

CONTROL DEL PARÁSITO OVINO BOVICOLA OVIS: EFECTIVIDAD DE ECTOPARASITICIDAS Y DESARROLLO DE UNA CEPA DE LABORATORIO DE REFERENCIA TOXICOLÓGICA

CONTROL OF OVINE PARASITE BOVICOLA OVIS: ECTOPARASITICIDE EFFECTIVENESS AND DEVELOPMENT OF A TOXICOLOGICAL REFERENCE LABORATORY STRAIN

Mónica Germano (Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas [CIPEIN, UNIDEF-CONICET]), Marcela Larroza (Grupo de Sanidad Animal - Laboratorio de Parasitología [INTA, EEA Bariloche]) y Gastón Mougabure Cueto (Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas [CIPEIN, UNIDEF-CONICET]) - Argentina

Resumen

La pediculosis es una parasitosis externa que afecta con diferentes grados de intensidad las majadas ovinas. Ocasiona pérdidas de difícil cuantificación, tanto en la disminución de la productividad (menor producción de lana, retraso en el crecimiento, etc.) como en el aumento de costos de producción (compra de productos antiparasitarios, instalaciones, etc.). Dado que en la Región Patagónica la explotación ovina es el principal recurso ganadero, la pediculosis constituye una enfermedad de denuncia obligatoria (Senasa, Ley de Policía Sanitaria Animal N.º 3959). En este contexto, el control de la pediculosis mediante productos antiparasitarios reviste particular importancia, resulta así fundamental la evaluación regular de su efectividad.

El presente proyecto propone caracterizar la efectividad de los productos antiparasitarios utilizados en el control de la pediculosis ovina causada por el piojo masticador *Bovicola ovis*. La determinación de dosis letales y posible resistencia permitirá evaluar las estrategias de control usadas hasta el momento y establecer nuevos protocolos de tratamientos antiparasitarios. Se propone establecer una cepa de laboratorio que posibilitará el desarrollo de un protocolo de monitoreo de efectividad cuyo resultado será transferido a las autoridades de Senasa y que podrá ser implementado para optimizar las medidas de control de *B. ovis*.

Palabras clave: *Bovicola ovis*, diazinon, cipermetrina, resistencia a antiparasitarios, cepa de laboratorio.

Abstract

Ovine pediculosis is an external parasitic disease that affects sheep flocks with different degrees of intensity, causing losses that are difficult to quantify both by the decrease in productivity (lower wool production, growth delays, etc) and increased production costs (purchase of antiparasitic products, facilities, etc.). Since in the Patagonian region sheep is the main farm livestock resource, pediculosis is a disease of mandatory report (Senasa, Animal Health Police Law No. 3959). In this context, the control of lice with chemical products is of particular importance, and so regular evaluations of effectiveness are necessary.

This project proposes characterizing the effectiveness of antiparasitic products used in the control of sheep pediculosis caused by chewing lice *Bovicola ovis*. The determination of lethal doses and possible resistance will help to assess control strategies used to date and establish new protocols for antiparasitic treatments. It is proposed to establish a laboratory strain that allows the development of an effectiveness monitoring protocol which will be transferred to the authorities of Senasa and which may be implemented to optimize the control measures of *B. ovis*.

Keywords: *Bovicola ovis*, diazinon, cypermethrin, parasiticide resistance, laboratory strain.

Introducción

En la Región Patagónica, la pediculosis por *Bovicola ovis* tiene gran importancia en el manejo sanitario y productivo de los ovinos, y existe una creciente demanda del sector ganadero por medidas para su control. Es considerada una enfermedad emergente y de denuncia y control obligatorio según lo establece el Senasa (Artículo 6.º Ley de Policía Sanitaria Animal N.º 3959). La intensa irritación causada por los insectos se asocia a un daño

directo por continuo lamido, rascado y mordisqueo. En efecto, estudios previos demostraron pérdidas de 0,8 kg de lana por animal infestado, con bajas notables en el rinde (Kettle y Lukies, 1982; Wilkinson *et al.*, 1982) y reducciones de hasta el 20 % en el precio de la lana (Pearse y Carpenter, 1994). Aunque no existen evaluaciones actualizadas de las pérdidas económicas por pediculosis en ovinos en la Argentina, se estima una pérdida total directa de U\$S 30 M (Bulman y Lamberti, 2001).

