



UNIVERSIDAD DE JAÉN

**FACULTAD DE CIENCIAS
EXPERIMENTALES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
ANIMAL, BIOLOGÍA VEGETAL Y
ECOLOGÍA**

TESIS DOCTORAL
**BIOLOGÍA POBLACIONAL DE *SARCOPTES*
SCABIEI Y EPIDEMIOLOGÍA DE LA
SARCOPTODOSIS EN CABRA MONTÉS,
*CAPRA PYRENAICA***

**PRESENTADA POR:
INMACULADA CASTRO SERRANO**

**DIRIGIDA POR:
DR. D. JESÚS M^a PÉREZ JIMÉNEZ**

JAÉN, 25 DE ABRIL DE 2019

ISBN 978-84-9159-245-7

Índice

Agradecimientos.....	
Resumen.....	1
Abstract.....	3
1. Introducción.....	7
1. 1. El hospedador: la cabra montesa ibérica, <i>Capra pyrenaica</i>	8
1. 2. Estatus sanitario: enfermedades de <i>Capra pyrenaica</i>	12
1. 2. 1. <i>Sarcoptes scabiei</i> y la sarna sarcóptica.....	14
1. 3. Relaciones <i>Sarcoptes scabiei</i> – <i>Capra pyrenaica</i>	18
1. 4. Métodos de diagnóstico y monitorización de la enfermedad.....	21
1. 5. Hipótesis y objetivos.....	23
1. 6. Referencias.....	25
2. Material y métodos.....	35
2.1. El área de estudio: el Espacio Natural de Sierra Nevada	35
2.2. Obtención y procesado de muestras.....	37
2.3. Análisis estadísticos.....	39
2. 4. Referencias.....	40
3. Resultados.....	43
3.1. On the population biology of <i>Sarcoptes scabiei</i> infesting Iberian ibex (<i>Capra pyrenaica</i>).....	47
3.2. Does <i>Sarcoptes scabiei</i> synchronize its breeding cycle with that of the Iberian ibex, <i>Capra pyrenaica</i> ?.....	55
3. 3. Characterizing the growth of <i>Sarcoptes scabiei</i> infrapopulations.....	63
4. Discusión general.....	77

4. 1. Algunas consideraciones sobre el método de digestión y recuento diferencial de ácaros.....	77
4. 2. Aplicación potencial de métodos automatizados de recuento y de métodos no invasivos de telediagnóstico.....	78
4. 3. Aspectos desconocidos de la biología de <i>Sarcoptes scabiei</i> y de la epidemiología de la sarna sarcóptica en ambientes de alta montaña....	81
4. 4. La modelización es útil.....	82
4. 5. Referencias.....	84
5. Conclusiones.....	89
5. Conclusions.....	90
Apéndice 1	A1-1

La vida está llena de proyectos que nos vamos marcando, al final de los cuales siento que es importante detenerse, mirar atrás y observar errores y aciertos, dificultades y apoyos. El objetivo es aprender, marcarse nuevos proyectos y seguir caminando.

Durante este camino he encontrado muchas emociones, mucho trabajo, grandes retos y un gran equipo humano sin el cual todo esto hubiese sido imposible.

El eje principal es Jesús, mi Director, quien confió en mí y me ha ayudado en todo lo que he ido necesitando.

Al que calificaría como "Gran Equipo de Sierra Nevada", quienes me hicieron aprender cada día disfrutando: Pepe (el hablador incansable), Apolo (la fortaleza y la bondad), Isidro (el bonachón), Paco (mi protector), Antonio (amante de la naturaleza) y Javier Cano (trabajador). Todos estos miembros solo pueden estar dirigidos por un gran "Jefe", ese es José Enrique (que reúne cada uno de los valores mencionados).

A Ramón Soriguer, al que admiro por su trabajo y generosidad. La escasez de tiempo nunca ha sido un impedimento para atendernos y asistirnos.

A mi compañero de fatigas, José Espinosa, quien me ha ayudado a analizar estadísticamente los resultados.

A mi héroe, mi padre, quien me ha transmitido ese amor por la naturaleza, alejándose de cualquier interés material. Solo su presencia, solo su mirada, es suficiente para darme aliento y seguir.

A mi madre, trabajadora incansable, quien ha sacrificado toda su vida por nosotros, aun flaqueándole sus fuerzas.

A mi "manito", mi apoyo, que me acompaña día a día. Quien me ha enseñado lo bonita que es la vida y lo importante de disfrutarla.

A Jesús, mi pequeño, quien me ha enseñado a sentir.

RESUMEN

La sarna sarcóptica es una enfermedad endémica de la población de *Capra pyrenaica* del Espacio Natural de Sierra Nevada. Si bien se viene monitorizando y manejando desde hace más de 25 años, aún desconocemos muchos aspectos de su epidemiología, de su ecología o de las relaciones parásito-hospedador, entre otros.

En esta Tesis Doctoral hemos abordado el estudio de la biología poblacional de *Sarcoptes scabiei* en base al análisis de un total de 389 infrapoblaciones de ácaros de cabras montesas de dicho espacio natural.

Entre 2002 y 2016 se obtuvieron las pieles completas de un total de 368 ejemplares abatidos en el contexto de un programa de control de la densidad de cabras y de la sarna. De cada piel se extrajeron sistemáticamente 5 piezas de 6,25 cm² de superficie cada una. Dichas porciones de piel se digirieron en una solución de KOH (5%) a 45°C y los productos de digestión se analizaron con lupa binocular procediendo a un recuento diferencial (fase de desarrollo y sexo, en el caso de ejemplares adultos) de ácaros. Aplicamos modelos lineales generalizados (GLMs) para modelizar la densidad media de ácaros (como variable respuesta) en función del sexo, edad, peso e índice de grasa perirrenal (KFI), del hospedador, sex ratio de los ácaros, índice de Gausson (GI), estación y año.

De forma complementaria, pudimos analizar la dinámica de 21 infrapoblaciones de ácaros de cabras infestadas experimentalmente, para lo cual se empleó el método descrito anteriormente en la digestión de biopsias (8 mm de diámetro) obtenidas de las lesiones producidas por la sarna. Modelizamos el número de ácaros utilizando modelos lineales generalizados mixtos (GLMMs).

La densidad de ácaros varió significativamente entre años y disminuyó con la edad del hospedador. La mayor parte de la varianza de la densidad de ácaros se explicó por el año, el sexo, el peso y el índice de grasa perirrenal del hospedador. Se obtuvo una densidad media en torno a los 175 ácaros/cm². Las zonas del hospedador más frecuentemente afectadas fueron las extremidades y la grupa, aunque las densidades de ácaros más elevadas se encontraron en los labios y extremidades. Esto sugiere que la infección indirecta, a través del sustrato podría jugar un papel en la epidemiología de la enfermedad. El número de ácaros obtenidos de la digestión de una biopsia de piel no se correlacionó con el índice histológico de ácaros (HMI) obtenido a partir de un análisis histológico realizado en una biopsia adyacente, lo que sugiere que los ácaros no se distribuyen de forma uniforme en la superficie de la lesión dérmica.

A nivel metapoblacional, la proporción de sexos de los ácaros estuvo sesgada a favor de las hembras (media = 5,8 ♀♀/♂), y alrededor del 50% de los ácaros detectados fueron larvas. Tanto la densidad media de ácaros, como el número de larvas alcanzaron los mayores valores en noviembre, coincidiendo con el celo de los hospedadores, que se concentran en grupos de mayor tamaño. Por otra parte, el número de ninfas alcanzó los mayores valores en mayo, coincidiendo con la época de partos. Estos resultados sugieren que (i) existe cierto nivel de sincronización entre el

ciclo reproductor del hospedador y del parásito y (ii) las ninfas podrían jugar un papel importante en la transmisión vertical de la enfermedad.

De media obtuvimos una tasa finita de crecimiento de 11.53 ± 10.17 y una tasa diaria de crecimiento de 0.10 ± 0.08 ácaros/día. Las diferencias interindividuales (en relación a los hospedadores) contribuyeron a un 12,3% de la varianza de la abundancia de ácaros. En dos casos el número de ácaros llegó a 0 tras una tendencia inicial positiva.

ABSTRACT

Sarcoptic mange is an endemic disease affecting the Iberian ibex population from the Sierra Nevada Natural Space. Despite this disease is being monitored and managed over last 25 years, diverse aspects regarding its epidemiology, ecology or parasite-host relations, among others, still remain unknown.

This PhD Thesis is focussed to address the population biology of *Sarcoptes scabiei* on the basis of the analysis of 389 mite infrapopulations from Iberian ibex from this natural space.

Between 2002 and 2016 we obtained whole skins of 315 ibex specimens that had been shot as part of a management programme devoted to controlling both ibex density and the spread of sarcoptic mange. From each skin, we systematically removed five pieces (6.25 cm² each) from the most frequently affected areas, namely the mouth, forehead, forelimb, hindlimb and withers. Then, these skin parts were digested in a 5% KOH solution overnight at 45°C. The digestion products were analysed under a stereomicroscope for differential mite count (development phase and sex, when adults). Then, we used generalized linear models (GLMs) (to model the mean mite density (as the response variable) as a function of different explanatory variables: host sex, age, weight (transformed as log weight +1), KFI, mite sex ratio, Gausson Index (GI) (see below), season and year.

On the other hand, we were able to analyze the dynamics of 21 mite infrapopulations from ibex experimentally-infested. For this purpose, we used the above-mentioned method for digesting skin biopsies (8 mm in diameter) obtained from scabietic lesions. We modeled mite numbers with generalized linear mixed models (GLMMs).

Mite density varied significantly between years and decreased with host age. Most of its variance was explained by the year, host sex, weight and kidney fat index (KFI). Mean density reached near 175 mites/cm². Although the most frequently affected zones were hosts' extremities and withers, higher mite densities were obtained from lips and extremities, suggesting that indirect infection through the substrate could also play a role in the disease epidemiology. At a metapopulation level, the sex ratio of mites was female-biased (mean: 5.18 ♀♀/♂). Larvae were more frequently found (nearly 50% of specimens). Mite counts derived from skin sample digestion did not correlate with the histological mite indices (HMIs) obtained from adjacent skin biopsies. Our results suggest that mites are not distributed uniformly over the whole area of the skin lesion.

Both mean mite density and number of larvae peaked in November, coinciding with the host rutting season, when Ibex form larger groups. On the other hand, number of nymphs peaked in May, when births happen. These results suggest that: (i) there is some extent of synchronization between the breeding cycles of both the host and the parasite and (ii) nymphs could play an important role in the mite transmission to offspring.

We obtained the finite growth rate and the daily growth rate for the mite infrapopulations: mean \pm SE = 11.53 \pm 10.17 and 0.10 \pm 0.08 mites/day, respectively. Inter-individual differences contributed a 12.3% to the variance in the mite counts. In two cases the mite counts fell to 0 after an initial positive trend.

1. Introducción

1. Introducción

A nivel mundial y en relación al status de conservación, más del 70 % de los caprinos silvestres presentan algún tipo de amenaza, con más del 30 % de las especies catalogadas como “en peligro” o “en peligro crítico” (Schackleton, 1997; IUCN, 2012).

Los principales problemas de conservación o amenazas identificados son:

- sobreexplotación (caza);
- alteración, pérdida y fragmentación de hábitat provocados por un incremento sustancial de las poblaciones y actividades humanas; y
- competencia por los recursos con las especies domésticas.

Los caprinos silvestres no sólo son elementos importantes de los hábitats montañosos, sino que tradicionalmente se han incluido entre las especies cinegéticas más apreciadas. Aparte de la obtención de trofeos (cuernos), su explotación también se ha llevado a cabo como recursos alimenticios e, incluso, medicinales. Por estos motivos estas especies tienen un enorme valor ecológico, conservacionista y económico, lo cual debería estimular nuestros esfuerzos para preservarlas y manejarlas (explotarlas) con un enfoque sostenible (Schackleton, 1997).

Desde una perspectiva antropocéntrica, los caprinos silvestres son los antecesores de dos de las especies domésticas más importantes: la oveja (*Ovis aries*) y la cabra (*Capra hircus*), por lo que representan una fuente potencial de nuevo material genético para la mejora de los rebaños domésticos, o para su adaptación a condiciones menos productivas (Schackleton, 1997).

No obstante, y a pesar de su importancia, sabemos muy poco de la mayor parte de las especies de caprinos silvestres.

1. 1. El hospedador: la cabra montesa ibérica, *Capra pyrenaica*

La sistemática del género *Capra* aún genera debate y, dependiendo de los autores, incluye de 1 a 11 especies (Kazanskaya *et al.*, 2007; Groves y Grubb, 2011). Esto se debe, en parte, a que todas las especies reconocidas tienen el mismo número de cromosomas ($2n = 60$) (Nadler *et al.*, 1974) y pueden hibridarse entre sí y producir descendientes fértiles (Gray, 1954; Schaller, 1977).

Orden: Artiodactyla Owen, 1848
Suborden: Ruminantia Scopoli, 1777
Infraorden: Pecora Flower, 1883
Familia: Bovidae Gray, 1821
Subfamilia: Antilopinae Gray, 1821
Tribu: Caprini Gray, 1821
Género: <i>Capra</i> Linnaeus, 1758
Especie: <i>Capra pyrenaica</i> Schinz (1838)
Subespecie: <i>Capra pyrenaica hispanica</i> , Schimper (1848)

Encuadre taxonómico de *Capra pyrenaica*, basado en Wilson y Reeder (2005) y Groves y Grubb (2011).

La cabra montesa (Moço *et al.*, 2008) es un ungulado de montaña robusto y de tamaño medio (Tabla 1). Muestra un pelaje estival de un color castaño rojizo, haciéndose más oscuro durante el invierno. La parte anterior de las extremidades también muestra un color negro característico. Los machos exhiben una barba y crin características. La fórmula dentaria es 0.0.3.3/3.1.3.3.

Como ocurre en la mayoría de los ungulados, los machos son más grandes que las hembras (Tabla 1) y presentan los cuernos mucho más desarrollados que éstas. Los cuernos de la cabra montesa presentan una morfología única entre los caprinos silvestres: primero curvan hacia afuera y arriba, posteriormente hacia atrás y finalmente hacia adentro y arriba, con una quilla más o menos conspicua (Figuras 1a - 1c).

	♂♂ (n = 251)	♀♀ (n = 130)
peso total (Kg)	50,4 ± 11,9 (21,0 - 80,0)	31,3 ± 5,2 (18,5 - 46,0)
longitud cuernos (cm)	47,5 ± 16,1 (12,0 - 80,5)	13,9 ± 2,7 (9,0 - 20,8)
perímetro basal (cm)	20,7 ± 2,2 (11,0 - 29,0)	9,7 ± 0,8 (7,5 - 13,3)
altura cruz (cm)	79,3 ± 5,7 (67,0 - 94,0)	69,0 ± 4,3 (60,0 - 81,0)
longitud total (cm)	108,6 ± 11,3 (79 - 150,0)	79,2 ± 9,0 (74,0 - 120,0)

Tabla 1. Biometría de ejemplares adultos (> 4 años) de *Capra pyrenaica* de la población de Sierra Nevada. Extraída de Granados *et al.*, 1997. Se incluye la media ± la desviación estándar y, entre paréntesis, los valores mínimo y máximo.

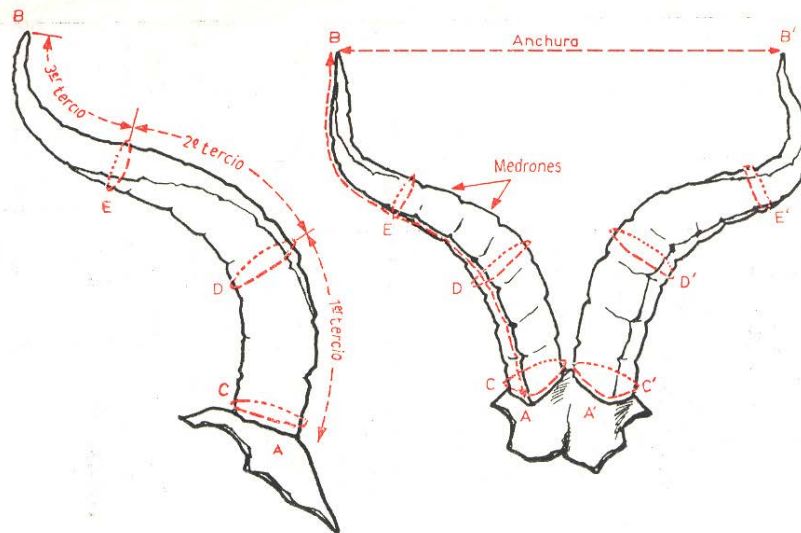


Figura 1. Dimorfismo sexual en relación al tamaño de los cuernos de *Capra pyrenaica*. A (arriba izquierda): macho. B (arriba derecha): hembra. C (abajo centro): morfología característica de los cuernos de los machos de cabra montesa. Las dimensiones marcadas en este dibujo representan los parámetros usados en la valoración de trofeos.

La cabra montesa se puede considerar como una especie herbívora generalista, exhibiendo una estrategia intermedia entre la pastadora y ramoneadora. La dieta varía estacionalmente en función de la disponibilidad de alimento y se ve fuertemente influenciada por la presencia de ganado doméstico que actuaría como competidor. Las gramíneas, cuando están presentes representan un componente fundamental en la dieta de *Capra pyrenaica* (Martínez, 2001; 2002; Moço *et al.*, 2014).

Es una especie gregaria, permaneciendo los sexos separados durante la mayor parte del año, a excepción de la época de celo (Figura 2), con un comportamiento reproductivo poligínico. Las hembras comienzan a reproducirse cuando alcanzan unos 24 kg de peso (en torno a los 30 meses de edad, por regla general). Se ha podido comprobar en hembras de cabra montesa en cautividad que el número de ciclos ovulatorios anuales depende del peso del animal, que a su vez mantiene una clara correlación con su edad y status jerárquico (nivel de dominancia) (Santiago Moreno *et al.*, 2010). Los machos mayores de 8 años son los que suelen reproducirse, aunque pueden llegar a hacerlo con menos edad. El período de celo comienza a finales de otoño - principios de invierno. El período de gestación dura unos 155 días y la mayoría de los partos ocurre durante el mes de mayo. El número de crías por parto suele ser 1, aunque en algunos casos nacen dos chotos. Una revisión de la biología reproductiva de la especie puede obtenerse de Santiago Moreno *et al.* (2010).

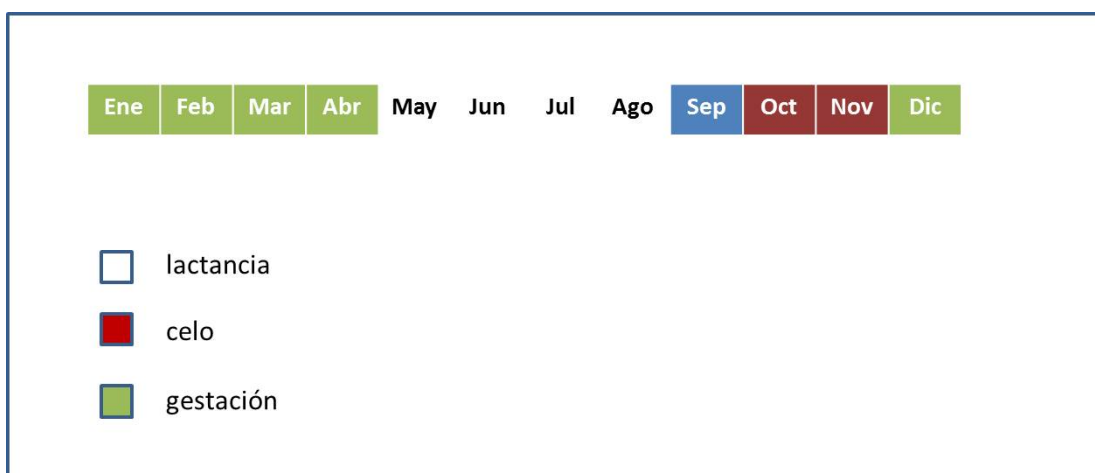


Figura 2. Fenología reproductiva de *Capra pyrenaica*.

La lactación tiene una duración de unos 3-4 meses, pero la cría se mantendrá junto a la madre durante un tiempo mucho más prolongado, fruto de los estrechos vínculos materno-filiales establecidos en esta especie, lo que permite la conformación de los característicos grupos matriarcales (Fandos, 1991).

Dos de las cuatro especies reconocidas por Cabrera (1911) se extinguieron: *C. p. lusitanica* y *C. p. pyrenaica*. Pero estudios sobre el polimorfismo del ADN mitocondrial no concuerdan con esta clasificación infraespecífica (Manceau *et al.* 1999). Dichos autores identificaron tres Unidades Evolutivamente Significativas (UESs) sobre la base de las secuencias de la región control y del citocromo b (ADN mitocondrial): una agrupando tres haplotipos del extinto bucardo (*C. p. pyrenaica* del macizo de los Pirineos), la segunda agrupando haplotipos de las poblaciones septentrionales de cabra montesa: Gredos-Batuecas, Tortosa y Muela de Cortes, y la tercera, incluyendo los haplotipos de las poblaciones meridionales de la Península ibérica (Sierra de Ronda, Sierra Nevada y Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas). En el contexto de la biología de la conservación, una UES está formada por un conjunto de poblaciones que han sufrido aislamiento, por lo que presentan alelos monofiléticos y diferentes potenciales (Moritz, 1994). Por otra parte, análisis filogenéticos de secuencias del citocromo b (392 pb) y de la región variable del ADN mitocondrial (402 pb) del género *Capra* evidenciaron una clara relación entre la cabra montesa ibérica y el íbice alpino (*C. ibex*) (Kazanskaya *et al.* 2007).

En cuanto a las poblaciones andaluzas de *Capra pyrenaica*, la población de Sierra Nevada resultó ser la más polimórfica, conteniendo el 70 % de los haplotipos de citocromo b descritos (Márquez *et al.*, 2002). Recientes estudios sobre microsatélites evidencian recientes cuellos de botella en las principales poblaciones actuales de la especie (Angelone-Alasaad *et al.*, 2017).

La cabra montesa se distribuye principalmente por distintos enclaves montañosos de la cuenca Mediterránea (Figura 3) y otros del centro y norte de la Península Ibérica (Pérez *et al.*, 2002) encontrándose actualmente en pleno proceso expansión (Acevedo y Cassinello, 2009). A finales del siglo XX recolonizó el norte de Portugal (Parque Nacional de Peneda-Gêres) desde el sur de Galicia (Moço *et al.*, 2006).

Recientemente extinguida de los Pirineos, hace pocos años se ha reintroducido en el Parque Nacional des Pyrénées (Cauterets, Francia) (Crampe *et al.*, 2015).

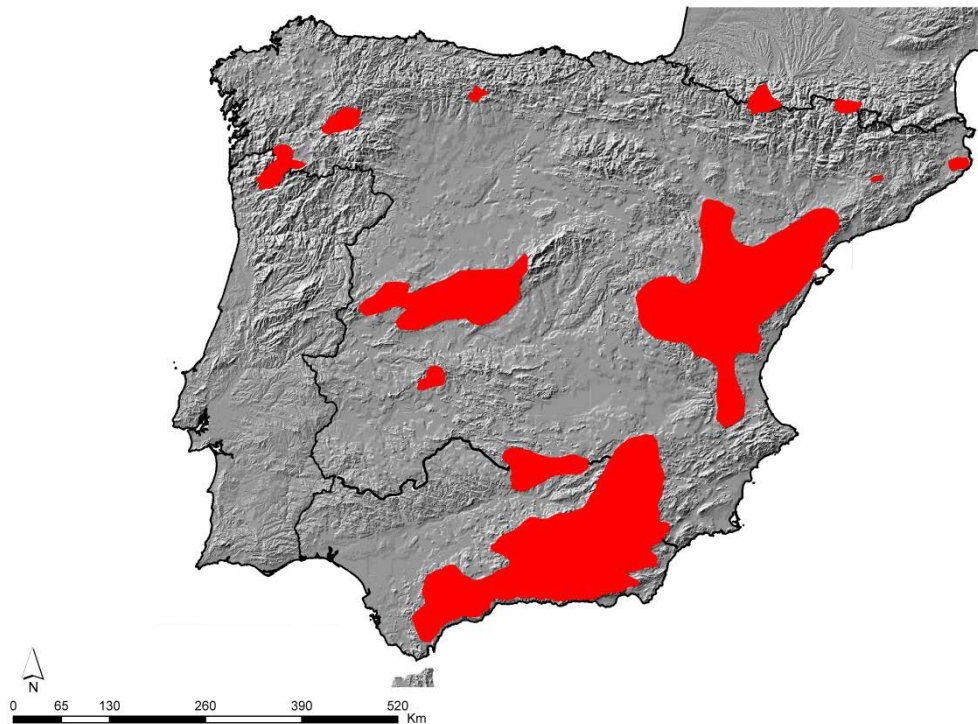


Figura 3: Distribución actual de la cabra montesa.

La cabra montesa está incluida en el Anexo I del Real Decreto 1095/89, en el que se incluyen las especies objeto de caza y pesca en España y se establecen normas para su protección. Así mismo se incluye en el Anexo III (A: especies objeto de caza) de la Ley 8/2003 de 28 de octubre de la Flora y Fauna Silvestres de la Junta de Andalucía.

En cuanto al estatus de conservación, actualmente la cabra montesa se considera como una especie de menor preocupación (“least concern”) (Acevedo y Casinello, 2009; IUCN, 2017).

1. 2. Estatus sanitario: enfermedades de *Capra pyrenaica*

Una enfermedad es cualquier deterioro o daño que interfiere o modifica la realización de las funciones normales. Tales daños o deterioros incluyen respuestas

a factores ambientales como: nutrición, agentes tóxicos, clima, agentes infecciosos (micro y macroparásitos), defectos inherentes o congénitos, o una combinación de estos factores.

Hay diversas razones que justifican el interés y la necesidad de considerar las enfermedades de la fauna silvestre. En primer lugar, tanto los animales silvestres como los domésticos pueden actuar como reservorios o como vectores de agentes patógenos que pueden afectar a los humanos (zoonosis). Otra razón concierne al efecto de las enfermedades en las densidades de las poblaciones animales. Esta última adquiere particular relevancia cuando se trata de pequeñas poblaciones de especies amenazadas (Peterson y Ferro, 2012). El manejo de las enfermedades en poblaciones de animales silvestres se define como la selección de objetivos y métodos y la aplicación de éstos con objeto de restringir los límites o los efectos que causan dichas enfermedades en tales poblaciones e incluye tres niveles o categorías: prevención, control y erradicación (Wobeser, 1994).

En relación a las enfermedades no infectocontagiosas de la cabra montesa apenas contamos con algunos estudios: uno de ellos centrado en las anomalías dentales y craneales (Vigal y Machordom, 1985) y otros más recientes en los que se describen un caso de carcinoma tiroideo (Arnal y Fernández de Luco, 2003), varios casos de neoplasias (Arnal *et al.*, 2005), dos casos de tumores mesenquimales gastrointestinales (TMGs) (Velarde *et al.*, 2008) y un caso de melanoma y feocromocitoma en un macho adulto (Arnal y Fernández de Luco, 2017).

