0.0024 en la TD, una disminución anual de 0.001 en la MD y un aumento anual de 0.0069 de MFL. Estos valores mínimos son el límite “0” para la valoración, que se muestran en color blanco. Los valores máximos de las combinaciones anteriores proporcionan un límite de “1”, que se indica con color rojo.

Bibliografía

- Anderson JF. (2002) The natural history of ticks. *Med. Clin. North. Am.*, 86: 205-218.
- Baltussen R, Niessen L. (2006) Priority setting of health interventions: the need for multi-criteria decision analysis. *Cost Effectiveness and Resource Allocation* 4: 14.
- Carroll S.A., Bird B.H., Rollin P.E. (2010) Ancient common ancestry of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55: 1103-1110.
- Charrel R.N., Attoui H., Butenko A.M. (2004) Tick-borne diseases of human interest in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.*, 10: 1040-1055.
- Deyde V., Khristova M.L., Rollin P.E. (2006) Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genomics and global diversity. *Journal of Virology*, 80: 8834-8842.
- Ergonul O, Whitehouse CA. (2007) Introduction. In: *Crimean-Congo hemorrhagic fever. A global perspective* (Ergonul and Whitehouse, eds.), 3-13. Springer, The Netherlands. pp: 3-13.
- Estrada-Peña A, Sánchez N, Estrada-Sánchez A. (2012) An assessment of the distribution and spread of the tick *Hyalomma marginatum* in the western Palearctic under different climate scenarios. *Vector-Borne and Zoon. Dis.* 12: 758-768.
- Estrada-Peña A, Martínez Avilés M, Muñoz Reoyo MJ. (2011) A population model to describe the distribution and seasonal dynamics of the tick *Hyalomma marginatum* in the Mediterranean Basin. *Transbound. Emerg. Dis.* 58: 213-223.
- Estrada-Peña A, Farkas R, Jaenson TG, Koenen F, Madder M, Pascucci I, Jongejan F. (2013a) Association of environmental traits with the geographic ranges of ticks (Acari: Ixodidae) of medical and veterinary importance
- Evans ME, Smith SA, Flynn RS, Donoghue MJ. (2009) Climate, Niche Evolution, and Diversification of the “Bird-Cage” Evening Primroses (Oenothera, Sections Anogra and Kleinia). *The American Naturalist* 173: 225-240.
- Gale PJ, Estrada-Peña A, Martinez M, Ulrich RG, Wilson A, Capelli G, Fooks AR. (2010) The feasibility of developing a risk assessment for the impact of climate change on the emergence of Crimean-Congo haemorrhagic fever in livestock in Europe: a Review. *J. Appl. Microbiol.* 108: 1859-1870.

Gunaydin NS, Aydin K, Yilmaz G, Caylan R, Koksal I. (2010) Crimean-Congo hemorrhagic fever cases in Eastern Black Sea Region of Turkey: Demographic, geographic, climatic, and clinical characteristics. *Turkish J. Med. Sci.* 40: 829-834.

Hongoh V, Gatewood Hoen A, Aenishaenslin C, Waaub JP, Bélanger D, Michel P. (2011) Spatially explicit multi-criteria decision analysis for managing vector-borne diseases. *International Journal of Health Geographics* 10: 70. Available: <http://www.ij-healthgeographics.com/content/10/1/70>. Accesed May 3rd, 2013.

Hornok S, Horvath G. (2012) First report of adult *Hyalomma marginatum rufipes* (vector of Crimean–Congo haemorrhagic fever virus) on cattle under a continental climate in Hungary. *Parasites & Vectors* 5: 170.

Hoogstraal, H. (1979). The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *Journal of medical entomology*, 15(4), 307-417.

Ivanov N. (1960). Epidemiology of hemorrhagic fever in Bulgaria. *Izv. Mikrobiol. Ints.* Sofia 12: 369-373.

Jaenson TG, Eisen L, Comstedt P, Mejlon HA, Lindgren E, Bergström S, Olsen B. (2009) Risk indicators for the tick *Ixodes ricinus* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Sweden. *Med. Vet. Entomol.* 23: 226-237.