Las medidas de control sanitario de *B. ovis* se focalizan en el uso de productos químicos formulados como *pour-on*, *spot-on* o baños de inmersión o aspersión, especialmente basados en los insecticidas cipermetrina y diazinon. La continua exposición de los insectos a antiparasitarios puede asociarse a una paulatina disminución en su efectividad, dada la supervivencia de individuos resistentes a las dosis recomendadas de uso. Eventualmente, se produce una falla de control en el campo, debida al desarrollo de una población de insectos resistentes, que presenta la capacidad de tolerar niveles de tóxico que serían letales para la mayoría de los individuos de una población normal de la misma especie (Roush y Tabashik, 1990).

En efecto, la resistencia a insecticidas ha sido comprobada en diferentes especies de importancia ganadera como la mosca de los cuernos *Haematobia irritans* (Barros *et al.*, 2001; Guglielmone *et al.*, 2002) e insectos de importancia sanitaria como la vinchuca *Triatoma infestans* (Picollo *et al.*, 2005; Germano *et al.*, 2010; Germano *et al.*, 2012) y los piojos humanos *Pediculus humanus capitis* (Picollo *et al.*, 2000; Audino *et al.*, 2005). Los estudios realizados en *B. ovis* demostraron una amplia evolución de la resistencia a parasiticidas piretroides como la cipermetrina, deltametrina y cialotrina en Australia (Levot y Hughes, 1990; Levot *et al.*, 1995; Levot, 2012). Recientemente, se ha determinado además la existencia de resistencia a compuestos reguladores de crecimiento como el diflubenzuron y triflumuron en este insecto (James *et al.*, 2008). Dada la importancia económica de este parásito ovino, resulta prioritario evaluar la efectividad de los productos antiparasitarios externos disponibles en el mercado y determinar la posible existencia y dispersión de poblaciones resistentes.

El proyecto de investigación que se presenta aquí se llevará a cabo en el marco del Premio Senasa a la investigación, transferencia y comunicación de la sanidad, la calidad y la inocuidad agroalimentaria. El objetivo del proyecto es estudiar la situación actual en cuanto a la efectividad de los principios activos de los productos antiparasitarios sobre poblaciones de *B. ovis* de la Argentina y desarrollar una cepa de laboratorio para referencia toxicológica. Los bioensayos propuestos permitirán evaluar las dosis adecuadas para el control de este parásito y determinar la probable existencia de resistencia. Los resultados obtenidos podrán traducirse en recomendaciones de uso para los productores, lo cual redundará en una disminución de costos operacionales y un aumento de la productividad ovina.

Relevancia y justificación del proyecto

La pediculosis, la sarna psoróptica y la melofagosis son las ectoparasitosis de diagnóstico más frecuente en ovinos en la Patagonia argentina. Si bien estas enfermedades son controladas mediante la aplicación de antiparasitarios sobre la base de los insecticidas cipermetrina o diazinon, se registra un aumento en las detecciones de majadas infestadas (Larroza, 2013), lo cual sugiere un descenso en su efectividad como herramienta de control. En este contexto, determinar la actual susceptibilidad de *B. ovis* a los productos disponibles para su control resulta indispensable y proveerá de información valiosa para la toma de decisiones en cuanto al método de control de esta parasitosis.

Para llevar a cabo esta tarea será crucial disponer de una cepa de laboratorio no expuesta a antiparasitarios, y por lo tanto completamente susceptible a ellos. La comparación de las poblaciones de campo obtenidas de las majadas con dicha cepa permitirá evaluar los cambios en susceptibilidad y por lo tanto obtener información valiosa que permita atender los problemas en el control de este parásito de manera más eficiente.

