



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DOCTOR EN BIOLOGÍA

Pediculosis: una problemática actual de salud pública.

Prevalencia del *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) en Jardines de Infantes de la ciudad de Bahía Blanca y el uso de aceites esenciales como potenciales agentes de control.

Licenciada María Mercedes Gutiérrez

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2014



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DOCTOR EN BIOLOGÍA

Pediculosis: una problemática actual de salud pública.

Prevalencia del *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) en Jardines de Infantes de la ciudad de Bahía Blanca y el uso de aceites esenciales como potenciales agentes de control.

Licenciada María Mercedes Gutiérrez

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2014

Prefacio

Esta tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otras. La misma contiene resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Laboratorio de Zoología de Invertebrados II, dependiente del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, durante el período comprendido entre Septiembre de 2008 y Septiembre de 2014, actuando como Directora de tesis, la Dra. Adriana A. Ferrero. La Dra. Ferrero es Profesora Adjunta con Dedicación Exclusiva de la asignatura “Zoología de Invertebrados II”, del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur.

Lic. María Mercedes Gutiérrez



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el/...../....., mereciendo la calificación de(.....)

Agradecimientos

No te rindas (extracto)

*No te rindas, aún estas a tiempo
de alcanzar y comenzar de nuevo,
aceptar tus sombras, enterrar tus miedos,
liberar el lastre, retomar el vuelo.*

*No te rindas que la vida es eso,
continuar el viaje,
perseguir tus sueños,
destrabar el tiempo,
correr los escombros y destapar el cielo.*

Mario Benedetti

A mis padres, porque el camino que he recorrido hasta el día de hoy, se lo debo a las personas que me dieron la vida, que con amor y respeto, me inculcaron valores para ser la persona que hoy soy.

A la Dra. Adriana A. Ferrero, por ser mi directora de tesis, compañera y amiga, por permitirme desarrollar mi trabajo libremente, sin presiones y a mis tiempos, por respetar y comprender mis prioridades, por su nobleza y humildad. Simplemente gracias, por aceptarme tal cual soy, por acompañarme en mis logros y fracasos, por celebrar mis alegrías y compartir mis tristezas y jamás juzgarme por mis errores.

A la Dra. Natalia Stefanazzi y al Dr. Jorge Werdin, por ser “incondicionales”, gracias por acompañarme, alentarme, contenerme, por hacerme reír cuando quería llorar, por escucharme, cuidarme; solo les puedo decir que fue y será un placer seguir compartiendo con ustedes tantas horas de trabajo. Por todo esto y mucho más GRACIAS.

En particular al Dr. Jorge Werdin González, por sus correcciones, sugerencias y opiniones, por su lectura crítica, y su invaluable apoyo.

A la Dra. Cristina Bras por su colaboración desinteresada y compartir sus conocimientos, por disponer de su tiempo y permitirme sortear algunos obstáculos.

A mis compañeros de laboratorio, Elena, Patricia, Gaby, Sofía, Sabrina y Nelson por tanto tiempo y mates compartidos.

A mi familia, Rubén, Martín y Antonela, por acompañarme en este momento de mi vida y de manera especial a mi hija Antonela, quien me alentaba constantemente, por tener siempre la palabra justa en el momento justo, por darme su apoyo cada vez que lo necesitaba.

A Betty por estar permanente a mi disposición y acompañarme con su presencia en este camino.

A los Inspectores de la Jefatura Distrital, por facilitarme la autorización para ingresar a los Jardines de Infantes de la ciudad de Bahía Blanca.

A todos los niños y niñas que me prestaron sus cabecitas desinteresadamente, por sus medias palabras, por no quejarse, por compartir su tiempo, amor y alegrías.

Al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur.

Al Laboratorio de Zoología de Invertebrados II, de la Universidad Nacional del Sur, por permitirme el espacio físico para desarrollar mi Tesis Doctoral.

A la Secretaría de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional del Sur.

A la Secretaría General de Cultura y Extensión Universitaria. Programa de Voluntariado, Universidad Nacional del Sur.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional y personal a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, por eso quiero agradecerles por formar parte de mi vida y por todo lo que me han brindado.

Resumen

El piojo de la cabeza, *Pediculus humanus capitis* De Geer (Anoplura: Pediculidae) es un problema de salud pública en todo el mundo. Este ectoparásito obligado infesta generalmente a los niños en edad escolar. En este trabajo se investigó la prevalencia de esta enfermedad en los jardines de infantes de la ciudad de Bahía Blanca y los factores de riesgo asociados; además se abordaron alternativas de control para este insecto por medio de insecticidas botánicos.

De un total de 220 alumnos examinados (125 niñas y 95 varones), 94 mostraron pediculosis. La prevalencia general de la infestación de piojos fue de 42,7%. La pediculosis fue más frecuente en las niñas (53,6%) que en los varones (28,4%) y en pelos medianos, largos y muy largos. No se encontraron diferencias entre las clases socio-económicas, lo que indica que los piojos de la cabeza son relativamente comunes en los jardines de infantes de Bahía Blanca.

El control mundial de *P. h. capitis* depende sobre todo de las aplicaciones continuas de insecticidas sintéticos. Aunque estos pediculicidas son aún eficaces, su uso repetido ha dado como resultado el desarrollo de resistencia. Estos problemas corroboran la necesidad de desarrollar un control selectivo. Los compuestos naturales, tales como aceites esenciales se han sugerido como fuentes alternativas para el control de estos insectos.

En este trabajo, se evaluó la actividad adulticida y ovicida de los aceites esenciales (AEs) de hojas y frutos de *Schinus areira*, y hojas de *Thymus vulgaris*, *Aloysia polystachia* y *Aloysia citriodora* en adultos y huevos de *P. h. capitis*, utilizando bioensayos por exposición a vapores y a superficies tratadas.

En los bioensayos por exposición a vapores, todos los AEs mostraron toxicidad frente a ambos estados. Sobre la base de los valores de TV₅₀ (Tiempo de volteo 50), las hojas y frutos de *S. areira* fueron los más tóxicos en adultos y los AEs de *S. areira* y *T. vulgaris*, los más efectivos en huevos.

En los bioensayos por exposición a superficies tratadas (sobre papel de filtro), el AE de *T. vulgaris* fue más tóxico que los demás aceites en huevos y adultos; los AEs de hojas y frutos de *S. areira* no mostraron efectos en ambos estados.

Para introducir un pediculicida en el mercado es necesario analizar la efectividad de los compuestos y el efecto de éstos sobre el ser humano y el ambiente. Teniendo en cuenta estos conceptos, se realizaron pruebas de corrosión / irritación dérmica en conejos albinos de Nueva Zelanda. Los aceites esenciales no produjeron ni corrosión ni irritación en piel.

Según los resultados obtenidos en este trabajo, el aceite esencial de hojas de *T. vulgaris* podría convertirse en una herramienta válida para el control de *P. h. capitis*, dado que a baja concentración y aplicado durante veintiún minutos, este AE produce un alto efecto de volteo en adultos (seguido de la mortalidad) y toxicidad en huevos. Por otra parte, este AE no genera corrosión / irritación cutánea.

Abstract

The human head louse, *Pediculus humanus capitis* De Geer (Anoplura: Pediculidae) is a worldwide public health concern. This human obligate ectoparasite usually infests school age children. The aims of this work were to evaluate the prevalence of head lice and risk factors in kindergarten children from Bahia Blanca city. Otherwise, alternative control methods based on botanic insecticide were investigated.

From a total of 220 pupils examined (125 girls and 95 boys), 94 showed pediculosis. The overall prevalence of head lice infestation was 42.7%. Pediculosis was more frequent in girls (53.6%) than in boys (28.4%) and in medium, long and very long hairs. No differences were found between socio-economic classes. This indicated that head lice in kindergarten from Bahía Blanca are relatively common.

In recent years, *P. h. capitis* infestations have been increasing. The main worldwide control of this insect depends on synthetic insecticides continued applications. Although these pediculicides are still effective, their repeated use has sometimes resulted in the development of resistance. Natural compounds such as essential oils have been suggested as alternative sources for insect control agents.

The adulticidal and ovicidal activity of essential oils (EOs) from leaves and fruits of *Schinus areira* and leaves of *Thymus vulgaris*, *Aloysia polystachia* and *Aloysia citriodora* were evaluated against both stages of *P.h capitis* through fumigant and direct contact bioassays.

All EOs showed toxicity against adults and eggs in fumigation tests. On the basis of KT_{50} (knockdown of 50%) values, leaves and fruits from *S. areira* were more toxic against adults and *S. areira* and *T. vulgaris* against eggs.

In filter paper contact bioassay, the EO from *T. vulgaris* was more toxic than the other ones against eggs and adults. When EO from leaves and fruits of *S. areira* were evaluated on both stages, no mortality was observed.

In order to introduce a new pediculicide product, the effectivity of the compounds and their effects on human being and the environment must be analyzed.

In consequence, dermal corrosion/irritation tests were improved in New Zealand albino rabbits. Results indicated that the EOs not produced these effects.

According with the results, the essential oils from leaves of *T. vulgaris* would be a valid tool for the management of *P. h. capitis*. This essential oil produces a high knockdown effect in adults (followed by mortality) and toxicity in eggs when is applied for twenty one minutes and at a low concentration. No dermal corrotion/irritation was observed.

Índice General

Prefacio	I
Agradecimientos	II
Resumen	V
Abstract	VII
Índice de Contenidos	IX
Índice de Figuras	XII
Índice de Tablas	XIII

Índice de Contenidos

1. INTRODUCCION GENERAL	2
1.1 Los Artrópodos y el hombre	2
1.2 Evolución y Sistemática de los Phthiraptera	5
1.2.1 Posición sistemática de <i>Pediculus humanus capitis</i>	7
1.3 Morfología de <i>Pediculus humanus capitis</i>	12
1.3.1 Morfología del huevo (liendre) y desarrollo embrionario	12
1.3.2. Morfología externa del adulto	13
1.3.2.1 Cabeza	14
1.3.2.2 Tórax	16
1.3.2.3 Abdomen	16
1.3.3 Diferencias sexuales	16
1.3.4 Morfología interna	19
1.4 Biología del <i>Pediculus humanus capitis</i>	22
1.5 Factores que influyen en el desarrollo de <i>Pediculus humanus capitis</i>	25
1.5.1 Temperatura y humedad relativa	25
1.5.2 Nutrición.....	25

2. PREVALENCIA DE <i>Pediculus humanus capitis</i> EN BAHÍA BLANCA, BUENOS AIRES, ARGENTINA	28
2.1 Introducción	28
2.2.1 Objetivo general	32
2.3 Materiales y Métodos.....	33
2.3.1 Análisis estadístico	39
2.4 Resultados	40
2.5 Discusión	44
3. ALTERNATIVAS PARA EL CONTROL DE <i>Pediculus humanus capitis</i>	50
3.1 Introducción	50
3.1.1 Insecticidas neurotóxicos convencionales	51
3.1.1.1 Organoclorados.....	51
3.1.1.2 Piretroides.....	53
3.1.1.3 Organofosforados	54
3.1.2 Insecticidas no convencionales	54
3.1.3 Resistencia a insecticidas.....	57
3.1.4 Insecticidas botánicos	58
3.1.4.1 Aceites esenciales	61
3.1.5 Especies vegetales en estudio.....	66
3.1.5.1 <i>Schinus areira</i> L. (Anacardiaceae)	66
3.1.5.2 <i>Thymus vulgaris</i> L. (Lamiaceae).....	67
3.1.5.3 <i>Aloysia citriodora</i> Palau (Verbenacea)	69
3.1.5.4 <i>Aloysia polystachya</i> (Griseb.) Moldenke (Verbenacea).....	70
3.2.1 Objetivos generales	73
3.3 Materiales y Métodos.....	74
3.3.1 Insectos.....	74
3.3.2 Material vegetal	74
3.3.3 Obtención y caracterización de los AEs	75
3.3.4 Bioensayos de Toxicidad.....	79
3.3.4.1 Toxicidad por exposición a vapores en adultos y huevos de <i>P. h. capitis</i>	79
3.3.4.2 Toxicidad por exposición a superficies tratadas en adultos y huevos de <i>P. h. capitis</i>	81