Kiker GA, Bridges TS, Varghese A, Seager TP, Linkov I. (2005) Application of multicriteria decision analysis in environmental decision making. *Integrated Environ. Assess. Manag.* 1: 95-108.

Maltezou H.C., Andonova L., Andraghetti R. (2010) Crimean-Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness. *Euro Surveillance*. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19504>.

Mardani M., Keshtkar-Jahromi M. (2007). Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Archives of Iranian Medicine*, 10: 204-214.

Nabeth P., Cheikh D.O., Lo B (2004) Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, Mauritania. *Emerging Infectious Diseases*, 10: 2143-2149.

Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, Derdakova M, Estrada-Peña A, George JC, Jaensons TGT, Van Bortel W. (2013) Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasites & Vectors* 6: 1-11.

Mücher CA, Klijn JA, Wascher DM, Schaminée JH. (2010) A new European Landscape Classification (LANMAP): A transparent, flexible and user-oriented methodology to distinguish landscapes. *Ecological Indicators* 10: 87-103.

Nijhof AM, Bodaan C, Postigo M, Nieuwenhuijs H, Opsteegh M, Franssen L, Jebbink F, Jongejan F. (2007) Ticks and associated pathogens collected from domestic animals in the Netherlands. *Vector Borne Zoon. Dis.* 7: 585-595.

Ogden NH, St-Onge L, Barker IK, Brazeau S, Bigras-Poulin M, Charron DF, Francis CM, Heagy A, Lindsay LR, Maarouf A, Michel P, Milord F, O'Callaghan CJ, Trudel L, Thompson RA (2008) Risk maps for range expansion of the Lyme disease vector, *Ixodes scapularis*, in Canada now and with climate change. *Int. J. Health Geogr.* 7: 24.

Ostfeld RS, Glass GE, Keesing F. (2005) Spatial epidemiology: an emerging (or re-emerging) discipline. *Trends Ecol. Evol.* 20: 328-336.

Patz JA, Hahn MB. (2013) One Health: The Human-Animal-Environment Interfaces in Emerging Infectious. *Dis. Cur. Topics Microbiol. Immunol.* 366: 141-171.

Randolph SE. (2009) Tick-borne disease systems emerge from the shadows: the beauty lies in molecular detail, the message in epidemiology. *Parasitol.* 136: 1403-1413.

Robinson, T. P., Franceschini, G., & Wint, W. (2007). The Food and Agriculture Organization's gridded livestock of the world. *Vet Ital*, 43(3), 745-751.

Ruiz-Fons F, Fernández-de-Mera IG, Acevedo P, Höfle U, Vicente J, De la Fuente J, Gortazár C. (2006) Ixodid ticks parasitizing Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) and European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: Geographical and temporal distribution. *Vet. Parasitol.* 140: 133-142.

Sang R., Lutomiah J., Koka H. (2011). Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Hyalomma ticks, Northeastern Kenya. *Emerging Infectious Diseases*, 17: 1502.

Schönwiese CD, Rapp J. (1997) Climate trend atlas of Europe-based on observations 1891-1990. Kluwer Academic Publishing, Dordrecht, Germany. 228 p.

Tabachnick WJ. (2010) Challenges in predicting climate and environmental effects on vector-borne disease episeystems in a changing world. *J. Exp. Biol.* 213, 946-954.

Tingley MW, Monahan WB, Beissinger SR, Moritz C. (2009) Birds track their Grinnellian niche through a century of climate change. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 106 (Supplement 2): 19637-19643.

Uyar Y, Christova I, Papa A. (2011) Current situation of Crimean Congo hemorrhagic fever (CCHF) in Anatolia and Balkan Peninsula. *Turk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 68: 139-151.

Williams R.J., Al-Busaidy, S., Mehta F.R. (2000). *Tropical Medicine and International Health*, 5(2): 99-106.

Wint, W., & Robinson, T. (2007). Gridded livestock of the world 2007. *Aportes* (Costa Rica). (Jun 2004), (129), 50-59.