De acuerdo a la biología poblacional de los parásitos, éstos suelen dividirse en microparásitos y macroparásitos (Anderson y May, 1979). Los microparásitos (virus, bacterias y muchos protozoos) suelen reproducirse dentro del propio hospedador con una tasa elevada; suelen presentar un tamaño minúsculo y sus poblaciones muestran tiempos de generación muy cortos. Los macroparásitos, salvo excepciones, no se reproducen directamente en el hospedador, son mayores en tamaño que los microparásitos y muestran un mayor tiempo de generación que éstos; en esta categoría se agruparían helmintos y artrópodos parásitos.

El catálogo de micro y macroparásitos de la cabra montesa incluye más de 100 especies de virus, hongos, bacterias (incluyendo rickettsias), protistas, trematodos, cestodos, nematodos y artrópodos (Rodríguez *et al.*, 1980; Lavín *et al.*, 1997; Ferrer *et al.*, 1998; Cubero-Pablo *et al.*, 2002; Pérez *et al.*; 2006; Salinas *et al.*, 2009; Lorca-Oró *et al.*; 2011; García-Bocanegra *et al.*, 2012; Colom-Cadena *et al.*, 2014; Calero-Bernal *et al.*, 2015; Moreno *et al.*, 2015). (Anexo I). Los tractos respiratorio y digestivo son los que albergan mayor diversidad de parásitos, mientras que las cavidades craneales muestran la mayor probabilidad de ser infestadas (la prevalencia de las oestrosis en *Capra pyrenaica* es superior al 74 %) (Pérez *et al.*, 2006).

1. 2. 1. *Sarcoptes scabiei* y la sarna sarcóptica

Orden Astigmata Evans, 1992

Suborden Psoroptidia O'Connor, 1982

Superfamilia Sarcoptoidea Sundevall, 1833

Familia Sarcoptidae Sundevall, 1833

Subfamilia Sarcoptinae Murray, 1877

Género *Sarcoptes* Linnaeus, 1758

Especie *Sarcoptes scabiei* De Geer, 1778

Encuadre taxonómico de *Sarcoptes scabiei*, según Krantz y Walter (2009).

Sarcoptes scabiei (De Geer, 1778) es un ácaro de pequeño tamaño (diámetro máximo de unos 500 µm: hembras adultas). Presenta una característica forma oval con la parte dorsal convexa y la ventral plana. La superficie del idiosoma tiene unas estriaciones finas características y en la parte dorsal aparece un grupo central de escamas triangulares, con importancia taxonómica. Los machos son más pequeños que las hembras (aproximadamente dos tercios del tamaño de las hembras). Las patas son cortas, particularmente los dos pares posteriores, con ventosas en forma de campana en el tarso de todas las patas en los machos y en los dos pares de patas anteriores en las hembras (Bornstein *et al.*, 2001; Walton *et al.*, 2004) (Figura 4).

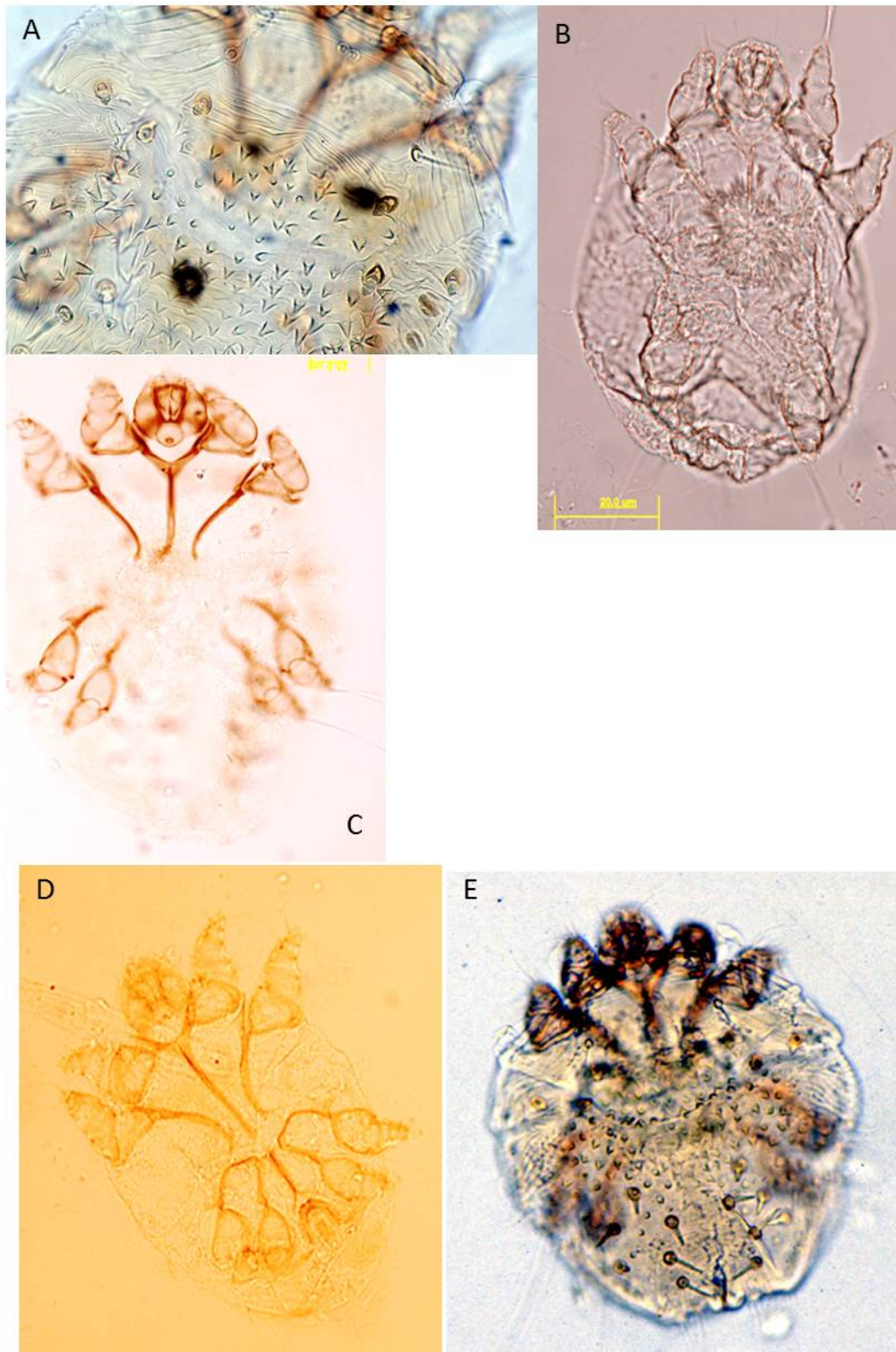


Figura 4. Morfología de *Sarcoptes scabiei*. A: escamas triangulares cuticulares dorsales de un ácaro adulto. B: larva (nótese la presencia de solo 3 pares de patas). C: ninfa (en nuestro estudio hemos agrupado bajo esta denominación tanto a protoninfas como a tritoninfas). D: macho adulto (destaca el aparato copulador con forma de “Y” invertida entre los dos pares de patas posteriores). E. hembra adulta.

El ciclo biológico de este ácaro comprende varias fases: huevo, del que eclosiona una larva (hexápoda) que muda a protoninfa y después a tritoninfa. Tras una nueva muda del exoesqueleto se genera el **adulto** (macho o hembra). El ciclo biológico de *Sarcoptes scabiei* (var. *canis*) se completa en unos 10-13 días (Arlan y Vyszanski-Moher, 1988), o en unos 21 días en el caso de la sarna en humanos (Mellanby, 1944).

Dentro de la piel del hospedador los ácaros excavan túneles en las capas superficiales: estrato córneo, estrato espinoso y estrato granuloso, donde consumen células vivas y fluidos, a la vez que depositan huevos, excrementos, exuvias, etc., que actúan como antígenos. Los ácaros, en todas las fases de su ciclo vital son capaces de penetrar la superficie de la piel (Bornstein *et al.*, 2001). Las lesiones macroscópicas más comunes de la sarcoptidosis incluyen la aparición de pápulas rojizas en zonas con escasa densidad de pelo, prurito intenso (con el consiguiente rascado por parte del hospedador, que puede originar autolesiones en la piel), escoriación e inflamación de la piel.

Si no se tratan estos síntomas se produce una pérdida de pelo, descamaciones, escoriaciones y formación de costras, con exudado de suero (Figura 5). Pueden aparecer infecciones bacterianas secundarias favorecidas por los múltiples orificios producidos en la piel por la actividad de los ácaros. En casos severos pueden producirse depósitos amiloides en distintos órganos internos del hospedador (hígado, riñones, glándulas adrenales, intestino, lengua o páncreas, entre otros), que derivan en formación de zonas necróticas y abscesos (Walton *et al.*, 2004). Si bien estas lesiones pueden ser reversibles, los hospedadores pueden llegar a morir a causa de la enfermedad. Como en muchas otras parasitosis, la gravedad de la enfermedad depende, entre otros factores, de la carga parasitaria o intensidad de parasitación (Arlan *et al.*, 1990; Davis y Moon, 1990).

Sarcoptes scabiei es una especie cosmopolita que afecta a más de 100 especies hospedadoras de mamíferos, incluido el hombre (Bornstein *et al.*, 2001; Pence y Ueckerman, 2002), por lo que la sarna sarcóptica es una zoonosis con repercusión mundial. La Plataforma Tecnológica Española de Sanidad Animal incluye la sarna de cabra montesa, rebeco y zorro entre las enfermedades epizooticas de especies

silvestres prioritarias en nuestro país en la Agenda Estratégica de Investigación (www.vetmasi.es, acceso el 18 de mayo de 2017).



Figura 5. Aspecto de la piel de un ejemplar de cabra montesa de Sierra Nevada con evidentes síntomas de sarna sarcóptica.

Los ácaros de diferentes especies hospedadoras son prácticamente indistinguibles desde el punto de vista morfológico, por lo que el status sistemático del género *Sarcoptes* continúa bajo debate en la actualidad. En este sentido hay dos escuelas de pensamiento. Una de ellas (ver, por ejemplo, Kutzer, 1970) considera que los ácaros aislados de hospedadores diferentes deben ser designados como especies distintas. Por el contrario, Fain (1968; 1978) considera que los ácaros (cepas) procedentes de diferentes especies hospedadoras, representan una única especie altamente variable. Este autor, además, sugiere que los humanos fueron la especie hospedadora original de este ácaro y que éstos fueron transmitiendo los ácaros a otras especies de mamíferos.

La supervivencia de los ácaros desprendidos del hospedador incrementa en condiciones de bajas temperaturas y elevada humedad relativa (Arlian *et al.*, 1984), hasta 19 días a 10 ° C y 97 % de humedad relativa. En condiciones similares, las hembras y ninfas sobreviven más tiempo que las larvas y los machos (Arlian, 1989).

Se ha modelizado la epidemiología de la sarcoptidosis en el rebeco alpino, *Rupicapra rupicapra* (Guberti y Zamboni, 2000). Los resultados obtenidos sugieren que durante la expansión de la enfermedad (epizootias) incrementa el número de hospedadores

resistentes y, mediante mecanismos dependientes de la densidad, propician una disminución de la incidencia de la enfermedad. La consiguiente disminución de la presión selectiva permitiría el reclutamiento de nuevos individuos susceptibles, comenzando de nuevo el ciclo. Se asume que nunca se produce una población completamente resistente y que los individuos resistentes transmiten su resistencia a una media del 30 % de su descendencia. Este modelo es consistente con la dinámica natural observada.

El contagio puede ocurrir a través de fomites (ácaros desprendidos del hospedador en los lugares donde este descansa o se rasca, o que abandonan el hospedador) o, bien por contacto directo con animales parasitados lo que se ve favorecido por el hecho de que los ácaros abandonan las galerías y se desplazan por la piel del hospedador (Arlan, 1989).

En la Península Ibérica se han visto afectadas poblaciones de distintas especies de caprinos silvestres, como el rebeco cantábrico (*Rupicapra pyrenaica parva*) (Fernández Morán *et al.*, 1997), la cabra montesa (Fandos, 1991; Palomares y Ruiz-Martínez, 1993; León Vizcaíno *et al.*, 1999), el muflón (*Ovis gmelini musimon*) (León Vizcaíno *et al.*, 1999) o el arruí (*Ammotragus lervia*) (González Candela *et al.*, 2004) en el sur, con mortalidades que en algunas ocasiones (P.N. Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas) han superado el 90% de los efectivos poblacionales (Fandos, 1991).

Una característica de la epidemiología de la sarcoptidosis es su marcado carácter estacional (Pérez *et al.*, 1997; Mimouni *et al.*, 2003; Rossi *et al.*, 2007), además de cierta periodicidad interanual en cuanto a picos en la prevalencia, intensidad de la parasitación y/o mortalidad de los hospedadores afectados (Walton *et al.*, 2004).

1. 3. Relaciones *Sarcoptes scabiei* – *Capra pyrenaica*

Los animales afectados por la sarcoptidosis muestran síntomas de anemia (disminución de los niveles de hemoglobina y de la concentración media corpuscular de hemoglobina), así como evidencias de infecciones secundarias

asociadas a las lesiones (orificios causados por los ácaros) de la piel (incremento en el porcentaje de leucocitos y neutrófilos) (Pérez *et al.*, 2015). Además, según incrementa la severidad o gravedad de la enfermedad, las cabras monteses incrementan significativamente las concentraciones séricas de algunas proteínas de fase aguda, como la AGP (alfa-1-ácido glicoproteína) y la SAA (proteína seroamiloide A) (Ráez-Bravo *et al.*, 2015). La sarcoptidosis, además, incrementa el estrés oxidativo de los animales infestados, a la vez que disminuye su estatus antioxidante. Este desequilibrio puede contribuir a la patogénesis de la enfermedad (Espinosa *et al.*, 2017 b).

Un estudio histopatológico reciente de las lesiones de la piel de cabras montesas afectadas por la sarna reveló acantosis severa, hiperqueratosis, crestas interpapilares, edema espongiótico, costras serocelulares y eosinofílicas, focos exocitóticos, células apoptóticas e hiperplasia de las glándulas sebáceas (Fig. 6).

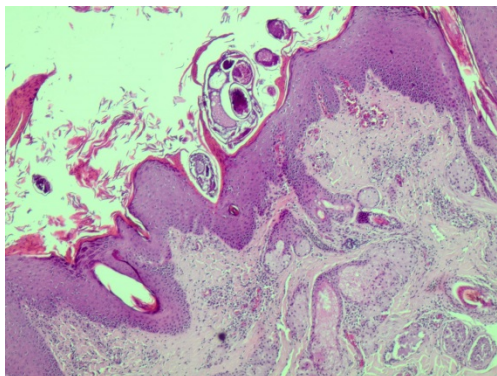


Figura 6. Sección de piel de *Capra pyrenaica* infestada por *Sarcoptes scabiei*; presencia de ácaros en la superficie, acantosis, crestas interpapilares y abundante infiltrado inflamatorio difuso.

La respuesta celular en la dermis es consistente con las respuestas de hipersensibilidad de tipo I y IV. En tejidos no dérmicos se observó hiperplasia linfoide, leucocitosis, congestión y la presencia de depósitos amiloides (Fig. 7). El incremento de las concentraciones séricas de acetilcolinesterasa y proteína amiloide A se correlacionan positivamente con el establecimiento de la respuesta inflamatoria en la piel afectada por sarna y con la amiloidosis sistémica. Además, se aislaron diversas bacterias tanto de la piel como de los nódulos linfáticos y órganos internos

como los pulmones, hígado, bazo y riñones, lo que es compatible con un patrón de infección septicémica (Espinosa et al., 2017c).

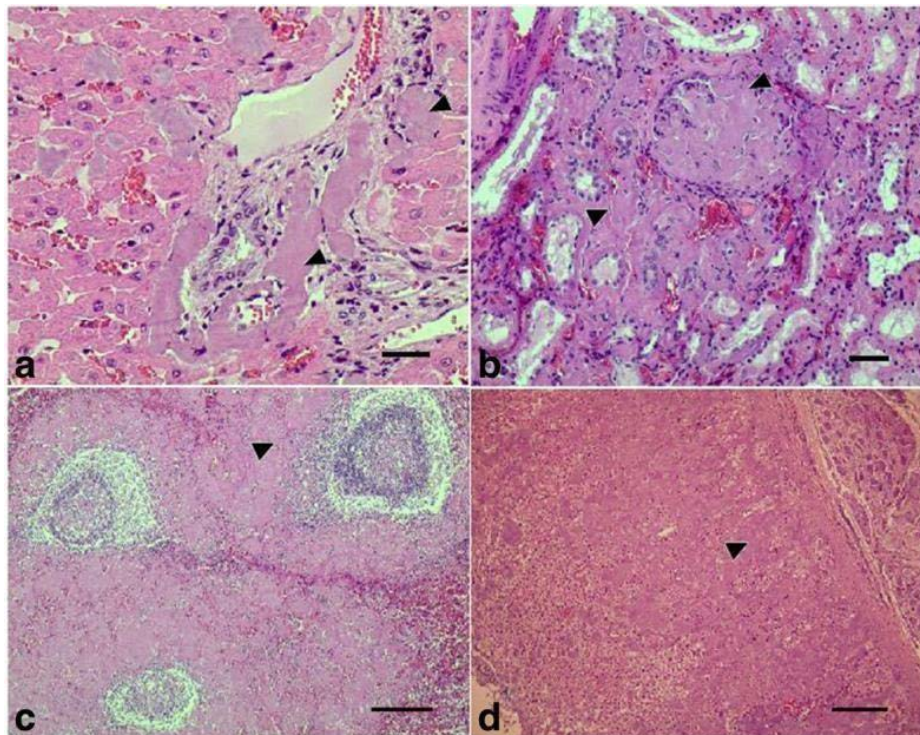


Figura 7. Efecto de la sarcóptidosis en tejidos no dérmicos de *Capra pyrenaica*. Depósitos amiloides (flechas) en a: hígado; b: riñón; c: bazo; d: glándula adrenal.

El efecto de la enfermedad es más severo en machos que en hembras (López-Olvera et al., 2015) y ésta evita que las cabras monteses afectadas aprovechen la adecuada disponibilidad de alimento en épocas favorables (de crecimiento vegetativo de las plantas) (Carvalho et al., 2015).

La sarna sarcóptica puede producir la muerte de algunos ejemplares afectados mediante mecanismos fisiológicos no conocidos aún en detalle, si bien existen evidencias del desarrollo de resistencia a la enfermedad (Alasaad et al., 2013). Pero el efecto de la enfermedad va más allá de su contribución a la tasa de mortalidad natural en las poblaciones hospedadoras, ya que también produce un efecto negativo en cuanto al potencial reproductivo de *Capra pyrenaica*. Por una parte, se ha demostrado que la sarcóptidosis reduce la masa testicular en los machos infestados (Sarasa et al., 2011). Además, también afecta negativamente la maduración folicular y la capacidad ovulatoria de las hembras infestadas (Espinosa et al., 2017 a).

Los hospedadores afectados no sólo muestran una pérdida de peso respecto a los sanos (Pérez *et al.*, 2015), sino que retrasan su ritmo de osificación. Esto último se ha observado en machos de cabra montesa, los cuales desarrollan huesos metatarsales más pequeños que los de sus congéneres sanos (Serrano *et al.*, 2007).

1. 4. Métodos de diagnóstico y monitorización de la enfermedad

Para realizar un diagnóstico directo, las muestras (raspaduras o trozos de piel) se digieren en una solución de KOH (ver capítulo de Material y Métodos). Tras la resuspensión de los productos de digestión se suele extraer una de cada uno de ellos y se analiza con ayuda de un estereomicroscopio. Para el análisis de muestras de este tipo extremadamente pequeñas, se puede aplicar la técnica de PCR a tiempo real (Angelone-Alasaad *et al.*, 2015).

Existen distintos tests disponibles para cuantificar los anticuerpos anti-*Sarcoptes* en el suero de ejemplares de *Capra pyrenaica*. Un estudio reciente (Ráez-Bravo *et al.*, 2016) ha puesto de manifiesto que in test ELISA amplificado con biotina y avidina, desarrollado inicialmente para el diagnóstico de la sarna en rebecos (*Rupicapra spp*) Rambozzi *et al.*, 2004) es el más adecuado para el serodiagnóstico de la sarna en la cabra montesa, al arrojar mayores valores de sensibilidad y especificidad.

Para la monitorización de la enfermedad en poblaciones de ungulados silvestres se ha utilizado la superficie de las lesiones en la piel como indicador de la cantidad de ácaros (Pérez *et al.*, 2011). También se han empleado perros adiestrados para localizar animales sarnosos (tanto vivos como muertos) (Alasaad *et al.*, 2013).

Las cámaras remotas o “trampeo fotográfico” también se han revelado como una herramienta útil en el seguimiento o monitorización de epizootias de sarna sarcóptica en diferentes hospedadores silvestres (Brewster *et al.*, 2017; Carricondo-Sánchez *et al.*, 2017).

En la zona de la piel del hospedador afectada por la actividad de los ácaros, se producen reacciones de hipersensibilidad como parte de los mecanismos de defensa

(inmunidad) de éste, lo que se traduce en un incremento de la temperatura local. Este hecho posibilita el uso de termografías (infrarrojos) como herramienta adicional de diagnóstico de la sarcoptidosis, así como para estimar la superficie de piel afectada y para estudiar diferentes aspectos de la fisiología de los hospedadores afectados, como la pérdida de calor (Arenas *et al.*, 2002; Cross *et al.*, 2016) (Figura 8).

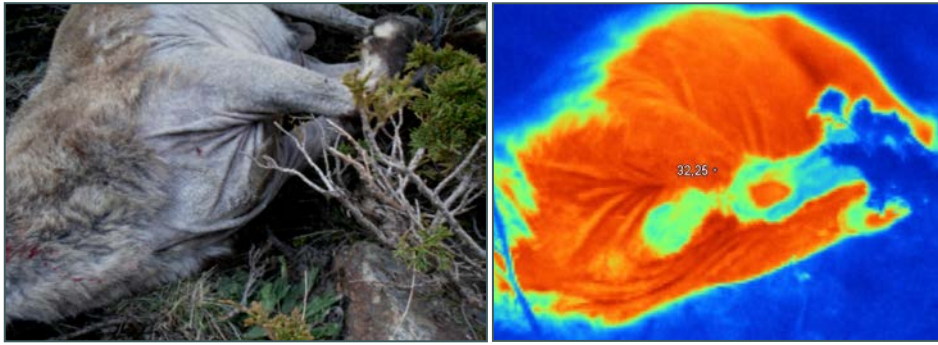


Figura 8: Foto convencional y foto obtenida con termocámara de un ejemplar de *Capra pyrenaica* con síntomas evidentes de sarna sarcóptica en la zona ventral.

1. 5. Hipótesis y objetivos

HIPÓTESIS: cabe esperar una sex-ratio del ácaro sesgada hacia las hembras, como adaptación de los parásitos para incrementar su potencial biológico (Price, 1980) y una mayor frecuencia de larvas en la población de ácaros, seguida de la de las ninfas y hembras adultas. Esto reflejaría una mortalidad acumulativa durante el ciclo biológico del parásito.

Objetivo 1. Caracterizar los parámetros demográficos básicos de la suprapoblación de *Sarcoptes scabiei* que afecta a la población de cabra montesa (*Capra pyrenaica*) del Espacio Natural de Sierra Nevada (sur de España). **JUSTIFICACIÓN:** la biología poblacional de este parásito es un aspecto muy poco conocido. Hasta el momento disponemos de cierta información generada mediante infestaciones experimentales en hospedadores domésticos (perros) (ver, por ejemplo, Arlian *et al.*, 1984; 1988; 1989).

HIPÓTESIS: aunque sabemos que el contagio se produce mediante contacto directo de los hospedadores, la transmisión indirecta (a través del contacto con el sustrato, donde podríamos encontrar ácaros procedentes de los animales parasitados) también puede jugar un papel importante en la epidemiología de la sarcoptidosis.

Objetivo 2. Determinar la intensidad de parasitación (densidad de ácaros) de las áreas corporales del hospedador más frecuentemente afectadas por la sarcoptidosis. **JUSTIFICACIÓN:** conocer qué áreas corporales son más frecuentemente afectadas por la sarna y cuáles albergan mayores densidades de ácaros nos permitirían avanzar en el conocimiento del modo de transmisión de la enfermedad.

HIPÓTESIS: teniendo en cuenta que *Sarcoptes scabiei* se alimenta del citoplasma de células vivas de la piel de sus hospedadores, existe la posibilidad de que este parásito sincronice su ciclo reproductivo con el de su hospedador (Foster, 1969; Rothschild y Ford, 1972).

Objetivo 3. Caracterizar la dinámica estacional de la densidad media de ácaros y posibles picos de actividad reproductiva de los ácaros. **JUSTIFICACIÓN:** en el contexto de planes de control de la enfermedad en poblaciones silvestres es importante conocer la dinámica estacional e interanual de la misma, con objeto no sólo de seleccionar qué acciones llevar a cabo, sino en qué momento.

HIPÓTESIS: las diferentes tasas de mortalidad observadas en distintas poblaciones de caprinos silvestres de montaña sugieren que algunas de estas han mantenido un contacto con el parásito desde hace mucho tiempo, lo cual ha permitido la generación de cierto nivel de resistencia a la enfermedad. Es importante recordar que dicha resistencia es transmisible a la descendencia (Burgess, 1994).

Objetivo 4. Determinar la tasa de crecimiento poblacional de *Sarcoptes scabiei* y analizar qué factores influyen en la densidad media de ácaros. **JUSTIFICACIÓN:** esta información resulta vital para poder articular medidas de prevención y control de la enfermedad. Hasta el momento, sabemos que la sarna presenta una marcada dinámica estacional e interanual (ver, por ejemplo, Pérez et al., 1997; Rossi et al., 2007), pero aparte de factores ambientales, como la temperatura y humedad relativa (Arlian et al., 1989) desconocemos qué factores intrínsecos al hospedador (por ejemplo, edad, sexo, genotipo, calidad fenotípica) influyen en la abundancia de los parásitos en sus respectivos hospedadores.

