

Eficacia *in vitro* de diferentes productos contra *Dermanyssus gallinae*

V. BENÍTEZ¹, C. GARCÍA², D. GARGALLO², P. CATALÁ-GREGORI^{2*}

¹Asociación Avícola Valenciana ASAV, Alquerías del Niño Perdido -Castellón.

²Centro de Calidad Avícola y Alimentación Animal de la Comunidad Valenciana CECAV, Alquerías del Niño Perdido -Castellón.

direccion@cecav.es

RESUMEN

El ácaro rojo o piojo rojo, *Dermanyssus gallinae*, es un importante ectoparásito que causa problemas significativos en la salud y el bienestar de las gallinas ponedoras, así como repercusiones económicas en la avicultura industrial. El presente estudio *in vitro* evaluó la eficacia de diferentes productos utilizados para el control de este parásito en gallinas ponedoras comerciales. Se evaluaron ocho tratamientos formados por productos comerciales y productos químicos (ELECTOR, MENFORSAN, DESINSAN, RESPONSAR, GASOIL, JABÓN+LEJÍA, VBF (POLL + N-AZAD), BI-PROTEC). Los piojos procedían de una granja de gallinas ponedoras en producción. Tras el contacto directo con los diferentes tratamientos se observó la mortalidad de éstos a distintos tiempos de ensayo $t_1=1$ min., $t_2=24$ h., $t_3=48$ h., $t_4=120$ h., $t_5=216$ h. y $t_6=360$ h. A las 24 h. se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) entre los tratamientos, siendo GASOIL (100%) y JABÓN+LEJÍA (90%) los que mayor mortalidad provocaron en los piojos y MENFORSAN (28%) y VBF (24%) los que menor mortalidad ocasionaron. A las 48 h. también se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$), siendo GASOIL (100%), RESPONSAR (100%), JABÓN+LEJÍA (99%), DESINSAN (98%) y BI-PROTEC (97%) los que mayor mortalidad provocaron y MENFORSAN (65%) y VBF (54%) los que menor. A las 360 h. no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) entre tratamientos, se observó el 100% de mortalidad para todos los productos. En este estudio se observó que, en general, los productos presentes actualmente en el mercado y testados en este estudio no presentan una efectividad total a las 24 h. posiblemente como consecuencia del desarrollo de resistencia del piojo frente a los productos químicos empleados comúnmente en las explotaciones avícolas. De estos resultados, junto con los resultados de una prueba anterior, se desprende la necesidad de evaluar otros factores además de la efectividad a corto plazo como pueden ser la toxicidad de los productos ensayados, tanto en los animales como en el medio ambiente, la resistencia de los piojos y el origen de los mismos.

Palabras clave: piojo; mortalidad; gallinas; eficacia.

ABSTRACT

The presence of haematophagous poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) in laying hens farms has health and economic impact on poultry industry. The current study evaluated *in vitro* the efficacy of several products, used for parasite control, in commercial laying hens. Eight treatments were compared, including commercial products and chemical products (ELECTOR, MENFORSAN, DESINSAN, RESPONSAR, GASOIL, SOAP+NaClO, VBF (POLL + N-AZAD), BI-PROTEC). The mites came from a hen farm in production. After direct contact with the products, mortality of mites was recorded at different times $t_1=1$ min., $t_2=24$ h., $t_3=48$ h., $t_4=120$ h., $t_5=216$ h. y $t_6=360$ h. For a period of 24 h. statistically significant differences were found ($p < 0,05$) among the different treatments, being GASOIL (100%) and JABÓN+ NaClO (90%) the treatments with higher mortality in mites and MENFORSAN (28%) and VBF (24%) the lowest. For a period of 48 h. also statistically significant differences were found ($p < 0,05$) among the different treatments, being GASOIL (100%), RESPONSAR (100%), SOAP+NaClO (99%), DESINSAN (98%) and BI-PROTEC (97%) the treatments that caused the highest mortality, while MENFORSAN (65%) and VBF (54%) the lowest.

At 360h, no statistically significant differences were found, all mites were died. None of the commercial products used in the study caused 100% of mortality in mites at 24h. It could be a consequence of the development

of mites resistance against chemicals commonly used in poultry farms. The results of this study added to the results of a previous study, shows the need to evaluate other factors in addition to effectiveness at short-term, like toxicity in animals and environment, mites resistance and origin.