Zavitsanou A., Babatsikou F, Koutis C. (2009). Crimean-Congo hemorrhagic fever: an emerging tick-borne disease. *Health Science Journal*, 3: 108-112.

Otras referencias:

Organización Mundial de la Salud, 2011. Enfermedad Hemorrágica de Crimea-Congo http://www.who.int/csr/disease/crimean_congoHF/en/

Organización Mundial de la Salud. Recomendaciones para el Ebola. (<http://www.who.int/csr/disease/ebola/en/>)

Sanidad, S. P. Y., & Emergencias, A. Y. (2011). Informe de situación y evaluación del riesgo de transmisión de fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (FHCC) en España.

Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. Third Edition (PAHO, 2001). http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=19187&Itemid=

Datos adicionales 1.

Ecuaciones usadas para calcular las medias de desarrollo, las tasas de mortalidad durante el desarrollo y las tasas de supervivencia de las fases libres. Todas las ecuaciones han sido ajustadas y validadas en un estudio anterior (Estrada-Peña *et al.*, 2011). En cada ecuación, la temperatura se expresa en °C y el vapor de agua (VD) en milímetros.

1. Ecuaciones de desarrollo

$$\text{Pre-oviposición: } T_p = 50.775 - 1.0728T - 0.229VD \quad (1)$$

$$\text{Oviposición: } T_o = 66.19 - 1.5638T - 0.179VD \quad (2)$$

$$\text{Incubación: } T_i = 59.7 - 1.151T - 0.1014VD \quad (3)$$

$$\text{Muda de las ninfas repletas a adultos: } T_m = 192.23 - 6.054T + 0.258VD \quad (4)$$

donde T_p , T_o , T_i and T_m representan días.

2. Ecuaciones de mortalidad durante las fases de desarrollo:

$$\text{Hembras: } M_f = 19.32 + 1.212T - 0.16VD \quad (5)$$

$$\text{Huevos: } M_e = 108.325 - 3.848T + 1.414VD \quad (6)$$

$$\text{Ninfas: } M_n = 51.4786 + 1.525T - 0.22VD \quad (7)$$

en las que M_f , M_e and M_n son la mortalidad (in %) de las hembras en puesta, de los huevos en desarrollo o de las ninfas en muda.

3. Ecuaciones para la supervivencia de las fases de vida libre:

$$\text{Larvas: } M_l = 16.1 + 0.814T - 0.21VD \quad (8)$$

$$\text{Adultos: } M_a = 14.3 + 0.792T - 0.14VD \quad (9)$$

en las que M_l and M_a son las medidas de supervivencia de las larvas o de los adultos, respectivamente.

Datos adicionales 2: Script del entorno de programación R con las ecuaciones anteriores, junto con la importación de imágenes raster con los datos de clima originales..

```

# Life cycle for Hyalomma marginatum
# version running on decadal intervals of CRU temperature and water vapor values
library(popbio)
library(maptools)
library(sp)
library(plotrix)
avelarvae <- 50
aveadults <- 30
HD<-4
Actividad <- function (i) {
  (0.203777*(HD^.114573))*((-0.008*(i^2))+(0.336*(i))-2.128)
}
HembrasGordas <- function (i,j) {
  30/((59.69858-(1.15089*(i))-(0.10136*(j)))+(50.77389-(1.07279*(i))-(0.22908*(j))))
}
HuevosGordos <- function(i,j){
  30/(66.18899-(1.56382*(i))+(0.10136*(j)))
}
HembrasVivas <- function(i,j){
  (108.3254-(3.718*(i))+(1.0139*(j)))/100
}
HuevosVivos <- function (i,j) {
  (108.3254-(3.848*(i))+(1.4139*(j)))/100
}
NinfasGordas <- function (i,j) {
  30/(192.2344-(6.054*(i))+(0.2577*(j)))
}
NinfasMuertas <- function (i,j) {
  ((51.4786+(1.002524*(i))-(0.222031*(j)))/100
}
puntacosTable <- read.csv("~/Desktop/ricinus_CRU/puntacosTable.csv")
resumen <- matrix(data=0, nc=7, nr=nrow(puntacosTable))
colnames(resumen)<-c("Sitio", "Long", "Lat", "Lambda Mean",
  "Sum Dev", "Sum Mort", "Ratio Dev/Surv")
ClimateReal<-matrix(data=0, nc=27, nr=nrow(puntacosTable))
ClimateReal[,1] <- puntacosTable[,1]
ClimateReal[,2] <- puntacosTable[,2]
ClimateReal[,3] <- puntacosTable[,3]
pt <- readShapePoints("~/Desktop/ricinus_CRU/Puntacos.shp") ## The points for weather data

## Importing weather data
for (intervalo in seq(1901,2009,by=1))
{
  print(intervalo)
  x1 <- "~/Desktop/ricinus_CRU/temp/"
  casilla <- 4