1. 6. Referencias

- Acevedo, P.; Casinello, J. 2009. Biology, ecology and status of Iberian ibex *Capra pyrenaica*: a critical review and research prospectus. *Mammal Rev.*, 39: 17-32.
- Alasaad, S.; Granados, J.E.; Fandos, P.; Cano-Manuel, F.J.; Soriguer, R.C.; Pérez, J.M. 2013. The use of radio-collars for monitoring wildlife diseases: a case study from Iberian ibex affected by *Sarcoptes scabiei* in Sierra Nevada, Spain. *Parasites & Vectors*, 6: 242.
- Alasaad, S.; Permunian, R.; Gakuya, F.; Mutinda, M.; Soriguer, R.C.; Rossi, L. 2012. Sarcoptic-mange detector dogs used to identify infected animals during outbreaks in wildlife. *BMC Vet. Res.*, 8: e110.
- Angelone-Alasaad, S.; Biebach, I.; Pérez, J.M.; Soriguer, R.C.; Granados, J.E. 2017. Molecular analyses reveal unexpected genetic structure in Iberian ibex populations. *PLoS ONE*, 12: e0170827.
- Anderson, R.M.; May, R.M. 1979. Population biology of infectious diseases. *Nature*, 280: 361-367 y 455-461.
- Angelone-Alasaad, S.; Molinar Min, A.R.; Pasquetti, M.; Alagalli, A.N.; D'Amelio, S.; Berilli, F.; Obanda, V.; Gebely, M.A.; Soriguer, R.C.; Rossi, L. 2015. Universal conventional and real-time PCR diagnosis tools for *Sarcoptes scabiei*. *Parasites & Vectors*, 8: 587.
- Arenas, A.J.; Gómez, F.; Salas, R.; Carrasco, P.; Borge, C.; Maldonado, A.; O'Brien, D.J.; Martínez-Moreno, F.J. 2002. An evaluation of the application of infrared thermal imaging to the tele-diagnosis of sarcoptic mange in the Spanish ibex (*Capra pyrenaica*). *Vet. Parasitol.*, 109: 111-117.
- Arlan, L.G. 1989. Biology, host relations, and epidemiology of *Sarcoptes scabiei*. *Ann. Rev. Entomol.*, 34: 139-161.
- Arlan, L.G.; Bruner, R.H.; Stuhlman, R.A.; Ahmed, M.; Vyszynski-Moher, D.L. 1990. Histopathology in host parasitized by *Sarcoptes scabiei*. *J. Parasitol.*, 76: 889-894.
- Arlan, L.G.; Runyan, R.A.; Achar, S.; Estes, S.A. 1984. Survival and infestivity of *Sarcoptes scabiei* var. *canis* and var. *hominis*. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 11: 210-215.
- Arlan, L.G.; Vyszynski-Moher, D.L. 1988. Life cycle of *Sarcoptes scabiei* var. *canis*. *J. Parasitol.*, 74: 427-430.

- Arnal, M.C.; Fernández de Luco, D. 2003. Carcinoma tiroideo en una hembra de cabra montesa (*Capra pyrenaica*). XV Reunión de la Sociedad Española de Anatomía Patológica Veterinaria. Córdoba. Del 4-6 de junio de 2003.
- Arnal, M.C.; Fernández de Luco, D. 2017. Melanoma diseminado y feocromocitoma en un macho montés, *Capra pyrenaica hispanica*. Libro de resúmenes 35º encuentro GEEFSM, Cofrentes: 91.
- Arnal, M.C.; Fernández de Luco, D.; Ferroglio, E.; Formisano, F.; Gortázar, C.; Höfle, U.; Martín, M.P.; Meneguz, P.G.; Revilla, M.; Rossi, L.; Vicente, J. 2005. Neoplasias en rumiantes silvestres. BIPAS, 27: 1.
- Bornstein, S.; Mörner, T.; Samuel, W.M. 2001. *Sarcoptes scabiei* and sarcoptic mange. En Samuel, W.M.; Pybus, M.J. y Kocan, A.A. (eds.), Parasitic diseases of wild mammals, 2nd edition. Iowa State University Press, Ames: 107-119.
- Brewster, K.; Henke, S.E.; Hilton, C.; Ortega-S. Jr., A. 2017. Use of remote cameras to monitor the potential prevalence of sarcoptic mange in southern Texas, USA. J. Wildl. Dis., 53: 377-381.
- Burgess, I. 1994. *Sarcoptes scabiei* and scabies. Adv. Parasitol., 33: 235-292.
- Cabrera, A. 1911. The subspecies of the Spanish ibex. Proc. Zool. Soc. London, 1911: 963-967.
- Calero-Bernal, R.; Saugar, J.M.; Frontera, E.; Pérez-Martín, J.E.; Habela, M.A.; Serrano, F.J.; Reina, D.; Fuentes, I. 2015. Prevalence and genotype identification of *Toxoplasma gondii* in wild animals from Southwestern Spain. J. Wildl. Dis., 51: 233-238.
- Carricondo-Sánchez, D.; Odden, M.; Linnell, J.D.C.; Odden, J. 2017. The range of the mange: spatiotemporal patterns of sarcoptic mange in red foxes (*Vulpes vulpes*) as revealed by camera trapping. PLoS ONE, 12: e0176200.
- Carvalho, J.; Granados, J.E.; López-Olvera, J.R.; Cano-Manuel, F.J.; Pérez, J.M.; Fandos, P.; Soriguer, R.C.; Velarde, R.; Fonseca, C.; Ráez, A.; Espinosa, J.; Pettorelli, N.; Serrano, E. 2015. Sarcoptic mange breaks up bottom-up regulation of body condition in a large herbivore population. Parasites & Vectors, 8: 572.
- Colom-Cadena, A.; Velarde, R.; Salinas, J.; Borge, C.; García-Bocanegra, I.; Serrano, E.; Gassó, D.; Bach, E.; Casas-Díaz, E.; López-Olvera, J.R.; Lavín, S.; León-Vizcaíno, L.; Mentaberre, G. 2014. Management of a caseous lymphadenitis outbreak in a new Iberian ibex (*Capra pyrenaica*) stock reservoir. Acta Vet. Scand., 56: 83.

- Crampe, J.P., Sourp, E.; Cavailles, J. 2015. Reintroduction du bouquetin ibérique dans les Pyrenees, quand le redevient réalité. 33emes Rencontres du GEEFSM, 21- 24 May 2015, Balme, Torino, Italy.
- Cross, P.C.; Almberg, E.S.; Haase, C.G.; Hudson, P.J.; Maloney, S.K.; Metz, M.C.; Munn, A.J.; Nugent, P.; Putzeys, O.; Stahler, D.R.; Stewart, A.C.; Smith, D.W. 2016. Energetic costs of mange in wolves estimated from infrared thermography. *Ecology*, 97: 1938-1948.
- Cubero-Pablo, M.J.; González, M.; León-Vizcaíno, L. 2002. Enfermedades infecciosas de las poblaciones de cabra montés. En: Pérez J.M. (ed.), Distribución, genética y status sanitario de las poblaciones andaluzas de cabra montés. Universidad de Jaén - Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, Jaén, pp. 197-254.
- Davis, D.P.; Moon, R.D. 1990. Density of itch mite, *Sarcoptes scabiei* (Acari: Sarcoptidae) and temporal development of cutaneous hypersensitivity in swine mange. *Vet. Parasitol.*, 36: 285-293.
- Espinosa, J.; Granados, J.E.; Cano-Manuel, F.J.; López-Olvera, J.R.; Ráez-Bravo, A.; Romero, D.; Soriguer, R.C.; Pérez, J.M.; Fandos, P. 2017 a. *Sarcoptes scabiei* alters follicular dynamics in female Iberian ibex through a reduction in body weight. *Vet. Parasitol.*, 243: 151-156.
- Espinosa, J.; Pérez, J.M.; López-Olvera, J.R.; Ráez-Bravo, A.; Cano-Manuel, F.J.; Fandos, P.; Soriguer, R.C.; Granados, J.E.; Romero, D. 2017 b. Evaluation of oxidant/antioxidant balance in Iberian ibex (*Capra pyrenaica*) experimentally infested with *Sarcoptes scabiei*. *Vet. Parasitol.*, 242: 63-70.
- Espinosa, J.; Ráez-Bravo, A.; López-Olvera, J.R.; Pérez, J.M.; Lavín, S.; Tvarijonaviciute, A.; Cano-Manuel, F.J.; Fandos, P.; Soriguer, R.C.; Granados, J.E.; Romero, D.; Velarde, R. 2017c. Histopathology, microbiology and the inflammatory process associated with *Sarcoptes scabiei* infection in the Iberian ibex, *Capra pyrenaica*. *Parasit. Vectors*, 10: 596.
- Fain, A. 1968. Étude de la variabilité de *Sarcoptes scabiei* avec une révision des Sarcoptidae. *Acta Zool. Pathol. Antverp.*, 47: 1-196.
- Fain, A. 1978. Epidemiological problems of scabies. *Int. J. Dermatol.*, 17: 20-30.
- Fandos, P. 1991. La cabra montés (*Capra pyrenaica*) en el Parque Natural de las Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas. ICONA-CSIC, Madrid: 176 pp.
- Fernández Morán, J.; Gómez, S.; Ballesteros, F.; Quirós, P.; Benito, J.L.; Feliu, C.; Nieto, J.M. 1997. Epizootiology of sarcoptic mange in a population of Cantabrian chamois (*Rupicapra pyrenaica parva*) in northwestern Spain. *Vet. Parasitol.*, 73: 163-171.

- Ferrer, D.; Castellá, J.; Gutiérrez, J.F.; Lavín, S.; Marco, I. 1998. Seroprevalence of *Babesia ovis* in Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) in Catalonia, Northeastern Spain. *Vet Parasitol.*, 75: 91-96.
- García-Bocanegra, I.; Cabezón, O.; Pabón, M.; Gómez-Guillamón, F.; Arenas, A.; Alcaide, E.; Salas-Vega, R.; Dubey, J.P.; Almería, S. 2012. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*). *Vet. J.*, 191: 257-260.
- González-Candela, M.; León-Vizcaíno, L.; Cubero-Pablo, M.J. 2004. Population effects of sarcoptic mange in barbary sheep (*Ammotragus lervia*) from Sierra Espuña Regional Park, Spain. *J. Wildl. Dis.*, 40: 456-465.
- Granados, J.E.; Pérez, J.M.; Sorieguera, R.C.; Fandos, P.; Ruiz-Martínez, I. 1997. On the biometry of the Spanish ibex, *Capra pyrenaica*, from Sierra Nevada (southern Spain). *Fol. Zool.*, 46: 9-14.
- Gray, A.P. 1954. Mammalian hybrids. Commonwealth Agricultural Bureaux, Bucks: 144 pp.
- Groves, C.; Grubb, P. 2011. Ungulate taxonomy. The Johns Hopkins University Press, Baltimore: 317 pp.
- Guberti, V.; Zamboni, L. 2000. Can the host resistance hypothesis explain the cyclic patterns observed in *Sarcoptes scabiei* in chamois (*Rupicapra rupicapra*)? *Parassitologia*, 42: 72
- IUCN (International Union for Conservation of Nature). 2012. IUCN Red List categories and criteria. Version 3.1. Second edition. Gland: 32 pp.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature). 2017. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 18 May 2017.
- Kazanskaya, E.Y., Kuznetsova, M.V.; Damilkin, A.A. 2007. Phylogenetic reconstructions in the Genus *Capra* (Bovidae, Artiodactyla) based on the mitochondrial DNA analysis. *Russ. J. Genet.*, 43: 181-189.
- Krantz, G.W.; Walter, D.E. 2009. A manual of Acarology. Third Edition. Texas Tech University Press, Lubbock: 807 pp.
- Kutzer, E. 1970. *Sarcoptes*-Milben und *Sarcoptes*räude der haustiere. Merkblätter über angewandte parasitenkunde und schädlingsbekämpfung. *Angew. Parasitol.*, 11: 1-22.
- Lavín, S.; Marco, I.; Rossi, L.; Meneguz, P.G.; Viñas, L. 1997. Haemonchosis in Spanish ibex. *J. Wildl. Dis.*, 33: 656-659.

- León-Vizcaíno, L.; Ruiz de Ybáñez, M.R.; Cubero, M.J.; Ortiz, J.M.; Espinosa, J.; Pérez, L.; de Simón, M.A.; Alonso, F. 1999. Sarcoptic mange in Spanish ibex from Spain. *J. Wildl. Dis.*, 35: 647-659.
- López-Olvera, J.R.; Serrano, E.; Armenteros, A.; Pérez, J.M.; Fandos, P.; Carvalho, J.; Velarde, R.; Cano-Manuel, F.J.; Ráez, A.; Espinosa, J.; Soriguer, R.C.; Granados, J.E. 2015. Sex-biased severity of sarcoptic mange at the same biological cost in a sexually dimorphic ungulate. *Parasites & Vectors*, 8: 583.
- Lorca-Oró, C.; Pujols, J.; Arenas, A.; Gómez-Guillamón, F.; Zorrilla, I.; Domingo, M.; Arenas-Montés, A.; Ruano, M.J.; García-Bocanegra, I. 2011. Epidemiological surveillance of bluetongue virus serotypes 1, 4 and 8 in Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) in southern Spain. *Vet. Microbiol.*, 149: 230-235.
- Manceau, V.; Crampe, J.P.; Boursot, P.; Taberlet, P. 1999. Identification of evolutionary significant units in the Spanish wild goat, *Capra pyrenaica* (Mammalia, Artiodactyla). *Anim. Conserv.*, 2: 33-39.
- Márquez, F.J.; Pérez, J.M.; Granados, J.E.; Soriguer, R.C.; Fandos, P. 2002. Estudios genéticos de las poblaciones de cabra montés. En J.M. Pérez (editor): *Distribución, genética y estatus sanitario de las poblaciones andaluzas de cabra montés*. Universidad de Jaén - Junta de Andalucía, Sevilla - Jaén: 257-274.
- Martínez, T.M. 2001. The feeding strategy of Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) in the northern Sierra de Gredos (central Spain). *Fol. Zool.*, 50: 19-33.
- Martínez, T.M. 2002. Summer feeding strategy of Spanish ibex *Capra pyrenaica* and domestic sheep *Ovis aries* in southeastern Spain. *Acta Theriol.*, 47: 479-490.
- Mellanby, K. 1944. The development of symptoms, parasitic infection and immunity in human scabies. *Parasitology*, 35: 197-206.
- Mimouni, D.; Ankol, O.E.; Davidovitch, N.; Gdalevich, M.; Zangvil, E.; Grotto, I. 2003. Seasonality trends of scabies in a young adult population: a 20-year follow-up. *Brit. J. Dermatol.*, 149: 157-159.
- Moço, G.; Guerreiro, M.; Ferreira, A.F.; Rebelo, A.; Loureiro, A.; Petrucci-Fonseca, F.; Pérez, J.M. 2006. The ibex *Capra pyrenaica* returns to its former Portuguese range. *Oryx* 40:351-354.
- Moço, G.; Serrano, E.; Guerreiro, M.; Ferreira, A.F.; Petrucci-Fonseca, F.; Santana, D.; Maia, M.J.; Soriguer, R.C.; Pérez, J.M. 2014. Does livestock influence the diet of Iberian ibex *Capra pyrenaica* in the Peneda-Gerês National Park (Portugal)? *Mammalia*, 78: 393-399.

- Moço, G.; Serrano, E.; Pérez, J.M. 2008. ¿Cuál es el nombre común de *Capra pyrenaica*?: una revisión y una propuesta. *Galemys*, 20: 15-34.
- Moreno, V.; Romero-Fernández, I.; Marchal, J.A.; Beltrán, M.; Granados, J.E.; Habela, M.A.; Tamadon, A.; Rakhshandehroo, E.; Sarasa, M.; Pérez, J.M.; Sánchez, A. 2015. Molecular characterization of bot flies, *Oestrus* spp., (Diptera, Oestridae), from domestic and wild Bovidae hosts. *Vet. Parasitol.*, 212: 473-477.
- Moritz, C. 1994. Defining "Evolutionarily Significant Units" for conservation. *Trends Ecol. Evol.*, 9: 373-375.
- Nadler, C.; Hoffman, R.; Wolf, Y.A. 1974. G-band pattern chromosomal homologies and evolutionary relationships among wild sheep goats and aoudads. (Mammalia Artiodactyla). *Experientia*, 30: 744-746.
- Pence, D.B.; Ueckerman, E. 2002. Sarcoptic mange in wildlife. *Rev. Sci. Tech. OIE*, 21: 385-398.
- Pérez, J.M.; Granados, J.E.; Sarasa, M.; Serrano, E. 2011. Usefulness of estimated surface area of damaged skin as a proxy of mite load in the monitoring of sarcoptic mange in free-ranging populations of Iberian wild goat, *Capra pyrenaica*. *Vet. Parasitol.*, 176: 258-264.
- Pérez, J.M.; Granados, J.E.; Soriguer, R.C.; Fandos, P.; Márquez, F.J.; Crampe, J.P. 2002. Distribution, status and conservation problems of the Spanish Ibex, *Capra pyrenaica* (Mammalia: Artiodactyla). *Mammal Rev.*, 32: 26-39.
- Pérez, J.M.; Meneguz, P.G.; Dematteis, A.; Rossi, L.; Serrano, E. 2006. Parasites and conservation biology: the 'ibex-ecosystem'. *Biodiv. Conserv.*, 15: 2033-2047.
- Pérez, J.M.; Ruiz-Martínez, I.; Granados, J.E.; Soriguer, R.C.; Fandos, P. 1997. The dynamics of sarcoptic mange in the ibex population of Sierra Nevada in Spain -Influence of climatic factors. *J. Wildl. Res.*, 2: 86-89.
- Pérez, J.M.; Serrano, E.; Soriguer, R.C.; González, F.J.; Sarasa, M.; Granados, J.E.; Cano-Manuel, F.J.; Cuenca, R.; Fandos, P. 2015. Distinguishing disease effects from environmental effects in a mountain ungulate: seasonal variation in body weight, hematology and serum chemistry among Iberian ibex (*Capra pyrenaica*) affected by sarcoptic mange. *J. Wildl. Dis.*, 51: 148-156.
- Peterson, M.J.; Ferro, P.J. 2012. Wildlife health and disease: surveillance, investigation, and management. En: Silvy, N.J. (Ed.) *The wildlife techniques manual. Volume 1. Research*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp.: 181-206.

- Ráez-Bravo, A.; Granados, J.E.; Cerón, J.J.; Cano-Manuel, F.J.; Fandos, P.; Pérez, J.M.; Espinosa, J.; Soriguer, R.C.; López-Olvera, J.R. 2015. Acute phase proteins increase with sarcoptic mange status and severity in Iberian ibex (*Capra pyrenaica*, Schinz 1838). *Parasitol. Res.*, 114: 4005-4010.
- Ráez-Bravo, A.; Granados, J.E.; Serrano, E.; Dellamaria, D.; Casais, R.; Rossi, L.; Puigdemont, A.; Cano-Manuel, F.J.; Fandos, P.; Pérez, J.M.; Espinosa, J.; Soriguer, R.C.; Citterio, C.; López-Olvera, J.R. 2016. Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays for sarcoptic mange diagnosis and assessment in the Iberian ibex, *Capra pyrenaica*. *Parasites & Vectors*, 9: 558.
- Rambozzi, L.; Menzana, A.; Lavín, S.; Rossi, L. 2004. Biotin-avidin amplified ELISA for detection of antibodies to *Sarcoptes scabiei* in chamois (*Rupicapra* spp.). *Vet. Res.*, 35: 701-708.
- Rodríguez, F.; Jiménez, A.; Martín-Mateo, M.P. 1980. Primeras citas de malófagos parásitos de *Capra pyrenaica hispanica*. *Nouv. Rev. Entomol.*, 10: 363-371.
- Rossi, L.; Fraquelli, C.; Vesco, U.; Permunian, R.; Somnavilla, G.M.; Carmignola, G., Da Pozzo, R.; Meneguz, P.G. 2007. Descriptive epidemiology of a scabies epidemic in chamois in the Dolomite Alps, Italy. *Eur. J. Wildl. Res.*, 53: 131-141.
- Salinas, J.; Caro, J.M.; Vicente, J.; Cuello, F.; Reyes-García, A.R.; Buendía, A.J.; Rodolakis, A.; Gortázar, C. 2009. High prevalence of antibodies against *Chlamydiaceae* and *Chlamydophila abortus* in wild ungulates using two “in house” blocking-ELISA tests. *Vet. Microbiol.*, 135: 46-53.
- Santiago Moreno, J.; Toledano Díaz, A.; Coloma, M.A.; Gómez Brunet, A.; Castaño, C.; Pulido Pastor, A.; Salas Vega, R.; Gómez Guillamón, F.; López Sebastián, A. 2010. Cabra montés (*Capra pyrenaica*, Schinz 1838). En Santiago Moreno, J.; López Sebastián, A. (coordinadores) *Ungulados silvestres de España: biología y tecnologías reproductivas para su conservación y aprovechamiento cinegético*. INIA, Madrid: 85-102.
- Sarasa, M.; Serrano, E.; Soriguer, R.C.; Granados, J.E.; Fandos, P.; Gonzalez, G.; Joachim, J.; Pérez, J.M. 2011. Negative effect of the arthropod parasite, *Sarcoptes scabiei*, on testes mass in Iberian ibex, *Capra pyrenaica*. *Vet. Parasitol.*, 175: 306-312.
- Schaller, G. 1977. Mountain monarchs. Wild sheep and goats of the Himalaya. University of Chicago Press, Chicago: 425 pp.
- Serrano, E.; Granados, J.E.; Pérez, J.M. 2007. Sarcoptic mange and metapodial development in growing male Iberian ibex (*Capra pyrenaica*). *Vet. Parasitol.*, 144: 375-379.

- Shackleton, D. 1997. Wild sheep and goats and their relatives. Status survey and conservation action plan for Caprinae. IUCN/SSC Caprinae Specialist Group, Gland: 390 pp.
- Velarde, R.; Mentaberre, G.; Sánchez, J.; Marco, I.; Lavín, S. 2008. KIT-positive gastrointestinal stromal tumours in two Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispánica*). *Vet. J.*, 177: 445-447.
- Vigal, C.R.; Machordom, A. 1986. Dental and skull anomalies in the Spanish wild goat, *Capra pyrenaica* Schinz, 1838. *Z. Säugetierk.*, 52: 38-50.
- Walton, S.F.; Holt, D.C.; Currie, B.J.; Kemp, D.J. 2004. Scabies: new future for a neglected disease. *Adv. Parasitol.*, 57: 309-376.
- Wilson, D.E.; Reeder, D.M. 2005. Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. 3rd ed. The Johns Hopkins University Press, Baltimore: 2142 pp.
- Wobeser, G.A. 1994. Investigation and management of diseases in wild animals. Springer, New York: 265 pp.

2. Material y métodos

2. Material y métodos

2.1. El área de estudio: el Espacio Natural de Sierra Nevada

El Espacio Natural de Sierra Nevada (ENSN) ($36^{\circ} 00' - 37^{\circ} 10' N$, $2^{\circ} 34' - 3^{\circ} 40' W$) se localiza en el sur de la Península Ibérica (Figura 7), en la Cordillera Penibética y muy próximo al Mar Mediterráneo. Con una extensión próxima a los 1700 Km², comprende el pico más alto de la Península Ibérica (Mulhacén - 3482 m snm) y 10 picos más con una altitud superior a los 3000 m snm). Esta área sufre fuertes variaciones estacionales en cuanto a las condiciones climatológicas; la nieve cubre el terreno durante unos 6 meses (diciembre-mayo) y el crecimiento de la mayoría de las plantas ocurre entre junio y agosto (Peinado y Rivas Martínez, 1987).

Sierra Nevada se sitúa en una región de clima mediterráneo, si bien su condición montañosa le confiere características propias de un clima continental frío. También existe una enorme variabilidad impuesta por la alineación este-oeste del macizo y la disposición transversal de muchos de sus valles, donde son manifiestas las diferencias climáticas.

Biogeográficamente la zona se sitúa dentro del Reino Holártico, Región Mediterránea, dentro de la Provincia Bética y Sector Nevadense, Subsector Nevadense. En Sierra Nevada aparecen 5 de los 6 termotipos definidos para la Región Mediterránea, desde el termomediterráneo en las zonas más bajas y secas de la fachada oriental, hasta el crioromediterráneo en las zonas más elevadas. En la mayor parte de Sierra Nevada encontramos ombrotipos secos y subhúmedos, aunque aparecen excepciones, tanto por su extrema sequía (ombrotipos semiáridos en áreas orientales), como precipitaciones medias superiores a 1000 mm/año, (ombrotipos húmedos) típicos de zonas elevadas.

A pesar de que la vegetación natural de Sierra Nevada ha sido continuamente alterada por las actividades humanas especialmente durante los últimos siglos, la flora de este espacio natural es todavía rica y comprende más de 2000 especies de plantas, con un elevado número de endemismos entre ellas (Valle y Lorite, 2001).



Figura 7. Localización del EN de Sierra Nevada en el sur de la Península Ibérica (arriba) y distribución de los distintos grados de protección (abajo).

Al igual que en el caso de la flora, la diversidad zoológica del macizo de Sierra Nevada está asociada a la gran diversidad de hábitats presentes. Hasta el momento se han catalogado más de 225 especies de vertebrados en el ENSN (Moleón, 2001; Caro *et al.* 2010; Garzón y Henares 2011). Se estima que en el macizo de Sierra Nevada existen alrededor de 5000 especies de invertebrados (Pascual y Tinaut,

2001), con la presencia de numerosos endemismos. Los lepidópteros son el grupo de insectos más conocido (Olivares *et al.*, 2011).

En el año 1966 se declaró la Reserva Nacional de Caza de Sierra Nevada sobre los terrenos más elevados de Sierra Nevada, dentro de la provincia de Granada (350 Km²). Su objetivo era incrementar la abundancia de las especies cinegéticas del lugar, en especial de la cabra montesa. En 1986 Sierra Nevada es declarada Reserva de la Biosfera dentro del programa MaB de la Unesco y en 1989 se crea el Parque Natural de Sierra Nevada, coincidiendo con los terrenos declarados Reserva de Biosfera, abarcando una superficie de 1.719 Km². Posteriormente, en 1999, se declara el Parque Nacional de Sierra Nevada sobre el núcleo central de la sierra, afectando a los terrenos de mayor cota, con una superficie de 862 Km². El Parque Natural pasa entonces a constituir el área periférica del Parque Nacional con una superficie de 857 Km².

El ENSN alberga una de las poblaciones más importantes de *Capra pyrenaica* de la Península Ibérica, tanto a nivel demográfico como a nivel de variabilidad genética (Pérez *et al.*, 2002).

2. 2. Obtención y procesado de muestras

La mayoría de las muestras utilizadas en este estudio proceden de animales abatidos de forma selectiva en el contexto de un plan de manejo de la densidad de cabras montesas y de control la sarna sarcóptica en Sierra Nevada, que se inició en la década de 2000. De cada piel, que era extraída completa (Figura 8), se extrajeron sistemáticamente 5 trozos de 6,25 cm² de las zonas más frecuentemente afectadas: labio, frente, cruz, extremidad anterior y extremidad posterior (León-Vizcaíno *et al.*, 1999).

El resto de las muestras (biopsias de piel obtenidas con un “punch biopsy” de 0,8 cm de diámetro) (ver capítulo 3.3 de Resultados) se obtuvieron de ejemplares mantenidos en cautividad, que fueron sometidos a una infestación experimental

(proyecto: Caracterización de la infestación experimental por *Sarcoptes scabiei* en la cabra montés (*Capra pyrenaica*), referencia CGL2012-40043-C02-02).



