Eficacia *in vitro* de dos productos de origen enzimático contra *Dermanyssus gallinae*.

S. SEVILLA-NAVARRO[1*], P. CATALÁ-GREGORI[1], V. CORTÉS[1], C. GARCÍA[1], E. CARCELLER[2], R. ROS [3]

[1] Centro de Calidad Avícola y Alimentación Animal de la Comunidad Valenciana (CECAV), Calle Nules, 16. 12539. Alquerías del Niño Perdido, Castellón, España. [2] Universidad Cardenal Herrera-CEU, Calle Tirant Lo Blanch, 7. 46115. Alfara del Patriarca, Valencia, España [3] Laboratorio Industrial de Bioquímica, S.A. (LIBSA), Polígono Ind. Areta - Calle Badostain, 17-Nave J-13. 31620. Huarte, Navarra, España (drlibsa@libsa.net). *e-mail: s.sevilla@cecav.es

***Dermanyssus gallinae*, o piojo rojo, es el ectoparásito que causa mayores problemas en la salud y bienestar de las gallinas, así como mayor impacto económico en la avicultura de puesta de todo el mundo. Recientemente se están documentando resistencias frente a los acaricias comerciales y esto está alentando la búsqueda de nuevas estrategias y productos para el control del parásito.**

El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la eficacia *in vitro* de dos alternativas a los productos utilizados para el control de este parásito en gallinas ponedoras.

Para ello, se evaluaron cuatro productos: dos productos comerciales (ELECTOR PSP y RESPONSAR WP10) y dos productos experimentales enzimáticos, con acción detergente (ACAZYM-T6 y ACAZYM-TE) frente a piojos, de dos procedencias diferentes, de gallinas ponedoras en producción, a diferentes tiempos (8h, 24h, 48h y 72h).

Tras las primeras 8h de contacto con los productos, se observaron diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre los tratamientos sobre los piojos de ambos orígenes, siendo ACAZYM-T6 (86% y 75%) y ACAZYM-TE (50% y 48%) los que mayor mortalidad provocaron en los piojos. A las 24h de aplicar el producto, cerca del 100% de los piojos que habían tenido contacto directo con los productos enzimáticos alternativos había muerto.

Como conclusión, se observó que existen diferencias significativas en todos los tiempos entre los productos enzimáticos alternativos y los dos productos comparados que se encuentran en el mercado, siendo los primeros los que mayores mortalidades causaron en las primeras 8h. Estos resultados sugieren que estos productos enzimáticos alternativos podrían ejercer su efecto con menor tiempo de contacto. Una de las posibles explicaciones es el desarrollo de resistencias del piojo rojo frente a los productos que se emplean de rutina en las explotaciones.

Palabras clave: *Dermanyssus gallinae*: control; gallinas ponedoras; mortalidad

---

***Dermanyssus gallinae*, or poultry red mite, is the ectoparasite who has the main economic and health impact on poultry industry worldwide. Resistance to commercial mites has recently been documented and this is encouraging the research for new control measures. In this context, the aim of this study was to assess the *in vitro* efficacy of two new experimental products to control this parasite in laying hens.**

Briefly, four products were compared, two commercial products (ELECTOR PSP and RESPONSAR WP10) and two enzymatic experimental products (ACAZYM-T6 and ACAZYM-TE). Red mites where from two different sources of commercial laying hens. And the products efficacy was tested at different times (8h, 24h, 48h and 72h).

Statistically significant differences (p<0,05) were shown after the first 8h of treatment on both origins, being ACAZYM-T6 (86% and 75%) and ACAZYM-TE (50% and 48 %) the products which caused higher mortality in mites. Within 24h of applying the product, about 100% of the mites that had had direct contact with the alternative enzyme products died.

The results of the study show that there are significant differences at all times between the alternative enzymatic products and the two commercial products. The experimental products caused higher mortalities in the first 8h. These results suggest that these alternative enzymatic products could exert their effect at short-term. One of the possible explanations is the development of resistance of the red mite against the products that are usually employed on farms.