3.4 Resultados	84
3.4.1 Toxicidad por exposición a vapores en adultos de <i>P. h. capitis</i>	84
3.4.2 Toxicidad por exposición a vapores en huevos de <i>P. h. capitis</i>	85
3.4.4 Toxicidad por exposición a superficies tratadas en huevos de <i>P. h. capitis</i>	90
3.4.5 Análisis comparativo entre los AEs según la vía de exposición.....	93
3.5 Discusión	95
4. ENSAYO DE IRRITACIÓN/CORROSIÓN AGUDA POR VÍA DERMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES	109
4.1 Introducción	109
4.1.1 Evaluación de la toxicidad de insecticidas.....	111
4.2. Objetivo general	114
4.3 Materiales y Métodos.....	115
4.3.1 Animales de experimentación	115
4.3.2 Diseño experimental	115
4.4 Resultados	118
4.5 Discusión	120
5. CONCLUSIONES GENERALES	123
6. BIBLIOGRAFÍA	127
7. APÉNDICE	163

Índice de Figuras

1.1 Apariencia externa de los huevos de <i>P. h. capitis</i> en diferentes estadios de desarrollo....	13
1.2 Morfología general de <i>P. h. capitis</i>	14
1.3 Parte terminal de la pata anterior de <i>P. h. capitis</i>	17
1.4 Extremo posterior del abdomen de <i>P. h. capitis</i>	18
1.5 Aparato copulador del macho evertido.....	19
1.6 Sección longitudinal de la cabeza de <i>P. h. capitis</i>	20
1.7 Ciclo biológico de <i>P. h. capitis</i>	24
2.1 Observación de la manifestación clínica denominada “plica polónica”.....	29
2.2 Ubicación geográfica de la ciudad.....	33
2.3 Ficha epidemiológica	38
2.4 Prevalencia de <i>Pediculus humanus capitis</i> según el sexo.....	40
2.5 Prevalencia de pediculosis en relación a la longitud del pelo.....	42
2.6 Porcentaje de niños según el grado de infestación	43
2.7 Relación entre los grados de infestación y el género	43
3.1 Efectividad por exposición a vapores de los AEs en adultos de <i>P. h. capitis</i>	85
3.2 Regresión lineal entre la toxicidad de los vapores de los AEs en adultos (TV ₅₀) y en huevos (% de mortalidad) de <i>P. h. capitis</i>	87
3.3 Regresión lineal entre la toxicidad por contacto de los AEs en adultos (TV ₅₀) y en huevos (% de mortalidad) de <i>P. h. capitis</i>	93
4.1 Efecto dérmico del AE de <i>T. vulgaris</i> en test <i>in vivo</i> de corrosión / irritación. A: 3 min, B: 1 h, C: 4 h de exposición.....	119

Índice de Tablas

1.1 Clasificación del Orden Phthiraptera.....	9
2.1 Necesidades, dimensiones, variables e indicadores de NBI.....	35
2.2 Prevalencia de pediculosis según los estratos socioeconómicos.....	41
3.1 Composición química de los AEs según los grupos funcionales de las moléculas constituyentes.....	62
3.2 Composición química de los aceites esenciales.....	77
3.3 Valores de TV ₅₀ en adultos de <i>P. h. capitis</i> expuestos a vapores de los AEs cada 5 minutos durante 1 hora.....	84
3.4 Valores del P.I.E en huevos de <i>P. h. capitis</i> expuestos a vapores de los AEs durante 24 hs. de exposición.....	86
3.5 Toxicidad por exposición a superficies tratadas con los AEs en adultos de <i>P. h. capitis</i> cada 5 minutos durante 1 hora.....	89
3.6 Toxicidad por exposición a superficies tratadas con los AEs en huevos de <i>P. h. capitis</i> durante 24 horas.....	92
3.7 Análisis comparativo entre los AEs según la vía de ingreso.....	94
4.1 Sistema de puntuación para describir la formación de eritema y/o edema luego de la exposición dérmica a los AEs.....	117
4.2 Efectos observados en la piel de conejo expuesta a los aceites esenciales.....	118

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCION GENERAL

1.1 Los Artrópodos y el hombre

El Phylum Arthropoda contiene el mayor número de especies de todo el Reino Animal comprendiendo más de los tres cuartos de todas las especies conocidas (Morrone & Coscarón, 1998; Gilbert *et al.*, 1999). El primer artrópodo probablemente surgió en el Precámbrico hace unos 600 millones de años. Desde entonces, estos organismos experimentaron una gran radiación evolutiva, y hoy en día, ocupan todos los ambientes del mundo y explotan todos los estilos de vida imaginables (Ruppert *et al.*, 2003). En la actualidad se encuentran registradas 1.096.660 especies y probablemente queden por determinar muchas más (Gilbert *et al.*, 1999; Grimaldi & Engel, 2006).

Los artrópodos incluyen a los quelicerados, crustáceos, miriápodos e insectos (Kondratieff & Black IV, 2005).

En particular, los insectos son el grupo más extenso de animales en la tierra como consecuencia de su diversidad taxonómica (Scholwalter, 2006; Adler & Footitt, 2009), aparecieron sobre la superficie terrestre en el Devónico, hace aproximadamente unos 400 millones de años y a partir de este momento experimentaron una profunda diversificación alcanzando una prosperidad insospechada (Bentancourt *et al.*, 2009). Colonizaron todos los nichos, tanto terrestres como acuáticos, exceptuando la superficie del mar y la región litoral, pudiendo vivir en lugares donde otros animales o plantas les son imposibles existir. Podemos inferir

entonces, que los insectos “gobiernan” el planeta Tierra y que su diversidad y abundancia desafían la imaginación (Ruppert *et al.*, 2003; Goddard, 2008).

El gran éxito evolutivo de esta clase puede atribuirse a varios factores: una epicutícula cérica que reduce la deshidratación; una cáscara del huevo resistente que le permite la exposición a condiciones ambientales adversas; un proceso de metamorfosis que le facilita a los estados larvales utilizar diferentes recursos que los adultos (en los insectos holometábolos); y la capacidad de volar que dotó a los insectos pterigotos de una gran ventaja sobre los otros grupos de invertebrados terrestres, lo que favoreció ampliamente la dispersión, la huida de los depredadores, y el acceso al alimento o a condiciones ambientales óptimas (Ruppert *et al.*, 2003; Gillott, 2005; Schowalter, 2006).

Los insectos se han asociado con el ser humano y sus actividades desde el inicio de la historia generando por medio de estas interacciones bióticas resultados perjudiciales y beneficiosos para la especie humana (Montgomery, 1959; Cloudsley-Thompson, 1988; Moreno Marí *et al.*, 2007).

Desde el punto de vista sanitario los insectos pueden provocar daños directos, al actuar como agentes patógenos, ponzoñosos y/o alergizantes o al alimentarse de los fluidos o tejidos de un vegetal o animal (incluido el hombre), o pueden ocasionar daños indirectos, al actuar como vectores (Fernández-Rubio, 1999; Bueno Marí *et al.*, 2009). Muchos de estos organismos han ocupado, ocupan y ocuparán, un lugar destacado entre las mayores amenazas para la Salud Pública (Bueno Marí *et al.*, 2009). La estrecha relación entre los insectos y el hombre se produjo por que este último transformó progresivamente el medio ambiente y los ecosistemas primitivos, de

manera tal que a lo largo de la historia se produjo una aglomeración creciente de la población, llevando a la consolidación de núcleos urbanos en permanente expansión. Este aumento en la densidad demográfica trae aparejado importantes modificaciones en el entorno con incidencia sobre la dinámica de las especies animales antropofílicas (Moreno Marí *et al.*, 2007). Paralelamente a esto, las condiciones de hacinamiento asociado muchas veces a la pobreza, permite una mayor interrelación entre los seres humanos y los insectos perjudiciales (insectos plagas), generando las oportunidades necesarias para la diseminación de los microorganismos patógenos vectorizados y de las enfermedades que estos producen (Gillot, 2005; Robinson, 2005; Moreno Marí *et al.*, 2007).

La condición de especie plaga en los ambientes urbanos se refiere al conjunto de seres vivos que perjudica una zona urbana, causando daños materiales, físicos o ecológicos, lo cual también acarrea problemas económicos (Moreno Marí *et al.*, 2007). La Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1988 define el concepto de “plaga urbana” como aquellas especies implicadas en la transferencia de enfermedades infecciosas para el hombre y en el daño o deterioro del hábitat y el bienestar urbano, cuando su existencia es continua en el tiempo y está por encima del umbral de tolerancia, que es el límite a partir del cual la densidad de la población que forma la plaga, es tal que sus individuos pueden provocar problemas sanitarios o ambientales, molestias, o bien pérdidas económicas (Moreno Marí *et al.*, 2007).

Dentro de las plagas de insectos urbanos con importancia para la salud humana se encuentra el piojo de la cabeza, *Pediculus humanus capitis* (De Geer, 1767), agente causal de la “pediculosis capitis”.

1.2 Evolución y Sistemática de los Phthiraptera

Los piojos son ectoparásitos obligados, y cada especie hospedadora posee un solo tipo de piojo. La evolución de los parásitos ocurre frecuentemente al mismo tiempo que los procesos de coespeciación de las especies de sus hospedadores (Grimaldi & Engel, 2006; Veracx & Rault, 2012). Cabe resaltar que estos insectos no pueden vivir independientemente de sus hospedadores (Weiss, 2009).

La diversidad de los piojos está asociada a la historia evolutiva del hombre. Los piojos han estado asociados al hombre por millones de años y se han dispersado a través del mundo con las primeras migraciones del hombre (Ascunce *et al.*, 2013).

El origen y evolución de los piojos es bastante oscuro debido a que la fosilización de los mismos depende en gran parte de la fosilización de sus hospedadores (Wappler *et al.*, 2004). El hallazgo de fósiles permite dar información sobre la edad de los piojos. Se presume que el origen de los mismos fue hace 66-320 millones de años (Ma) a fines del Cretácico.

En la Biblia, en el Viejo Testamento fue registrada como una de las tantas plagas que azotaron a Egipto (Driver, 1974). El huevo de piojo más antiguo fue hallado en un pelo de un yacimiento arqueológico en el noreste de Brasil hace 8.000 años ac. (Araújo *et al.*, 2000). El piojo *Megamenopon rasnitsyni* perteneciente a la familia Menoponidae, orden Amblycera fue hallado en una formación del Eoceno ($44,3 \pm 0,4$ Ma) (Wappler *et al.*, 2004; Boutellis *et al.*, 2014). También Rivera *et al.*, (2008) reportó una gran infestación en 6 de 7 momias revisadas en Chinchorro (2000 años dc) al norte de Chile. En el sur de Perú, en Chiribaya encontraron en una población un rango de

infestación del 18 al 71% de *P. h. capitis*. Otro caso fue en momias de Maitas Chiribaya de Arica, Chile (Arriaza *et al.*, 2013).

Tradicionalmente al orden Phthiraptera se lo dividía en dos grupos o subórdenes: los piojos chupadores o Anoplura, parásitos exclusivos de mamíferos y piojos masticadores o Mallophagos, parásitos de aves y mamíferos (que incluye a los actuales subórdenes Ischnocera, Amblycera y Rhynchophthirina) (Lyal, 1985; Cruickshank *et al.*, 2001; Barker, *et al.*, 2003; Smith, 2004; Gillott, 2005; Clayton, *et al.*, 2008). Esta división se basó principalmente en la morfología de las piezas bucales y el modo de alimentación. Mientras los malófagos se alimentan de plumas, pelos y de secreciones de las glándulas sebáceas, mediante un aparato bucal de tipo masticador; los anopluros se alimentan exclusivamente de sangre con un aparato bucal succionador (Ferris, 1951; Cruickshank *et al.*, 2001; Gillott, 2005).

Tanto los piojos masticadores como los chupadores derivan de un grupo ancestral, el orden Psocoptera (piojos de los libros) (Boutellis *et al.*, 2014). Se estima que estos dos grupos sufrieron una divergencia en el Jurásico tardío o en el comienzo del Cretácico hace 100-150 Ma (Durden, 2008; Light *et al.*, 2010).

En la actualidad los piojos se encuentra bajo el orden Phthiraptera, que comprende cuatro subórdenes: Anoplura, Amblycera, Ischnocera y Rhynchophthirina, con sus respectivos géneros y especies (Cicchino & Castro, 1998; Linardi, 2001; Gillott, 2005; Clayton *et al.*, 2008).

1.2.1 Posición sistemática de *Pediculus humanus capitis*

La taxonomía es el área del conocimiento encargada de establecer las reglas de una clasificación que permite organizar la diversidad de los seres vivos, generando un sistema jerárquico, donde cada grupo o taxón tiene asociado una categoría y un conjunto de atributos (morfológicos, filogenéticos, paleontológicos, biológicos, de comportamientos y bioquímicos) que determinan la pertenencia de ciertos organismos a ese grupo. La nomenclatura es el sistema de nombres científicos que se aplica a los grupos ordenados taxonómicamente. La ciencia donde convergen la taxonomía y la nomenclatura es denominada sistemática y su objetivo es realizar revisiones biológicas que clasifican al material de manera filogenética.