Objetivos y resultados

Objetivo general

Este proyecto propone el análisis toxicológico de la susceptibilidad a antiparasitarios en *B. ovis* con el objetivo de optimizar las estrategias de control de esta parasitosis. Se propone, además, establecer una población de *B. ovis* en condiciones de laboratorio que represente una cepa de referencia para los estudios de efectividad de compuestos antiparasitarios. Estos resultados posibilitarán diseñar e implementar estrategias adecuadas para el control de poblaciones de *B. ovis* en la Patagonia argentina.

Objetivos específicos

Este proyecto propone tres objetivos específicos:

- 1) Evaluar la susceptibilidad de *B. ovis* a los distintos antiparasitarios disponibles en el mercado para su control.
- 2) Establecer una cepa de laboratorio de *B. ovis* para ser utilizada como referencia susceptible en ensayos toxicológicos.
- 3) Diseñar e implementar un protocolo de evaluación de susceptibilidad o resistencia a los productos antiparasitarios actualmente usados para el control de *B. ovis*.

Resultados esperados

Se esperan obtener los siguientes resultados:

- a) Confección de un mapa de efectividad de productos disponibles para el control de *B. ovis*. Se busca que este mapa constituya una referencia para definir las herramientas óptimas para el control de *B. ovis* en cada región o majada, ya que la información disponible indicará la efectividad actual y los resultados esperables de la aplicación de cada tratamiento.
- b) Protocolo de monitoreo de susceptibilidad y resistencia desarrollado y probado en majadas de Patagonia argentina, para su aplicación regular en el monitoreo de efectividad antiparasitaria.
- c) Cría de laboratorio de *B. ovis* que será utilizada como referencia para el seguimiento de la

susceptibilidad a los productos actuales y la prueba de compuestos alternativos.

- d) Transferencia de resultados al sector agropecuario con el fin de contribuir a la sanidad animal a través de una mejora en las estrategias de control usadas sobre el parásito ovino *B. ovis*.

Metodología propuesta

A continuación se presentan las principales actividades propuestas:

- 1) **Recolección de material biológico.** Los individuos de *B. ovis* serán recolectados manualmente mediante el corte de muestras de lana y serán trasladados al laboratorio para su acondicionamiento y utilización en ensayos de respuesta a antiparasitarios. Los individuos asignados al desarrollo de la cría estable serán obtenidos de cinco ovinos parasitados *ad hoc* y mantenidos en la estación Experimental de la EEA INTA Bariloche.

- 2) **Evaluación toxicológica de la efectividad parasiticida.** El bioensayo consistirá en la exposición de ejemplares recientemente colectados a superficies impregnadas con parasiticidas de uso frecuente como la cipermetrina (piretroide) y el diazinon (fosforado). El protocolo por utilizar será establecido *in situ*, pero basado en el protocolo propuesto por Levot *et al.* (Levot y Hughes, 1990). Se utilizará 1 ml de soluciones de concentración creciente de parasiticida en acetona para impregnar cuadrados de tela de algodón de 6x6 cm. Se usarán, como mínimo, cuatro concentraciones de parasiticida y un control que consistirá en la impregnación con acetona pura. Grupos de 10 adultos de *B. ovis* serán confinados en un aro de vidrio de 5 cm de diámetro sobre la tela impregnada, durante 16 horas. Las condiciones de laboratorio durante este lapso serán de oscuridad, 34 °C y humedad relativa del 70 %. La mortalidad será definida como la incapacidad de realizar movimiento por sí o mediante estimulación mecánica con un pincel al cabo del tiempo citado.

- 3) **Determinación de la línea base de susceptibilidad.** Los resultados obtenidos mediante los bioensayos

serán analizados utilizando el método Probit, con el software Polo Plus (LeOra, 2007; Robertson *et al.*, 2007). Este método permite establecer la dosis letal 50 % (DL₅₀), que indica la cantidad de insecticida necesaria para eliminar la mitad de los insectos de una población.