Figura 8: Piel completa de un macho de 4 años, con evidentes síntomas de sarna, de la que se extraen las muestras para la digestión.

Las muestras se digirieron en una solución de KOH al 5 % durante unas 18 horas a 45 ° C. Esta metodología supone una simplificación de la descrita por Mumcuoglu (1990), tanto en la solución de digestión, como en evitar los pasos de centrifugación y resuspensión.

Posteriormente, tras la resuspensión de los productos de digestión con un agitador magnético, se extrajo una alícuota de 10 ml de cada una de ellas que fue analizada en el estereomicroscopio con objeto de proceder a un recuento diferencial de los ácaros. Éstos fueron clasificados como larvas, ninfas (englobando en esta clase protoninfas y tritoninfas) y machos y hembras adultos, en base a las descripciones de Fain (1968).

La edad de los hospedadores se determinó mediante el recuento de medrones o segmentos de crecimiento de los cuernos (Fandos, 1991; Sáenz de Buruaga *et al.*, 1991) (Figura 9). La edad en años del animal es siempre menor (en una o dos

unidades) que el número de medrones de los cuernos. Entre Mayo y Diciembre se asume que es igual al número de medrones menos 1, y entre Diciembre y Mayo es igual al número de medrones menos 2.



Figura 9. La detención del crecimiento del estuche córneo genera unos surcos que delimitan los segmentos o medrones.

2. 3. Análisis estadísticos

Las posibles diferencias estadísticas entre distintos grupos (clases de sexo y edad del hospedador) o zonas corporales de la piel en relación a la densidad de ácaros y otras variables dependientes se exploraron mediante tests no paramétricos (Siegel y Castellán, 1988).

También se han utilizado modelos lineales generalizados (MLGs) (McCullagh y Nedler, 1989) que son una generalización flexible de la regresión lineal. Los MLGs relacionan la distribución aleatoria de la variable dependiente o respuesta con la parte no aleatoria (predictor lineal) de la/s variable/s independiente/s o explicativa/s y/o sus interacciones, a través de una función de enlace.

Todos los análisis estadísticos se hicieron con el software R Package V.2.15.1 y V.3.0.2 (R Development Core Team, 2011).

2. 4. Referencias

- Caro, J.; Fernández-Cardenete, J.R.; Benitez, M.; Chiroso, M.; Zamora, F.J.; Reguera, S.; Moreno, G.; Pleguezuelos, J.M. 2010. Estudio de anfibios y reptiles en el Espacio Natural Sierra Nevada en el marco del Cambio Global. Informe Inédito. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. 409 pp.
- Fain, A. 1968. Étude de la variabilité de *Sarcoptes scabiei* avec une révision des Sarcoptidae. Acta Zool. Pathol. Antverp., 47: 1-196.
- Garzón, J.; Henares, I. 2012. Las Aves de Sierra Nevada. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Granada: 397 pp.
- Gausson, H.; Bagnouls, F. 1953. Saison sèche et indice xérothermique. Université de Toulouse, Faculté des Sciences, Toulouse: 269 pp.
- León-Vizcaíno, L.; Ruiz de Ybáñez, M.R.; Cubero, M.J.; Ortiz, J.M.; Espinosa, J.; Pérez, L.; de Simón, M.A.; Alonso, F. 1999. Sarcoptic mange in Spanish ibex from Spain. J. Wildl. Dis., 35: 647-659.
- McCullagh, P.; Nelder, J. 1989. Generalized Linear Models. Second Edition. CRC Press, Boca Raton: 532 pp.
- Moleón M., 2001. Mamíferos. En García Canseco, V. et al. (Editores): Parque Nacional de Sierra Nevada. Canseco Editores, S.L., Toledo: 304 pp.
- Mumcuoglu, K.Y. 1990. A technique for quantitative evaluation of ectoparasitic mites and insects of domestic animals. Exp. Appl. Acarol., 9: 97-101.
- Olivares J., Barea-Azcón, J.M., Pérez-López, J.M., Tinaut A., Henares I., 2011. Las mariposas diurnas de Sierra Nevada. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía, Granada: 512 pp.
- Pascual F., Tinaut A., 2001. Insectos. En García Canseco, V. et al. (Editores): Parque Nacional de Sierra Nevada. Canseco Editores, S.L., Toledo: 304 pp.
- Peinado, M.; Rivas Martínez, S. (Editores). 1987. La vegetación de España. Universidad de Alcalá de Henares, Madrid: 544 pp.
- Pérez, J.M.; Granados, J.E.; Soriguer, R.C.; Fandos, P.; Márquez, F.J.; Crampe, J.P. 2002. Distribution, status and conservation problems of the Spanish Ibex, *Capra pyrenaica* (Mammalia: Artiodactyla). Mammal Rev., 32: 26-39.

R Development Core Team. 2011. R: a language and environment for statistical computing [Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available from: <http://www.R-project.org/>.

Sáenz de Buruaga, M.; Lucio, A.J.; Purroy, F.J. 1991. Reconocimiento de sexo y edad en especies cinegéticas. Diputación Foral de Álava, Vitoria: 127 pp.

Siegel, S.; Castellán, Jr., N.J. 1988. Nonparametric statistics for the behavioral Sciences. International Edition. McGraw-Hill, New York: 399 pp.

Valle, F.; Lorite, J. 2001. Vegetación. En García Canseco, V. *et al.* (Editores): Parque Nacional de Sierra Nevada. Canseco Editores, S.L., Toledo: 304 pp

3. Resultados

Biología poblacional de *Sarcoptes scabiei* de la cabra montés (*Capra pyrenaica*)

Artículo publicado en International Journal of Acarology (volumen 42, páginas: 7-11, 2016).

Los resultados preliminares de este trabajo se presentaron en los 31èmes Rencontres du Grupo de Ecopatología de la Fauna Silvestre de Montaña (GEEFSM) (Canillo, Andorra, junio 2013) con el título “El recuento diferencial de ácaros revela aspectos de la biología poblacional de *Sarcoptes scabiei* y de la epidemiología de la sarcoptidosis”, por lo que la doctoranda obtuvo el primer premio en el concurso de investigadores noveles.

On the population biology of *Sarcoptes scabiei* infesting Iberian ibex (*Capra pyrenaica*)

Inmaculada Castro^a, Ana de la Fuente^a, Paulino Fandos^b, Francisco Cano-Manuel^c, José-Enrique Granados^c, Ramón C. Soriguer^d, Samer Alasaad^e and Jesús M. Pérez^a

^aDepartamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología, Universidad de Jaén, Jaén, Spain; ^bAgencia de Medio Ambiente y Agua, Isla de la Cartuja, Sevilla, Spain; ^cEspacio Natural Sierra Nevada, Carretera Antigua de Sierra Nevada, Pinos Genil, Spain; ^dDepartamento de Etología y Conservación de la Biodiversidad, Estación Biológica de Doñana (CSIC), Sevilla, Spain; ^eInstitute of Evolutionary Biology and Environmental Studies (IEU), University of Zürich, Zürich, Switzerland

ABSTRACT

In this study, we analysed the *Sarcoptes scabiei* infrapopulations of 315 Iberian ibex (*Capra pyrenaica*) by means of skin digestion and differential mite counts. Mean density reached 178.2 mites/cm² (range: 0.71–4514.29). Although the most frequently affected zones were hosts' extremities and withers, higher mite densities were obtained from lips and extremities, suggesting that indirect infection through the substrate could also play a role in the disease epidemiology, together with direct transmission. The sex ratio of mites was female-biased (mean: 5.18 ♀/♂, range: 0.5–17). Larvae were more frequently found (nearly 50% of specimens) than nymphs, adult females or adult males. Mite density varied significantly between years and decreased with host age. Most of the variance was explained by the year, host sex, weight and kidney fat index (KFI). Taking into account the catabolic nature of the disease, our results suggest that hosts in good body condition could evidence a certain degree of resistance to the disease, which presumably has a genetic basis.

ARTICLE HISTORY

Received 16 July 2015
Accepted 13 October 2015
Published online
3 December 2015

KEYWORDS

Density; epidemiology; infrapopulations; *Sarcoptes scabiei*; skin digestion; mite count

Introduction

Sarcoptes scabiei parasitizes more than 100 mammalian host species (including humans) worldwide and causes a condition or disease known as sarcoptic mange (Bornstein et al. 2001; Pence and Ueckerman 2002). Some of the variations in the effects of mange may be attributable to differences in the immune status and mite densities of affected animals (Arlian et al. 1990; Davis and Moon 1990), which also depend, among other factors, on previous exposure and host sex (Sarasa et al. 2010). The orifices in host skins produced by mites (to reach the *stratum corneum*, where they develop and complete their life cycle) facilitate secondary infestations and in acute phases of the disease malfunctions and lesions to inner organs (e.g. kidneys, liver or pancreas) are observed (Burgess 1994; Bornstein et al. 2001; Walton et al. 2004). In extreme cases, cachectic host may die.

Most Euro-Asiatic wild bovid species are affected by this disease (Fernández-Morán et al. 1997; León-Vizcaíno et al. 1999; González-Candela et al. 2004; Dagleish et al. 2007; Rossi et al. 2007). The Iberian ibex (*Capra pyrenaica*) population in the Sierra Nevada Natural Space (southern Spain) is one such example and the dynamics of sarcoptidosis in this protected area has been monitored since the beginning of the 1990s (Pérez et al. 1997; Granados et al. 2007). At an infrapopulation level, mites coming from an individual host have a non-random distribution and are genetically structured (Alasaad et al. 2008), suggesting the existence of non-random colonization dynamics by mites and/or the effect of repeated infestations.

The goals of our study were to (1) determine the mite load of the host body areas that were more frequently affected by sarcoptic mange and (2) analyse the factors of host, parasite and environment that are correlated with mite density.

Materials and methods

Study area

The study area was the Sierra Nevada Natural Space (SNNS) (36°00'–37°10' N, 2°34'–3°40' W, southern Spain). This protected area covers nearly 1700 km² and consists of a core area – protected as a national park (above 2000 m a.s.l.) – surrounded by a natural park. The SNNS contains 11 peaks over 3000 m a.s.l., including the highest peak in the Iberian Peninsula (Mulhacén: 3481 m a.s.l.). Due to its altitudinal range, latitudinal position and proximity to the Mediterranean Sea, the SNNS enjoys a Mediterranean climate with important altitudinal gradients of temperature and rainfall and all the bioclimatic stages or thermotypes described for this climate type are present there (Rivas-Martínez 1984).

The SNNS harbours one of the most important of all Iberian ibex populations, in terms of both numbers (over 10,000 specimens) and genetic variability (Pérez et al. 2002).

Sample collection and processing

Between April 2002 and November 2010, we obtained whole skins of 315 ibex specimens that had been shot as part of a management programme devoted to controlling both ibex density and the spread of sarcoptic mange. Generally, ibexes were culled randomly, but those showing extremely severe symptoms of the disease were selectively shot because of humanitarian reasons. This programme and our research activities had ethical approval at both regional and national levels. Host age was assessed by horn segment counts (Fandos 1991). We weighed each animal (before evisceration) to the nearest 0.1 kg and then after necropsy animals' whole skin and kidneys, together with the surrounding fat, were removed. In the laboratory, kidneys and fat were weighed to the nearest 0.01 g and were then weighed again

after the removal of the attached fat and connective tissue capsule. The kidney fat index (KFI) was calculated as the average between the weight of the right and left kidneys without fat and the weight of the kidneys with fat (Riney 1955).

From each skin, we systematically removed five pieces (6.25 cm² each) from the most frequently affected areas, namely the mouth, forehead, forelimb, hindlimb and withers (León-Vizcaíno et al. 1999; Pérez et al. 2011). Then, these skin parts were digested in a 250-ml 5% KOH solution overnight at 45°C. The digestion products were re-suspended with a magnetic shaker and a 10-ml aliquot from each one was analysed under a stereomicroscope for differential mite count. Mites were classified as larvae, nymphs (including both protonymphs and tritonymphs) and adult males or females, according to the descriptions by Fain (1968). Mean mite density was calculated as the average of the densities obtained for each skin location and mite sex ratio as the ratio of females to males.

Statistical analysis

Differences in mean mite densities relating to host body areas, sex and age, month, season and year were assessed using a Kruskal-Wallis test. Then, we used generalized linear models (GLMs) (McCullagh and Nelder 1989) with the logarithm as the (canonical) link function, and the Poisson distribution function as the probability distribution, to model the mean mite density (as the response variable) as a function of different explanatory variables: host sex, age, weight (transformed as log weight + 1), KFI, mite sex ratio, Gauss Index (GI) (see below), season and year. These last two variables and the host sex were introduced in the models as factors. In our study, the seasons were considered as per including complete months, that is, spring (March–May), summer (June–August), fall (September–November) and winter (December–February). Mean rainfall and temperatures were integrated into the GI, where $GI = \Sigma \text{mean rainfall} - (2 \times \text{mean temperature})$ (Gausson and Bagnouls 1953). This index was calculated monthly on the basis of data obtained from meteorological stations in the study area. All statistical analyses were performed with the R Package V.2.15.1 and V.3.0.2 (R Development Core Team 2011).

Results

Of the total samples analysed ($n = 315$), we obtained 221 counts of mean mite densities >0 . Both groups (e.g. that composed of healthy animals and the other one consisting of scabietic animals) did not differ with regard to sex. Regarding age, we observed significant differences (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 35.53$; $df = 14$; $p = 0.0012$), but we must note the high number of age classes (14) and the low number of samples in some of them.

In parasitized hosts, local mite density ranged from 0.7 to 4514.3 mites/cm². The most frequently affected skin areas were the extremities and withers, although the highest mean densities were recorded from the mouth (232.5 mites/cm²), forelimbs (225.4 mites/cm²) and hindlimbs (173.6 mites/cm²) (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 21.13$; $df = 4$; $p = 0.0003$) (Table 1). Larvae accounted for nearly 50% of the mites and the sex ratio was female-biased (average value = 5.18 ♀♀/♂♂).

Table 1. Descriptive statistics of mite density (mites/cm²) from each skin area analysed.

Skin area	N	Prevalence (%)	Range	Mean	SD
Mouth	203	78.11	0–2614.29	232.46	356.15
Forehead	203	73.13	0–1577.78	99.14	214.93
Forelimb	219	80.28	0–2488.00	173.60	319.96
Hindlimb	220	80.37	0–4514.29	225.40	475.49
Withers	220	84.47	0–2285.71	164.15	318.54
Mean density	221	70.16	0.71–1783.81	178.23	274.85

N, Number of samples analysed; SD, standard deviation.

Table 2. GLM coefficients analysing the relationship between *Sarcoptes* mean density, host weight (log-transformed), host KFI and host sex (M: males).

	Estimate	SE	z Value*
Intercept	−3.178	0.122	−25.95
Log weight	−0.922	0.044	−20.83
KFI	10.086	0.117	86.09
Sex (M)	0.248	0.015	16.78
Year (2003)	1.216	0.036	34.01
Year (2004)	2.413	0.037	65.62
Year (2005)	2.043	0.033	62.03
Year (2006)	1.283	0.036	35.70
Year (2007)	1.065	0.090	11.87
Year (2008)	2.216	0.049	45.22

Note: SE, Standard error.

*In all cases $\text{Pr}(>|Z|) < 0.001$.

Male ibexes had more mites than females (203.59 ± 19.15 and 144.62 ± 191.19 , respectively), but differences were not significant (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 1.93$; $p = 0.16$). No significant differences were found regarding either month (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 16.29$; $p = 0.13$) or season (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 2.83$; $p = 0.42$). On the other hand, mite density varied significantly between years (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 35.13$; $p = 2.5 \times 10^{-5}$).

To study the effects of GI, host sex, age, weight and KFI, *Sarcoptes* sex ratio, season and year, a GLM model with Poisson distribution errors family and log link was constructed using the formula: Mean mite density \sim GI + factor (host sex) + host age + Log host weight + host KFI + mite sex ratio + factor (year) + factor (season).

The most parsimonious model included log weight, KFI, host sex and year, which had an Akaike's Information Criterion (AIC) value of 18,121.26 and explained 40.4% of the response variable deviance (Table 2). The AIC is a way of selecting a model from a set of models. The chosen model is that which minimizes the Kullback–Leibler distance between the model and the truth. It is based on information theory, but a heuristic way to think about it is as a criterion that seeks a model that has a good fit to the truth but few parameters (Burnham and Anderson 2002). It is defined as

$$AIC = -2(\ln(\text{likelihood})) + 2K$$

where likelihood is the probability of the data given in a model and K is the number of free parameters in the model. AIC scores are often shown as ΔAIC scores, or difference between the best model (smallest AIC) and each model. Therefore, the best model has a $\Delta AIC = 0$.

No significant interactions between these explanatory variables were found. KFI was positively related to the mean mite density and a negative relationship between host weight and mean mite density was observed (Figure 1).

Discussion

The maximum mite density obtained in this study was similar to that reported by Little et al. (1998) in red foxes (*Vulpes vulpes*) and by Skerrat et al. (1999) in wombats (*Vombatus ursinus*). The maximum mite density probably depends on the anatomic and physical characteristics of the host skin (e.g. thickness, hardness, hair type and density, and humidity) (Pence and Ueckerman 2002) and/or on the host response to the parasite. The most frequently affected body areas were the withers and extremities, while those harbouring the highest mite densities were the mouth and extremities. These findings could suggest that mite transmission through the substrate plays a role in the epidemiology of the disease. Nevertheless, additional studies addressing the anatomical and physical properties of the skin in such areas would contribute to a better understanding of these findings.

On the other hand, mites around the mouth could indicate that this area becomes infested as the host bites or grooms other affected areas of the body. In any case, there is evidence that

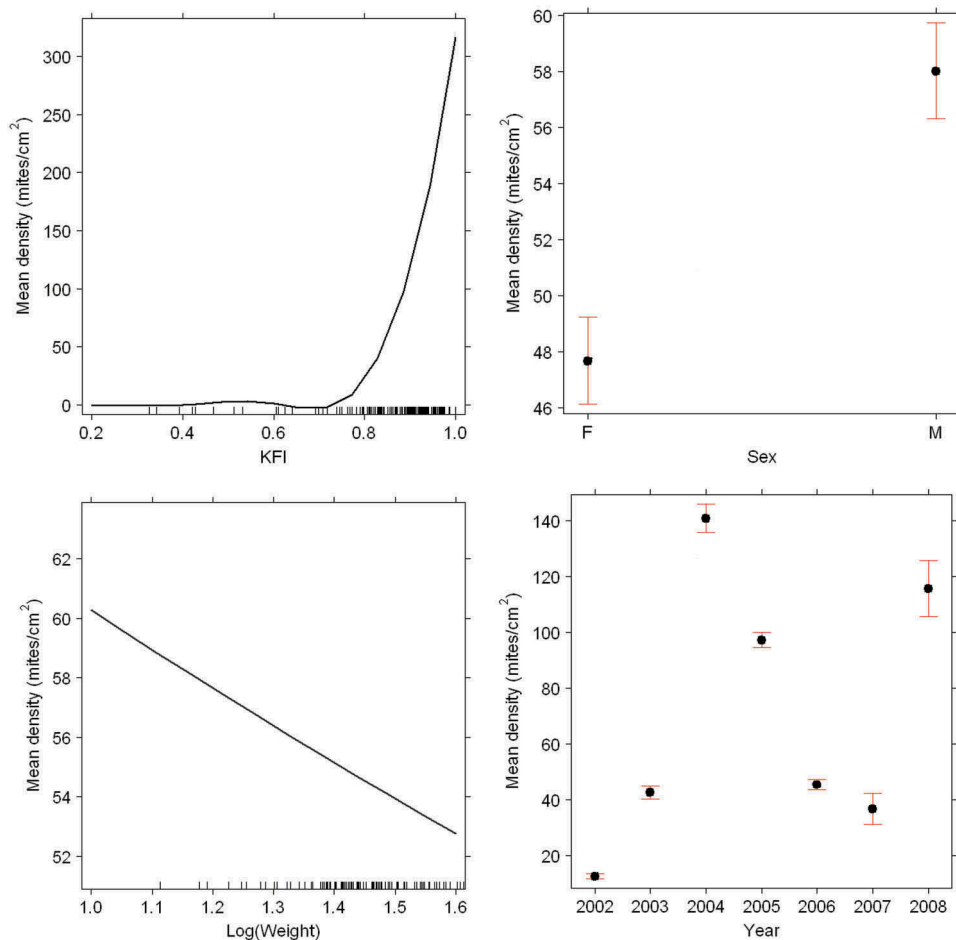


Figure 1. Effects of the host kidney fat index (KFI) (up left), sex (up right), host weight (bottom left) and year (bottom right) on *Sarcoptes* mean density (\pm SE; mites/cm²) as predicted by the model detailed in Table 2.

colonization dynamics vary between hosts and that reinfestations also influence this process (Alasaad et al 2008). In several experimental trials using pseudoectoparasites (triangular coloured wood markers, attached to animals with hypoallergenic wax), it was observed that the rate of infestation of ibex at feeding sites (mangers) depended mainly on season, host age and sex, and that males and juvenile animals were the most frequently infested. The most frequent localizations of pseudoectoparasites on the ibex skin were the mouth, neck, forehead and chest (Sarasa et al. 2009, 2011). Further work is still needed to explain these epidemiological observations.

The explanatory variables included in the most parsimonious model, that is, those that explain the highest percentage of variance of the response variable with the minimum of information, were year, host KFI, host sex and log host weight. In the case of the year, additional research is still needed to assess whether or not mean mite density is related to the additive or to the average effect of climatological variables, and whether this response is instantaneous or time-lagged. For instance, Pérez et al. (1997) found a significant correlation between monthly prevalence of mange in ibex from SNNS and the average rainfall over the three previous months, as well as between the monthly prevalence and the temperature of the previous month. On the other hand, host density and aggregation levels, and the inter-annual dynamics of other parasitosis, could also be contributing factors.

Older animals tend to harbour lower numbers of mites. Presumably, these hosts may have developed certain degree of resistance through reinfestations.

It is particularly interesting to note the negative relationship between log weight and mean mite density and the positive one between KFI and mean mite density. Scabietic animals typically

lose weight (Skerrat et al. 1999; Pérez et al. 2015). Alados (1986) observed that Iberian ibex affected by mange indulged in less exploratory behaviour than healthy animals. On the other hand, Presidente (1982) and Doube (1982) suggest that wombats severely affected by mange may lose biting capacity and end up dying by starvation. In any case, good host body condition –in terms of both weight and KFI – should be considered as an index of phenotypic quality that is related to some degree of resistance to the disease (Alasaad et al. 2013). In other words, animals in optimal body condition could be able to limit intensity of parasitism by *S. scabiei*. This supposed resistance presumably have a genetic basis, a subject that is currently under investigation.

Mean mite density was higher in males, but such differences were not statistically significant. Despite mange prevalence being higher in females, male ibex suffer more severely from the disease than either females or young animals, particularly during the rutting season (León-Vizcaíno et al. 1999). It is known that testosterone has an immunosuppressive effect in male Alpine ibex (*Capra ibex*). Decristophoris et al. (2007) found a strong positive effect of this hormone on the amount of nematode eggs in ibex faeces.

In summary, of all the host skin areas, the extremities and withers were the most frequently affected by sarcoptic mange, although higher mite loads were found on mouths and extremities. Larvae accounted for nearly 50% of mites and most mites were females. Mite load was mainly influenced by year, host sex and host body condition (log weight and KFI).

Acknowledgements

We would like to thank Apolo Sánchez, José López, Isidro Puga, Elías Martínez, Francisco Casado, Antonio J, Rodríguez and Antonio

Rodríguez for their help in collecting samples, and Michael Lockwood for revising the English style of the manuscript. This study complied with current Andalusian and Spanish law.

Funding

Our study has been funded by the Ministerio de Economía y Competitividad of the Spanish Government [project CGL2012-40043-C02-01] and the Consejería de Medio Ambiente of the Andalusian Government [projects: 676/2006/A/00; 1571/2007/M/00; 173/2009/M/00]. The authors' research activities are partially funded by the Plan Andaluz de Investigación (RNM-118 and RNM-6400 groups).