La clasificación sistemática de los piojos ha tenido una historia larga y compleja, numerosos autores intentaron ubicar a estos insectos en un lugar adecuado dentro de la diversidad.

A continuación se ubica sistemáticamente al piojo según la clasificación de Durden & Musser, (1994).

Phylum Arthropoda

Subplylum Uniramea

Clase Insecta

Subclase Pterigota

Orden Phthiraptera

Suborden Anoplura

Familia Pediculidae Leach, 1817

Género *Pediculus* Linnaeus, 1758

Especie *Pediculus humanus* Linnaeus, 1758

Pediculus humanus capitis De Geer, 1778

Actualmente este orden agrupa más de 4900 especies de piojos, ectoparásitos de vertebrados homeotermos: aves y mamíferos, los que tienden a ser específicos de sus hospedadores. Es importante remarcar que algunos mamíferos como los monotremados, armadillos, osos hormigueros, murciélagos, cetáceos y sirenios carecen de piojos (Askew, 1971; Kim & Ludwig, 1978; Grimaldi & Engel, 2006).

La mayoría de los sistemáticos modernos concuerdan en que los piojos estén reunidos bajo cuatro subórdenes: 1) Anoplura, representados por 532 especies de parásitos exclusivos de mamíferos euterios reunidas en 15 familias; 2) Rhynchophthirina, con 3 especies de parásitos confinados a los elefantes de África y Asia y jabalíes bajo una misma familia ; 3) Ischnocera, con 2.683 especies en aves y 377 especies en mamíferos reunidas en cuatro familias y 4) Amblycera, con 1.182 especies en aves y 162 especies en mamíferos, agrupadas en seis familias (Lyal, 1985; Durden & Musser, 1994; Castro & Cicchino, 1998; Cruickshank *et al.*, 2001; Johnson *et al.*, 2002; Baker *et al.*, 2003; Gillott, 2005; Yoshizawa & Jonson, 2006; Clayton, 2008, Bentancourt *et al.*, 2009) (**Tabla 1**).

Tabla 1.1 Clasificación del Orden Phthiraptera. (Durden & Musser, 1994; Castro & Cicchino, 1998).

Suborden	Familias
Amblycera	Boopidae
	Gyropidae
	Laemobothriidae
	Menoponidae
	Ricinidae
	Trimenoponidae
Ischnocera	Phloptoridae
	Heptapsogasteridae
	Trichodectidae
	Trichophloptoridae
Rhyncophthirina	Haematomyzidae
Anoplura	Echinophthiriidae
	Haematopinidae
	Hamophthiriidae
	Microthoraciidae
	Enderleinellidae
	Ratemiidae
	Hoplopleuridae
	Polyplacidae
	Linognathidae
	Hybophthiridae
	Neolinognathidae
	Pecaroecidae
	Pedicinidae
	Pediculidae
Phthiriidae	

El suborden Anoplura (piojos chupadores) comprende ectoparásitos permanentes específicos que se adaptaron al microambiente de la superficie del hospedador y para ello exhiben numerosas adaptaciones morfológicas, tanto

estructurales como funcionales (Kim & Ludwig, 1978; Hahn *et al.*, 2000). Estos piojos presentan hematofagia obligatoria tanto los machos como las hembras y todos sus estados ninfales (Marcondes, 2011). Las variaciones intra e interespecíficas de los miembros de este taxón, así como sus límites de distribución geográfica y sus relaciones con los hospedadores son las variables biológicas más utilizadas al momento de generar hipótesis evolutivas, por lo que este “rompecabezas biológico” ha mantenido la atención de varios investigadores (Ferris, 1935, 1951; Retama-Salazar, 2006).

El hombre (*Homo sapiens*) es parasitado por dos géneros de piojos chupadores: uno lo comparte con el chimpancé (*Pan spp.*) y el otro con el gorila (*Gorilla gorilla*). Los piojos del hombre (*Pediculus humanus capitis* y *Pediculus humanus humanus*) y el piojo del chimpancé (*Pediculus schaeffi*) son miembros de la familia Pediculidae, y el piojo púbico del hombre (*Phthirus pubis*) y el piojo del gorila (*Phthirus gorillae*) pertenecen a la familia Phthiridae (Boutellis *et al.*, 2014). *Pediculus* y *Phthirus* son monofiléticos y taxa hermanos (Reed *et al.*, 2004; 2007).

El género *Pediculus*, presenta en el hombre una única especie *Pediculus humanus* (Linnaeus) con dos morfotipos, *P. h. capitis* (De Geer), piojo de la cabeza y *P. h. humanus* (Linnaeus) piojo del cuerpo o ropa (Kim *et al.*, 1986; Light *et al.*, 2008). Este último morfotipo ha evolucionado del primero invadiendo recientemente la región corporal con el advenimiento de la vestimenta en los humanos modernos (Kittler *et al.*, 2003). Ambos morfotipos son muy semejantes y tan sólo diferenciables por pequeños detalles morfométricos y diversas adaptaciones biológicas y ecológicas (Busvine, 1948; Burgess *et al.*; 2005; Boutellis *et al.*, 2014).

Los piojos de la cabeza ponen sus huevos en la base de los cabellos mientras que los del cuerpo prefieren oviponer en las fibras de la ropa antes que en el pelo corporal. La infestación por *P. h. humanus* es menos común que la ocasionada por *P. h. capitis* y se halla asociada principalmente a condiciones de pobreza y marginalidad; sin embargo la pediculosis corporal es sensiblemente más peligrosa que la capitis dado que el piojo del cuerpo es vector de al menos tres bacterias intracelulares patógenas *Rickettsia prowazekii* (Tifus epidémico), *Bartonella quintana* (Fiebre de las trincheras) las cuales pertenecen a un subgrupo de Proteobacterias y de espiroquetas para *Borrelia recurrente* (Fiebre recurrente) (Light *et al.*, 2008; Bonilla *et al.*, 2013; Boutellis *et al.*, 2014).

El *P. h. humanus*, *P. h. capitis* y *P. pubis* son ectoparásitos específicos y se alimentan exclusivamente de sangre humana. Esta adaptación estricta a un solo hospedador podría haber surgido de una co-evolución a largo plazo entre el parásito y su huésped, lo que implica, por ejemplo, el desarrollo de las partes bucales o adaptaciones específicas al sistema inmune del hospedador (Reed *et al.*, 2007).

El desarrollo del piojo de la cabeza y del cuerpo se realizó durante años exclusivamente sobre los seres humanos, sin embargo este último logró alimentarse con sangre de conejos y sustituir así a su hospedador definitivo en el laboratorio (Culpepper, 1948; Ben-Yakir *et al.*, 1994; Habedank, 1999).

1.3 Morfología de *Pediculus humanus capitis*

1.3.1 Morfología del huevo (liendre) y desarrollo embrionario

Los huevos son ovales, miden entre 0,8 - 1 mm de longitud por 0,3 mm de ancho aproximadamente, de color amarillo opalescente y operculados. El corión es transparente permitiendo ver el desarrollo del embrión en su interior (Buxton, 1946; Nutanson, 2008). Los huevos son cementados al pelo por una sustancia insoluble en agua, proteica y no quitinosa como se presumía (Barat & Scaria, 1962; Carter, 1990, Burkhart *et al.*, 1998, 1999a, 1999b, 1999c; Mehlhom *et al.*, 2011), que envuelve la vaina del pelo y al huevo en su totalidad, a excepción del opérculo. Este presenta de 7 hasta 11 aeropilos que permite la entrada de oxígeno al embrión (Burkhart *et al.*, 1999a). Los huevos están orientados en el mismo eje axial que el de los pelos, con el opérculo dirigido en dirección opuesta al cuero cabelludo, a una distancia del mismo que oscila entre 1-2 mm (Buxton, 1946; Ferris, 1951).

El desarrollo embrionario implica una serie de eventos relacionados con la diferenciación celular, el crecimiento y los procesos de morfogénesis, los cuales van acompañados de grandes cambios bioquímicos, genéticos, fisiológicos y morfológicos (Gilbert, 1997).

Para determinar las etapas de desarrollo de los huevos, se utilizaron características morfológicas y marcadores externos y en base a esto, se los ha diferenciados en huevos de desarrollo temprano, medio y tardío. Los principales cambios observados fueron el oscurecimiento de las manchas oculares y la aparición de los apéndices. Los primeros huevos (tempranos) se caracterizan por la ausencia de marcadores externos (**Fig. 1.1A**), los huevos medios presentan una mancha ocular

rojiza y esbozos de apéndices (**Fig. 1.1B**) y los huevos tardíos muestran ojos negros y apéndices claramente visibles (**Fig. 1.1C**) (Mougabure-Cueto *et al.*, 2006).

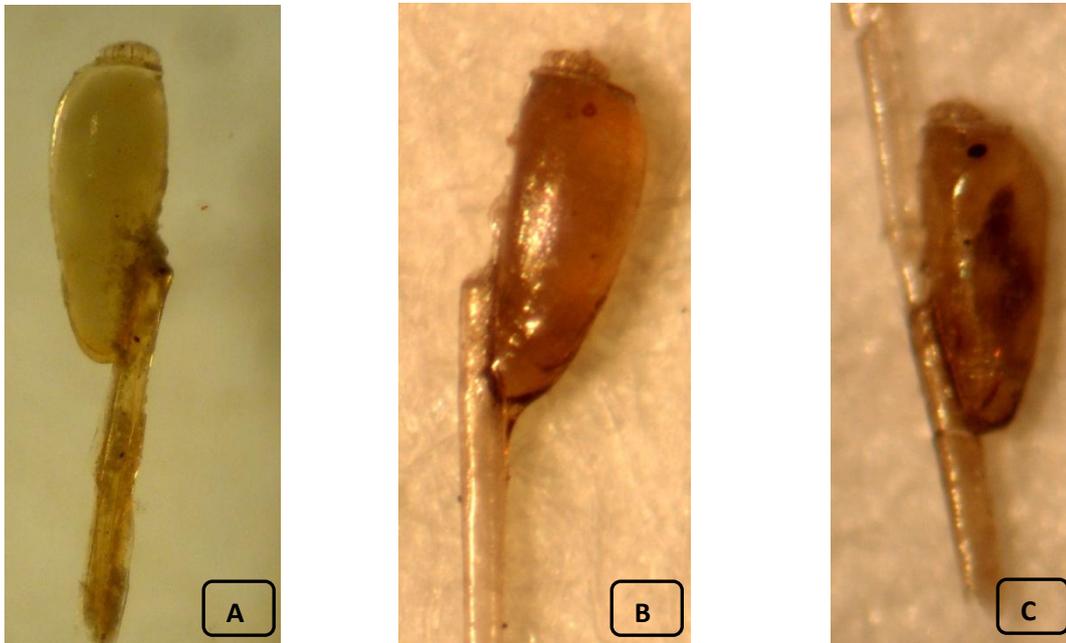


Figura 1.1 Apariencia externa de los huevos de *P. h. capitis* en diferentes estadios de desarrollo. **A:** desarrollo temprano, **B:** desarrollo medio y **C:** desarrollo tardío. Las manchas oculares son visibles en el estadio medio y tardío.

1.3.2. Morfología externa del adulto

Las distintas partes que componen el cuerpo de los piojos se muestra en la **Fig. 1.2**. La cabeza, el tórax y el abdomen están claramente separados uno de otro. El tamaño corporal varía entre 2-4 mm aproximadamente; siendo aplanados dorso ventralmente (Bentancour *et al.*, 2009).



Figura 1.2 Morfología general de *P. h. capitis*.

Los piojos de la cabeza son generalmente muy pigmentados, la intensidad del color la da el tipo de pelo donde se desarrollan, de modo tal que ese color no es una constante y probablemente no sea heredable; por otra parte, es frecuente que diferentes partes del cuerpo del piojo presenten distintos grados de pigmentación (Buxton, 1946).

1.3.2.1 Cabeza

La cabeza es pequeña y cónica, lleva un par de ojos ubicados lateralmente constituidos por uno o dos omatideos prominentes y pigmentados. Las antenas están

formadas generalmente por cinco artejos; presentan órganos y pelos sensoriales que fueron estudiados por Wigglesworth (1941).