Key words: *Dermanyssus gallinae*: control; laying hens; mortality

---

Introducción

Dermanyssus gallinae (D. gallinae), o piojo rojo, es el ectoparásito que causa mayores problemas en la salud y bienestar de las gallinas ponedoras, así como mayor impacto económico en la avicultura de puesta de todo el mundo, causando pérdidas de hasta 130 millones de euros por año en Europa, debido a la reducción de la puesta, el incremento del índice de conversión y la inversión económica para el control del parásito. El 80% de las granjas de gallinas ponedoras de Europa están infestadas por este parásito (Bartley et al., 2015; George et al., 2015). Se trata de un parásito hematófago que se alimenta durante la noche a partir de la sangre de las aves de corral y aves silvestres, aunque también se han descrito casos en mamíferos e incluso en personas (George et al., 2015). Durante el día, el parásito se encuentra fuera del animal y se localiza en pequeñas grietas o agujeros de las naves, donde digiere la sangre, se aparea y pone los huevos (Thind et al., 2006; Lesna et al., 2012). Es capaz de sobrevivir en las instalaciones de la explotación durante largos periodos de tiempo aún sin presencia de animales (Hamidi et al., 2011). Se trata de un vector portador y trasmisor de diferentes virus y bacterias, como Paramyxovirus 1 (APMV-1), *Staphylococcus* spp., *Shigella* spp., incluyendo aquellas que tienen un papel importante en salud pública, como es el caso de *Salmonella* spp. (Benítez et al., 2011; Hamidi et al., 2011).

La principal medida de control frente a este parásito es la aplicación de acaricidas químicos por vía spray o en forma de polvo sobre las instalaciones. Los productos químicos más utilizados son los organoclorados, organofosforados, piretroides, carbamatos y el amitraz (Benítez et al., 2011). El inadecuado empleo de los acaricidas comerciales, como sería la aplicación de estos productos sin un correcto programa de manejo, está generando que la eficacia de los productos se vea reducida, desarrollándose resistencias frente a los productos que se encuentran en el mercado (Benítez at al., 2011; Hamidi et al., 2011). Esto está alentando la búsqueda de nuevas estrategias para su control como pueden ser vacunas, tratamientos físicos o nuevos productos químicos.

En este contexto, el objetivo de nuestro estudio fue evaluar la eficacia *in vitro* de dos productos alternativos para el control de este parásito en gallinas ponedoras.

Material y métodos

Los piojos empleados en la prueba provenían de dos localizaciones diferentes de gallinas ponedoras infestadas por *D. gallinae* de forma natural. Se recogieron los piojos y se mantuvieron a temperatura ambiente en cabina de flujo laminar.

La prueba se realizó según lo descrito por Benítez et al., 2011. Para ello, se emplearon discos de filtro (Whatman N.º 40 de 5 cm de diámetro) y se introdujeron en placas Petri (5,5 cm de diámetro x 1,4 cm de alto). Sobre estos se depositaron 25 piojos adultos.

Se evaluaron cuatro productos: dos productos comerciales (ELECTOR PSP y RESPONSAR WP10) y dos productos experimentales enzimáticos con acción detergente (ACAZYM-T6 y ACAZYM-TE) frente a piojos.

Se realizaron las diluciones correspondientes para cada producto (según lo descrito por el fabricante) y se impregnaron los discos de filtro. A continuación, se cerró cada placa y se selló con parafilm. Para llevar a cabo el estudio las placas se mantuvieron en una cabina de flujo laminar con ventilación continua, a una temperatura de 23±1ºC y una humedad relativa de 46±1% (medidas tomadas con sonda Saveris H3). Cada producto fue testado empleando 4 réplicas por tratamiento, además cada grupo contaba con un grupo control negativo (placa Petri con disco y sin tratamiento).

De cada grupo se midió la mortalidad para cada producto en 4 tiempos (8h, 24h, 48h y 72h). Se consideró que los piojos estaban muertos cuando no movían sus apéndices, tras estimularlos con un alfiler entomológico.

Los datos se sometieron al análisis de varianza, empleando el paquete estadístico STATGRAPHIS Centurion XVI (Versión 16.2.04). Se consideró que existían diferencias estadísticamente significativas cuando la *p value* fue < 0,05.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se representan los resultados de mortalidad obtenidos en función del tratamiento, el origen y el tiempo.