References

- Alados CL. 1986. Time distribution of activities in the Spanish ibex, *Capra pyrenaica*. *Biology of Behaviour* 11:70–82.
- Alasaad S, Granados JE, Fandos P, Cano-Manuel F-J, Soriguer RC, Pérez JM. 2013. The use of radio-collars for monitoring wildlife diseases: a case study from Iberian ibex affected by *Sarcoptes scabiei* in Sierra Nevada, Spain. *Parasites & Vectors* 6:242.
- Alasaad S, Soglia D, Sarasa M, Soriguer RC, Pérez JM, Granados JE, Rasero R, Zhu XQ, Rossi L. 2008. Skin-scale genetic structure of *Sarcoptes scabiei* populations from individual hosts: empirical evidence from Iberian ibex-derived mites. *Parasitology Research* 104:101–105.
- Arlian LG, Bruner RH, Stuhlman RA, Ahmed M, Vyszynski-Moher DL. 1990. Histopathology in hosts parasitized by *Sarcoptes scabiei*. *The Journal of Parasitology* 76:889–894.
- Bornstein S, Mörner T, Samuel WM. 2001. *Sarcoptes scabiei* and sarcoptic mange. In: Samuel WM, Pybus MJ, Kocan AA, editors. *Parasitic diseases of wild mammals*. 2nd ed. Ames (IA): Iowa State University Press; p. 107–119.
- Burgess I. 1994. *Sarcoptes scabiei* and scabies. *Advances in Parasitology* 33:235–292.
- Burnham KP, Anderson DR. 2002. *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*. New York (NY): Springer; p. 1–488.
- Dagleish MP, Ali Q, Powell RK, Butz D, Woodford MH. 2007. Fatal *Sarcoptes scabiei* infection of blue sheep (*Pseudois nayaur*) in Pakistan. *Journal of Wildlife Diseases* 43:512–517.
- Davis DP, Moon RD. 1990. Density of itch mite, *Sarcoptes scabiei* (Acari: Sarcoptidae) and temporal development of cutaneous hypersensitivity in swine mange. *Veterinary Parasitology* 36:285–293.
- Decristophoris PMA, von Hardenberg A, McElligott AG. 2007. Testosterone is positively related to the output nematode eggs in male Alpine ibex (*Capra ibex*) faeces. *Evolutionary Ecology Research* 9:1277–1292.
- Doube LJ. 1982. Diseases of wombats. In: Fowler ME, editor. *Wildlife diseases of the Pacific Basin and other countries*. Sacramento (CA): Wildlife Disease Association-Fruitridge Printing; p. 63–75.
- Fain A. 1968. Étude de la variabilité de *Sarcoptes scabiei* avec une révision des Sarcoptidae. *Acta Zoologica et Pathologica Antverpiensia* 47:1–196.
- Fandos P. 1991. La cabra montés (*Capra pyrenaica*) en el Parque Natural de las Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas. Madrid: ICONA – CSIC; p. 1–176.
- Fernández-Morán J, Gómez S, Ballesteros F, Quirós P, Benito JL, Feliu C, Nieto JM. 1997. Epizootiology of sarcoptic mange in a population of Cantabrian chamois (*Rupicapra pyrenaica parava*) in northwestern Spain. *Veterinary Parasitology* 73:163–171.
- Gausson H, Bagnouls F. 1953. *Saison sèche et indice xérothermique*. Toulouse: Université de Toulouse, Faculté des Sciences; p. 1–269.
- González-Candela M, León-Vizcaíno L, Cubero-Pablo MJ. 2004. Population effects of sarcoptic mange in barbary sheep (*Ammotragus lervia*) from Sierra Espuña Regional Park, Spain. *Journal of Wildlife Diseases* 40:456–465.
- Granados JE, Cano-Manuel FJ, Castillo A, Fandos P, Pérez JM, Alasaad S, Sarasa M, Serrano E, Moço G, Soriguer RC. 2007. Evolución de la sarcoptidosis en la población de cabra montés de Sierra Nevada. II Congreso Internacional del género *Capra* en Europa; Granada.
- León-Vizcaíno L, Ruiz de Ybáñez MR, Cubero MJ, Ortiz JM, Espinosa J, Pérez L, de Simón MA, Alonso F. 1999. Sarcoptic mange in Spanish ibex from Spain. *Journal of Wildlife Diseases* 35:647–659.
- Little SE, Davidson WR, Rakich PM, Nixon TL, Bounous DI, Nettles VF. 1998. Responses of red foxes to first and second infection with *Sarcoptes scabiei*. *Journal of Wildlife Diseases* 34:600–611.
- McCullagh P, Nelder J. 1989. *Generalized linear models*. 2nd ed. London: Chapman & Hall; p. 1–532.
- Pence DB, Ueckerman E. 2002. Sarcoptic mange in wildlife. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties* 21:385–398.
- Pérez JM, Granados JE, Sarasa M, Serrano E. 2011. Usefulness of estimated surface area of damaged skin as a proxy of mite load in the monitoring of sarcoptic mange in free-ranging populations of Iberian wild goat, *Capra pyrenaica*. *Veterinary Parasitology* 176:258–264.
- Pérez JM, Granados JE, Soriguer RC, Fandos P, Márquez FJ, Crampe JP. 2002. Distribution, status and conservation problems of the Spanish ibex, *Capra pyrenaica* (Mammalia: Artiodactyla). *Mammal Review* 32:26–39.
- Pérez JM, Ruiz-Martínez I, Granados JE, Soriguer RC, Fandos P. 1997. The dynamics of sarcoptic mange in the ibex population of Sierra Nevada in Spain – influence of climatic factors. *Journal of Wildlife Research* 2:86–89.
- Pérez JM, Serrano E, Soriguer RC, González FJ, Sarasa M, Granados JE, Cano-Manuel FJ, Cuenca R, Fandos P. 2015. Distinguishing disease effects from environmental effects in a mountain ungulate: seasonal variation in body weight, hematology, and serum chemistry among Iberian ibex (*Capra pyrenaica*) affected by sarcoptic mange. *Journal of Wildlife Diseases* 51:148–156.
- Presidente PJA. 1982. Common wombat *Vombatus ursinus*: maintenance in captivity, blood values, infections and parasitic diseases. In: Evans DD, editor. *The management of Australian mammals in captivity*. Melbourne: The Zoological Board of Victoria; p. 133–143.
- R Development Core Team. 2011. R: a language and environment for statistical computing [Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available from: <http://www.R-project.org/>.
- Riney T. 1955. Evaluating condition of free-ranging red deer (*Cervus elaphus*), with special reference to New Zealand. *New Zealand Journal of Science and Technology* 36:430–463.
- Rivas-Martínez S. 1984. Pisos bioclimáticos de España. *Lazaroa* 5:33–43.
- Rossi L, Fraquelli C, Vesco U, Permunian R, Somavilla GM, Carmignola G, Da Pozzo R, Meneguz PG. 2007. Descriptive epidemiology of a scabies epidemic in chamois in the Dolomite Alps, Italy. *European Journal of Wildlife Research* 53:131–141.
- Sarasa M, Pérez JM, Alasaad S, Serrano E, Soriguer RC, Granados J-E, Fandos P, Joachim J, Gonzalez G. 2011. Neatness depends on season, age, and sex in Iberian ibex *Capra pyrenaica*. *Behavioral Ecology* 22:1070–1078.
- Sarasa M, Rambozzi L, Rossi L, Meneguz PG, Serrano E, Granados J-E, González FJ, Fandos P, Soriguer RC, Gonzalez G, et al. 2010. *Sarcoptes scabiei*: specific immune response to sarcoptic mange in the Iberian ibex *Capra pyrenaica* depends

- on previous exposure and sex. *Experimental Parasitology* 124:265–271.
- Sarasa M, Serrano E, Gonzalez G, Granados J-E, Soriguer RC, Pérez JM, Joachim J. 2009. Pseudoectoparasites: a new tool for exploring the relationship between host behaviour and ectoparasites. *Animal Behaviour* 77:1351–1356.
- Skerrat LF, Middleton D, Beveridge I. 1999. Distribution of life cycle stages of *Sarcoptes scabiei* var *wombati* and effects of severe mange on common wombats in Victoria. *Journal of Wildlife Diseases* 35:633–646.
- Walton SF, Holt DC, Currie BJ, Kemp DJ. 2004. Scabies: new future for a neglected disease. *Advances in Parasitology* 57:309–376.

¿Sincroniza *Sarcoptes scabiei* su ciclo reproductivo con el de la cabra montés, *Capra pyrenaica*?

Artículo publicado en International Journal of Acarology (volumen 43, páginas: 199-203, 2017).

Does *Sarcoptes scabiei* synchronize its breeding cycle with that of the Iberian Ibex, *Capra pyrenaica*?

Jesús M. Pérez^a, Inmaculada Castro^a, José E. Granados^b, F. Javier Cano-Manuel^b, Paulino Fandos^c, José Espinosa^a and Ramón C. Soriguer^d

^aDepartamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología, Universidad de Jaén, Campus Las Lagunillas, Jaén, Spain; ^bEspacio Natural Sierra Nevada, Granada, Spain; ^cAgencia de Medio Ambiente y Agua, Sevilla, Spain; ^dDepartamento de Etología y Conservación de la Biodiversidad, CIBERESP, ISCIII, Estación Biológica de Doñana (CSIC), Sevilla, Spain

ABSTRACT

We have analysed five samples from the skin of 368 Iberian ibexes from Sierra Nevada Natural Space (southern Spain) in order to characterize the age structure of the *Sarcoptes scabiei* metapopulation affecting this host population and, particularly, to search for possible reproductive peaks of the parasite. Monthly mean mite density and number of larvae peaked in November, coinciding with the rutting season of its host, when the size of ibex mixed groups becomes larger. On the other hand, monthly number of nymphs differed significantly, reaching higher values in May (coinciding with the peak of parturitions), August and November. Our results suggest that (i) there is some extent of synchronization between the breeding cycles of both the host and the parasite and (ii) nymphs could play an important role in the mite transmission to offspring. We discuss the potential role of sexual hormones in such increase of larvae and therefore in mite numbers.

ARTICLE HISTORY

Received 26 September 2016
Accepted 8 December 2016
Published online 30
December 2016

KEYWORDS

Breeding cycle; *Capra pyrenaica*; host-parasite relationships; *Sarcoptes scabiei*; synchronization

Introduction

Certain ectoparasites, particularly those feeding on host blood, synchronize their breeding cycles to those of their hosts, peak breeding of the parasites coinciding with peak production of host reproductive hormones. This results in sufficient parasite numbers to be transmitted to the new hosts. It has been observed in avian lice (Foster 1969; Wheeler and Threlfall 1986; Chandra et al. 1990) and fleas (Rothschild and Ford 1972).

Among wild host species, sarcoptic mange affects most of the Euro Asiatic bovid species (Bornstein et al. 2001). In Spain, for instance, the disease reached several populations of Cantabrian chamois, *Rupicapra pyrenaica* (Fernández Morán et al. 1997), Iberian ibex, *Capra pyrenaica* (Fandos 1991; León-Vizcaíno et al. 1999), European mouflon, *Ovis orientalis musimon* (León-Vizcaíno et al. 1992) or aoudad, *Ammotragus lervia* (González-Candela et al. 2004). In the case of the epizooty affecting Iberian ibex from the Sierra de Cazorla, Segura y Las Villas Natural Park (southern Spain), the mortality due to the disease reached over a 95% of the population animals (Fandos 1991; León-Vizcaíno et al. 1999).

The life cycle of the mite comprises several phases or stages: egg, larva (hexapod), protonymph, tritonymph and adult (Fain 1968). The life cycle of *Sarcoptes scabiei* (var. *canis*) is completed within 10–13 days (Arlian and Vyszenski-Moher 1988) or 21 days, in the case of human scabies (Mellanby 1944). Under similar conditions, adult females and nymphs survive more time than larvae and adult males do (Arlian et al. 1989).

Sarcoptic mange shows seasonal dynamics in terms of prevalence and intensity of parasitism (Christophersen 1986; Pérez et al. 1997; Mimouni et al. 2003) together with certain inter-annual periodicity regarding both epidemiological variables and mortality of scabietic hosts (Walton et al. 2004; Rossi et al. 2007). Despite such periodicity has not already clearly demonstrated, the disease exhibits density-dependent patterns (Valenzuela et al. 2000; De Danieli and Sarasa 2015).

As occurs in many social ungulates, Iberian ibex shows sexual segregation during most of the year (Alados 1985). During the rut

season, which extends from mid-November to mid-December (Fandos 1991), mixed groups become more frequent and larger (Alados and Escos 1996a). In this species, ovulatory activity (e.g., peak of progesterone concentration in peripheral blood) extends from December to January (Santiago-Moreno et al. 2003). Ibex males show the highest values of plasma testosterone concentration between October and November (Toledano-Díaz et al. 2007) coinciding with a greater allocation to testes mass (Sarasa et al. 2010). Parturition season of ibex extends from the end of April to the first days of July, with a peak in May (Fandos 1991). A higher reproductive synchrony has been suggested for the Sierra Nevada ibex population with regard to other populations (e.g., Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas Natural Park; Alados and Escos 1996b).

The aim of our study is to characterize the reproductive phenology of this parasite in a high mountain naturally infested host population.

Materials and methods

The study area

We conducted our study on the Iberian ibex population from the Sierra Nevada Natural Space (SNNS) (36°00'–37°10' N, 2°34'–3°40' W, southern Spain). This area has an extension near 1700 km² and comprises the alpine massif with the highest peak of the Iberian Peninsula, the Mulhacén (3481 m above sea level) and 11 more peaks higher than 3000 m above sea level. Because of its proximity to the Mediterranean Sea, this natural space has a Mediterranean climate with important altitudinal gradients of temperature and rainfall, all the bioclimatic stages or thermotypes described for this climate being present (Rivas-Martínez 1984).

The SNNS harbours one of the most important Iberian ibex populations, both from a demographic (over 10,000 specimens) and genetic variability viewpoints (Pérez et al. 2002). The monitoring of the temporal dynamics of the disease and its impact on the host population started in 1992 and currently is still ongoing.

Table 1. Monthly distribution of the number of Iberian ibex sampled in this study.

Month	Number of animals sampled
January	31
February	32
March	50
April	83
May	49
June	26
July	14
August	16
September	14
October	20
November	15
December	18
Total	368

Sample collection and laboratory analysis

Between April 2002 and March 2016, we obtained the whole skin of 368 Iberian ibex specimens from the SNNS. The number of animals sampled in each month is included in Table 1. These animals were selectively shot within the context of a management programme devoted to the control of both ibex density and the spread of the disease. From each skin we systematically removed five pieces (6.25 cm² each) from the more frequently affected areas, namely, mouth, forehead, chest, forelimb and hindlimb (León-Vizcaíno et al. 1999). These pieces were then digested overnight in a 5% KOH solution at 45°C. After re-suspending the digestion products, a 10 ml aliquot was analysed under the stereomicroscope for differential mite count (Pérez et al. 2011; Castro et al. 2016). Mite specimens were classified as larvae, nymphs (including both protonymphs and tritonymphs) and adults, according to the description of Fain (1968).

Data analysis

For each host, we obtained the absolute numbers of the different stages of the mite life cycle as well as the mean density of mites as the average of the densities obtained for each skin piece digested (local density). Possible differences between monthly sex ratio (female mites/male mites), numbers of larvae and nymphs and mean mite density were checked with a Kruskal–Wallis test (Siegel and Castellan 1988). Additionally, we performed a negative binomial regression analysis where counts is the outcome variable and months and host sex as explanatory variables with a general formula: $\log_{10}(\text{Nr.larvae} + 1) \sim \text{Month} \times \text{Sex} + (1|\text{ORD})$. Statistical analyses were performed with the R V.2.15.1 Package (R Development Core Team 2011).

Results

Mites were detected and counted in 273 of the 368 samples analysed. Local density ranged from 0 to 4519.29 mites/cm². Within each month, values of mean mite density showed a high level of dispersion (e.g., associated standard deviation) and monthly dynamics of the mean mite density is represented in Figure 1. Monthly dynamics of the number of larvae is depicted in Figure 2, and that regarding nymphs is included in Figure 3.

We found a significant drop in mite counts in October (t -value = -2.316; p -value = 0.0206). Monthly number of larvae did not significantly differ between months (Kruskal–Wallis test $K = 17.026$; 11 df; p -value = 0.1071) and the same occurred with nymphs (Kruskal–Wallis test $K = 12.128$; 11 df; p -value = 0.3541). Nevertheless, all the variables show a peak in November, and mean number of nymphs also peaked in May and August.

Monthly sex ratio of adult mites did not also differ between months (Kruskal–Wallis test $K = 12.640$; 11 df; p -value = 0.3175) and reached highest values (over 6.5) in May and November (Figure 4).

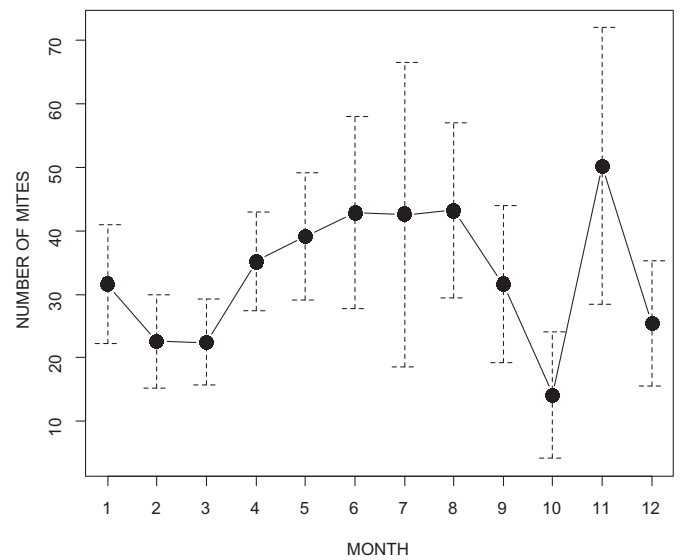


Figure 1. Monthly dynamics of the mean density of mites. Points represent the mean value and bars the standard deviation.

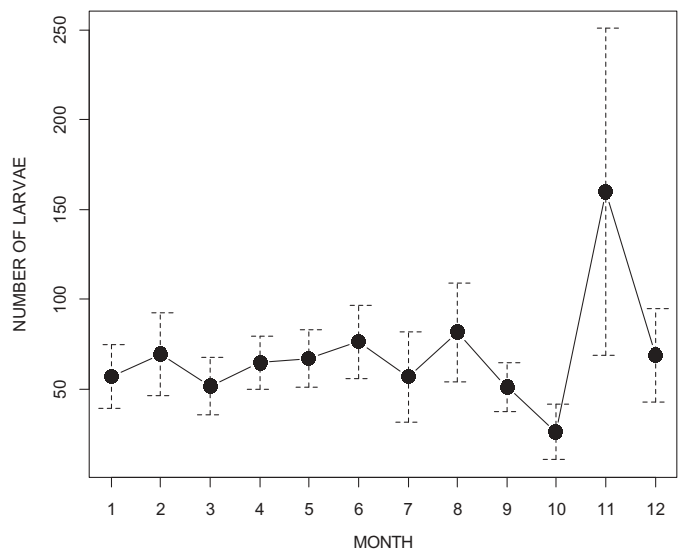


Figure 2. Monthly dynamics of the number of *Sarcoptes scabiei* larvae. Points represent the mean value and bars the standard deviation.

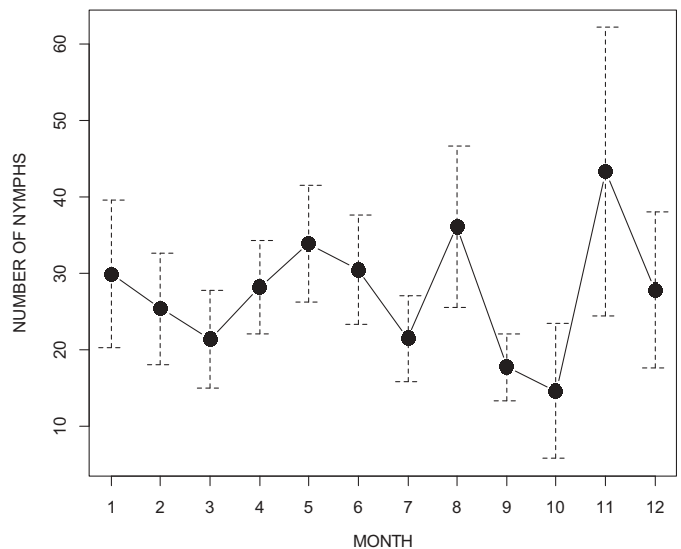


Figure 3. Monthly dynamics of the number of *Sarcoptes scabiei* nymphs. Points represent the mean value and bars the standard deviation.

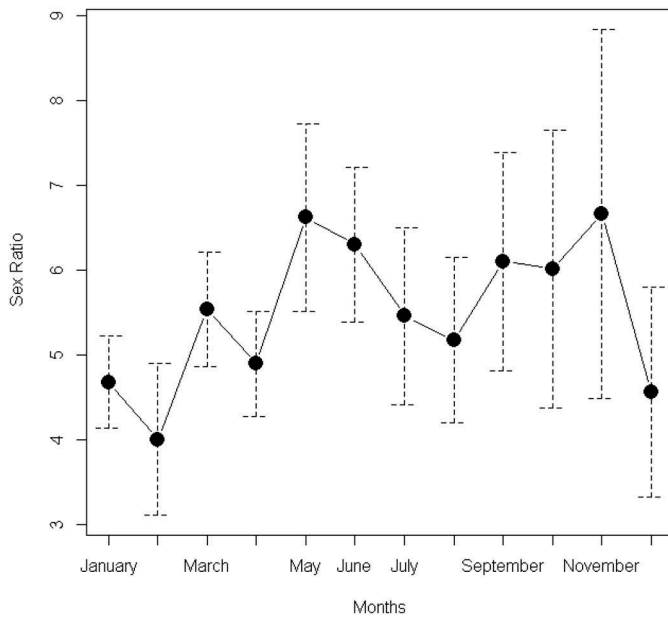


Figure 4. Monthly dynamics of the mites sex ratio (number of females /number of males).

Discussion

The age structure of the mite metapopulation analysed was similar to that described by Skerrat et al. (1999) regarding wombat, *Vombatus ursinus*. The maximum density obtained in our study is also very close to those reported by Little et al. (1998) in red foxes, *Vulpes vulpes*, and Skerrat et al. (1999) in wombats.

Terada et al. (2010) did not find a seasonal trend in the case of mange affecting dogs. On the contrary, Sokolova et al. (1989) found seasonal changes in *S. scabiei* reproductivity in human scabies, determined by higher numbers of eggs in mite burrows in the period between September and December. Moreover, these authors found latent females (with arrested oogenesis) from December to July. In a study of contact-transmitted particles (pseudooctoparasites) on Iberian ibex, Sarasa et al. (2011) evidenced that the higher lifespan of such particles started in November, when ibex hair coat becomes longer and may play a greater role in surface cleaning efficiency.

Regarding ibex breeding phenology, ovulatory activity in captive females (peak of progesterone concentration in peripheral blood) extends from December to January (Santiago-Moreno et al. 2003), and males show peaks of plasma testosterone concentration between October and November (Toledano-Díaz et al. 2007). Anyway, we must consider that the reproductive physiology of free-ranging female ibex can differ in some extent from that of captive animals (Zalányi 2001).

During the rut period, mixed ibex groups (including animals of both sexes) are more frequent and reach their larger size during the period between November and January (Alados and Escos 1996b). Moreover, the period favouring the higher lifespan of contact-transmitted particles on Iberian ibex coat starts in November and this may play a role in surface cleaning efficiency (Sarasa et al. 2011). Nevertheless, the gregariousness period of ibex begins before and ends after the rutting period do so (Couturier 1962).

The immunosuppressive effect of steroid hormones is known. Decristophoris et al. (2007) found a strong positive effect of this hormone on the amount of nematode eggs in male Alpine ibex (*Capra ibex*) faeces. Progesterone is also as known immunosuppressant in humans (Wyle and Kent 1977). In Bovidae, these effects may be mediated by the presence of the uterine serpin, a progesterone-induced endometrial protein (Schust et al. 1996).

Mellanby (1944) suggested that young recently fertilized mite females were responsible for mange transmission, since they wander on the host skin surface. In our study, all the mite stages might potentially play a role in horizontal transmission of sarcoptic mange during the rut period of hosts whereas nymphs might do so in vertical transmission as their numbers peak in the birth period.

The parasite sex ratio, biased towards females, could reflect higher longevity and/or survival of this sex (Arlian et al. 1989; Hengge et al. 2006), but this is also considered as an adaptation to increase the reproductive potential (Price 1980; Esch and Fernández 1993). It is interesting to note that sex ratio peaked in May and November.

In our study, we tried to count gravid mite females, but after digesting the skin samples, most of adult females were not transparent enough to assess if they harboured eggs or not. Regarding the egg count as a fertility index (Sokolova et al. 1989), apart from the increase in the effort to analyse samples, we do not know how longer, after hatching, the eggs remain in the burrows and, therefore, such numbers are difficult to be interpreted.

On the basis of the results obtained in this study, we hypothesize that the breeding cycle of *Sarcoptes scabiei* might be synchronized with that of the Iberian ibex, and that this mite might be benefited by the host's reproductive immunosuppression (Arck et al. 2007; Decristophoris et al. 2007) and by related mechanical factors, such as ibex coat growth (Sarasa et al. 2011). Anyway, in order to fully assess this, the analysis of larger monthly sample sizes is needed.

Acknowledgements

We would thank Apolo Sánchez, José López, Isidro Puga, Elías Martínez, Francisco J. Pérez, Francisco Casado, Antonio J. Rodríguez and Antonio Rodríguez for their help in collecting samples for this study. Our study has been funded by the Ministerio de Economía y Competitividad from the Spanish Government (project CGL2012-40043-C02-01). The authors' research activities are partially funded by the Plan Andaluz de Investigación (RNM-118 group). This study complied with the current Andalusian and Spanish laws regarding experimentation and animal welfare.

Disclosure statement

The authors declare that they have no conflict of interest.

Funding

Our study has been funded by the Ministerio de Economía y Competitividad from the Spanish Government [project CGL2012-40043-C02-01]. The authors' research activities are partially funded by the Plan Andaluz de Investigación, Desarrollo e Innovación (PAIDI) (RNM-118 group).

References

- Alados CL, Escos J. 1996a. Comportamiento gregario. In: Alados CL, Escos J, editors. Ecología y comportamiento de la cabra montés. Consideraciones para su gestión. Madrid: Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC); p. 199–221.
- Alados CL, Escos J. 1996b. Período de partos y relaciones madre-cría. In: Alados CL, Escos J, editors. Ecología y comportamiento de la cabra montés. Consideraciones para su gestión. Madrid: Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC); p. 259–281.