4) **Determinación de la existencia de resistencia a parasiticidas.** La relación entre la DL₅₀ de una población de *B. ovis* recolectada en majadas en estudio y la de una población susceptible de referencia indicará el grado de resistencia, es decir, la cantidad de veces que se debe aplicar la dosis normal para eliminar la mitad de la población en estudio. En los casos en que no se disponga de cepa de laboratorio, la comparación será llevada a cabo tomando como referencia la línea base de susceptibilidad en campo.

5) **Establecimiento de la cepa susceptible de referencia.** Las tareas de monitoreo de resistencia requieren la comparación con individuos naturalmente susceptibles al compuesto en estudio. Considerando las dificultades metodológicas de la colecta de ptiirapteros no controlados químicamente, uno de los objetivos es establecer una cepa de laboratorio a partir del protocolo de cría propuesto por Hopkins (Hopkins y Chamberlain, 1972). Los adultos de *B. ovis* recolectados en los ovinos parasitados *ad hoc* en la estación Experimental de la EEA INTA Bariloche serán utilizados para establecer las condiciones para una cría de laboratorio. Se colectarán *B. ovis* que serán mantenidos en recipientes de cría con distintos medios compuestos por lana, detritos cutáneos de oveja o cabra, o levadura en polvo. Los detritos cutáneos serán obtenidos mediante raspaje de la piel de individuos criados en las instalaciones de INTA. Los insectos serán mantenidos en una cámara ambiental con condiciones iniciales de 34 °C, 12-12 horas de luz-oscuridad y 60-70 % de humedad relativa. Las características ambientales y las proporciones de alimento serán ajustadas hasta obtener un balance adecuado para la cría de esta especie. Se elegirá el medio que ofrezca la mayor supervivencia y fecundidad de los grupos de los insectos, variables que serán medidas bajo lupa estereoscópica mediante conteo de individuos vivos y huevos depositados.

Conclusión

El estudio de la efectividad de compuestos insecticidas para el control de parásitos de ganado representa una deuda en nuestro país debido a la importancia económica de estos insectos sobre una de las principales actividades productivas actuales. Durante el curso del proyecto, se espera avanzar en el conocimiento de la biología y toxicología de *B. ovis*, con foco en las herramientas disponibles para el control de este parásito. También se espera desarrollar un protocolo de monitoreo de efectividad parasiticida y un protocolo de cría artificial para el mantenimiento de una cepa de referencia toxicológica de esta especie. Los resultados obtenidos podrán ser utilizados para optimizar las medidas de control de *B. ovis*. Además, la continuidad en el monitoreo de efectividad de antiparasitarios permitirá la toma proactiva de decisiones y la mejora en la cría de ovinos.

Por su parte, las recomendaciones en cuanto al control químico serán de utilidad como guía en la elección de los tratamientos, y la disponibilidad de una cría de *B. ovis* en laboratorio posibilitará iniciar y continuar estudios respecto de la biología del insecto, que será usada como herramienta para el desarrollo de compuestos alternativos de producción nacional.

Bibliografía

- Audino, P. G., Barrios, S., Vassena, C., Cueto, G. M., Zerba, E. y M. I. Picollo (2005), "Increased monooxygenase activity associated with resistance to permethrin in *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina", *Journal of Medical Entomology*, 42, pp. 342-345.
- Barros, A. T. M., Ottea, J., Sanson, D. y L. D. Foil (2001), "Horn fly (Diptera: Muscidae) resistance to organophosphate insecticides", *Veterinary Parasitology*, 96, pp. 243-256.