Tras las primeras 8h de contacto con los productos, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) entre la mortalidad ocasionada sobre los piojos de ambos orígenes, siendo ACAZYM-T6 (entre 86% y 75%) y ACAZYM-TE (entre 50% y 48%) los que mayor mortalidad provocaron. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los productos ELECTOR PSP y RESPONSAR WP10 con respecto a los controles.

A las 24 h, en el primer origen, se observaron diferencias significativas entre la mortalidad del grupo control (11%), del ELECTOR PSP (18%) y del RESPONSAR (18%) frente a los tratamientos experimentales ACAZYM-T6 (99%) y ACAZYM-TE (98%). Por lo que respecta al segundo origen, se observaron diferencias significativas entre el grupo control (9%) y los productos ELECTOR PSP (53%) y RESPONSAR (53%), y a su vez entre estos dos últimos y los productos experimentales ACAZYM-T6 (95%) y ACAZYM-TE (79%).

A las 48 h, en el primer origen, se observaron diferencias significativas entre el grupo control (19%) y ELECTOR PSP (74%), a su vez con RESPONSAR (87%) y a su vez con los tratamientos experimentales (100% y 99%, para ACAZYM-T6 y ACAZYM-TE, respectivamente). Por lo que respecta al segundo origen, se observaron diferencias significativas entre el grupo control (21%) y los productos ELECTOR PSP (93%), RESPONSAR (93%), ACAZYM-T6 (96%) y ACAZYM-TE (84%).

Finalmente, a las 72h de contacto, en el primer origen se observaron diferencias significativas entre el grupo control (26%) y todos los productos (entre 89 y 100%). También se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el ELECTOR PSP (89%) y los tratamientos experimentales ACAZYM-T6 (100%) y ACAZYM-TE (100%). En el segundo origen se observaron diferencias significativas entre el grupo control (26%) y el ELECTOR PSP (95%), el RESPONSAR (98%) y los tratamientos experimentales ACAZYM-T6 (97%) y ACAZYM-TE (91%).

Tabla 1. Efecto de los tratamientos y origen sobre la mortalidad de *D. gallinae* a diferentes tiempos.

Tratamiento	M1 t1 = 8h		M2 t2= 24h		M3 t3 = 48h		M4 t4 = 72h	
	O1	O2	O1	O2	O1	O2	O1	O2
CONTROL	3^{a}	5^{a}	11^{a}	9^{a}	19^{a}	21^{a}	26^{a}	26^{a}
ELECTOR PSP	11^{a}	21^{a}	18^{a}	53^{b}	74^{b}	93^{b}	89^{b}	95^{b}
RESPONSAR WP10	4^{a}	7^{a}	18^{a}	53^{b}	87^{c}	93^{b}	98^{bc}	98^{b}
ACAZYM-T6	86^{c}	75^{c}	99^{b}	95^{c}	100^{d}	96^{b}	100^{c}	97^{b}
ACAZYM-TE	50^{b}	48^{b}	98^{b}	79^{c}	99^{d}	84^{b}	100^{c}	91^{b}
p-value	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

p-value				
Tratamiento	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Origen	NS	0,0167	NS	NS
Tratamiento* Origen	NS	0,0000	0,0035	NS

***Los datos representan la mortalidad observada en 100 *D. gallinae* (25 *D. gallinae* * 4 placas). [a,b,c,d] los datos de una misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes por el test de la menor diferencia significativa (*p*<0,05). NS: nivel de significancia estadística > 0,05, no hay diferencias significativas entre las mortalidades medias para un nivel de confianza del 95%.**

Hoy en día el tratamiento de elección frente al ácaro rojo en avicultura de puesta son los pesticidas. Sin embargo, se encuentran diversas problemáticas: muy pocos están autorizados para su empleo en presencia de animales, el poder de acción es limitado debido a la baja efectividad en la aplicación, es un ácaro que se esconde entre las grietas de la explotación, y la creciente aparición de resistencias frente a ellos (Benítez et al., 2013; Sparagano et al., 2014, Bartley et al., 2015). Las resistencias pueden ser adquiridas por los propios ácaros o bien estar asociadas a un mal empleo de los productos, debido a un error en la dosis, un error en el programa de manejo y/o antagonismo al aplicar dos tratamientos (Gázquez et al., 2007).