- Alados CL. 1985. Group size and composition of the Spanish ibex (*Capra pyrenaica*, Schinz). In: Lovari S, editor. The biology and management of mountain ungulates. London: Croom-Helm; p. 137–147.
- Arck P, Hansen PJ, Mulac Jericevic B, Piccinni MP, Szekeres-Bartho J. 2007. Progesterone during pregnancy: endocrine-immune cross talk in mammalian species and the role of stress. *American Journal of Reproductive Immunology* 58:268–279.
- Arlian LG, Vyszynski-Moher DL. 1988. Life cycle of *Sarcoptes scabiei* var. *canis*. *The Journal of Parasitology* 74:427–430.
- Arlian LG, Vyszynski-Moher DL, Pole MJ. 1989. Survival of adults and developmental stages of *Sarcoptes scabiei* var. *canis* when off the host. *Experimental & Applied Acarology* 6:181–187.
- Bornstein S, Mörner T, Samuel WM. 2001. *Sarcoptes scabiei* and sarcoptic mange. In: Samuel WM, Pybus MJ, Kocan AA, editors. Parasitic diseases of wild mammals. 2nd ed. London: Manson Publishing/The Veterinary Press; p. 107–119.
- Castro I, de la Fuente A, Fandos P, Cano-Manuel F, Granados JE, Soriguer RC, Alasaad S, Pérez JM. 2016. On the population biology of *Sarcoptes scabiei* infesting Iberian ibex (*Capra pyrenaica*). *International Journal Acarol* 42:7–11.
- Chandra S, Agarwall GP, Singh SPN, Saxena AK. 1990. Seasonal changes in a population of *Menacanthus eurysternus* (Mallophaga, Amblycera) on the common mina *Acridotheres tristis*. *International Journal for Parasitology* 20:1063–1065.
- Christophersen J. 1986. Epidemiology of scabies. *Parasitology Today* 2:247–248.
- Couturier MAJ. 1962. Chapitre VIII. Grégairisme, structure des hardes, solitarisme, vie familiale, vie sociale. In: Couturier MAJ, editor. Le bouquetin des Alpes (*Capra aegagrus ibex* L.). Grenoble; p. 1009–1020.
- De Danieli C, Sarasa M. 2015. Population estimates, density-dependence and the risk of disease outbreaks in the Alpine ibex *Capra ibex*. *Animal Biodiversity and Conservation* 38:101–119.
- Decristophoris PMA, von Hardenberg A, McElligott AG. 2007. Testosterone is positively related to the output of nematode eggs in male Alpine ibex (*Capra ibex*) faeces. *Evolutionary Ecology Research* 9:1277–1292.
- Esch GW, Fernández JC. 1993. A functional biology of parasitism. London: Chapman & Hall.
- Fain A. 1968. Etude de la variabilité de *Sarcoptes scabiei* avec une révision des Sarcoptidae. *Acta Zoologica Et Pathologica Antverpiensia* 47:1–196.
- Fandos P. 1991. La cabra montés (*Capra pyrenaica*) en el Parque Natural de las Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas. Madrid: ICONA.
- Fernández Morán J, Gómez S, Ballesteros F, Quirós P, Benito JL, Feliu C, Nieto JM. 1997. Epizootiology of sarcoptic mange in a population of Cantabrian chamois (*Rupicapra pyrenaica parva*) in northwestern Spain. *Veterinary Parasitology* 73:163–171.
- Foster MS. 1969. Synchronized life cycles in the orange-crowned warbler and its mallophagan parasites. *Ecology*. 50:453–456.
- González-Candela M, León-Vizcaíno L, Cubero-Pablo MJ. 2004. Population effects of sarcoptic mange in barbary sheep (*Ammotragus lervia*) from Sierra Espuña Regional Park, Spain. *Journal of Wildlife Diseases* 40:456–465.
- Hengge UR, Currie BJ, Jäger G, Lupi O, Schwartz RA. 2006. Scabies: a ubiquitous neglected skin disease. *The Lancet Infectious Diseases* 6:769–779.
- León-Vizcaíno L, Astorga R, Escós J, Alonso F, Alados C, Contreras A, Cubero MJ (1992) Epidemiología de la sarna sarcóptica en el Parque Natural de las Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas. In: Proceedings of the International Congress on the Genus *Capra* in Europe. Junta Rectora del Parque Natural Sierra de las Nieves, Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla, pp 95–99
- León-Vizcaíno L, Ruiz-de-Ybáñez MR, Cubero MJ, Ortiz JM, Espinosa J, Pérez L, de Simón MA, Alonso F. 1999. Sarcoptic mange in Spanish ibex from Spain. *Journal of Wildlife Diseases* 35:647–659.
- Little SE, Davidson WR, Rakich PM, Nixon TL, Bounous DI, Nettles VF. 1998. Responses of red foxes to first and second infection with *Sarcoptes scabiei*. *Journal of Wildlife Diseases* 34:600–611.
- Mellanby K. 1944. The development of symptoms, parasitic infection and immunity in human scabies. *Parasitology* 35:197–206.
- Mimouni D, Ankol OE, Davidovitch N, Gdalevich M, Zangvil E, Grotto I. 2003. Seasonality trends of scabies in a young adult population: a 20-year follow-up. *The British Journal of Dermatology* 149:157–159.
- Pérez JM, Granados JE, Sarasa M, Serrano E. 2011. Usefulness of estimated surface area of damaged skin as a proxy of mite load in the monitoring of sarcoptic mange in free-ranging populations of Iberian wild goat, *Capra pyrenaica*. *Veterinary Parasitology* 176:258–264.
- Pérez JM, Granados JE, Soriguer RC, Fandos P, Márquez FJ, Crampe JP. 2002. Distribution, status and conservation problems of the Spanish ibex, *Capra pyrenaica* (Mammalia: artiodactyla). *Mammal Reviews* 32:26–39.
- Pérez JM, Ruiz-Martínez I, Granados JE, Soriguer RC, Fandos P. 1997. The dynamics of sarcoptic mange in the ibex population of Sierra Nevada in Spain –Influence of climatic factors. *Journal Wildlife Researcher* 2:86–89.
- Price PW. 1980. Evolutionary biology of parasites. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- R Development Core Team, 2.15. 1. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. [cited 2011 Apr 3]. Available from: <http://www.R-project.org>
- Rivas-Martínez S. 1984. Pisos bioclimáticos de España. *Lazaroa* 5:33–43.
- Rossi L, Fraquelli C, Vesco U, Permunion R, Somnavilla GM, Carmignola G, Da Pozzo R, Meneguz PG. 2007. Descriptive epidemiology of a scabies epidemic in chamois in the Dolomite Alps, Italy. *European Journal Wildlife Researcher* 53:131–141.
- Rothschild M, Ford B. 1972. Breeding cycle of the flea *Cediopsylla simplex* is controlled by breeding cycle of its host. *Science*. 178:625–626.
- Santiago-Moreno J, Gómez-Brunet A, González-Bulnes A, Malpau B, Chemineau P, Pulido-Pastor A, López-Sebastián A. 2003. Seasonal ovulatory activity and plasma prolactin concentrations in the Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) maintained in captivity. *Reproduction, Nutrition, Development* 43:217–224.
- Sarasa M, Pérez JM, Alasaad S, Serrano E, Soriguer RC, Granados JE, Fandos P, Joachim J, Gonzalez G. 2011. Neatness depends on season, age and sex in Iberian ibex *Capra pyrenaica*. *Behavioral Ecology* 22:1070–1078.
- Sarasa M, Serrano E, Pérez JM, Soriguer RC, Gonzalez G, Joachim J, Fandos P, Granados JE. 2010. Effects of season, age, and body condition on allocation to testes mass in Iberian ibex. *Journal of Zoology* 281:125–131.
- Schust DJ, Anderson DJ, Hill JA. 1996. Progesterone-induced immunosuppression is not mediated through the progesterone receptor. *Human Reproduction* 11:980–985.
- Siegel S, Castellan Jr NJ. 1988. Nonparametric statistics for the behavioral sciences. 2nd ed. Singapore: McGraw-Hill.
- Skerrat LF, Middleton D, Beveridge I. 1999. Distribution of life cycle stages of *Sarcoptes scabiei* var *wombati* effects of severe mange of common wombats in Victoria. *Journal of Wildlife Diseases* 35:633–646.
- Sokolova TV, Radchenko MI, Lange AB. 1989. The seasonality of scabies morbidity and the fertility of the itch mite *Sarcoptes scabiei* de Geer as an index of a population of the causative agent. *Vestnik Dermatol Venerol* 11:12–15.

- Terada Y, Murayama N, Ikemura H, Morita T, Nagata M. 2010. *Sarcoptes scabiei* var. *canis* refractory to ivermectin treatment in two dogs. *Veterinary Dermatology* 21:608–612.
- Toledano-Díaz A, Santiago-Moreno J, Gómez-Brunet A, Pulido-Pastor A, López-Sebastián A. 2007. Horn growth related to testosterone secretion in two wild Mediterranean ruminant species: the Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) and European mouflon (*Ovis orientalis musimon*). *Animal Reproduction Science* 102:300–307.
- Valenzuela D, Ceballos G, García A. 2000. Mange epizootic in white-nosed coatis in Western Mexico. *Journal of Wildlife Diseases* 36:56–63.
- Walton SF, Holt DC, Currie BJ, Kemp DJ. 2004. Scabies: new future for a neglected disease. *Advances in Parasitology* 57:309–376.
- Wheeler TA, Threlfall W. 1986. Observations on the ectoparasites of some Newfoundland passerines (Aves: passeriformes). *Canadian Journal of Zoology* 64:630–636.
- Wyle FA, Kent JR. 1977. Immunosuppression by sex steroid hormones. The effect upon PHA- and PPD- stimulated lymphocytes. *Clinical and Experimental Immunology* 27:407–415.
- Zalányi S. 2001. Progesterone and ovulation. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology* 98:152–159.

Dinámica de las infrapoblaciones de *Sarcoptes scabiei*
en cabras montesas, *Capra pyrenaica*, infestadas
experimentalmente

Artículo publicado en *Experimental and Applied Acarology* (volumen 76, páginas: 41-52, 2018).



Characterizing the growth of *Sarcoptes scabiei* infrapopulations

Inmaculada Castro¹ · José Espinosa¹ · José E. Granados² · Francisco J. Cano-Manuel² · Paulino Fandos³ · Arián Ráez-Bravo⁴ · Jorge R. López-Olvera⁴ · Ramón C. Soriguer⁵ · Jesús M. Pérez¹

Received: 1 February 2018 / Accepted: 21 August 2018 / Published online: 28 August 2018
© Springer Nature Switzerland AG 2018

Abstract

During the course of parasitic disease infestations, parasite population sizes change at both individual host (infrapopulation) and host population (metapopulation) levels. However, most studies only report epidemiological values for specific locations and times. In this study we analysed the dynamics of several *Sarcoptes scabiei* infrapopulations from experimentally infested Iberian ibex, *Capra pyrenaica*. We obtained mite counts by digesting small skin biopsies, which we compared with indices obtained from histopathological analyses performed on adjacent skin biopsies. We obtained the finite growth rate and the daily growth rate for the mite infrapopulations: mean \pm SE = 11.53 ± 10.17 and 0.10 ± 0.08 mites/day, respectively. Mite counts derived from skin sample digestion did not correlate with the histological mite indices obtained from adjacent skin biopsies. At a metapopulation level, both indices of mite abundance were modelled using GLMMs and the factors influencing their variation are analysed and discussed. Our results suggest that mites are not distributed uniformly over the whole area of the skin lesion. Therefore, direct diagnoses of mange and mite counts could be inaccurate if only small skin samples are used.

Keywords *Capra pyrenaica* · Experimental infection · Infrapopulation dynamics · Mite aggregation · *Sarcoptes scabiei*

✉ Inmaculada Castro
inmacastro.s@hotmail.com

¹ Department of Animal and Plant Biology, and Ecology, Jaén University, Campus Las Lagunillas, s.n.; 23071, Jaén, Spain

² Espacio Natural de Sierra Nevada, Carretera Antigua de Sierra Nevada, Km 7, 18071 Pinos Genil, Granada, Spain

³ Agencia de Medio Ambiente y Agua, Isla de la Cartuja, 41092 Seville, Spain

⁴ Servei d'Ecopatologia de Fauna Salvatge, Departament de Medicina i Cirurgia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain

⁵ Estación Biológica de Doñana (CSIC), Av. Américo Vesputio, s.n., 41092 Seville, Spain

Introduction

Characterizing the epidemiology of infectious diseases affecting wild host populations is challenging and records are usually only ‘snapshots’ as they refer to the host status (e.g. the number of parasites it harbours) at a particular place and moment in time. Sarcoptic mange is widespread worldwide and affects many mammal host species, including a number of European and Asiatic wild ungulates (Pence and Ueckermann 2002). Direct diagnoses of sarcoptidosis usually rely on the observation of mites after skin samples are digested, which is relatively easy—albeit time- and energy-consuming—when samples come from naturally dead or selectively shot animals for which large-sized samples are available (Castro et al. 2016). The difficulties increase, however, when working with live animals because diagnoses are often based on the counting of the number of mites in a small sample (e.g. a skin scraping or a scrap of skin). Conversely, when the whole host skin is available a survey or a sampling procedure that estimates mite numbers can be performed with reasonable accuracy and precision (Pérez et al. 2011).

Alternatives to mite counts on skin scrapings such as acute-phase protein (APPs) concentrations and ELISA techniques have been used to diagnose sarcoptic mange in live animals (Ráez-Bravo et al. 2015, 2016) but they lack accuracy. For instance, they give lower values for sensitivity and specificity than those obtained by digesting skin samples and mite counts, cross-reactivity can occur between antigens from scabies and from house-dust mites, ticks and *Trombicula* spp. (Rambozzi et al. 2004; Casais et al. 2007; Arlian et al. 2015) that confound serological tests for scabies, and some tests still have to be fully validated and standardized (APPs).

Experimental infections have become a key way of addressing different features of the biology of *Sarcoptes scabiei* and host-mite interaction including host specificity, survival, infestivity and the duration of the different phases of its life cycle (Abu-Samra et al. 1984; Arlian et al. 1984, 1989; Ibrahim and Abu-Samra 1987; Arlian and Vyszenski-Moher 1988). In this study, we took advantage of an experimental infection of Iberian ibex to study the pathology of sarcoptic mange in this host species. We had access to skin biopsies from the same animals over long periods of time. The main objective was to characterize empirically the demographic growth rate of several mite infrapopulations and to address the effects of several factors (e.g. host sex and age, host precedence, mange status, days post-infection, host body area affected and individual host) on mite density at a metapopulation level.

Materials and methods

Ibex capture and maintenance in captivity

The 21 Iberian ibex (11 females and 10 males) used in our study came from the Sierra Nevada Natural Space (SNNS) (36°55′–37°10′N, 2°56′–3°38′W) and the Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas Natural Park (SCSVNP) (37°53′–37°88′N, 2°53′–2°88′W). The ibex were captured using a mixture of xylazine (3 mg/kg) and ketamine (3 mg/kg) (Casas-Díaz et al. 2011) and housed together in the Iberian ibex stock reservoir until the beginning of the experimental process (Espinosa et al. 2017a). Subsequently, the animals were transferred to the experimental facilities in southern Spain in Las Mimbres enclosure

in the Sierras de Húetor Natural Park (SHNP) (37°18′–37°30′N, 3°28′–3°47′W). The ibex were divided into groups (4–6 animals) and placed in separate enclosures, where they were able to move around freely and had *ad libitum* access to water and food. During the experiment they did not receive any anti-parasite treatment.

Experimental infection, sample collection and mite counts

After an acclimatization period of 8 weeks, animals were experimentally infested with 6.25-cm² skin fragments from a naturally parasitized wild ibex from the SNNS. The selected skin inoculums from donor animals (with ca. 750 ± 440 mites) were attached to the inter-scapular regions (withers) of the ibex—which had been previously shaved with elastic bandages—to induce contact between the mites and the host skin.

The ibex were continuously monitored for 221 days post-infection (dpi). The development and spread of lesions—henceforth referred to as the Mange Status (MS)—were recorded as the surface area of the host skin with evident symptoms of mange (Pérez et al. 2011). During this period, two adjacent skin biopsies (8 mm in diameter) were obtained at 0, 4, 27, 47, 139, 146, 197 and 221 dpi from the central part of the lesion area by physically restraining animals (blindfolding and limb immobilization) and administering a local anaesthesia (Anesvet[®], Ovejero Laboratorios, León, Spain). After collecting the biopsies, each animal was treated with an antiseptic spray. One of the skin biopsies was digested overnight in a 5% KOH solution at 40 °C and mites were counted with a stereomicroscope (Castro et al. 2016). The remaining adjacent skin biopsies obtained from the hosts' withers (the area where infestations were initiated) were fixed in 10% neutral-buffered formalin for 48–72 h and then transferred to 60% ethanol and stored at 4 °C until histological analysis. During the analyses, samples were briefly washed with 10% phosphate-buffered saline (PBS) solution and embedded in paraffin wax (EI LEICA TP1020 Automatic Tissue Processor[®]). Serial 5-µm sections from all specimens were mounted on glass slides, stained with haematoxylin and eosin (HE) and analysed with microscopy (Espinosa et al. 2017b). For each section, mites and burrows were counted to obtain an average value for the whole biopsy sample, which we refer to as the histological mite index (HMI).

At the end of the experiment, the animals that had developed chronic and/or severe stages of the disease were anaesthetized following the same protocol as when captured, and then euthanized with T-61[®] (embutramide 12 mg/kg; membezonium iodide 3 mg/kg; tetracaine 0.3 mg/kg) for pathological study (14 individuals). The remaining ibex (7 individuals) were treated with ivermectin at a dose of 0.2 mg/kg for 3 weeks, marked with GPS-GSM radio collars (Alasaad et al. 2013) and released into the SNNS.

Data analysis

For each mite infrapopulation, the finite growth rate (FGR) (e^r) was calculated as the ratio between the last and first positive mite count ($e^r = N_{t+1}/N_t$) (Williams et al. 2002), which was then divided by the number of days elapsing between the two counts to obtain the daily growth rate (DGR).

To explore the effects of host body area (HBA), days post-infection (DPI), host origin (O), sex (S) and age (A), and mange status (MS) on mite density at a metapopulation level, generalized linear mixed models (GLMM) with Poisson distribution were used (Zuur et al. 2009; Bolker et al. 2009). HBA refers to the anatomical site from which the samples were taken, namely: withers, hindquarters and/or axilla. The MS was defined according to the

percentage of host skin surface with visible mange lesions: mange-free (0%), mild (initial and development stages with lesions on < 50% of host skin surface) and severe (consolidation and chronic stages with lesions on > 50% of host skin surface). Mite density was the response variable, and HBA, DPI, O, S, A and MS and their two-way interactions were the explanatory fixed variables. The same explanatory variables, except HBA, were used for modelling HMI. In both procedures, the identity of each animal was included as a random factor in the models in order to take into account inter-individual effects on mite density and HMI.

Subsequently, to compare the results obtained using each counting methodology, we conducted a series of analyses of each sub-set of data; specifically, we performed a model selection procedure based on the information theoretic approach and Akaike's Information Criterion corrected for small sample sizes (AICc) (Burnham and Anderson 2002; Johnson and Omland 2004). Briefly, competing models are ranked by their Akaike differences (ΔAICc) from the best model, which has the lowest AICc (most parsimonious model). Models with $\Delta\text{AICc} > 2$ units indicate that there is good evidence that they are different from each other. The relative importance of examined variables (RI) is measured by the sum of the Akaike weights for all models in which the variable appears and expresses the probability that the considered exploratory factor is included in the 'ideal' model explaining the variability in the dependent variable given the data set (Burnham and Anderson 2002). RI Goodness of fit and estimation of the parameters of the model were evaluated by means of the approximation procedures of the Maximum Likelihood Estimation (ML), in our case using the Laplace approximation (Bolker et al. 2009; Nakagawa and Schielzeth 2013). The statistical packages *lme4* (Bates et al. 2015), *arm* (Gelman and Hill 2007), *Matrix* (Bates et al. 2015), *lattice* (Sarkar 2008) and *MASS* (Venables and Ripley 2002) were used for the estimation and inferential analysis of the mixed models. The validation of the final model (e.g. deviance residuals and over-dispersion) was assessed before interpretation. All statistical analyses were performed using R software v.3.3.2 (R Development Core Team, December 2017).

Finally, we compared HMIs (using the sub-set of data corresponding to the withers, since the HMI values were only analysed for this anatomical area) with mite numbers obtained after digesting the adjacent skin biopsy using Spearman's rank correlation test.

On the basis of results from previous studies, we expected that mite numbers would be higher in males and lower in older animals (López-Olvera et al. 2015; Castro et al. 2016). On the other hand, we also expected that a number of infested animals would develop severe (widespread) scabietic lesions but that some ibex, particularly those from the SNNS, would recover their normal skin conditions without needing treatment (Alasaad et al. 2013).

Results

For six of the 21 experimentally infested ibex we only obtained one positive mite count and so only obtained FGR and DGR values for 15 mite infrapopulations (Table 1). In 13 of these 15 cases, the trend in the mite infrapopulations during the study period was to increase; in the remaining two cases, however, the mite counts fell to 0 after an initial positive trend. The average ($\pm\text{SE}$) FGR was 11.53 ± 10.17 (range 0.50–28.32) and average DGR was 0.10 ± 0.08 mites/day (range 0.01–0.25). Macroscopically, seven of the infested animals developed

Table 1 Dynamics of the various *Sarcoptes scabiei* infrapopulations analysed

Ibex specimen number	Origin	Sex	Age (years)	Finite growth rate	Daily growth rate (no. mites/day)
4	SNNS	F	6	15.93	0.17
5	SNNS	F	1	8.58	0.06
6	SNNS	F	2	1.49	0.01
7	SNNS	F	2	2.49	0.03
15	SNNS	M	4	5.97	0.06
18	SNNS	M	3	22.88	0.17
24	SNNS	F	8	4.03	0.02
31	SNNS	F	1	27.87	0.25
34	SNNS	M	4	3.67	0.02
38	SNNS	M	3	28.32	0.25
42	SNNS	M	5	16.15	0.10
43	SNNS	F	2	25.00	0.15
47	SCSVNP	F	10	4.03	0.18
48	SCSVNP	M	3	5.99	0.05
49	SCSVNP	M	2	0.50	0.03

SNNS Sierra Nevada Natural Space, SCSVNP Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas Natural Park. *F* female, *M* male

self-limiting scabietic lesions, with mange lesions covering less than 50% of their skin surface, but showed signs of recovery.

The mite counts obtained by digestion of the skin biopsies did not correlate with the histological mite index (HMI) obtained from the adjacent biopsy sampled from the same host simultaneously (Spearman's rank correlation $r=0.343$; $p=0.24$). Moreover, the dynamics of the infrapopulations reconstructed through mite counts did not match the spread of the area of sarcoptic mange lesions in individual hosts.

For mite counts, the most parsimonious model included $HBA + DPI + HBA * DPI + A + O + MS$, which explains 72.4% of the variance in mite density. Most of the explanatory variables included in the model had relative importance (RI) values over 0.50 (DPI: 0.99, HBA: 0.98, O: 0.73, A: 0.57, MS: 0.48) (Table 2). The estimated coefficients of these variables are given in Table 3. We observed a positive effect of the HBA (withers) on mite density. In this area mites are always more abundant than on the hindquarters or the axillae. During the experiment, the mite metapopulations—and thus the mange—spread (that is, the mange status) and increased with DPI. Mite counts decreased with greater host age; ibex from SNNP had lower mite counts than those from SCSVNP.

On the other hand, the model including $DPI + MS + O + DPI * MS$ explained 55.6% of the variance in HMI. These explanatory variables gave high RI values (Table 4) but, in contrast to the previous model, the DPI had a negative effect on HMI (Table 5). Inter-individual differences contributed a 12.3% to the variance in the mite counts and 13.3% to the variance in the HMI.

Table 2 Model selection for the effects of host body area (HBA), days post-infection (DPI), origin (O), sex (S), age (A) and mange status (MS) on mite density in Iberian ibex experimentally infested by *Sarcoptes scabiei*

Biological model	<i>n</i>	<i>K</i>	AICc	ΔAICc	<i>W_i</i>	R ² (adj)
HBA + DPI + HBA*DPI + A + O + MS	402	11	- 70.17	0.00	0.47	0.724
HBA + DPI + HBA*DPI + DPI*MS + O	402	15	- 66.16	4.01	0.23	0.711
HBA + DPI + HBA*DPI + A + MS*O	402	15	- 61.65	8.52	0.12	0.671
HBA + DPI + HBA*DPI + A + DPI*MS	402	11	- 59.43	10.74	0.08	0.689
HBA + DPI + HBA*DPI + MS*A	402	14	- 59.22	10.95	0.03	0.745
HBA + DPI + DPI*HBA	402	7	- 54.87	15.30	0.02	0.681
HBA + DPI + DPI*HBA + HBA*MS	402	16	- 52.32	17.85	0.01	0.765
HBA + DPI + DPI*HBA + DPI*A	402	9	- 49.54	20.63	0.01	0.612
HBA + DPI + A + O + MS	402	10	- 43.89	26.28	0.01	0.423
DPI + A + O + MS	402	8	- 42.76	27.41	0.01	0.332
DPI*MS + A + O	402	14	- 31.99	38.18	0.01	0.322
A + MS + O	402	7	- 31.58	38.59	0.00	0.222
MS*A + O	402	11	- 26.23	43.94	0.00	0.298
A + MS + MS*S + O	402	11	- 19.44	50.73	0.00	0.187
S + O	402	5	- 18.66	51.51	0.00	0.012
Null model	402	3	- 9.88	60.29	0.00	0.000

* = interaction, + = additive effect, *n* = number of observations included in the analysis; *K* = number of estimated parameters; AICc = Akaike's Information Criterion corrected for small sample size; ΔAICc = difference of AICc between the model and the most parsimonious model; *W_i* = Akaike's weight of the model which is considered as the weight of evidence in favour of model *i* being the actual best model for the situation at hand; R²(adj) = adjusted R² of the fitted model

Relative importance (RI) of variables—which is measured by the sum of the Akaike's weights over all models in which that variable appears (Bolker et al. 2009; Nakagawa and Schielzeth 2013)—is: DPI = 0.99, HBA = 0.98, HBA*DPI = 0.97, O = 0.73, A = 0.57, MS = 0.48, and DPI*MS = 0.31

Table 3 GLMM components of the models for mite density: estimated coefficient, standard error (SE), *t* and *P* values

	Coefficient	SE	<i>t</i>	<i>P</i>
Intercept	0.332	0.183	0.779	<0.001
HBA (withers)	2.273	0.734	3.091	<0.001
HBA (hindquarters)	- 1.154	0.201	- 0.959	>0.05
DPI	0.267	0.018	1.445	<0.01
A	- 0.162	0.095	- 1.689	<0.05
MS (control)	- 1.972	0.163	- 1.692	>0.05
MS (mild)	1.045	0.822	1.271	>0.05
MS (severe)	2.490	0.683	1.203	<0.01
O (SNNS)	- 1.92	0.069	- 2.781	<0.01
HBA (withers)*DPI	0.172	0.006	2.701	<0.01

HBA host body area; DPI days post-infection; A age; MS mange status; O ibex origin; SNNS Sierra Nevada Natural Space

Table 4 Model selection for the effects of days post-infection (DPI), mange status (MS), origin (O), age (A), and sex (S) on mite density in Iberian ibex experimentally infested by *Sarcoptes scabiei*. This analysis was based on two subsets of samples to compare the histological mite index (HMI) and density observed by digestion (only data of the withers were selected, as the HMI count was only carried out on the withers), allowing to focus on differences in counts and mite behaviour over time in a specific location

Biological model	<i>n</i>	<i>K</i>	AICc	ΔAICc	<i>W_i</i>	R ² (adj)
<i>Digestion</i>						
DPI+MS+O	134	7	- 140.65	0.00	0.78	0.487
DPI+A+O+MS	134	8	- 134.87	5.78	0.19	0.452
DPI+MS*O	134	10	- 122.98	17.67	0.02	0.376
DPI+O+A+S*MS	134	12	- 119.44	21.20	0.01	0.413
S+O+A	134	5	- 107.22	33.43	0.00	0.153
S+A	134	4	- 97.98	42.67	0.00	0.002
Null model	134	3	- 76.31	64.34	0.00	0.000
<i>HMI</i>						
DPI+MS+O+DPI*MS	93	8	- 354.88	0.00	0.54	0.556
DPI+MS+O	93	6	- 352.03	2.85	0.32	0.402
DPI+MS*O	93	9	- 323.21	31.67	0.12	0.414
DPI+O+A+S*MS	93	12	- 312.98	41.90	0.01	0.502
DPI+O+A+S+MS	93	8	- 301.76	53.12	0.01	0.493
S+O+A	93	5	- 204.21	150.67	0.00	0.234
S+A	93	4	- 196.55	158.33	0.00	<0.001
Null model	93	3	- 192.01	162.87	0.00	0.000

*=interaction, += additive effect, n=number of observations included in the analysis; K=number of estimated parameters; AICc=Akaike’s Information Criterion corrected for small sample size; ΔAICc=difference of AICc between the model and the most parsimonious model; *W_i*=Akaike’s weight of the model which is considered as the weight of evidence in favour of model *i* being the actual best model for the situation at hand; R²(adj)=adjusted R² of the fitted model

Relative importance (RI) of variables: *Digestion*, DPI=1.00, MS=0.97, and O=0.98; *HMI*, DPI=1.00, MS=0.86, O=0.88, and DPI*MS=0.54

Discussion

Assuming that (i) an adult female mite lays two eggs per day during a reproductive period of 60 days, (ii) that the development of an ovigerous female from the egg phase takes 12 days, (iii) a survival rate of 10%, and (iv) a sex-ratio of 1:1, Kettle (1990) estimated that in a 2-month period the population of ovigerous females multiplies 17-fold. This is equivalent to a DGR of about 0.28 mites/day (nearly 3×the value obtained in our study). Nevertheless, even if the FGR and DGR obtained in our study for several *S. scabiei* infra-populations are biased, to our knowledge this is the first time that these rates have been obtained empirically.