- Bulman, M. G. y J. C. Lamberti (2001), “La falsa garrapata del ovino (*Melophagus ovinus*, Linneaus 1758) (Diptera: Hippoboscidae), ectoparásito de creciente importancia económica en la Patagonia Argentina”, en *Manual Técnico*, Argentina, Asociación Argentina de Parasitología Veterinaria.
- Germano, M. D., Acevedo, G. R., Cueto, G. A. M., Toloza, A. C., Vassena, C. V. y M. I. Picollo (2010), “New findings of insecticide resistance in *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) from the Gran Chaco”, *Journal of Medical Entomology*, 47, pp. 1077-1081.
- Germano, M. D. et al. (2012), “Scientific evidence of three different insecticide-resistant profiles in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) populations from Argentina and Bolivia”, *Journal of Medical Entomology*, 49, pp. 1355-1360.
- Guglielmone, A. A., Castelli, M. E., Volpogni, M. M., Anziani, O. S. y A. J. Mangold (2002), “Dynamics of cypermethrin resistance in the field in the horn fly”, *Haematobia irritans*. *Medical and Veterinary Entomology*, 16, pp. 310-315.
- Hopkins, D. E. y W. F. Chamberlain (1972), “Sheep Biting Louse: Notes on the Biology of Lice Reared Off the Host”, *Annals of the Entomological Society of America*, 65, pp. 1182-1184.
- James, P. J., Cramp, A. P. y S. E. Hook (2008), “Resistance to insect growth regulator insecticides in populations of sheep lice as assessed by a moulting disruption assay”, *Medical and Veterinary Entomology*, 22, pp. 326-330.
- Kettle, P. R. y J. M. Lukies (1982), “Long-term effects of sheep body lice (*Damalinia ovis*) on body weight and wool production”, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 25, pp. 531-534.
- Larroza, M. (2013), “Caracterización de la melofagosis en ovinos en la región patagónica: ciclo biológico, dinámica poblacional y distribución”, La Plata, Universidad Nacional de La Plata.
- LeOra Software (2007), *Polo Plus, probit and logit analysis: user's guide*, California, LeOra Software.
- Levot, G. (2012), “Unstable pyrethroid resistance in sheep body lice *Bovicola ovis* (Schrank), (Phthiraptera: Trichodectidae) and its implications for lice control on sheep”, *Veterinary Parasitology*, 185, pp. 274-278.
- Levot, G. W. y P. B. Hughes (1990), “Laboratory studies on resistance to cypermethrin in *Damalinia ovis* (Schrank) (Phthiraptera: Trichodectidae)”, *Australian Journal of Entomology*, 29, pp. 257-259.
- Levot, G. W., Johnson, P. W., Hughes, P. B., Powis, K. J., Boray, J. C. y K. L. Dawson (1995), “Pyrethroid resistance in Australian field populations of the sheep body louse, *Bovicola* (*Damalinia*) *ovis*”, *Medical and Veterinary Entomology*, 9, pp. 59-65.
- Pearse, B. G. H. y T. E. Carpenter (1994), “The argument for government involvement in sheep lice control”, *Wool technology and sheep breeding*, 42, pp. 129-143.
- Piccolo, M. I., Vassena, C., Orihuela, P. S., Barrios, S., Zaidemberg, M. y E. N. Zerba (2005), “High resistance to pyrethroid insecticides associated with ineffective field treatments in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Northern Argentina”, *Journal of Medical Entomology*, 42, pp. 637-642.
- Piccolo, M. I., Vassena, C. V., Cueto, G. A. M., Vernetti, M. y E. N. Zerba (2000), “Resistance to insecticides and effect of synergists on permethrin toxicity in *Pediculus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Buenos Aires”, *Journal of Medical Entomology*, 37, pp. 721-725.

Robertson, J. L., Russell, R. M., Preisler, H. K. y N. E. Savin (2007), *Bioassays with arthropods*, USA, CRC Press.

Roush, R. T. y B. E. Tabashik (1990), *Pesticide resistance in arthropods*, New York.

Wilkinson, F. C., de Chanéet, G. C. y B. R. Beetson (1982), “Growth of populations of lice, *Damalinia ovis*, on sheep and their effects on production and processing performance of wool”, *Veterinary Parasitology*, 9, pp. 171-177.