INTRODUCCIÓN

D.gallinae es un ectoparásito hematófago que se alimenta de la sangre de gallinas domésticas, palomas, aves silvestres, y puede atacar esporádicamente a mamíferos incluyendo al hombre (Hoffman 1987). La importancia de este parásito viene determinada también porque son responsables de descensos en la producción de huevos, anemia y en infestaciones crónicas pueden causar incluso mortalidad (Arkle *et al.*, 2006).

Se alimenta de las aves principalmente por la noche y sólo permanece en el hospedador para alimentarse, el resto del tiempo lo pasa en grietas y fisuras de las paredes y estructuras próximas al hospedador para digerir la sangre de la que se alimenta, apareándose y poniendo huevos (Thind *et al.*, 2006).

Bajo condiciones favorables el ciclo de vida del parásito se completa en una semana, y se da una alta tasa de reproducción cuando el ciclo de alimentación–ovoposición se repite cada tres días (Kirkwood, 1963; Desch, 1984).

Está considerado como vector de muchos patógenos (Durden *et al.*, 1993, Chirico *et al.*, 2003), como *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp* y *Shigella spp* (Valiente Moro *et al.*, 2009). Se ha demostrado que *D.gallinae* podría actuar como vector biológico de *Salmonella enteritidis*. Está comprobada su transmisión a nivel experimental, así como que este ácaro es un portador natural de *Salmonella* (Sparagano *et al.*, 2009).

El control de las infestaciones por ácaros en las granjas avícolas depende casi exclusivamente de la aplicación de acaricidas químicos en forma de spray o en polvo. Los productos químicos utilizados más corrientes son los organoclorados, organofosforados (malation, phoxim), piretroides (piretrina, λcialotrina, cipermetrina, biphentin), carbamatos (carbaryl) y el amitraz (Sparagano *et al.*, 2009). La utilización de estos productos químicos sin un programa de manejo correcto puede provocar que *D.gallinae* desarrolle resistencias frente a algunos productos administrados en las granjas (Beugnet *et al.*, 1997). Por esta razón se están buscando métodos alternativos de control del piojo como son los polvos inertes, tratamientos físicos, hongos, vacunas o incluso depredadores.

Los polvos inertes comprenden una gama de diferentes minerales, tierras de diatomeas y productos a base de sílice sintética. Actúan como desecantes absorbiendo los lípidos de la superficie cuticular conduciendo al parásito a la muerte como resultado de la deshidratación (Kilpinen y Steenberg, 2009).

El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad *in vitro* frente a *D.gallinae* de ocho productos químicos. Algunos de estos productos se emplean habitualmente en el control de *D.gallinae* y otros podrían ser potenciales candidatos a utilizarse.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los piojos utilizados en la prueba provenían de una granja de gallinas ponedoras infectadas por *D.gallinae* de forma natural. Se recogieron los piojos y se mantuvieron a temperatura ambiente en la cabina de flujo laminar.

Tabla 1. Tratamientos del Ensayo

Nº	Producto	Principio activo	Presentación	Dosis utilizada	Uso en Presencia/Ausencia de animales	Marca Comercial
1	ELECTOR PSP	Spinosad (mezcla de Spynosin A y Spynosin D) 44,2%	Líquido	Leve: 250 mL de producto / 150 L de agua Grave: 250 mL de producto / 75 L de agua	Pres.	Elanco
2	MENFORSAN	Extracto de Neem(Azadiractina)	Líquido	4%	Pres.	Farmbiocontrol
3	DISENSAN BIFENTRINA	Bifentrina 2.5%	Líquido	0.5%		Farmbiocontrol
4	RESPONSAR WP10	Ciflutrin 10%	Polvo	20g en 5 L 50 mL/m2	Pres/Aus	Zotal
5	GASOIL	-	Líquido	Puro	-	-
6	JABÓN+LEJÍA	-	Líquido	100 L H2O+4 L Jabón+4L Lejía	-	-
7	VBF POLL+VBF N AZAD	Enzimas y microorganismos 5% Azaridachtin 5%	Polvo	5ml/L	Pres.	Valencia Biological Factory
8	BI-PROTEC	Bicarbonato sódico+silíce amorfa	Polvo	Puro	Pres.	Solvay