La aparición de resistencias está alentando la búsqueda de nuevos productos químicos, de terapias alternativas mediante el empleo de polvos absorbentes, biopesticidas, vacunas y/o soluciones arquitectónicas (Bartley et al., 2015).

Un estudio realizado por Benítez et al. (2011) mostró la necesidad de evaluar nuevos productos para el control del ácaro rojo, al observar que los que se encontraban en el mercado no presentaban una efectividad total.

El presente estudio muestra que entre el 79 y el 99% de los piojos que habían tenido contacto directo con los productos enzimáticos alternativos había muerto tras las 24h de su aplicación. Además, se observaron diferencias significativas en todos los tiempos entre los productos enzimáticos alternativos y dos de los productos que se encuentran en el mercado, siendo los primeros los que mayores mortalidades causaron en las primeras 8h.

Por otra parte, se observó que el efecto del origen de los piojos sobre la mortalidad fue significativo en el recuento de las 24h, sugiriendo la necesidad de evaluar los productos químicos frente a este parásito teniendo en cuenta este factor.

En conclusión, los resultados sugieren que estos productos enzimáticos podrían ejercer su efecto con menor tiempo de contacto en comparación con los dos productos químicos testados, a diferencia de otros productos como los biopesticidas, cuyo efecto es más tardío. Este efecto precoz sobre la mortalidad podría mejorar el resultado de los tratamientos actualmente presentes en el mercado. Tras este estudio se desprende la necesidad de realizar un estudio *in vivo* y evaluar el efecto de estos productos en presencia de animales.

Bibliografía

BARTLEY, K., WRIGHT, H.W., HUNTLEY, J.F., MASON, E.DT., INGLIS, N.F., McLEAN, K., NATH, M., BARTLEY, Y. and NISBETA, A.J. (2015) Identification and evaluation of vaccine candidate antigens from the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *International Journal of Parasitology* **45**(13): 819-830.

BENÍTEZ, V., GARCÍA, C., GARGALLO, D. and CATALÁ-GREGORI, P. (2010) Evaluación *in vitro* de diferentes productos para el control de *Dermanyssus gallinae*. XLVII Simposio Científico de Avicultura, WPSA-AECA 2010, Barcelona.

BENÍTEZ, V., GARCÍA, C., GARGALLO, D. and CATALÁ-GREGORI, P. (2011) Eficacia *in vitro* de diferentes productos contra *Dermanyssus gallinae*. XLVIII Simposio Científico de Avicultura, WPSA-AECA 2011, Santiago de Compostela.

GÁZQUEZ A. (2007) Control del ácaro rojo: luz al final del túnel. Selecciones Avícolas, diciembre 2007, 795-797.

GEORGE, D.R., FINN, R.D., GRAHAM, K.M., MUL, M.F., MAURER, V., MORO, C.V. and SPARAGANO, O.AE. (2015) Should the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* be of wider concern for veterinary and medical science? *Parasites & Vectors* **8**:178.

HAMIDI, A., SHERIFI, K., MUJI, S., BEHLULI, B., LATIFI, F., ROBAJ, A., POSTOLI, R., HESS, C., HESS, M. and SPARAGANO, O. (2011) *Dermanyssus gallinae* in layer farms in Kosovo: a high risk for *Salmonella* prevalence. *Parasites & Vectors* 2011 **4**:136.

LESNA, I. and SABELIS, M.W. (2012) Laboratory tests for controlling poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) with predatory mites in small 'laying hen' cages. *Experimental and Applied Acarology* **58** (4): 371-383.

SPARAGANO, O., GEORGE, D.R., HARRINGTON, D. and GIANGASPERO, A. (2014) Biology, epidemiology, management and risk related to the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Annual Review of Entomology* **59**:447-66.

THIND, B.B. and FORD, H.L. (2006) Assessment of susceptibility of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) to some acaricides using an adapted filter paper based bioassay. *Veterinary Parasitology* **144**:344-348.