```

```

for (mes in 1:12)
{
  x <- paste(x1,"cru_ts_3_10.1901.2009.tmp_",__intervalo,"_",mes,".asc",sep="")
  gr <- readAsciiGrid(x)
  z <- overlay(gr, pt)
  datos <- as.data.frame(z)
  ClimateReal[,mes+3] <- datos[,1]/10
}
x1 <- "~/Desktop/ricinus_CRU/vap/"
for (mes in 1:12)
{
  x <- paste(x1,"cru_ts_3_10.1901.2009.vap_",__intervalo,"_",mes,".asc",sep="")
  gr <- readAsciiGrid(x)
  z <- overlay(gr, pt)
  datos <- as.data.frame(z)
  ClimateReal[,mes+15] <- datos[,1]/10
}
#####
# Main loop #####
for (bucle in 1:nrow(puntacosTable))
{
  if (bucle%%100==0)
  {
    print(bucle*100/nrow(puntacosTable))
  }
  ClimateT <- matrix(data=0,nr=12,nc=1)
  ClimateT[,1] <- ClimateReal[bucle,4:15]
  LifeTable<-matrix(0, nc=16, nr=12)
  colnames(LifeTable)<-c("DevEngFem","MortEngFem","DevEggs","MortEggs","GuessLarvae","% Larvae","Real Larvae","DevEngLarvae",
    "MortEngLarvae","DevEngNymphs","MortEngNymphs","GuessAdults","% Adults","Real Adults","Lambda","Activity")
  for (bucle2 in 1:12)
  {
    bucle3 <- bucle2+3
    bucle4 <- bucle3+12
    i <- ClimateReal[bucle,bucle3]
    j <- ClimateReal[bucle,bucle4]
    LifeTable[bucle2,1] <- HembrasGordas(i,j)
    LifeTable[bucle2,2] <- HembrasVivas(i,j)
    LifeTable[bucle2,3] <- HuevosGordos(i,j)
    LifeTable[bucle2,4] <- HuevosVivos(i,j)
    LifeTable[bucle2,8] <- NinfasGordas(i,j)
    LifeTable[bucle2,9] <- NinfasMuertas(i,j)-(NinfasGordas(i,j)*0.85)
    LifeTable[bucle2,10] <- NinfasGordas(i,j)
    LifeTable[bucle2,11] <- NinfasMuertas(i,j)
    LifeTable[bucle2,16] <- Actividad(i)
    if (bucle2<6) LifeTable[bucle2,8]<-0 else LifeTable[bucle2,8]<-LifeTable[bucle2-2,10]
  }
  LifeTable[which(LifeTable[,1]>1),1] <- 1
  LifeTable[which(LifeTable[,3]>1),3] <- 1
  LifeTable[which(LifeTable[,2]<0),2] <- 0
  LifeTable[which(LifeTable[,2]>1),2] <- 1
}