En el ensayo se utilizaron papeles de filtro (Whatman Nº 40, 5 cm. de diámetro). Estos discos de filtro se introdujeron en placas de Petri (5,5 cm. de diámetro x 1,4 cm. de alto) y sobre éstos se depositaron 25 piojos adultos de *D.gallinae*. Una vez preparadas las diluciones de cada tratamiento, se impregnaron los discos de filtro, posteriormente cada placa fue sellada 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 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ y una humedad relativa de $46 \pm 1 \%$ (medidas tomadas con una sonda Saveris H3). Cada producto fue testado siguiendo un diseño con 4 réplicas por tratamiento realizando además un control negativo (placa de Petri con disco de filtro sin tratamiento).

Se midió la mortalidad para cada producto en seis tiempos distintos ($t_1=1$ min, $t_2=24$ h, $t_3=48$ h, $t_4=120$ h, $t_5=216$ h y $t_6=360$ h), esperando así obtener información sobre el efecto inmediato de los productos y a largo plazo en contacto directo.

Se consideró que los piojos estaban muertos cuando no movían sus apéndices, tras estimularlos con un alfiler entomológico.

Los datos de Mortalidad en el t_1 , t_2 , t_3 , t_4 , t_5 y t_6 en función del tratamiento, se sometieron al análisis de varianza de una vía ANOVA SIMPLE con el programa STATGRAPHICS (Plus version 5.1). Se consideró que había diferencias estadísticas significativas cuando la probabilidad era inferior a 0,05 ($p<0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el $t_1=1$ min., no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$).

En el $t_2=24$ h, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) entre los tratamientos, siendo GASOIL (100%) y JABÓN+LEJÍA (90%) los que mayor mortalidad provocaron en los piojos y MENFORSAN (28%) y VBF (24%) los que menor mortalidad ocasionaron.

En el $t_3=48$ h., también se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$), siendo GASOIL (100%), RESPONSAR (100%), JABÓN+LEJÍA (99%), DESINSAN (98%) y BI-PROTEC (97%) los que mayor mortalidad provocaron y MENFORSAN (65%) y VBF (54%) los que menor.

En el t4=120 h, solamente hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre el CONTROL y el resto de tratamientos.

En el t5=216 h, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), siendo MENFORSAN (98%) seguido de VBF (99%) los que menor mortalidad produjeron. El resto ocasionaron un 100% de mortalidad.

En el t6=360 h, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos.

En los cinco primeros tiempos de ensayo, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para un nivel de confianza del 95%, tal y como muestra la tabla 2.

Tabla 2. Mortalidad de los piojos

Tratamiento	M1 t1=1min	M2 t2= 24h	M3 t3=48h	M4 t4=120h	M5 t5=216h	M6 t6=360h
CONTROL	7	14 ^a	28 ^a	64 ^a	92 ^a	98
ELECTOR PSP	26	61 ^{bc}	83 ^c	100 ^b	100 ^c	100
MENFORSAN	8	28 ^a	65 ^b	89 ^b	98 ^b	100
DISENSAN BIFENTRINA	16	81 ^{cd}	98 ^d	100 ^b	100 ^c	100
RESPONSAR WP10	16	69 ^{bc}	100 ^d	100 ^b	100 ^c	100
GASOIL	14	100 ^d	100 ^d	100 ^b	100 ^c	100
JABÓN+LEJÍA	14	90 ^d	99 ^d	100 ^b	100 ^c	100
VBF POLL+VBF N AZAD	9	24 ^a	54 ^b	94 ^b	99 ^{bc}	100
BI-PROTEC	6	57 ^b	97 ^d	100 ^b	100 ^c	100
<i>p</i> -valor	NS ¹	0,0000 ²	0,0000 ²	0,0019 ²	0,0000 ²	NS ¹

* Los valores representan la mortalidad media de 4 réplicas por tratamiento expresada en %. ¹ NS, el valor de *p* es superior a 0,05, no hay diferencias significativas entre las mortalidades medias de los tratamientos para un nivel de confianza del 95%.

² El valor de *p* es inferior a 0,05, hay diferencias significativas entre las mortalidades medias de los tratamientos para un nivel de confianza del 95%.

Las medias de una misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes por el test de la menor diferencia significativa ($p < 0,05$).