La antena posee tres tipos de sensilas:

a) *Órganos peg*: se hallan ubicados en la quinta articulación de la antena en un número de nueve a diez. Su forma es angulosa, de paredes delgadas y la cavidad contiene un proceso o filamento agrupado dentro de células sensoriales.

b) *Órganos tuft*: estos se hallan confinados en las articulaciones cuarta y quinta de las antenas. Cada uno consta de un pequeño cono que se halla en una depresión poco profunda. En el vértice del mismo se halla un mechón de cuatro pelos pequeños; la base aparentemente está conectada por una varilla o filamento a un grupo de células sensoriales.

c) *Órganos scolopidiales*: se encuentran en el interior del segundo segmento de la antena. Se cree que son propioceptivos, es decir registran movimientos y tensiones, permitiéndole al insecto tener información acerca de la posición de la antena. No existen diferencias entre los órganos sensoriales presentes en las antenas de los machos y de las hembras (Miller, 1969; Slifer & Sekhon, 1980).

Además de los órganos mencionados poseen pelos táctiles en las antenas y otras partes del cuerpo.

Presentan un aparato bucal de tipo sucto-picador, carente de palpos maxilares.

1.3.2.2 Tórax

El tórax muestra pocos signos de segmentación externa. Hay un solo espiráculo que probablemente pertenece al protórax. La pata de *Pediculus*, es característica para todos los Anopluros, todas las partes de las patas son cortas y robustas, la tibia tiene un pulgar en la cara interna del vértice que porta espinas y pelos, el tarso tiene una única garra a lo largo de su concavidad. Entre el pulgar y la garra el piojo se sujeta al pelo del hospedador. Los tres pares de patas son semejantes en estructura (Buxton, 1946; Ferris, 1951).

1.3.2.3 Abdomen

Un examen superficial del abdomen permite observar que esta compuesto por siete segmentos. Poseen seis pares de espiráculos ubicados en los segmentos abdominales de 3 a 8. Todos los espiráculos, incluyendo los del tórax, poseen un sistema de cierre que funciona por compresión de la tráquea. Es muy probable que los piojos los cierren para evitar la pérdida de agua a través del sistema respiratorio (Buxton, 1946; Ferris, 1951).

1.3.3 Diferencias sexuales

Los machos y hembras adultos son fácilmente distinguibles. El macho es de menor tamaño que la hembra y presenta bandas transversales oscuras sobre el dorso del abdomen, en la hembra es relativamente más amplio. También hay considerable

diferencias en las patas (**Fig. 1.3 A y B**), la pata anterior del macho es mucho más robusta, y provista con un pulgar tibial grande.

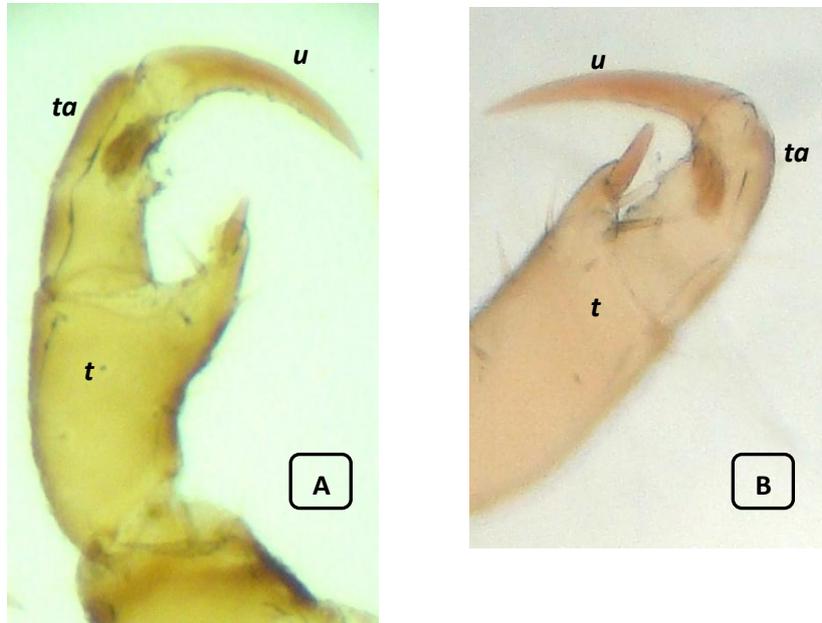


Figura 1.3 Parte terminal de la pata anterior de *P. h. capitis*. **A**: macho; **B**: hembra; *u*: uña; *ta*: tarso; *t*: tibia.

El extremo posterior del macho es redondeado, y la superficie ventral se curva hacia arriba de manera tal que el ano y el orificio sexual se enfrentan. En la abertura sexual se puede observar un punto oscuro que corresponde al dilatador (**Fig. 1.4 A**).

En la hembra, el extremo posterior termina en dos lóbulos grandes, que le dan una apariencia bilobulada. Ventralmente se observan un par de gonópodos a cada lado del orificio vaginal y un área pigmentada en forma de escudo correspondiente a la placa genital (**Fig. 1.4 B**) (Buxton, 1946; Ferris, 1951).

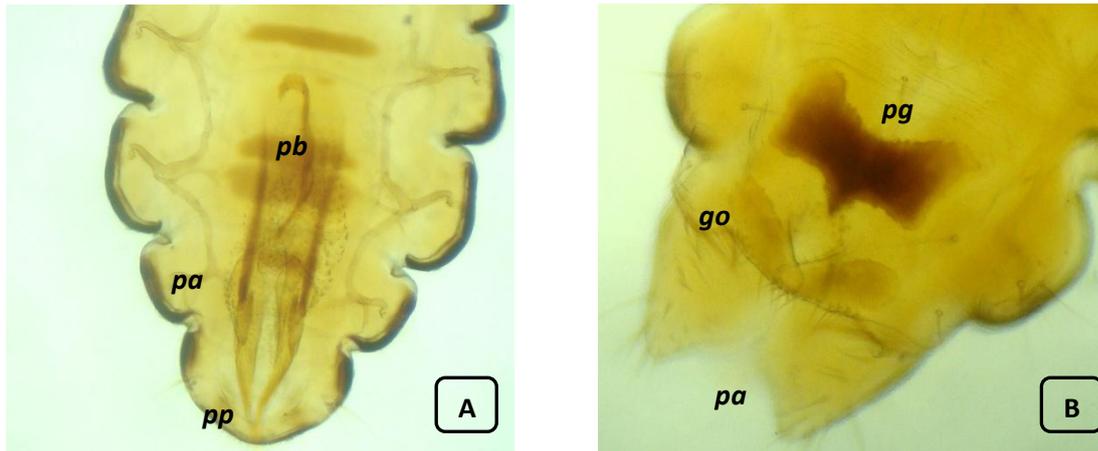


Figura 1.4 Extremo posterior del abdomen de *P. h. capitis*. **A:** aparato copulador del macho; **B:** hembra. *go*: gonópodos; *pa*: parámetros ; *pb*: placa basal; *pg*: placa genital; *pp* pseudopene.

Durante el apareamiento el macho se acerca a la hembra por detrás, camina hacia adelante por debajo de su abdomen, y la sujeta con el primer par de patas. Luego asumen una posición vertical, cabeza abajo. En ese momento el macho saca el dilatador que penetra profundamente en la vagina y se engancha en la misma. Luego el dilatador se retira y en ese momento el pene o aedeagus pasa a la vagina, anclándose a la misma por una serie de dentículos. Esto permite que estos insectos permanezca

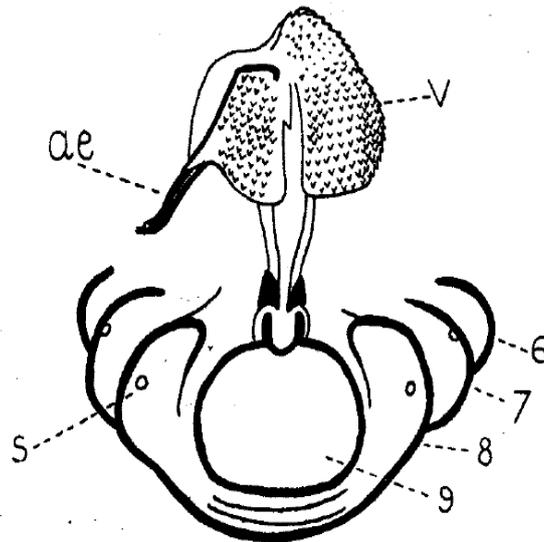


Figura 1.5 Aparato copulador del macho evertido. *ae*: aedeagus; *v*: vesica; *s*: espiráculo; 6-9 segmentos abdominales (Extraído de Buxton, 1946).

1.3.4 Morfología interna

Las piezas bucales están invaginadas dentro de la cabeza, excepto cuando el insecto se está alimentando (**Fig. 1.6**). En la parte frontal de la cabeza hay un pequeño tubo, el haustelo, este es eversible y está armado con dientes (Buxton, 1946).

El canal alimentario está separado en varias regiones: la anterior es un conducto bucal relativamente rígido; detrás se halla la bomba cibariana y la faringe que pueden moverse separadamente a través de músculos dorsales provenientes de la cápsula cefálica y separados entre sí. Por detrás de la faringe se encuentra el inicio del esófago que es angosto y carece de musculatura.

En la parte basal del conducto bucal está la apertura del saco de los estiletes. En este se ubican tres estiletes, uno por encima del otro. Se presume que los estiletes dorsales y ventrales son formados a partir de un rudimento de la segunda maxila, la

cual se une para formar el labio en la mayoría de los insectos. Estos estiletes son similares en forma y en su extremo libre poseen dientes afilados. Debajo del estilete superior se encuentra el estilete intermedio, un tubo fino formado por parte de la hipofaringe y el conducto salivar. Los tres estiletes son llevados hacia delante por medio de músculos protractores y cuando no son utilizadas están dentro de la cabeza.

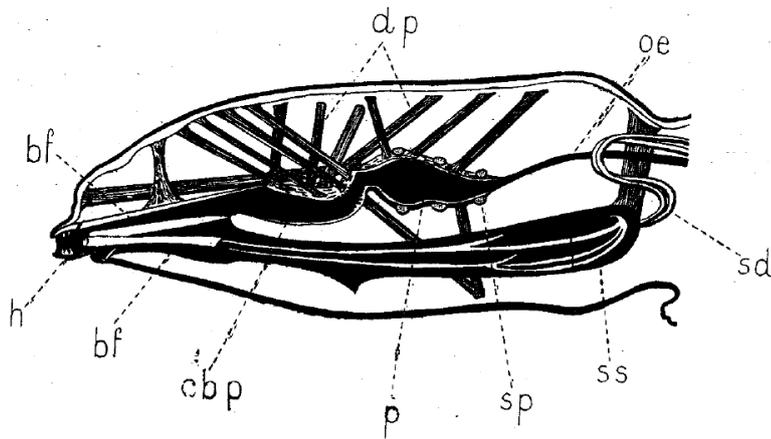


Figura 1.6 Sección longitudinal de la cabeza de *P. h. capitis*. *bf*: conducto bucal; *cbp*: bomba cibarial; *dp*: músculos dilatadores de la faringe; *h*: haustelo; *oe*: esófago; *p*: faringe; *sd*: canal salivar; *sp*: esfínteres; *ss*: saco de los estiletes (Extraído de Buxton, 1946).

Durante el proceso de alimentación la cabeza está deprimida y el haustelo empuja hacia fuera de modo que los dientes evertidos permiten anclar la cabeza del insecto a la epidermis del hospedador. Luego, los estiletes perforan la piel y el insecto libera saliva a través del estilete intermedio. Al perforar la dermis, la sangre llega a la boca del insecto por la propia presión sanguínea. La presión ejercida por los músculos de la bomba cibariana contribuye también a la succión. Cuando el insecto comienza a alimentarse, una pequeña cantidad de sangre pasa rápidamente desde el intestino medio al posterior.

Durante la digestión, todo el material nutricional obtenido de la sangre es mantenido en el intestino posterior. En la primera parte de este órgano, está el fluido y en la segunda parte, la cual está rodeada de papilas rectales, el agua es extraída de las heces y las mismas son defecadas como pellets secos adheridos entre sí.

El corazón se sitúa en la parte posterior del abdomen. Presenta dos o tres pares de ostíolos y se prolonga en una aorta estrecha que desemboca en la cabeza.

El sistema traqueal se abre al exterior a través de siete pares de espiráculos, uno torácico y seis abdominales. En razón de lo aplanado del cuerpo los espiráculos se han desplazados hacia la superficie dorsal.

El sistema nervioso se caracteriza por el grado de concentración que muestra. Los ganglios se agrupan en racimos de tejido conectivo, uno en el tórax y otro conteniendo ganglios metatorácicos y abdominales.