Counting mites within the digestion product of a host skin biopsy can be likened to plot sampling. The biopsy is the plot and we can assume that all mites present are observed (probability=1) (Borchers et al. 2002). However, we can only infer the whole mite burden (intensity of parasitation) if the mite density is uniform throughout the whole area of scabietic lesions. Our study shows that *S. scabiei* mites are not uniformly distributed over affected skin but are randomly distributed or aggregated. Mite aggregation helps adult males and females find each other and mate if only present in low numbers (Arlian and

Table 5 GLMM components of the models classified with $\Delta AICc < 2$: estimated coefficient, standard error (SE), t and P value

	Coefficient	SE	t	P
<i>Digestion</i>				
Intercept	0.839	0.912	0.768	<0.001
DPI	1.581	0.013	1.154	<0.01
O (SNNS)	- 2.307	0.773	- 2.962	<0.001
MS (mange-free)	- 0.931	0.276	- 0.729	>0.05
MS (mild)	2.256	0.298	2.423	<0.01
MS (severe)	3.054	0.751	1.744	<0.01
<i>HMI</i>				
Intercept	1.459	0.342	4.296	<0.001
DPI	- 0.587	0.003	- 0.229	<0.01
O (SNNS)	- 1.250	0.330	- 3.789	<0.001
MS (mild)	7.401	0.124	0.139	<0.001
MS (moderate)	- 2.842	0.442	- 0.063	<0.001
DPI*MS (mild)	0.992	0.023	0.567	<0.05
DPI*MS (moderate)	- 1.701	0.172	- 1.301	<0.01

DPI days post-infection, *O* ibex origin, *MS* mange status; *SNNS* Sierra Nevada Natural Space

Morgan 2017). Mites seem to select certain areas of the host skin, probably—at least in part—on the basis of the lipid composition of the skin in these areas, the availability of nutrients or the intensity of the local inflammatory response (Arlian and Morgan 2017).

Skin scrapings and biopsies are not always very helpful for diagnosing sarcoptic mange, as these small samples generally only detect a small number of mites that are not correlated with the severity or spread of the scabietic lesions (Hill and Steinberg 1993; Carlotti and Bensignor 1997; Bornstein et al. 2001, 2006) (Fig. 1). Additionally, an early diagnosis of sarcoptic mange is problematical due not only to the presence of so few mites but also to the fact that hosts can be asymptomatic at this stage of the disease (Arlian and Morgan 2017).

The local immune response aims to eliminate mites but often involves considerable damage to the hosts (Davis and Moon 1990). A combination of types I and IV hypersensitivity reactions to infection often causes mites to fall in numbers or to disappear altogether (Pence and Ueckermann 2002; Lalli et al. 2004). Therefore, if this response has already occurred in the area of the lesion used for diagnostic purposes, there is a risk of obtaining a false negative. Indeed, when diagnosing sarcoptic mange in sheep Rodríguez-Cadenas et al. (2010) estimated a smaller sensitivity value for the skin-scraping method (62.8%) than for an indirect method (ELISA) (87.6%); these results reveal the existence of a number of false negatives generated when using the former technique.

The best models for mite density (the first eight in Table 2), including the two with the highest w_i values, had reasonably well-adjusted R^2 values. Explanatory variables also reached high relative importance values.

DPI appeared as the explanatory variable with the highest RI value but with contrasting effects on mite counts and HMI. It is important to remember that, even if mites are not uniformly distributed, their numbers rise as the surface area of scabietic lesions increases with time. However, locally—and in our case on the withers where HMI was performed—the host immune response causes a reduction in mite numbers. In terms of HBA, the withers

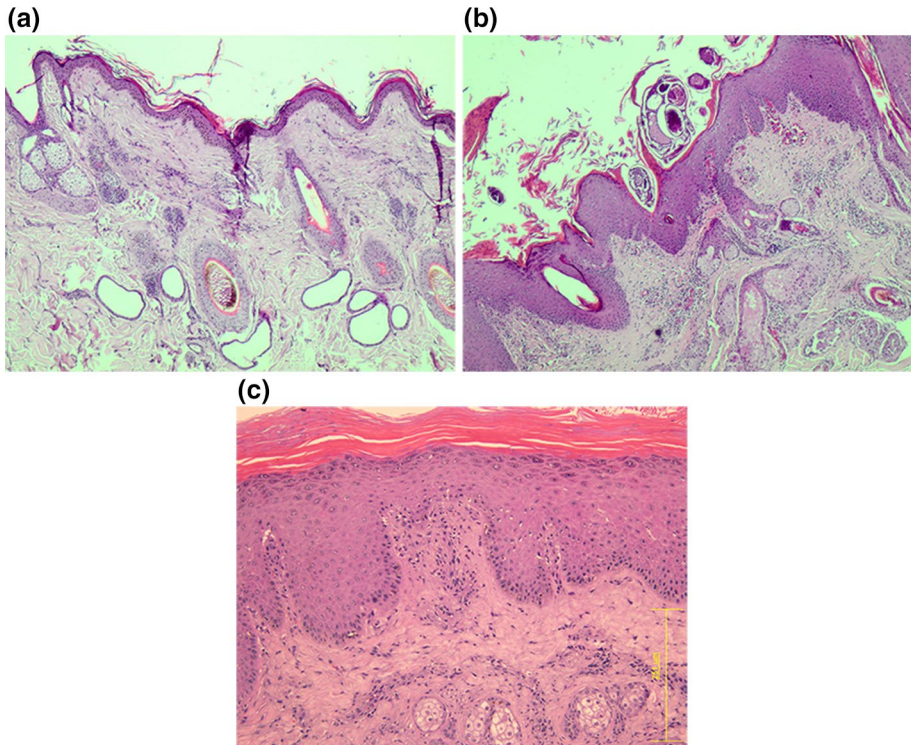


Fig. 1 Pictures taken with light microscope of ibex skin obtained from withers area. **a** Section of uninfected host skin. **b** Ibex skin section obtained at 47 days post-infection (dpi); presence of mites on the surface, acanthosis, rete ridges and abundant diffuse mixed inflammatory infiltrate. **c** Skin section obtained at 146 dpi; uniform corneal layer with orthokeratotic hyperkeratosis, absence of mites, severe acanthosis, rete ridges and reduced inflammatory infiltrate

had a positive effect on mite counts, while both the hindquarters and axillae had a negative effect. This was to be expected since the mites used in the experimental infection were only inoculated or transferred to the withers of the recipient ibex. In fact, the interaction HBA (withers)*DPI had a considerably lower coefficient than HBA (withers) (Table 3). Nevertheless, further research is still needed to explore potential differences in skin features in different anatomical areas with regards to mite requirements.

Ibex from Sierra Nevada Natural Space (SNNS) tended to harbour lower mite numbers than those from Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas Natural Park (SCSVNP). Despite the fact that mangy ibex from SNNS had higher survival and recovery rates than those from SCSVNP (Alasaad et al. 2013), we must still interpret our results with caution due to the small number of animals used in our study (only three came from SCSVNP).

As previously reported by Castro et al. (2016), the number of mites decreased with host age. These authors suggest the possibility that a certain degree of resistance to the disease can be acquired with age after a number of reinfestations.

León-Vizcaíno et al. (1999) and, more recently, López-Olvera et al. (2015) have demonstrated male-biased severity in sarcoptic mange in the Iberian ibex. As well, Castro et al. (2016) found larger mite loads in male ibex. In light of this, it is surprising that in our study host sex seemed to have little or no effect on mite counts. Presumably, the conditions

in captivity exacerbated the stress caused by mange and helped conceal this differential response.

Inter-individual differences (random effect) accounted for 12.3% of variance in mite counts and for 13.3% of HMI variance. It is well known that stress responses differ between individuals (Koolhaas et al. 1999) and that these differential individual responses are shaped by a wide variety of factors including genotype, sex, body condition, season, breeding status, development, early experience (e.g. maternal care), and social behaviour and support (Meaney 2001; Romero 2002; Cockrem 2013; Cox et al. 2016). Moreover, these responses can be inherited so may be related to selection pressures (Kim et al. 2018).

Given the invasive character of the process involved in removing skin pieces (scrapings or biopsies) from live hosts, the correct diagnosis of sarcoptic mange status could be biased by the limited size of the skin samples. Further research into mite distribution over the whole host skin at different stages or degrees of mange severity would be very helpful for optimizing and standardizing skin-sample collection protocols (particularly with regard to their number, size and location within scabietic lesions). Further research is also needed for ensuring alternative non-invasive methodologies that are still reliable, validated and standardized.

Acknowledgements This study was supported by the Ministerio de Economía y Competitividad (Spanish Government) (projects CGL2012-40043-C02-01, CGL2012-40043-C02-02 and CGL2016-80543-P). The authors' research activities are partially funded by the PAIDI, Junta de Andalucía (RNM 118 group). José Espinosa was funded by a PhD Grant (Grant Number ECC/1402/2013: BES-2013-063931). We would like to thank the Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía and in particular the staff of Sierra Nevada Natural Space (SNNS) for their logistical support, and the staff of the Sierra de Huétor Natural Park for the transfer of their experimental facilities. Special thanks are also due to the park wardens and fieldworkers in the SNNS and, in particular, to Apolo Sánchez, José López, Isidro Puga, Elías Martínez, Francisco Felipe and Antonio Rodríguez for their professional and personal involvement in the study. We are also grateful to Manolo Herrera for the maintenance of the ibex and the facilities during the experimental phase, and the contributions of the SCSVNP to the study. The authors declare that they have no conflicts of interest.

Ethical approval

The Commission on Ethics in Animal Experimentation of the University of Jaén, the Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente of the Andalusian Government (Junta de Andalucía), the SNNS, and the Ministry of Economy and Competitiveness (Spanish Government) all gave their approval for the performance of this study.

References

- Abu-Samra MT, Ibrahim KEE, Abdel Aziz M (1984) Experimental infection of goats with *Sarcoptes scabiei* var. *ovis*. *Ann Trop Med Parasitol* 78:55–61. <https://doi.org/10.1080/00034983.1984.11811773>
- Alasaad S, Granados JE, Fandos P, Cano-Manuel FJ, Soriguer RC, Pérez JM (2013) The use of radio-collars for monitoring wild life diseases: a case study from Iberian ibex affected by *Sarcoptes scabiei* in Sierra Nevada, Spain. *Parasit Vectors* 6:242. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-242>
- Angelone-Alasaad S, Molinar Min AR, Pasquetti M, Alagaili AN, D'Amelio S, Berrilli F, Obanda V, Gebely MA, Soriguer RC, Rossi L (2015) Universal conventional and real-time PCR diagnosis tools for *Sarcoptes scabiei*. *Parasit Vectors* 8:587. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1204-8>
- Arlian LG, Morgan MS (2017) A review of *Sarcoptes scabiei*: past, present and future. *Parasit Vectors* 10:297. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2234-1>
- Arlian LG, Vyszynski-Moher DL (1988) Life cycle of *Sarcoptes scabiei* var. *canis*. *J Parasitol* 74:427–430. <https://doi.org/10.2307/3282050>
- Arlian LG, Runyan RA, Achar S, Estes SA (1984) Survival and infestivity of *Sarcoptes scabiei* var. *canis* and var. *hominis*. *J Am Acad Dermatol* 11:210–215. [https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(84\)70151-4](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(84)70151-4)

- Arlian LG, Vyszenski-Moher DL, Pole MJ (1989) Survival of adults and developmental stages of *Sarcoptes scabiei* var. *canis* when off the host. *Exp Appl Acarol* 6:181–187. <https://doi.org/10.1007/BF01193978>
- Arlian LG, Feldmeier H, Morgan MS (2015) The potential for a blood test for scabies. *PLoS Negl Trop Dis* 9:e0004188. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004188>
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Soft* 67:1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Bolker BM, Brooks ME, Clark CJ, Geange SW, Poulsen JR, Stevens MHH, White JS (2009) Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends Ecol Evol* 24:127–135. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.10.008>
- Borchers DL, Buckland ST, Zucchini V (2002) Estimating animal abundance: closed populations. Springer, London
- Bornstein S, Mörner T, Samuel WM (2001) *Sarcoptes scabiei* and sarcoptic mange. In: Samuel WM, Pybus MJ, Kocan AA (eds) Parasitic diseases of wild mammals, 2nd edn. Manson Publishing/The Veterinary Press, London, pp 107–119
- Bornstein S, Frössling J, Näslund K, Zakrisson G, Mörner T (2006) Evaluation of a serological test (indirect ELISA) for the diagnosis of sarcoptic mange in red foxes (*Vulpes vulpes*). *Vet Dermatol* 17:411–416. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2006.00548.x>
- Burnham KP, Anderson DR (2002) Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Springer, New York
- Carlotti DN, Bensignor E (1997) Canine sarcoptic mange: it retrospective study of 38 cases. *Prat Med Chir Anim Cie* 32:117–127
- Casais R, Prieto M, Balseiro A, Solano P, Parra F, Martín Alonso JM (2007) Identification and heterologous expression of a *Sarcoptes scabiei* cDNA encoding a structural antigen with immunodiagnostic potential. *Vet Res* 38:435–450. <https://doi.org/10.1051/vetres:2007007>
- Casas-Díaz E, Marco I, López-Olvera JR, Mentaberre G, Lavín S (2011) Comparison of xylazine-ketamine and medetomidine-ketamine anaesthesia in the Iberian ibex (*Capra pyrenaica*). *Eur J Wildl Res* 57:887–893. <https://doi.org/10.1007/s10344-011-0500-7>
- Castro I, de la Fuente A, Fandos P, Cano-Manuel F, Granados JE, Soriguer RC, Alasaad S, Pérez JM (2016) On the population biology of *Sarcoptes scabiei* infesting Iberian ibex (*Capra pyrenaica*). *Int J Acarol* 42:7–11. <https://doi.org/10.1080/01647954.2015.1109710>
- Cockrem JF (2013) Individual variation in glucocorticoid stress responses in animals. *Gen Comp Endocrinol* 181:45–58. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2012.11.025>
- Cox RM, McGlothlin JM, Bonier F (2016) Hormones as mediators of phenotypic and genetic integration: an evolutionary genetics approach. *Integr Comp Biol* 56:126–137. <https://doi.org/10.1093/icb/icw033>
- Davis DP, Moon RD (1990) Density of itch mite, *Sarcoptes scabiei* (Acari: Sarcoptidae) and temporal development of cutaneous hypersensitivity in swine mange. *Vet Parasitol* 36:285–293. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(90\)90040-I](https://doi.org/10.1016/0304-4017(90)90040-I)
- Espinosa J, López-Olvera JR, Cano-Manuel FJ, Fandos P, Pérez JM, López-Graells C, Ráez-Bravo A, Mentaberre G, Romero D, Soriguer RC, Granados JE (2017a) Guidelines for managing captive Iberian ibex herds for conservation purposes. *J Nat Conserv* 40:24–32. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2017.09.002>
- Espinosa J, Ráez-Bravo A, López-Olvera JR, Pérez JM, Lavín S, Tvarijonavičute A, Cano-Manuel FJ, Fandos P, Soriguer RC, Granados JE, Romero D, Velarde R (2017b) Histopathology, microbiology and the inflammatory process associated with *Sarcoptes scabiei* infection in the Iberian ibex *Capra pyrenaica*. *Parasit Vectors* 10:596. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2542-5>
- Gelman A, Hill J (2007) Using regression and multilevel hierarchical models. Cambridge University Press, New York
- Hill PB, Steinberg H (1993) Difficult dermatological diagnosis. *J Am Vet Med Assoc* 202:873–874
- Ibrahim KEE, Abu-Samra MT (1987) Experimental transmission of a goat strain of *Sarcoptes scabiei* to desert sheep and its treatment with ivermectin. *Vet Parasitol* 26:157–164. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(87\)90085-9](https://doi.org/10.1016/0304-4017(87)90085-9)
- Johnson JB, Omland KS (2004) Model selection in ecology and evolution. *Trends Ecol Evol* 19:101–108. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2003.10.013>
- Kettle DS (1990) Medical and veterinary entomology. C A B International, Wallingford
- Kim DS, Chavera C, Gabor CR, Earley RL (2018) Individual variation in ACTH-induced cortisol levels in females of a livebearing fish at different gestational stages. *Gen Comp Endocrinol* 261:51–58. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.01.022>
- Koolhaas JM, Korte SM, De Boer SF, Van Der Veegt BJ, Van Reenen CG, Hopster H, De Jong IC, Ruis MAW, Blokhuis HJ (1999) Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neurosci Behav Rev* 23:925–935

- Lalli PN, Morgan MS, Arlian LG (2004) Skewed Th1/Th2 immune response to *Sarcoptes scabiei*. J Parasitol 90:711–714. <https://doi.org/10.1645/GE-214R>
- León-Vizcaíno L, Ruiz de Ybáñez MR, Cubero MJ, Ortiz JM, Espinosa J, Pérez L, de Simón MA, Alonso F (1999) Sarcoptic mange in Spanish ibex from Spain. J Wild Dis 35:647–659. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-35.4.647>
- López-Olvera JR, Serrano A, Armenteros A, Pérez JM, Fandos P, Carvalho J, Velarde R, Cano-Manuel FJ, Ráez A, Espinosa J, Soriguer RC, Granados JE (2015) Sex-biased severity of sarcoptic mange at the same biological cost in a sexually dimorphic ungulate. Parasit Vectors 8:583. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1186-6>
- Bates D, Maechler, M, Davis TA (2018) Sparse and dense matrix classes and methods. Package ‘Matrix’ Version 1.2-14. Matrix-authors@R-project.org
- Meaney MJ (2001) Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. Annu Rev Neurosci 24:1161–1192. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.1161>
- Nakagawa S, Schielzeth H (2013) A general and simple method for obtaining R^2 from generalized linear mixed-effects models. Methods Ecol Evol 4:133–142. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210x.2012.00261.x/abstract>
- Pence DB, Ueckermann E (2002) Sarcoptic mange in wildlife. Rev Sci Tech Off Int Epiz 21:385–398. <https://doi.org/10.20506/rst.21.2.1335>
- Pérez JM, Granados JE, Sarasa M, Serrano E (2011) Usefulness of estimated surface area of damaged skin as a proxy of mite load in the monitoring of sarcoptic mange in free-ranging populations of Iberian wild goat, *Capra pyrenaica*. Vet Parasitol 176:258–264. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.002>
- Ráez-Bravo A, Granados JE, Cerón JJ, Cano-Manuel FJ, Fandos P, Pérez JM, Espinosa J, Soriguer RC, López-Olvera JR (2015) Acute phase proteins increase with sarcoptic mange status and severity in Iberian ibex (*Capra pyrenaica*, Schinz 1838). Parasitol Res 114:4005–4010. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4628-3>
- Ráez-Bravo A, Granados JE, Serrano E, Dellamaria D, Casais R, Rossi L, Puigdemont A, Cano-Manuel FJ, Fandos P, Pérez JM, Espinosa J, Soriguer RC, Citterio C, López-Olvera JR (2016) Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays for sarcoptic mange diagnosis and assessment in the Iberian ibex *Capra pyrenaica*. Parasit Vectors 9:558. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1843-4>
- Rambozzi L, Menzana A, Lavín S, Rossi L (2004) Biotin-avidin amplified ELISA for detection of antibodies to *Sarcoptes scabiei* in chamois (*Rupicapra* spp.). Vet Res 35:701–708. <https://doi.org/10.1051/vetres:2004039>
- Rodríguez-Cadenas F, Carbajal-González MT, Fregeneda-Grandes JM, Aller-Gancedo JM, Huntley JF, Rojo-Vázquez FA (2010) Development and evaluation of an antibody ELISA for sarcoptic mange in sheep and a comparison with the skin-scraping method. Prev Vet Med 96:82–92. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.05.009>
- Romero LM (2002) Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates. Gen Comp Endocrinol 128:1–24. [https://doi.org/10.1016/S0016-6480\(02\)00064-3](https://doi.org/10.1016/S0016-6480(02)00064-3)
- R Development Core Team (2016) R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org/>
- Sarkar D (2008) Lattice: multivariate data visualization with R. Springer, New York
- Venables WN, Ripley BD (2002) Modern applied statistics with S, 4th edn. Springer, New York
- Williams BK, Nichols JD, Conroy MJ (2002) Analysis and management of animal populations. Academic Press, San Diego
- Zuur AF, Ieno EN, Walker NJ, Saveliev AA, Smith GM (2009) Mixed effects models and extensions in ecology with R. Springer, New York

4. Discusión general

4. Discusión general

4. 1. Algunas consideraciones sobre el método de digestión y recuento diferencial de ácaros

El método de digestión y recuento diferencial de ácaros se ha utilizado de forma transversal en esta tesis doctoral tanto para diagnosticar de forma directa la sarna sarcóptica en los hospedadores muestreados como para estimar la densidad de ácaros como indicador de la carga parasitaria, o intensidad de parasitación (Margolis *et al.*, 1982; Bush *et al.*, 1997) o, en otras palabras, caracterizar el tamaño de la infrapoblación de ácaros en cada uno de ellos (Esch y Fernández, 1993).

Realizar un censo en sentido estricto supondría digerir el 100 % de la piel del hospedador o, al menos del 100 % de la superficie de piel afectada y realizar el posterior recuento de todos y cada uno de los productos de digestión. En nuestro caso hemos realizado un muestreo de parcelas (“plot sampling”), lo que supone un censo a pequeña escala, ya que se asume que todos los ácaros presentes en el producto de digestión son observados con probabilidad = 1 (Borchers *et al.*, 2002). La densidad media de ácaros obtenida nos ha permitido comparar las infrapoblaciones analizadas, inferir su dinámica estacional así como analizar la influencia de distintos factores intrínsecos al hospedador y ambientales.

Como indican los resultados obtenidos en el capítulo 3.1, encontramos diferencias significativas en cuanto a la densidad de ácaros en las distintas áreas corporales del hospedador analizadas. Dichas diferencias son también evidentes a nivel de cada hospedador: densidad media = $178,23 \pm 274,85$ ácaros/cm². Pero, si bien es fácil caracterizar dicha variabilidad en términos de desviación estándar, coeficiente de variación o intervalo de confianza asociados a la densidad media, resultaría necesario realizar el censo completo, al que aludíamos anteriormente, para determinar la exactitud de dicha densidad media en relación a la densidad media real de ácaros.

Por otra parte, la estima de la superficie corporal afectada resultó ser un buen indicador de dicha densidad media (Pérez *et al.*, 2011). Asumiendo una distribución contagiosa de los ácaros (Arlan y Morgan, 2017), los resultados obtenidos en el capítulo 3.3 sugieren que éstos se concentran en el perímetro del área afectada (Arenas *et al.*, 2002). Teniendo en cuenta que, por lo general, las lesiones de mayor superficie tienen también mayor perímetro ambos hechos resultan compatibles.

En nuestro caso, se ha buscado un balance positivo entre el esfuerzo (tiempo requerido para efectuar las digestiones y recuentos diferenciales de ácaros) y unos niveles de sensibilidad (probabilidad de detectar verdaderos positivos) y especificidad (probabilidad de detectar verdaderos negativos) razonables, en el contexto de una monitorización a largo plazo de la enfermedad en una población silvestre. En nuestra opinión, cuando sean necesarias estimas más exactas y precisas del número de ácaros

albergados por un hospedador, particularmente cuando no necesitemos hacer el diagnóstico sobre hospedadores vivos, será preferible digerir un mayor número de muestras (trozos de piel) que incrementar el tamaño de las mismas. Esto permitiría además comparar la eficacia del método con diferentes estrategias de selección de muestras: aleatoria, sistemática o estratificada.

Por otra parte, también conviene resaltar que sería interesante realizar un estudio para cuantificar el efecto de la experiencia de los observadores en la exactitud y precisión de las estimas obtenidas por este método, así como en el correcto reconocimiento de las distintas fases del ciclo biológico de *Sarcoptes*.

4. 2. Aplicación potencial de métodos automatizados de recuento y de métodos no invasivos de telediagnóstico

En circunstancias en las que necesitamos analizar un elevado número de muestras, disponer de un método de recuento automatizado puede resultar muy útil, siempre que el procesamiento de dichas muestras no suponga invertir mucho tiempo. Por otra parte, teniendo en cuenta que la experiencia del observador puede influir en el recuento manual, dichos métodos de recuento automatizado evitarían potenciales errores y/o diferencias en los recuentos en el caso de que intervengan más de 1 observador.

A continuación relacionamos algunas técnicas que han sido consideradas para su aplicación en futuros estudios sobre diagnóstico y epidemiología de la sarna sarcóptica en ungulados de montaña, tanto en el laboratorio como en el campo.

La *espectroscopía de reflectancia del infrarrojo cercano (NIRS)* es una herramienta muy versátil, y ha sido usada en Ecología con diversos objetivos: investigación en biodiversidad funcional (composición de especies), tanto vegetal (Ramírez *et al.*, 2015) como animal (Barthes *et al.*, 2011), análisis de la calidad de la dieta en ungulados silvestres (Jean *et al.*, 2014), determinación del sexo, clase de edad y status reproductivo de pandas (Wiedower *et al.*, 2012), o del grado de poliploidía de ostras (Guevelou y Allen, 2016), entre otros.

Teniendo en cuenta que la cutícula de los ácaros no sólo forma parte del exoesqueleto, sino que también envuelve el intestino, las tráqueas y otras partes de estos artrópodos formadas por invaginación del ectodermo (Davies, 1989; Krantz, 2009), la quitina (un polisacárido) (Fig. 12), o proteínas de la cutícula (como la cuticulina, la esclerotina o la artropodina) podrían ser buenos indicadores de la abundancia de ácaros, tras su cuantificación mediante técnicas como el NIRS.

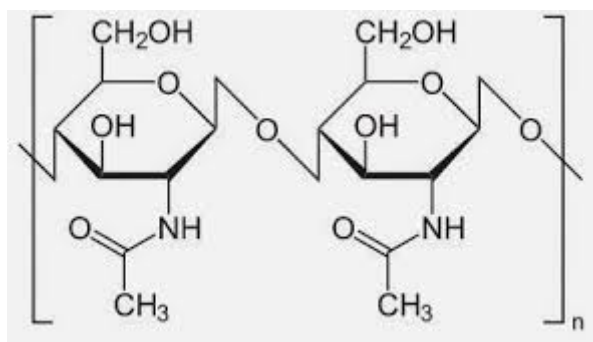


Figura 12. Estructura de la quitina.

La *citometría de flujo* mide y analiza simultáneamente múltiples propiedades físicas de una partícula (células y potencialmente huevos y quistes) cuando ésta fluye en una corriente a través de un haz de luz. Propiedades como el tamaño relativo, la granularidad relativa o la complejidad interna y la intensidad de fluorescencia relativa se usan en la diferenciación de una célula o partícula respecto a otra. Cualquier partícula o célula suspendida con un tamaño comprendido entre 0,2 y 150 μm es adecuada para este tipo de análisis (Vesey *et al.*, 1997). La citometría de flujo se considera una alternativa para la detección y cuantificación de huevos de nematodos parásitos transmitidos por el suelo (STHs), como *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus* (Amoaha *et al.*, 2017).