El control de *D. gallinae* en las granjas avícolas depende mayoritariamente de la aplicación de productos químicos, actualmente podemos encontrar un gran número de compuestos que se consideran eficaces para el control del ácaro rojo (Chauve, 1998).

Pocos de los acaricidas utilizados en las granjas están autorizados para su uso en presencia de animales, por lo que el tratamiento en granja se restringe a los periodos de vacío sanitario, con el fin de evitar cualquier residuo químico en los huevos o en la carne.

En un reciente estudio de prevalencia de *D. gallinae* (Cafiero *et al.*, 2008) se dio a conocer que los acaricidas son usados a menudo sin un programa de manejo correcto, de forma que aumenta el riesgo de residuos en los alimentos y que con frecuencia se dan fallos en el control del ácaro. Por esta razón *D. gallinae* puede desarrollar resistencias frente algunos productos utilizados en las granjas.

El presente estudio muestra que solo el GASOIL consigue alcanzar un nivel de mortalidad del 100% a las 24 h, seguido del JABÓN+LEJÍA, a pesar de que los piojos han estado en contacto directo

con los productos químicos con las dosis recomendadas por los fabricantes. Estos tratamientos podrían tener en cuenta su uso en ausencia de animales, sobretodo en el caso del jabón y la lejía como método de limpieza y desinfección además de eliminación de los ácaros. En el caso del GASOIL nos encontraríamos con la problemática del coste del producto, así como su poder contaminante y de manipulación. El resto de productos comerciales necesitaron más tiempo de contacto, esto puede ser consecuencia de un posible desarrollo de resistencia del piojo frente a los productos químicos empleados, ya que los piojos procedían de una granja de gallinas ponedoras comercial infectada de forma natural. En el estudio desarrollado por Marangi *et al.*, 2009 se observaron tolerancias *in vitro* a carbaril y permetrina en poblaciones de ácaros recolectadas de granjas intensivas de ponedoras.

Uno de los métodos de control alternativos al uso de insecticidas químicos más utilizados en Europa son los polvos inertes. La mortalidad provocada por la exposición de los ácaros a las tierras de diatomeas es producida por efecto de la desecación (Saez y Fuentes Mora, 2007). Los insectos han demostrado desarrollar respuestas de comportamiento para evitar el contacto con algunos productos, y este podría ser el caso de los ácaros (Maurer *et al.*, 2009).

La exposición de los ácaros durante 24 h sobre las superficies tratadas confirmó que en menos de 1 día, el producto más eficaz mató a todos los ácaros, y el producto menos eficaz necesitó 4,5 días, en condiciones del 75% de humedad relativa (Kilpinen y Steenberg, 2009). En el presente estudio, los polvos inertes (BI-PROTEC) consiguió el 100% de mortalidad en t4=120 h.

A diferencia de los insecticidas, los polvos inertes no provocan el fenómeno de resistencia, ya que ejercen una acción mecánica y no química sobre los ácaros. Los polvos inertes son inofensivos para animales y personas, no dejan residuos en los huevos o en la carne, y no es necesario ningún período de retirada antes del consumo de estos productos, tal y como indican los fabricantes de estos productos. El problema del control se ve aumentado por el hecho de que el uso de algunos productos químicos generan la necesidad de la eliminación de los huevos puestos durante el periodo de fumigación o la solicitud de un período bastante largo de espera antes de que las aves puedan ser sacrificadas, debido a los residuos generados (Hamscher *et al.*, 2007).

De este estudio se desprende la necesidad de evaluar nuevos productos o métodos de control de este parásito, ya que los productos presentes actualmente en el mercado no presentan una efectividad total in vitro a corto plazo y lo que es más importante, que puedan ser utilizados en presencia de animales. Sin embargo es interesante valorar como posible método de control el uso de JABÓN+LEJÍA en ausencia de animales para la eliminación de los ácaros presentes en las instalaciones, que además tiene un efecto positivo añadido como método de limpieza y desinfección.

BIBLIOGRAFIA

ARKLE, S. GUY, J.H., SPARAGANO, O.A.E. (2006). Immunological effects of the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) on laying hens: implications for egg production and quality. *World's Poultry Science Journal* 62, 249-257.

BEUGNET, F., CHAUVE, C., GAUTHEY, M., BEERT, L. (1997). Resistance of the poultry red mite to pyrethroids in France. *Vet. Rec.* 140: 577-579.