En las hembras, el aparato reproductivo está constituido por dos ovarios, cada uno formado por tres a cinco ovariolas. Los oviductos laterales dan lugar a un oviducto común que se expande para formar una vagina. Existen un par de glándulas accesorias, cuyas secreciones sirven para cementar los huevos a los pelos de sus huéspedes. Los machos presentan un par de testículos, que se continúan con los vasos deferentes; las vesículas seminales existen la mayoría de las veces; por último se encuentra el conducto eyaculador.

1.4 Biología del *Pediculus humanus capitis*

Los piojos son ovíparos, pertenecen al grupo de insectos con metamorfosis incompleta o hemimetábola, pasando por los estados de huevo, ninfa y adultos (**Fig. 1.7**).

Son parásitos estrictos, por lo tanto son incapaces de alimentarse y desarrollarse, fuera de sus hospedadores específicos sobre los que permanecen durante todos sus estados evolutivos.

Una vez producida la cópula, la hembra fecundada comienza con la postura de huevos a las 24 o 35 horas. Ovipone de 5 a 10 huevos por día y vive unos 30 días aproximadamente (Buxton, 1947; Bacot, 1917; Frankowski & Weiner, 2002; Betancourt *et al.*, 2009). Las liendres son adheridas al pelo preferentemente de la región occipital y retroauricular del hospedador.

Las hembras poseen un par de glándulas anexas al sistema reproductor que son las encargadas de producir el cemento para que el huevo quede adherido al pelo del hospedador. Estas glándulas constituyen un verdadero depósito de pegamento, que se vierte en el sistema reproductor al momento de la postura (Carter, 1990; Burkhart, 2002). Antes de la eliminación del huevo, la hembra con la ayuda de los lóbulos terminales o gonópodos, realiza la elección de los lugares para oviponer y la manipulación del cemento antes de fijar el huevo (Carter, 1990).

A medida que el huevo pasa por el oviducto se rodea totalmente de cemento, salvo el opérculo para permitir la respiración del embrión; con la ayuda de la musculatura de la vagina y la parte posterior del abdomen se distribuye el cemento en

el pelo y el huevo queda así firmemente fijado; todo el este proceso dura 16 segundos (1 segundo la secreción del pegamento, 10 segundos la distribución del cemento en el pelo y 5 segundos la salida del huevo) (Carter, 1990; Burkhart & Burkhart, 2005).

Las ninfas pasan por tres estadios, difiriendo del adulto, por su pequeño tamaño y el subdesarrollo de los órganos genitales (Ferris, 1951; Burkhart & Burkhart, 2005, 2007).

La eclosión del primer estadio ninfal tiene lugar por un proceso curioso. Cuando se encuentra totalmente desarrollada, punciona con sus estiletes bucales las cámaras aéreas del huevo y aspira con ellos el aire atmosférico, que pasa al tubo digestivo y a la vez va expulsándolo por su ano. El aire acumulado en su región postanal forma una burbuja en expansión, cuya presión cada vez mayor, empuja al insecto a través de la parte superior del huevo al exterior. La ninfa eclosionada realiza rápidamente su primera ingestión de sangre (Pray, 1999; Gállego Berenguer, 2003). El primero y segundo estadio ninfal son prácticamente inmóviles (Nutanson, 2008).

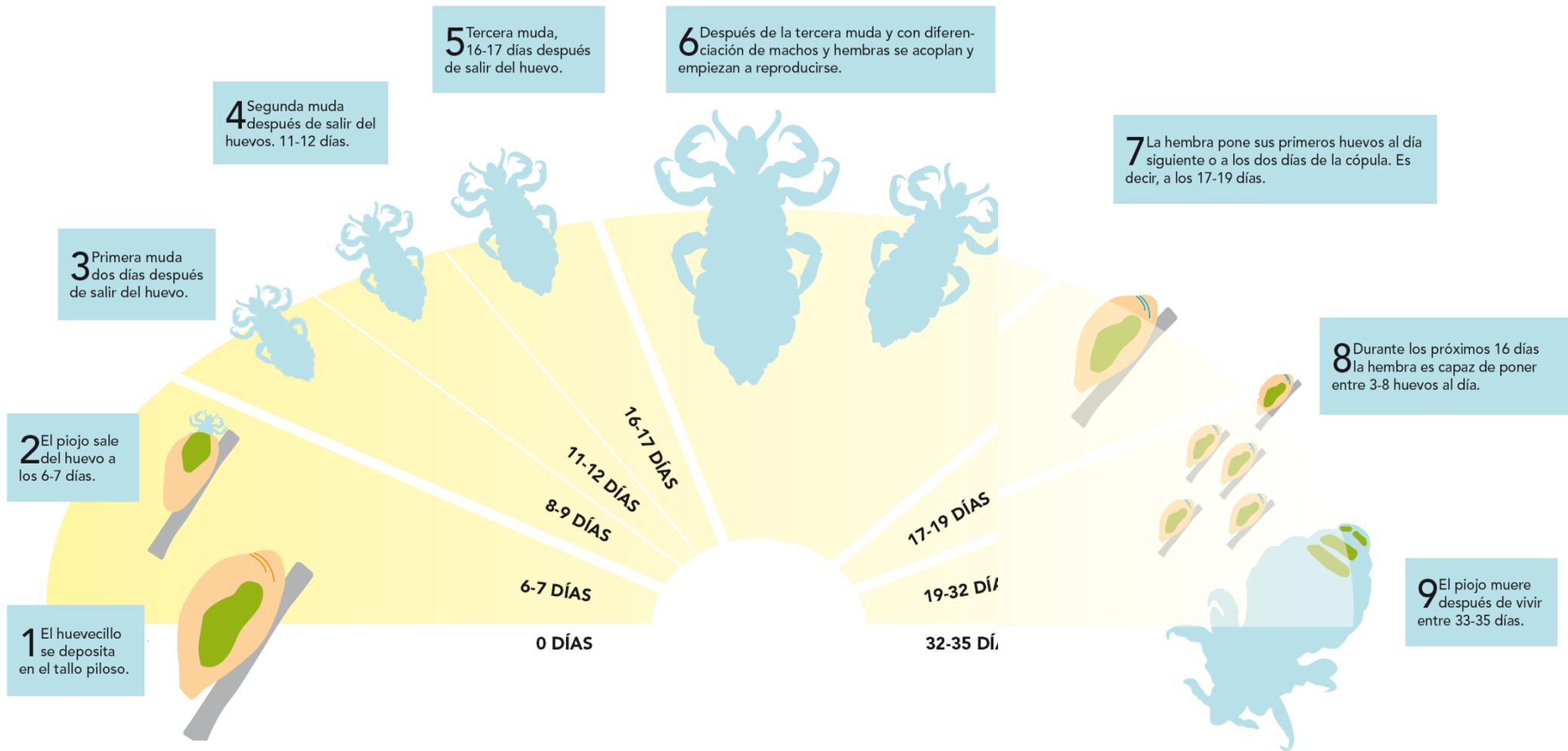


Figura 1.7 Ciclo biológico de *P. h. capitis*. (Extraído de Ayala Gómez, 2009)

1.5 Factores que influyen en el desarrollo de *Pediculus humanus capitis*

1.5.1 Temperatura y humedad relativa

La supervivencia de *P. h. capitis* es claramente dependiente de la temperatura y humedad. La mortalidad de machos y hembras aumenta con el aumento de la temperatura o la disminución de la humedad (Gallardo *et al.*, 2009). Las condiciones para lograr mayor mantenimiento, longevidad y fecundidad establecen una temperatura que varía entre los 29,5 °C a 35 °C y una humedad relativa (HR) entre 35 y 45%. Bajo estas condiciones, los machos viven entre 43 y 44 días y las hembras entre 45 y 47 días (González *et al.*, 2005). Estudios realizados por Mougabure Cueto *et al.*, (2006) determinaron que la humedad relativa óptima para el desarrollo de los huevos en laboratorio varía entre 45-75%. Asimismo el desarrollo embrionario depende de la temperatura. Leesson (1941) estableció que el desarrollo embrionario se detiene si la temperatura baja a 23°C o si asciende a 38°C. Además se observó que las formas móviles se alejan del hospedador si éste presenta fiebre o bien si muere.

1.5.2 Nutrición

Tanto los adultos como las ninfas requieren de varias tomas de sangre diariamente. Los adultos pueden ingerir hasta 1 mgr de sangre, siendo el peso medio de cada piojo de 3 mgr (Del Ponte, 1959). Si bien, la sangre como alimento contiene varios componentes nutritivos, es deficiente en vitaminas en especial las del grupo B, que se obtienen mediante bacterias simbiotes intracelulares. Los endosimbiontes representan un nuevo linaje de bacterias perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Las bacterias se hallan concentradas en unas estructuras llamadas micetomas, que

presentan forma de disco, de color amarillento y se localizan en el lado ventral del intestino medio.

En las hembras, los simbioses migran desde los discos hasta las ampollas ováricas, pasan al interior de los huevos, transmitiéndose a la progenie (transmisión transováricas) (Perotti *et al.*, 2007; Waniek, 2009). Existen evidencias concluyentes de que la eliminación de estos simbioses impide el desarrollo de las especies con dieta hematófaga estricta, en cambio no afecta demasiado a grupos cuyas formas juveniles tienen un régimen alimenticio distinto y sólo los adultos son hematófagos (Toro *et al.*, 2003; Burkhart & Burkhart, 2006; Chouela, 2007).

CAPÍTULO II

2. PREVALENCIA DE *Pediculus humanus capitis* EN BAHÍA BLANCA, BUENOS AIRES, ARGENTINA

2.1 Introducción

La pediculosis capitis es una ectoparasitosis y un problema de salud pública que ha afectado a la humanidad a lo largo de toda su historia. Está íntimamente relacionada al hombre y sus culturas; tiene distribución mundial y afecta particularmente a la población infantil en edad escolar, estimándose en cientos de millones de casos a escala global (Gratz, 1997; Leo *et al.*, 2005; Cazorla, 2007; Motovali-Eman *et al.*, 2008).

El contagio puede ser directo de persona a persona o indirecto a través de vehículos de transmisión, tales como peines, ropas, gorros, cepillos, etc., (Takano-Lee *et al.*, 2005; Chouela *et al.*, 2007; Gutiérrez *et al.*, 2012; Chaudhry *et al.*, 2012). La infestación por *P. h. capitis* (agente causal de la enfermedad) puede ser completamente asintomática, o causar síntomas como el prurito que se produce debido a la sensibilidad del paciente frente a los antígenos salivales y de la materia fecal, lo que trae aparejado excoriaciones como consecuencia del rascado y secundariamente infecciones bacterianas (impetiginización). En condiciones de infestación extrema puede ocasionar despigmentación y adelgazamiento del cuero cabelludo, conjuntivitis, anemia crónica, miasis secundarias, elefantiasis del oído externo y/o plica polónica (tricoma) (**Fig: 2.1: A y B**). (Gratz, 1997; Visciarelli *et al.*, 2003; Piquero-Casals *et al.*, 2004; Malcolm & Bergman, 2007; Toloza *et al.*, 2009; Madke & Khopkar, 2012; Hazrati Tappeh *et al.*, 2012). En casos particulares, los piojos

pueden provocar reacciones inmunológicas específicas que llevan a cuadros clínicos de alergia e incluso de asma (Fernández *et al.*, 2006).

Los parásitos se ubican preferentemente en la región occipital y retroauricular, donde debe efectuarse con mayor cuidado el examen clínico (Atias & Neghme, 1999).

Figura 2.1 A-B Observación de la manifestación clínica denominada “plica polónica”.



El diagnóstico se basa en determinar la presencia de algún estado del parásito, por observación directa o mediante la utilización de un peine fino considerándose una infestación activa cuando se establece la presencia de piojos adultos y ninfas vivas o huevos viables (opalescentes y adheridos al tallo del pelo cerca del cuero cabelludo) (Chouela *et al.*, 2007; Feldemeier, 2010; Degerli *et al.*, 2012).

El control de esta parasitosis puede realizarse de dos formas: 1) una preventiva, poniendo énfasis en la educación poblacional para prevenir dicha parasitosis y la remoción mecánica (a través de la utilización de un peine fino de plástico o metálico) o 2) de forma química aplicando algún tratamiento post-infestación. En el primer caso,

ambos tipos de peines son igualmente efectivos para la remoción de las formas móviles; sin embargo, el metálico es recomendado para eliminación de las liendres (Gallardo *et al.*, 2013). Por otra parte, el control químico se basa en la utilización de pediculicidas que poseen una amplia variedad de ingredientes activos que pertenecen a diferentes familias de insecticidas (Speare *et al.*, 2007; Clark *et al.*, 2013).