```

```

LifeTable[which(LifeTable[,16]<0),16] <- 0
LifeTable[which(LifeTable[,4]<0),4] <- 0
LifeTable[which(LifeTable[,4]>1),4] <- 1
LifeTable[which(LifeTable[,9]>1),9] <- 1
LifeTable[which(LifeTable[,11]>1),11] <- 1
LifeTable[which(ClimateT[,1]<6),1] <- 0
LifeTable[which(ClimateT[,1]<6),3] <- 0
LifeTable[which(ClimateT[,1]<6),8] <- 0
LifeTable[which(ClimateT[,1]<6),10] <- 0
# # Recruitment by development
acumula<-0; puntero<-1; volvedor<-1
repeat
{
  while (acumula<1)
  if (puntero>nrow(ClimateT)) break
  else {acumula<-acumula+LifeTable[puntero,1]; puntero<-puntero+1}
  if (puntero>nrow(ClimateT)) break
  else LifeTable[volvedor,5]<-puntero; acumula<-0; puntero<-volvedor+1; volvedor<-volvedor
+1
}
acumula<-0; puntero<-1; volvedor<-1
repeat
{
  while (acumula<1)
  if (puntero>nrow(ClimateT)) break
  else {acumula<-acumula+LifeTable[puntero,8]; puntero<-puntero+1}
  if (puntero>nrow(ClimateT)) break
  else LifeTable[volvedor,12]<-puntero; acumula<-0; puntero<-volvedor+1; volvedor<-
volvedor+1
}
# # Self-protection against overfitting
acumula<-0
for (linea in 1:nrow(LifeTable))
{
  acumula<-acumula+LifeTable[linea,3]
  if (LifeTable[linea,10]<0) LifeTable[linea,10]<-0
}
minimLarvae <- min(LifeTable[which(LifeTable[,5]>0),5])
for (linea in 1:nrow(LifeTable))
{
  if (LifeTable[linea,5]==0) LifeTable[linea,5] <- minimLarvae
}
minimAdults <- min(LifeTable[which(LifeTable[,12]>0),12])
for (linea in 1:nrow(LifeTable))
{
  if (LifeTable[linea,12]==0) LifeTable[linea,12] <- minimAdults
}
for (linea in 1:nrow(LifeTable))
{
  LifeTable[LifeTable[linea,5],6] <- LifeTable[LifeTable[linea,5],6]+1
  LifeTable[LifeTable[linea,12],13] <- LifeTable[LifeTable[linea,12],13]+1
}

```

```

LifeTable[,7] <- c(LifeTable[,6]*LifeTable[,2]*LifeTable[,4]*LifeTable[,16])
LifeTable[,6] <- c((rescale(LifeTable[,7],0:1))*avelarvae)
LifeTable[,14] <- c(LifeTable[,13]*LifeTable[,8]*LifeTable[,10]*LifeTable[,16])
LifeTable[,13] <- c((rescale(LifeTable[,14],0:1))*aveadults)
Building matrixes for eigen analyis and lambda (5 x 5).
for (linea in 1:nrow(LifeTable))
{
  container<-matrix(0, nr=5, nc=5)
  container[1,5]<-2000
  container[2,1]<-LifeTable[,linea,1];container[2,2]<-(1-LifeTable[,linea,2])
  container[3,2]<-LifeTable[,linea,3];container[3,3]<-(1-LifeTable[,linea,4])
  container[4,3]<-LifeTable[,linea,8];container[4,4]<-(1-LifeTable[,linea,9])
  container[5,4]<-LifeTable[,linea,10];container[5,5]<-(1-LifeTable[,linea,11])
  LifeTable[,linea,15]<-lambda(container)-1
  LifeTable[which(LifeTable[,15]<0),15] <- 0
}
resumen[bucle,1] <- puntacosTable[bucle,1]
resumen[bucle,2] <- puntacosTable[bucle,2]
resumen[bucle,3] <- puntacosTable[bucle,3]
resumen[bucle,4] <- mean(LifeTable[,15])
resumen[bucle,5] <- sum(LifeTable[,1]+LifeTable[,3]+LifeTable[,10])
resumen[bucle,6] <- sum(LifeTable[,2]+LifeTable[,4]+LifeTable[,11])
resumen[bucle,7] <- resumen[bucle,5]/resumen[bucle,6]
##### End of main loop #####
}
resultados <- c(paste("resultados_",intervalo,".csv",sep=""))
setwd("~/Desktop/assessment_Hyalomma/")
write.csv(resumen, file = resultados, quote = TRUE,eol = "\n")
}

```