CAFIERO, M.A., CAMARDA, A., CIRCELLA, E., RAELE, D., GIANGASPERO, A., SPARAGANO, O. (2008a). Prevalence in laying hens units in the Apulia region. Italy In: *Proceeding of the British society for parasitology*, p 170.

CHAUVE, C. (1998). The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): current situation and future prospects for control. *Veterinary Parasitology* 79: 239-245.

CHIRICO J, ERIKSSON H, FOSSUM O, JANSSON D. (2003). The poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, a potential vector of *Erysipelothrix rhusiopathiae* causing erysipelas in hens. *Med. Vet. Entomol.* 17:232-234.

DESCH, C.E. (1984). Biology of biting mites (Mesostigmata), pp. 83-109. In W.B. Nutting (ed.), *Mammalian diseases and arachnids*, vol. 1. CRC, Boca Raton, FL.

DURDEN, L.A., LINTHICUM, K.J., MONATH, T.P. (1993). Laboratory transmission of eastern equine encephalomyelitis virus to chickens by chicken mites (Acari: Dermanyssidae). *J. Med. Entomol.* 30, 281-285.

HAMSCHER G, PRIEB B, NAU H. (2007) Determination of phoxim residues in eggs by using high-performance liquid chromatography-diode array detection after treatment of stocked housing facilities for the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *Analytica Chimica Acta*, 586:330-335.

HOFFMAN, G.V.(1987). Vogelmilben als Lstlinge, Krankheitserzeuger und Vektoren bei Mensch und Nutztier (Veterinary and hygienic importance of the red chicken mite and the northern fowl mite). Dtsch. Tierarztl. Wschr. 95,7-10.

KILPINEN, O. and STEENBERG, T. (2009). Inert dusts and their effects on the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *Experimental and Applied Acarology* 48 (1-2): p. 51-62. **KIRKWOOD, A.C. (1963).** Longevity of the mites *Dermanyssus gallinae* and *Liponyssus sylviarum*. *Exp. Parasitol.* 14:358-366.

MARANGI, M., CAFIERO, M.A., CAPELLI, G., CAMARDA, A., SPARAGANO, O., GIANGASPERO, A. (2009). Evaluation of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) susceptibility to some acaricides in field populations from Italy. *Experimental and Applied Acarology*, 48:11-18.

MAURER, V., PERLER, E. (2006). Silicas for control of the poultry red mites *Dermanyssus gallinae*. Proceedings paper presented at *Joint Organic Congress*, Odense, Denmark, 30-31 May, 2006. **MAURER, V., PERLER, E., HECKENDORN, F. (2009).** *In vitro* efficacies of oils, silicas and plant preparations against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Experimental and Applied Acarology* 48 (1-2): p. 31-41.

SAEZ, A., FUENTES MORA, V.H. (2007). Comparison of the desiccation effects of marine and freshwater diatomaceous earths on insects. *Stored Prod. Res.* 43:404-409.

SPARAGANO, O., CAMARDA, A., MAURER, V., HARRINGTON, D., GEORGE, D., GUY, J., CIRCELLA, E., KILPINEN, O., STEENBERG, T., LESNA, I., SABELIS, M., CHIRICO, J., GIANGASPERO, A., MARANGI, M., CAFIERO, M.A., MUL, M., VAN NIERKERK, T.G.C.M., KOENRAADT, C., ZENNER, L., VALIENTE-MORO, DE LUNA, C. (2009). Control red mite in laying houses. *XLVI Symposium Científico de Avicultura. Zaragoza (2009)*, 133-141.

SPARAGANO, O., PAVLICEVIC, A., MURANO, T., CAMARDA, A., SAHIBI, H., KILPINEN, O., MUL, M., VAN EMOUS, R., LE BOUQUIN, S., HOELE, K., CAFIERO, M.A. (2009). Prevalence and key figures for the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* infections in poultry farm systems. *Experimental and Applied Acarology*, 48 (1-2), 3-10.

THIND BB, FORD HL (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.

VALIENTE-MORO C., DE LUNA, C.J. TOD, A. GUY, J.H., SPARAGANO, O.A.E. ZENNER, L. (2009). The poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*): a potential vector of pathogenic agents. *Experimental and Applied Acarology*, 48 (1-2), 93-104.