Varios son los factores que determinan el aumento de esta parasitosis año tras año (aún en pleno siglo XXI), como la falta en el mercado de pediculicidas eficaces, el uso incorrecto de los mismos, y el desarrollo de cepas resistentes (Muncuoglu, 1999). Además el desconocimiento por parte de las comunidades afectadas del agente causal, sus mecanismos de transmisión y sus complicaciones locales y sistémicas (Mumcuoglu *et al.*, 2009; Zúñiga & Caro, 2010).

También se presentan factores propios e intrínsecos del hospedador humano, como sexo, edad, raza, características del pelo, grado de hacinamiento, estado socio-económico y otros factores culturales. El estado socio-económico de la población es un factor muy determinante, especialmente en los estratos más empobrecidos de los países del denominado "Tercer Mundo", donde la carencia de agua y las deficientes prácticas de higiene personal y familiar facilitan la transmisión del *P. h. capitis* (Clare & Longyear, 1990; Gratz, 1997; Castex, 2000; Piquero-Casals, 2004; Ríos *et al.*, 2008; Oh *et al.*, 2010).

La epidemiología, considerada una de las ciencias básicas de la salud pública permite la prevención de enfermedades y es una fuente de información importante en la formulación de políticas de salud pública (López-Moreno *et al.*, 2000; Aguilar Rebolledo *et al.*, 2003). Los estudios epidemiológicos se realizan teniendo en cuenta

diferentes diseños, entre los cuales podemos mencionar: el ecológico, de cohorte, de casos y controles, de intervención y los transversales (también denominado de encuesta o prevalencia) (Almeida Filho & Rouquayrol, 2011). Existen medidas como la prevalencia e incidencia para determinar la frecuencia de una enfermedad, que miden los números de casos con que una enfermedad aparece en un grupo poblacional.

La prevalencia se define como una proporción que indica la frecuencia de un evento, la proporción de la población que padece una enfermedad o la de un factor de riesgo en estudio, en un momento dado (Moreno Altamirano *et al.*, 2000; Ochoa, 2006) y la incidencia es el número de casos nuevos de la enfermedad que estudiamos en un tiempo predeterminado (Almeida Filho & Rouquayrol, 2011).

En Estados Unidos se estima que la incidencia de la pediculosis oscila entre 6 y 12 millones de casos por año. El impacto económico y educativo que produce esta infestación es considerable. Los costos directos e indirectos en ese país causados por la pediculosis superan los mil millones de dólares, y el consumo de productos en el mercado es de cientos de millones de dólares por año (Hansen & O'Haver, 2004; Chouela *et al.*, 2007).

En los países de América Latina, las tasas de prevalencia reportadas también son elevadas (Devera, 2012). Argentina, Chile y Brasil son los países que poseen mayor cantidad de datos epidemiológicos, presentando una prevalencia promedio de 46,6%, 30,9% y 23,8% respectivamente (Delgado *et al.*, 2010).

2.2.1 Objetivo general

Estimar la prevalencia de *Pediculus humanus capitis* en niños de jardines de infantes de la ciudad de Bahía Blanca.

2.2.2 Objetivos específicos

-  Analizar la prevalencia de *P. h. capitis* teniendo en cuenta las variables género y estratos socioeconómicos.
-  Evaluar el efecto de las variables longitud, textura y grosor del pelo en la prevalencia de *P. h. capitis*.
-  Estimar el grado de infestación de *P. h. capitis* según el género.

2.3 Materiales y Métodos

La investigación se llevó a cabo entre los meses de Junio y Agosto de 2011, en la ciudad de Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Ubicada en las coordenadas 38°43' Latitud Sur y 62°16' Longitud Oeste (Fig. 2.2).



Figura 2.2 Ubicación geográfica de la ciudad de Bahía Blanca.

Se trata de un estudio descriptivo de corte transversal, realizado en establecimientos públicos de educación pre-escolar. Inicialmente se estableció contacto con las autoridades educativas de la ciudad obteniendo un permiso de la Jefatura Distrital de Educación de Bahía Blanca con el fin de acceder a los jardines de infantes. Las autoridades escolares y los padres fueron notificados acerca del estudio mediante charlas informativas que se dictaron en cada establecimiento. La evaluación clínica se realizó solamente en aquellos alumnos cuyos padres habían otorgado su consentimiento previo por escrito.

De acuerdo a las cifras del último censo nacional de población (INDEC 2010), la población total de la ciudad asciende a 303.501 habitantes. La ciudad cuenta con 55

establecimientos escolares pertenecientes al nivel inicial. En el año 2011, los mismos presentaron una matrícula de 8.478 alumnos. Para este estudio, los jardines de infantes se dividieron según el porcentaje de la matrícula con Necesidades Básicas Insatisfechas (NBI). Las NBI es el método “directo” más conocido y utilizado en América Latina, introducido por la CEPAL (Comisión Económica para América Latina y el Caribe) a comienzos de los años 80 para aprovechar la información de los censos, demográficos y de vivienda, y tiene como objetivo principal identificar hogares y personas que no alcanzan a satisfacer un conjunto de necesidades consideradas indispensables según niveles de bienestar aceptados como universales, como por ejemplo, tipo de vivienda, hacinamiento, suministro de agua potable, asistencia escolar, escasos recursos económicos, relación de dependencia y niveles educacionales de los jefes de hogar (**Tabla 2.1**) (Beccaria & Minujín, 1985; Arakaki, 2011).

Tabla 2.1 Necesidades, dimensiones, variables e indicadores de NBI

Necesidades	Dimensiones	Variables censales	Indicador y umbral de NBI
Acceso a vivienda	Hacinamiento	Nº de personas del hogar	Más de tres personas por cuarto.
		Nº de habitaciones de la vivienda	
	Calidad de la vivienda	Tipo de vivienda	Inconvenientes (pieza de inquilinato, vivienda precaria u “otro tipo”, lo que excluye casa, departamento y rancho).
Acceso a servicios sanitarios	Condiciones sanitarias	Tipo de eliminación de excretas	No posee retrete.
Acceso a educación	Asistencia escolar	Edad de los miembros del hogar	Al menos un menor en edad escolar (entre 6 y 12) que no asiste a un establecimiento educativo.
		Asistencia a un establecimiento educativo	
Capacidad económica	Capacidad de subsistencia	Tasa de dependencia (miembros ocupados sobre miembros totales)	Menor o igual a 0,25.
		Nivel educativo del jefe de hogar	Bajo (no completó el tercer grado de la escolaridad primaria).

Tomado de Arakaki, J. (2011).

Teniendo en cuenta este método (NBI), los establecimientos se dividieron en tres estratos:

- Estrato I: menos de un 20 % de matrícula con NBI
- Estrato II: entre 20% y 60% de matrícula con NBI
- Estrato III: más del 60% de matrícula con NBI

Los rangos se establecieron a partir de la distribución que presentó el NBI en los 55 establecimientos considerados. Se seleccionó un total de 11 jardines en proporción al tamaño de los mismos teniendo en cuenta la capacidad operativa del grupo de

trabajo. Se eligieron al azar 20 alumnos de cada uno de ellos tratando de equiparar el número de cada género.

El tamaño de muestra se determinó considerando una prevalencia esperada de pediculosis del 39% (Castro *et al.*, 1994) con un error absoluto del 7% (Error relativo = 17%) y una confianza del 95%, lo que arrojó un n= 210 niños. Se decidió incluir un total de 220 niños de 3-6 años de edad.

El examen ectoparasitológico se llevó a cabo mediante manipulación del pelo y observación directa en toda la cabeza, prestando particular atención en la región occipital y retroauricular. El período de observación fue de 5 minutos en búsqueda de liendres, ninfas y/o adultos. Los piojos se removieron utilizando un peine fino para cada niño.

Se procedió a completar una ficha epidemiológica para cada escolar donde se registró género, diagnóstico, tipo de pelo y grado de infestación (**Figura 2.3**). Se consideró diagnóstico positivo a la presencia de al menos un adulto o ninfa vivo o de una liendre viable (Pollack *et al.*, 2000). Para el tipo de pelo se tuvo en cuenta grosor (grueso o fino), textura (lacio u ondulado) y longitud (corto, medio, largo y muy largo).

El grado de infestación (*GI*) se dividió en 5 categorías (Catalá *et al.*, 2005).

- *GI I*: sin vestigios.
- *GI II*: con vestigios de infestación antigua (liendres vacías o alejadas del cuero cabelludo, a más de 1 cm).
- *GI III*: infestación reciente y baja probabilidad de parasitosis (entre 1-10 liendres próximas al cuero cabelludo, sin formas móviles ni liendres vacías).

- *GI IV*: infestación reciente y alta probabilidad de parasitosis (con más de 10 liendres próximas al cuero cabelludo, sin formas móviles con o sin liendres vacías).
- *GI V*: infestación activa confirmada (con piojos móviles y más de 10 liendres próximas al cuero cabelludo).

Figura 2.3 Ficha epidemiológica

Establecimiento:..... Fecha:.....

Encuestador:.....

1. Datos del Alumno:

Edad:

Sexo: Masculino

Femenino

2. Diagnóstico: Negativo

Positivo

Piojos Adultos: 0 1-10 + 10 aprox:

Piojos ninfas: 0 1-10 + 10 aprox:

Liendres vivas o a menos de 1cm: 0 1-10 + 10 aprox:

Liendres vacías o a más de 1cm: 0 1-10 + 10 aprox:

3. Tipo de cabello:

Grosor: Grueso

Fino

Textura: Lacio

Ondulado

Mota

Longitud: Corto

Medio

Largo

Muy largo

4. Formas de tratamiento:

Con peine

Con productos comerciales

Con productos caseros

5. Grado de Infestación:

Sin vestigios de infestación

Con vestigios de infestación antigua (liendres vacía o alejadas a más de 1 cm.)

Infestación reciente y baja probabilidad de parasitosis (entre 1-10 liendres próximas al cuero cabelludo; sin formas móviles ni liendres vacías)

Infestación reciente y alta probabilidad de parasitosis (con más de 10 liendres próximas al cuero cabelludo; sin formas móviles; con o sin liendres vacías)

Infestación activa confirmada (con piojos móviles y más de 10 liendres próximas al cuero cabelludo)

6. Infestación previa: Sí

No

2.3.1 Análisis estadístico

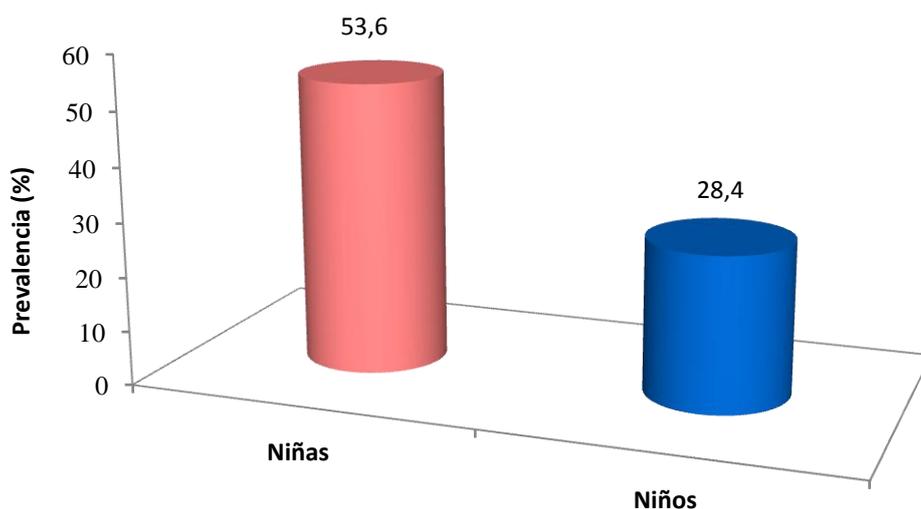
Para comparar las prevalencias entre estratos, géneros y longitud de pelo, se utilizó la prueba Chi cuadrado de homogeneidad de proporciones. Se determinaron intervalos de confianza (IC) del 95% para la prevalencia. El análisis estadístico se realizó con el software SPSS 15.0.

2.4 Resultados

De un total de 220 escolares, 94 (42,7%) estuvieron infestados por *Pediculus humanus capitis* mientras 126 (57,3%) resultaron negativos.

Al relacionar la infestación con el sexo se observó que la prevalencia fue mayor en las niñas que en los niños ($P < 0,001$), con valores de 53,6% y 28,4%, respectivamente (**Fig. 2.4**).