Tras el montaje en preparaciones permanentes de diferentes ejemplares de *Sarcoptes scabiei* en distintas fases de desarrollo, se midieron la longitud y anchura máximas con la ayuda de un microscopio Olympus BH21® (Tabla 1).

	LONGITUD			ANCHURA		
	MEDIA	MÍNIMO	MÁXIMO	MEDIA	MÍNIMO	MÁXIMO
LARVAS (92)	102,81	70,5	141,65	153,21	122,55	195,85
NINFAS (97)	167,97	69,1	245,36	238,71	116,12	312,59
MACHOS (27)	196,55	167,42	225,68	136,14	114,82	157,46
HEMBRAS (49)	351,55	254,16	405,39	250,79	197,43	305,60

Tabla 1. Dimensiones (longitud total y anchura máxima, en μm) de las distintas fases del ciclo biológico de *Sarcoptes scabiei* obtenidos de pieles de *Capra pyrenaica* del Espacio Natural de Sierra Nevada infestadas de forma natural. Entre paréntesis, el número de ejemplares medidos.

Planteamos la posibilidad de filtrar los productos de digestión con una malla de 150 μm de luz y hacer un recuento de larvas, que suponen más del 50% de los ácaros (ver capítulo 3.1) y presentan una correlación positiva y significativa con el número total de ácaros (Rho de Spearman: 0,988; $p < 0,001$).

Una alternativa a la citometría de flujo consiste en el uso de contadores automáticos de partículas. El particle counter PC3400® (Chemtrac, Norcross, USA) permite contar partículas en líquidos con tamaños comprendidos entre 2 y 750 μm (Fig. 13).

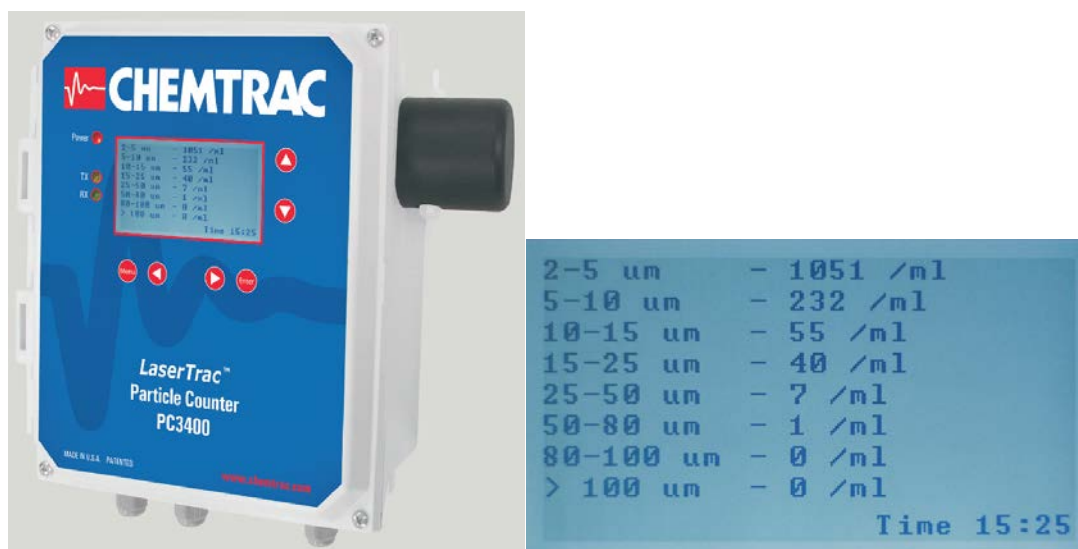


Figura 13. Contador automático diferencial de partículas en suspensión.

El *software de análisis de imágenes* también se ha usado para el recuento de huevos de STHs (Jiménez *et al.*, 2016). Utilizando imágenes de alta resolución, dichos autores obtuvieron valores de sensibilidad entre el 80 y el 100 % y una especificidad próxima al 100 %. Esta técnica necesita ser adaptada y validada con muestras de distintas matrices (productos de digestión con suciedad o imágenes de mala calidad) para su aplicación a la detección y recuento de ácaros. En este caso, además, los ácaros deberán ser concentrados bien en el fondo de la placa de Petri o en la superficie de la solución para reducir las imágenes a un solo plano de enfoque.

La *termografía por infrarrojos* tiene numerosas aplicaciones en investigación sobre mamíferos (McCafferty, 2007): desde estudios sobre fisiología (coste energético, termorregulación), hasta la estima de abundancia de poblaciones. Teniendo en cuenta que la reacción de hipersensibilidad que se produce en respuesta a la presencia y actividad de los ácaros y a la acumulación de sus productos (huevos, excrementos, exuvias) incluye un incremento de varios grados en la temperatura local superficial, la termografía puede resultar un método no invasivo muy útil para el tele-diagnóstico de la sarcoptidosis (Arenas *et al.*, 2002).

Estos autores registraron una disminución de la sensibilidad en el telediagnóstico cuando éste se basaba en el análisis de imágenes de termografía por infrarrojos obtenidas a > 100 m. No obstante, esta limitación ha quedado prácticamente eliminada en la actualidad al disponer de cámaras más ligeras, sensibles y potentes. A falta de realizar estudios parasitológicos para calibrar esta metodología, sin duda parece ser

una buena opción, dado su carácter no invasivo, para el diagnóstico y la monitorización de la sarcoptidosis en poblaciones de caprinos silvestres, ya que nos permitiría estimar con mayor exactitud y precisión el área de la piel del hospedador afectada por la enfermedad (Pérez *et al.*, 2011).

El *immunodiagnóstico (ELISA)* también se ha aplicado en la detección de anticuerpos anti *Toxoplasma gondii* y *Sarcoptes scabiei* en fluidos de carcasas de zorros (Jakubek *et al.*, 2012). Resulta particularmente útil en estudios epidemiológicos a gran escala, como el llevado a cabo recientemente en Suiza sobre la sarcoptidosis en jabalí (Haas *et al.*, 2018). Por otra parte, en relación a los hospedadores infectados, resulta menos invasivo el análisis de sueros que la digestión de trozos de piel (ver, por ejemplo, Oleaga *et al.*, 2011).

La *"droplet digital" PCR (ddPCR)*, una tercera generación de la tecnología de PCR, se introdujo para proporcionar una cuantificación absoluta de los genes diana aplicable a patógenos. La ddPCR usa microcámaras que dividen las muestras en varias particiones de algunos nanolitros (Hindson *et al.*, 2013). Las ventajas de la ddPCR en comparación a las pruebas basadas en la PCR cuantitativa (qPCR) consisten en que la ddPCR se basa en la PCR a punto final (eficiencia del primer/sonda de annealing se minimiza) y no requiere el uso de estándares para una cuantificación exacta. Y aún más importante, la ddPCR es una prueba de alto rendimiento con aproximadamente 15000 - 20000 reacciones de PCR por microcámara (Baker y Ensink, 2012). Dichos autores describieron kits comerciales basados en la ddPCR disponibles tanto sobre un chip como sobre gotitas. Rothrock *et al.* (2013) aplicaron la ddPCR en la detección de patógenos zoonóticos en muestras de agua utilizada en el procesado de la industria avícola.

4. 3. Aspectos desconocidos de la biología de *Sarcoptes scabiei* y de la epidemiología de la sarna sarcóptica en ambientes de alta montaña

A pesar de que en los últimos años se han incrementado notablemente las investigaciones sobre la sarcoptidosis en la fauna silvestre, aún son muchos los aspectos que desconocemos en cuanto a la biología del ácaro en ambientes extremos (como la alta montaña) y la epidemiología de la enfermedad en las distintas poblaciones de cabra montesa, como:

¿cuánto tiempo mantienen los ácaros la capacidad de penetrar la piel de un hospedador (permanecen infestivos)? es un aspecto importante, así como el tiempo que sobreviven fuera de su hospedador (Arlian, 1989) en función de las variables climatológicas;

¿cuál es el área de campeo de los animales infestados; cuántos animales se contagian, por término medio, a partir de un ejemplar infestado?;

¿cuál es la tasa de reinfestación?;

¿qué otras especies de mamíferos simpátridos de la cabra montesa están también afectadas por la enfermedad?;

¿son adecuados los métodos de muestreo para la estima de la prevalencia de la enfermedad?;

¿cuál es la mortalidad de la población de *Capra pyrenaica* producida por la sarna sarcóptica?, entre otros.

Estos y otros aspectos de la enfermedad han de ser investigados con objeto de revisar y actualizar las opciones de manejo de la sarcoptidosis en poblaciones silvestres.

La dificultad de determinar el sexo de larvas y ninfas de *Sarcoptes scabiei* limitan la posibilidad de construir tablas de vida dinámicas (Caughley y Sinclair, 1994). Las células de este ácaro contienen 17 - 18 cromosomas pequeños ($< 2 \mu\text{M}$), lo que sugiere un mecanismo XO de determinación del sexo (Mounsey *et al.*, 2012). La determinación del sexo de las larvas nos permitiría, además, comprobar si ya en esta fase existe un sesgo de la sex-ratio en favor de las hembras, o si existe una tasa de mortalidad diferente en ambos sexos.

4. 4. La modelización es útil

La simulación y modelización computacional es una alternativa a la experimentación animal y puede permitirnos obtener información de confianza, reduciendo el número de animales utilizados en la investigación (reducción) (Carpentier, 2009).

Los modelos de poblaciones se usan como herramientas en el manejo y conservación de especies al permitirnos relacionar la dinámica de poblaciones con características de la especie objeto de estudio y del hábitat (Schmolke *et al.*, 2017). En la bibliografía podemos encontrar una amplia variedad de aplicaciones de modelos poblacionales así como recursos y técnicas de modelización, evaluación y documentación.

En relación al manejo de la sarna sarcóptica en poblaciones de hospedadores silvestres, se han desarrollado modelos epidemiológicos para evaluar las alternativas de manejo de la enfermedad (como el abatimiento selectivo de animales infestados y el manejo de la densidad de hospedadores) en poblaciones de rebeco alpino, *Rupicapra rupicapra rupicapra* (Zamboni, 1996). También se han utilizado modelos para explorar la resistencia de los hospedadores y el patrón estacional de la sarna en los rebecos (Guberti y Zamboni, 2000). Los modelos también nos podrían ayudar a predecir la evolución de la enfermedad en función de las variables climatológicas (Pérez *et al.*, 1997).

Los modelos experimentales también se están usando como complemento de estudios *in vivo* sobre la respuesta inmunitaria del hospedador frente a la sarcoptidosis

(Mounsey *et al.*, 2010) y para explorar estrategias de tratamiento, particularmente en el caso de la sarna noruega o sarcoptidosis en humanos (Lydeamore *et al.*, 2018).

4. 5. Referencias

- Amoaha, I.D.; Singha, G.; Stenströma, T.A.; Reddy, P. 2017. Detection and quantification of soil-transmitted helminths in environmental samples: A review of current state-of-the-art and future perspectives. *Acta Trop.*, 169: 187-201.
- Arenas, A.J.; Gómez, F.; Salas, R.; Carrasco, P.; Borge, C.; Maldonado, A.; O'Brien, D.J.; Martínez-Moreno, F.J. 2002. An evaluation of the application of infrared thermal imaging to the tele-diagnosis of sarcoptic mange in the Spanish ibex (*Capra pyrenaica*). *Vet. Parasitol.*, 16: 111-117.
- Arlian, L.G. 1989. Biology, host relations, and epidemiology of *Sarcoptes scabiei*. *Ann. Rev. Entomol.*, 34: 139-161.
- Arlian, L.G.; Morgan, M.S. 2017. A review of *Sarcoptes scabiei*: past, present and future. *Parasit. Vectors*, 10: 297.
- Baker, S.M.; Ensink, J.H.J. 2012. Helminth transmission in simple pit latrines. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 106: 709-710.
- Barthes, B.G.; Brunet, D.; Rabary, B.; Ba, O.; Villenave, C. 2011. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) could be used for characterization of soil nematode community. *Soil Biol. Biochem.*, 43: 1649-1659.
- Borchers, D.L.; Buckland, S.T.; Zucchini, V. 2002. Estimating animal abundance: closed populations. Springer-Verlag, London: 314 pp.
- Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M.; Shostak, A.W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *J. Parasitol.*, 83: 575-583.
- Carpentier, A. 2009. Animal experimentation, computer simulation and surgical research. *Bull. Acad. Nat. Med.*, 193: 1747-1756.
- Caughley, G.; Sinclair, A.R.E. 1994. Wildlife ecology and management. Blackwell Science, Cambridge: 334 pp.
- Davies, R.G. 1989. Introducción a la Entomología. Ediciones Mundi-Prensa, Bilbao: 449 pp.
- Esch, G.W.; Fernández, J.C. 1993. A Functional Biology of Parasitism. Chapman and Hall, London: 337 pp.
- Guberti, V.; Zamboni, L. 2000. Can the host resistance hypothesis explain the cyclic patterns observed in *Sarcoptes scabiei* in Chamois (*Rupicapra rupicapra*)? *Parassitologia*, 42: 72.
- Guevelou, E.; Allen, S.K., Jr. 2016. Use of Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) for the rapid compositional analysis of di-, tri-, and tetraploid eastern oysters (*Crassostrea virginica*). *Aquaculture*, 459: 203-209.
- Haas, C.; Origgi, F.C.; Rossi, S.; López-Olvera, J.R.; Rossi, L.; Castillo-Contreras, R.; Malmsten, A.; Dalin, A.M.; Orusa, R.; Robetto, S.; Pignata, L.; Lavin, S.; Ryser-Degiorgis, M.P. 2018. Serological survey in wild boar (*Sus scrofa*) in Switzerland and other European countries: *Sarcoptes scabiei* may be more widely distributed than previously thought. *BMC Vet. Res.*, 14: 117.

- Hindson, C.M.; Chevillet, J.R.; Briggs, H.A.; Gallichotte, E.N.; Ruf, I.K.; Hindson, B.J.; Vessella, R.L.; Tewari, M. 2013. Absolute quantification by droplet digital PCR *versus* analog real-time PCR. *Nat. Methods*, 10: 1003–1005.
- Jakubek, E.B.; Mattsson, R.; Mörner, T.; Mattsson, J.G.; Gavier-Widén, D. 2012. Potential application of serological tests on fluids from carcasses: detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Sarcoptes scabiei* in red foxes (*Vulpes vulpes*). *Acta Vet. Scand.*, 54: 13.
- Jean, P.O.; Bradley, R.L.; Giroux, M.A.; Tremblay, J.P.; Cote, S.D. 2014. Near infrared spectroscopy and fecal chemistry as predictors of the diet composition of white-tailed deer. *Range. Ecol. Manage.*, 67: 154-159.
- Jiménez, B.; Maya, C.; Velásquez, G.; Torner, F.; Arambula, F.; Barrios, J.A.; Velasco, M. 2016. Identification and quantification of pathogenic helminth eggs using a digital image system. *Exp. Parasitol.*, 166: 164–172.
- Krantz, G.W. 2009. Form and function. En G.W. Krantz y D.E. Walter (Eds.): *A manual of Acarology*. Third Edition. Texas Tech University Press, Lubbock: 5-53.
- Lunelli, A. 2010. An SEI model for sarcoptic mange among chamois. *J. Biol. Dyn.*, 4: 140-157.
- Lydeamore, M.J.; Campbell, P.T.; Regan, D.G.; Tong, S.Y.C.; Andrews, R.M.; Steer, A.C.; Romani, L.; Kaldor, J.M.; McVernon, J.; McCaw, J.M. 2018. A biological model of scabies infection dynamics and treatment informs mass drug administration strategies to increase the likelihood of elimination. *Math. Biosci.* (en prensa).
- Margolis, L.; Esch, G.W.; Holmes, J.C.; Kuris, A.M.; Schad, G.A. 1982. The use of ecological terms in Parasitology (report of an *Ad Hoc* Committee of the American Society of Parasitologists). *J. Parasitol.*, 68: 131–133.
- McCafferty, D.J. 2007. The value of infrared thermography for research on mammals: previous applications and future directions. *Mammal Rev.*, 37: 207–223.
- Mounsey, K.; Ho, M.F.; Kelly, A.; Willis, C.; Pasay, C.; Kemp, D.J.; McCarthy, J.S.; Fischer, K. 2010. A tractable experimental model for study of human and animal scabies. *PLoS Neg. Trop. Dis.*, 4: e756.
- Mounsey, K.E.; Willis, C.; Burgess, S.T.G.; Holt, D.C.; McCarthy, J.; Fischer, K. 2012. Quantitative PCR-based genome size estimation of the astigmatid mites *Sarcoptes scabiei*, *Psoroptes ovis* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Parasit Vectors*, 5: 3.
- Oleaga, A.; Casais, R.; Balseiro, A.; Espí, A.; Llana, L.; Hartasánchez, A.; Gortázar, C. 2011. New techniques for an old disease: Sarcoptic mange in the Iberian wolf. *Vet. Parasitol.*, 181: 255-266.
- Pérez, J.M.; Granados, J.E.; Sarasa, M.; Serrano, E. 2011. Usefulness of estimated surface area of damaged skin as a proxy of mite load in the monitoring of sarcoptic mange in free-ranging populations of Iberian wild goat, *Capra pyrenaica*. *Vet. Parasitol.*, 176: 258-264.
- Pérez, J.M.; Ruiz-Martínez, I.; Granados, J.E.; Soriguer, R.C.; Fandos, P. 1997. The dynamics of sarcoptic mange in the ibex population of Sierra Nevada in Spain – influence of climatic factors. *J. Wildl. Res.*, 2: 86–89.

- Ramírez, J.A.; Posada, J.M.; Handa, I.T.; Hoch, G.; Vohland, M.; Messier, C.; Reu, B. 2015. Near-infrared spectroscopy (NIRS) predicts non-structural carbohydrate concentrations in different tissue types of a broad range of tree species. *Methods Ecol. Evol.*, 6: 1018-1025.
- Rothrock Jr., M.J.; Hiatt, K.L.; Kiepper, B.H.; Ingram, K.; Hinton, A. 2013. Quantification of zoonotic bacterial pathogens within commercial poultry processing water samples using droplet digital PCR. *Adv. Microbiol.*, 3: 403-411.
- Sarasa, M.; Serrano, E.; Gonzalez, G.; Granados, J.E.; Soriguer, R.C.; Pérez, J.M.; Joachim, J. 2009. Pseudoectoparasites: a new tool for exploring the relationship between host behaviour and ectoparasites. *Anim. Behav.*, 77: 1351-1356.
- Schmolke, A.; Kapo, K.E.; Rueda-Cediel, P.; Thorbek, P.; Brain, R.; Forbes, V. 2017. Developing population models: A systematic approach for pesticide risk assessment using herbaceous plants as an example. *Sci. Total Environ.*, 599: 1929-1938.
- Turchetto, S.; Obber, F.; Permunion, R.; Vendrami, S.; Lorenzetto, M.; Ferré, N.; Stancampiano, L.; Rossi, L.; Citterio, V. 2014. Spatial and temporal explorative analysis of sarcoptic mange in Alpine chamois (*Rupicapra r. rupicapra*). *Hystrix It. J. Mammal.*, 25: 25-30.
- Vesey, G.; Griffith, K.R.; Gauci, M.R.; Deere, D.; Williams, K.L.; Veal, D.A. 1997. Simple and rapid measurement of *Cryptosporidium* excystation using flow cytometry. *Int. J. Parasitol.*, 21: 1353-1359.
- Wiedower, E.E.; Kouba, A.J.; Vance, C.K.; Hansen, R.L.; Stuth, J.W.; Tolleso, D.R. 2012. Fecal near infrared spectroscopy to discriminate physiological status in giant pandas. *PLoS ONE*, 7: e38908.
- Zamboni, L. 1996. Epidemiologia della rogna sarcoptica nel camoscio (*Rupicapra rupicapra rupicapra*). Tesis de Laurea, Università degli Studi di Bologna: 85 pp.

5. Conclusiones

CONCLUSIONES

1. La densidad de ácaros varió significativamente entre años y disminuyó con la edad del hospedador. La mayor parte de la varianza de la densidad de ácaros se explicó por el año, el sexo, el peso y el índice de grasa perirrenal del hospedador.
2. Se obtuvo una densidad media en torno a los 175 ácaros/cm². Las zonas del hospedador más frecuentemente afectadas fueron las extremidades y la grupa, aunque las densidades de ácaros más elevadas se encontraron en los labios y extremidades.
3. El número de ácaros obtenidos de la digestión de biopsias de piel no se correlacionó con el índice histológico de ácaros (HMI) obtenido a partir de un análisis histológico realizado en biopsias adyacentes.
4. A nivel metapoblacional, la proporción de sexos de los ácaros estuvo sesgada a favor de las hembras (media = 5,8 ♀♀/♂), y alrededor del 50% de los ácaros detectados fueron larvas.
5. Tanto la densidad media de ácaros, como el número de larvas alcanzaron los mayores valores en noviembre, coincidiendo con el celo de los hospedadores. Por otra parte, el número de ninfas alcanzó los mayores valores en mayo, coincidiendo con la época de partos.
6. De media obtuvimos una tasa finita de crecimiento de 11.53 ± 10.17 y una tasa diaria de crecimiento de 0.10 ± 0.08 ácaros/día.
7. Las diferencias interindividuales (en relación a los hospedadores) contribuyeron a un 12,3% de la varianza de la abundancia de ácaros. En dos casos el número de ácaros llegó a 0 tras una tendencia inicial positiva.

CONCLUSIONS

1. Mite density varied significantly between years and decreased with host age. Most of its variance was explained by the year, host sex, weight and kidney fat index.
2. Mean density reached near 175 mites/cm². Although the most frequently affected zones were hosts' extremities and withers, higher mite densities were obtained from lips and extremities.
3. At a metapopulation level, the sex ratio of mites was female-biased (mean: 5.18 ♀♀/♂). Larvae were more frequently found (nearly 50% of specimens).
4. Mite counts derived from skin sample digestion did not correlate with the histological mite indices (HMIs) obtained from adjacent skin biopsies.
5. Both mean mite density and number of larvae peaked in November, coinciding with the host rutting season, when Ibex form larger groups. On the other hand, number of nymphs peaked in May, when births happen.
6. We obtained the finite growth rate and the daily growth rate for the mite infrapopulations: mean \pm SE = 11.53 \pm 10.17 and 0.10 \pm 0.08 mites/day, respectively.
7. Inter-individual differences (regarding hosts) contributed a 12.3% to the variance in the mite counts. In two cases the mite counts fell to 0 after an initial positive trend.

Apéndice 1

Catálogo de microparásitos y macroparásitos de *Capra pyrenaica*

Apéndice I. Catálogo de microparásitos y macroparásitos de *Capra pyrenaica*.

GRUPO/ESPECIE	REFERENCIAS
VIRUS	
Parvovirus	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
Virus de la lengua azul	Lorca-Oró <i>et al.</i> , 2011
Virus del ectima contagioso	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
HONGOS	
<i>Actinomyces pyogenes</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
BACTERIAS	
<i>Chlamydophila abortus</i>	Salinas <i>et al.</i> , 2009
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	Colom-Cadena <i>et al.</i> , 2014
<i>Pasteurella multocida</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Pasteurella haemolytica</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Moraxella ovis</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Mycoplasma conjunctivae</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Mycoplasma capricolum</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Mycoplasma agalactiae</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Branhamella ovis</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Branhamella catarrhalis</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Streptococcus aureus</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Streptococcus epidermidis</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Brucella melitensis</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Escherichia coli</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002

<i>Enterobacter agglomerans</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Proteus mirabilis</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Vibrio parahemolyticus</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Salmonella typhimurium</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Salmonella paratyphi C</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Salmonella abortus ovis</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Dichelobacter nodosus</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Mycobacterium bovis</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Clostridium perfringens</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Acinetobacter lowii</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Erwinia herbicola</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Serratia marcescens</i>	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Chlamydia</i> sp.	Cubero-Pablo <i>et al.</i> , 2002
<i>Anaplasma ovis</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Ehrlichia phagocytophila</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Eperythrozoon ovis</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002

ESPOROZOOS

<i>Neospora caninum</i>	García-Bocanegra <i>et al.</i> , 2012
<i>Toxoplasma gondii</i>	García-Bocanegra <i>et al.</i> , 2012; Calero-Bernal <i>et al.</i> , 2015
<i>Sarcocystis</i> sp.	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Babesia ovis</i>	Ferrer <i>et al.</i> , 1998
<i>Theileria ovis</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Eimeria arloingi</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Eimeria ninakohlykimovae</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002

<i>Eimeria caprina</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Eimeria capraovina</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Eimeria aspheronica</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Eimeria christensenii</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Eimeria hirci</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Eimeria folchijevi</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Eimeria bakuensis</i>	Cordero del Campillo <i>et al.</i> , 1994

TREMATODOS

<i>Fasciola hepática</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Parramphistomum</i> sp.	Antón <i>et al.</i> , 2002

CESTODOS

<i>Taenia multiceps</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Taenia hydatigena</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Echinococcus granulosus</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Moniezia expansa</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Moniezia benedeni</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Avitellina centripunctata</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002

NEMATODOS

<i>Marshallagia marshalli</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Marshallagia occidentalis</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Teladorsagia trifurcata</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Teladorsagia davtianii</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Nematodirus davtianii</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Nematodirus oiratianus</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003

<i>Nematodirus abnormalis</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Nematodirus spathiger</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Nematodirus filicollis</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Ostertagia ostertagi</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Trichostrongylus vitrinus</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Trichostrongylus axei</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Trichostrongylus capricola</i>	Pérez <i>et al.</i> , 2003
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	Rossi <i>et al.</i> , 1994
<i>Haemonchus contortus</i>	Rossi <i>et al.</i> , 1994; Lavín <i>et al.</i> , 1997
<i>Trichuris ovis</i>	Rossi <i>et al.</i> , 1994
<i>Dictyocaulus filaria</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Neostongylus</i> sp.	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Muellerius capillaris</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Protostrongylus</i> sp.	Antón <i>et al.</i> , 2002

ARTRÓPODOS

<i>Psoroptes</i> sp.	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Trombicula</i> sp.	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Dermacentor marginatus</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Dermacentor reticulatus</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Haemaphysalis sulcata</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Ixodes ricinus</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Rhipicephalus bursa</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Bovicola crassipes</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Bovicola alpina</i>	Rodríguez <i>et al.</i> , 1980
<i>Linognathus stenopsis</i>	Antón <i>et al.</i> , 2002
<i>Oestrus</i> sp.	Moreno <i>et al.</i> , 2015
<i>Ixodes ventralloi</i>	Hueli y Díaz, 1989
<i>Hyalomma lusitanicum</i>	Hueli y Díaz, 1989