Figura 2.4 Prevalencia de *Pediculus humanus capitis* según el sexo



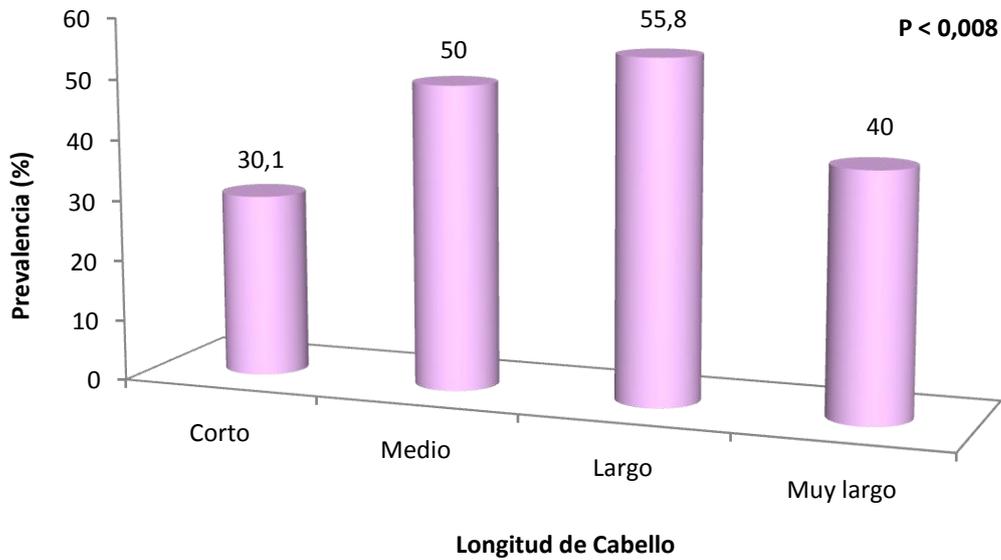
Al analizar la relación en base a las características socioeconómicas no se observaron diferencias significativas entre los estratos ($P = 0,17$). Sin embargo, la prevalencia fue mayor para el Estrato III (51,2%), seguido del Estrato II (45,0%) y por último el Estrato I (39,6%) (**Tabla 2.2**).

Tabla 2.2 Prevalencia de pediculosis según los estratos socioeconómicos

		Clases socioeconómicas			
		Estrato I	Estrato II	Estrato III	Total
Pediculosis	Positivo	55 (39,6%)	18 (45,0%)	21 (51,2%)	94 (42,7%)
	Negativo	84 (60,4%)	22 (55,0%)	20 (48,8%)	126 (57,3%)
	Total	139 (100%)	40 (100%)	41 (100%)	220 (100%)

Para el análisis estadístico, la longitud del pelo se agrupó en dos categorías, pelos cortos y no cortos (medio, largo y muy largo), resultando este último con mayor prevalencia ($P < 0,01$) (**Fig. 2.5**). La razón de prevalencia para la pediculosis fue calculada entre ambos grupos, resultando ser de 1,7 (IC 95% 1,21; 2,45).

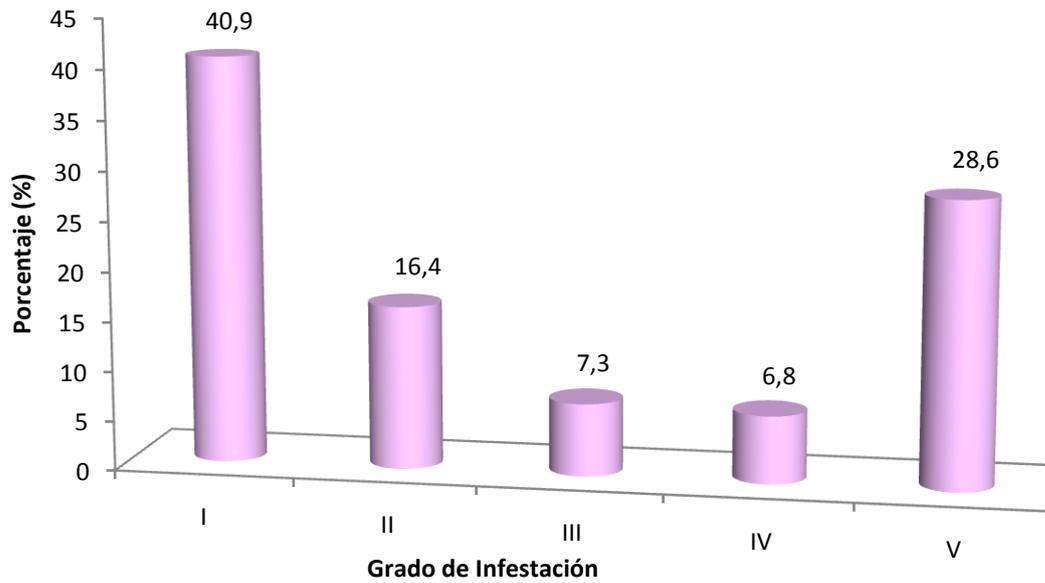
Figura 2.5. Prevalencia de pediculosis en relación a la longitud del pelo



El análisis de las características según textura y grosor de pelo reveló que no existen diferencias estadísticas significativas entre lacio y ondulado ($P = 0,87$) y entre fino y grueso ($P = 0,58$).

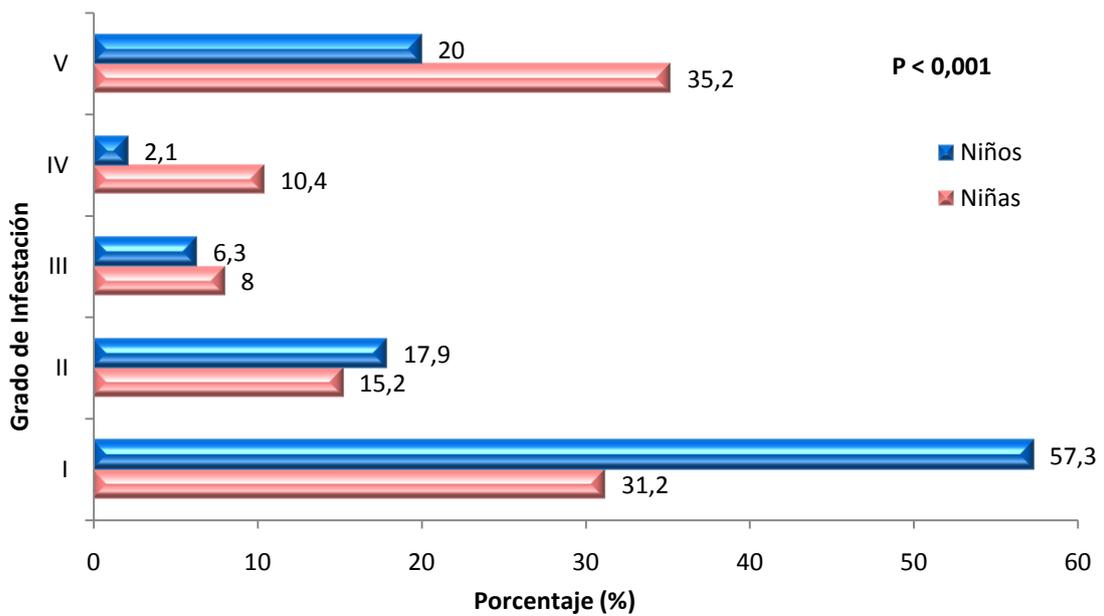
Al analizar los grados de infestación se observó que el 16,4% de los escolares mostraron infestación antigua (*GI II*), 7,3% infestación reciente y baja probabilidad de parasitosis (*GI III*) y 6,8% infestación reciente y alta probabilidad de parasitosis (*GI IV*). El 28,6% de los niños presentaron infestación activa confirmada (*GI V*) (**Fig. 2.6**). Además, de los 220 niños examinados, 17 (7,7%) presentaron más de 10 piojos adultos.

Figura 2.6 Porcentaje de niños en cada grado de infestación



Al analizar el grado de infestación según el género, se observaron diferencias significativas ($P < 0,001$) (**Fig. 2.7**).

Figura 2.7 Relación entre los grados de infestación y el género



2.5 Discusión

La pediculosis es la infestación humana de mayor prevalencia en niños de edad escolar, tanto en los países desarrollados como en los subdesarrollados (Chouela *et al.*, 2007; Saddozai & Kakarsulemankhel, 2008). Desde 1988, no ha habido ninguna investigación sobre la situación reciente de la pediculosis en Bahía Blanca (García & Basabe, 2008).

El presente estudio mostró una prevalencia de esta enfermedad del **42,7%**. Cuando el valor de prevalencia supera el 5%, la infestación de *P. h. capitis* se considera de importancia epidémica (Clare & Longyear, 1990). No resulta fácil comparar las tasas de infestación obtenidas en los distintos países, y aún dentro del mismo país, debido a que los estudios se realizan en diferentes épocas, años de muestreo y poblaciones las cuales presentan características propias, como la situación socioeconómica, educacional y/o cultural (Cazorla *et al.*, 2007). Así, la tasa obtenida en este estudio resulta similar a la obtenida por Castro *et al.*, (1994) para la región sanitaria XI de la Provincia de Buenos Aires (38,04%). Por su parte, en la ciudad de La Plata se determinó una prevalencia del 40% (Villalobos *et al.*, 2003) y en la ciudad de Buenos Aires del 29,7% (Tolosa *et al.*, 2009).

La prevalencia varía dentro del mismo país, por ejemplo, en la ciudad de Santa Ana de los Guácaras, provincia de Corrientes, los resultados obtenidos fueron del 56,8% (Milano *et al.*, 2007) y recientemente en la ciudad de Comodoro Rivadavia, del 31,3% (Delgado *et al.*, 2010). Los países latinoamericanos y el resto del mundo no están ajenos a esta problemática informándose valores de prevalencia entre el 26% y el 100% (Schenone *et al.*, 1973; Kwku-Kpikpi, 1982; Meinking & Taplin, 1986; Suleman

& Fatima, 1988; Roy & Tandon, 1992; Huh *et al.*, 1993; Burgues *et al.*, 1994; Taplind & Meinking, 1995; Speare & Buettner, 1999; Villalobos *et al.*, 2003; Rupes *et al.*, 2006; Cazorla *et al.*, 2007; Saddozai & Kakarsulemankhel, 2008; Jeong-Min Oh *et al.*, 2010; Bibi *et al.*, 2011).

Distintas variables modifican los valores de prevalencia de esta enfermedad por ejemplo: el género. En nuestro estudio observamos que las niñas presentan valores de prevalencia mayores que los niños. Esta tendencia fue informada por varios autores para la Argentina y el resto del mundo (Gbakima & Lebbie, 1992; Sinniah *et al.*, 2003; Sarov *et al.*, 2004; Heukelbach *et al.*, 2005; Toloza *et al.*, 2009; Sultana *et al.*, 2009; Oh *et al.*, 2010; Bibi *et al.*, 2011, Gutiérrez *et al.*, 2012; Karim *et al.*, 2012; Degerli *et al.*, 2013). Es sabido que el pelo largo, frecuente en las niñas, dificulta la revisión y remoción de los piojos, a la vez que facilita su diseminación al ofrecerles una mayor superficie de contacto para asirse, como así también la dificultad para el cuidado del mismo (Cazorla *et al.*, 2007; Ríos *et al.*, 2008; Borges-Moroni *et al.*, 2011; Cazorla Perfetti *et al.*, 2012; Degerli *et al.*, 2013). Además dependería del tipo de vínculo que se establece entre los niños y niñas (intercambio de peines, cepillos, objetos de uso personal) como del tipo de juegos que comparten y demostraciones de afecto que involucran la necesidad de un mayor contacto físico. Las niñas presentan conductas más sociables, esta diferencia de comportamiento es de gran importancia debido que el contacto de cabeza a cabeza es la principal vía de transmisión (Villalobos *et al.*, 2003; Takano-Lee *et al.*, 2005; Cazorla *et al.*, 2007; Ríos *et al.*, 2008; Degerli *et al.*, 2013), lo que podría explicar la razón de prevalencia referida en este trabajo.

A vez, en este trabajo comprobamos que la pediculosis en sujetos con pelo largo es mayor que con pelo corto, lo cual fue también registrado en diversos trabajos (Sinniah *et al.*, 1981, 1983; Suleman & Fatima, 1988; Linardi *et al.*, 1989; Mumcuoglu *et al.*, 1990; Schenonel & Lobos, 1997; El-Basheir & Fouad, 2002; Ramirez *et al.*, 2003; Ali & Ramzan, 2004; Willems *et al.*, 2004; Nazari & Saidijam, 2007; Saddozai & Kakarsulemankhel, 2008; Akhter *et al.*, 2010; Hazrati Tappeh *et al.*, 2012; Chaudhry *et al.*, 2012; Degerli *et al.*, 2013). La predominancia del pelo largo en las niñas le brindaría al piojo una mejor protección para la supervivencia y reproducción (Borges & Mendes, 2002; Nazari & Saidijam, 2007; Oh *et al.*, 2010; Bibi *et al.*, 2011). En nuestro estudio encontramos que longitud del pelo (medio, largo y muy lardo) puede ser un factor de riesgo. También, algunas causas hormonales (principalmente los niveles de progesterona y prolactina) podrían estar asociados con esta tendencia (Catalá *et al.*, 2004; Akhter *et al.*, 2010).

Al relacionar la textura y el grosor del pelo con la prevalencia, no se observaron diferencias significativas tal lo registrado por Piquero-Casals *et al.*, (2004); Ríos *et al.*, (2008) y Degerli *et al.*, (2013).

Algunos autores han afirmado que los piojos son mas frecuentes en las clases sociales bajas (Amr & Nusier, 2000; Piquero-Casals *et al.*, 2004; Kamiabi & Nakhaei, 2005; Akhter *et al.*, 2010; Borges-Moroni *et al.*, 2011), mientras que otros reportaron que la pediculosis se encuentra en todas las clases sociales (Chouela *et al.*, 1997; Saddozai & Kakarsulemarkhel, 2008). En nuestro estudio no se detectaron diferencias significativas entre los estratos socioeconómicos considerados. Si bien, podría esperarse que en el estrato más vulnerable, las condiciones socio-sanitarias de la

población sean escasas y favorecerían el desarrollo de la enfermedad, esto se compensaría en los estratos menos vulnerables, con fenómenos de resistencia provocados por el uso indiscriminado de productos pediculicidas. Podemos decir, que los piojos no hacen distinción entre clases sociales, (Martínez *et al.*, 1995; Schenone & Lobos, 1997; Pérez & De Hoyos López, 2004; Falagas *et al.*, 2008; Degerli *et al.*, 2013).

El grado de infestación tiene relevancia al momento de decidir la implementación del método de control. Tomando en cuenta lo sugerido por Catalá *et al.*, (2004) y según los valores registrados de éste parámetro en nuestro estudio, se sugiere para los niños con grado de infestación I y II la no aplicación de tratamiento, para III y IV la utilización del peine fino, que es de gran utilidad para la vigilancia y no implica riesgos. Adicionalmente, para los niños con grado de infestación V se recomienda el tratamiento con pediculicidas y su vigilancia hasta comprobar la erradicación total del parásito. Estos niños son focos de infestación para sus compañeros y la familia, en consecuencia deberían ser especialmente controlados para evitar nuevas infestaciones y de esta manera disminuir la prevalencia de esta parasitosis. De acuerdo a nuestros datos, del 42,7% de los niños infestados, 14,1% no requirieron tratamiento.

La aparición de resistencia de los piojos a los pediculicidas actuales, es uno de los mayores problemas en el control y erradicación de la pediculosis, en ocasiones la utilización de productos alternativos exponen a los niños a tratamientos peligrosos indebidos, cuyos daños están por encima de los beneficios esperados. Teniendo en cuenta estas razones y porque ningún pediculicida es 100% ovicida, la remoción física de los piojos es el tratamiento más recomendado.

La población en general subestima a la pediculosis como enfermedad y las consultas al profesional de la salud se limitan a las enfermedades asociadas a la misma (Villalobos *et al.*, 2003). Este estudio indica que los piojos de la cabeza son un problema común en los niños de Bahía Blanca y por lo tanto es importante el compromiso de toda la comunidad, realizando campañas de educación sanitaria que promuevan el conocimiento integral de la enfermedad, favoreciendo el desarrollo de pautas de conductas que permitan el control de la misma.

CAPÍTULO III

3. ALTERNATIVAS PARA EL CONTROL DE *Pediculus humanus capitis*

3.1 Introducción

En pleno siglo XXI el control mundial de la pediculosis en los países desarrollados y en vías de desarrollo se ha visto obstaculizado no como resultado de las causas socioeconómicas, sino por el mal uso de insecticidas tópicos, y el aumento de la resistencia a insecticidas de uso común como el lindano, malatión y permetrina (Picollo *et al.*, 1998; Meinking, 2002; Hunter & Barker 2003; Thomas *et al.*, 2006). Hoy en día, los tratamientos disponibles para la pediculosis incluyen productos que se comercializan como champús, lociones, repelentes, por lo general acompañado de la remoción física de las liendres, ninfas y adultos.

Los métodos utilizados para el control de *P. h. capitis* se clasifican en físicos y químicos.

a) **Físicos:** uno de los métodos más utilizados en la actualidad es el uso del peine fino para la remoción de los piojos de la cabeza. Los mismos pueden ser de plástico o de metal. La eficacia de un peine fino depende, en parte, del diseño y material con el que estén fabricados, como así también la longitud y la separación de los dientes (Speare *et al.*, 2007; Gallardo *et al.*, 2013). También es aconsejable utilizar acondicionadores, para facilitar el arrastre de piojos y liendres. Es una técnica que insume alrededor de 20-30 minutos diarios y debe repetirse cada tres días, durante dos semanas para asegurar su efectividad (Chouela *et al.*, 2007). Otra práctica utilizada en los últimos tiempos; es el rasurado del cabello en los niños (varones),

eliminando de esta manera la superficie para que el piojo se agarre. Goates *et al.*, (2006) señalan, que la aplicación de aire caliente durante 30 minutos tiene la capacidad de erradicar la plaga de piojos, siendo este un método eficaz y por el cual los piojos no desarrollan resistencia. Son métodos efectivos para detener la infestación temprana si se practica en forma constante, además es inocuo, económico y no produce resistencia en el insecto (Hernández Contreras, 2010).

b) **Químicos:** se usaron intensivamente como pediculicidas desde comienzos del siglo XX. Los criterios de selección para que un producto pediculicida sea adecuado, se basan en la toxicidad, seguridad en su uso, efectividad para matar no solo adultos y ninfas sino también a sus huevos y no generar resistencia en los insectos.

El control de los piojos se lleva a cabo con una variedad de insecticidas convencionales y no convencionales. Entendiéndose por convencionales aquellos insecticidas que tienen su acción sobre el sistema nervioso (neurotóxicos).

3.1.1 Insecticidas neurotóxicos convencionales

3.1.1.1 Organoclorados

Los compuestos organoclorados son ligeramente solubles en agua, pero suelen disolverse fácilmente en grasas, debido a su alta liposolubilidad (Olea & Fernández, 2001). Estos pesticidas fueron los primeros insecticidas químicos utilizados de forma masiva a escala internacional demostrándose altamente eficaces y económicos. Sin embargo, su uso se limitó al comprobarse su capacidad de bioacumulación y persistencia ambiental como lo prueba la presencia de residuos de estos compuestos

en alimentos, tejidos humanos, y animales, así como también su poder cancerígeno y mutagénico (Kester, 2001). En general, los organoclorados, tienen una elevada estabilidad química que genera un alto riesgo toxicológico y ecotoxicológico (Dent, 2000; Gullan & Cranston, 2005; Valles, 2008).

El DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano), es uno de los organoclorados más utilizado, sintetizado en 1874 por Zeidler, quien descubrió sus propiedades físico-químicas. Sin embargo, sus propiedades insecticidas no fueron descubiertas hasta 1940 por Müller, donde comenzó su utilización en forma masiva para usos agrícolas.

No hay duda de que el DDT es el compuesto que mas repercusión tuvo tanto en el área química como en la ecológica. Los dos grandes éxitos de la utilización del DDT, en sus primeras aplicaciones fueron la extinción de una epidemia de tifus exantemático (Segunda Guerra Mundial) transmitida por *P. h. humanus* y su efectividad contra la malaria producida por el mosquito del género *Anopheles*. Después de su uso indiscriminado, estas dos especies y otras de insectos desarrollaron resistencia. Entre las más importantes están: las moscas, y mosquitos vectores de filarías, encefalitis, y fiebre amarilla (Olea & Fernández, 2001).

El lindano (hexaclorociclo hexano), es persistente, tóxico y bioacumulable y posee un amplio rango de transporte; se ha encontrado en el aire, agua, tierra y sedimentos, tanto en organismos acuáticos como terrestres. En la actualidad la utilización de este compuesto como pediculicida está restringido y prohibido en algunos países como la Argentina por sus efectos adversos y por la aparición creciente de resistencia (Downs, 2004; Ramos *et al.*, 2011).

3.1.1.2 Piretroides

Las piretrinas son productos naturales derivados de la planta *Chrysanthemum cinerariae folium*, son efectivas contra la mayoría de insectos tanto doméstico como de importancia agrícola, masticadores y picadores (Balandrin *et al.*, 1985; Mareggiani, 2001; Isman, 2006) y los piretroides son derivados sintéticos. Las piretrinas son inestables a la luz y al calor, por lo tanto tienen baja persistencia en el ambiente. Su modo de acción se ejerce mediante el bloqueo de los canales de sodio en las neuronas del parásito, causan un efecto rápido de volteo o “knockdown”, particularmente en insectos voladores y convulsiones, hiperexcitación y parálisis en la mayoría de los insectos (Mareggiani, 2001; Philogène *et al.*, 2004; Isman, 2006). Los piretroides poseen una vida media de aproximadamente un mes en condiciones ambientales, lo que les confiere una ventaja para su uso.

La permetrina es un piretroide sintético y actúa de la misma forma que las piretrinas naturales. Se ha comprobado que su absorción percutánea es mínima, metabolizándose rápidamente a compuestos inactivos que se excretan por orina (Meinking & Taplin, 1996). Es el insecticida más utilizado en los tratamientos pediculicidas. Se ha comprobado que el uso continuo en lociones pediculicidas produjo resistencia en el piojo de la cabeza. En la Argentina su resistencia fue reportada por primera vez por Picollo *et al.*, (1998). (Picollo *et al.*, 2000; Vassena *et al.*, 2003; González Audino *et al.*, 2005; Mougabure Cueto *et al.*, 2008).

3.1.1.3 Organofosforados

Son menos persistentes que los organoclorados y no se bioacumulan, aunque son más tóxicos para los vertebrados que otras clases de insecticidas (Dent, 2000; Gullan & Cranston, 2005; Valles, 2008).

Estos compuestos tienen como principal sitio de acción la enzima acetilcolinesterasa de las sinapsis colinérgicas. Inhiben a esta enzima, produciendo una hiperexcitación del sistema nervioso y alterando la transmisión normal de los impulsos por acumulación de acetilcolina a nivel postsináptico (Bloomquist, 2004; Brown, 2006).

El malatión es el más representativo de este grupo. Su mecanismo de acción produce parálisis respiratoria y posterior muerte del piojo. Es un compuesto muy oloroso y puede causar irritación en la piel y ojos. A veces se combina el principio activo con una base alcohólica (alcohol isopropílico) que actúa como excipiente potenciando el efecto del malatión, en este caso debe tenerse la precaución que la loción es inflamable y evitar la utilización de secador de pelo (Chouela *et al.*, 2007; Nutanson *et al.*, 2008).

3.1.2 Insecticidas no convencionales

Dimeticonas: son polímeros considerados no tóxicos e inerte para los humanos. Son aceites sintéticos de silicona de baja tensión superficial y puede por lo tanto revestir muchas superficies (Heukelbach *et al.*, 2009; Clark *et al.*, 2013).

Las dimeticonas a diferentes viscosidades y concentraciones pueden ser utilizadas para: lentes de contacto, vendas, utensilios de cocina, implantes mamarios,

aceites lubricantes, shampoo y acondicionadores de pelo, oralmente como producto anti-flatulento, aplicación dérmica sobre escaras en pacientes que deben permanecer en reposo durante tiempos prolongados y recientemente en productos tópicos para el piojo de la cabeza (Heukelbach *et al.*, 2010).

El modo en que actúa la dimeticona es recubriendo la superficie del piojo lo que permite la entrada de esta sustancia al sistema respiratorio; bloqueando los espiráculos y las traqueas e impide de esta manera el equilibrio hidrotérmico del parásito y el piojo muere rápidamente (Chouela *et al.*, 2007; Clark *et al.*, 2013).

Burgués (2009) basándose en sus estudios determinó que una loción de dimeticona al 4% usada para el control de piojos de la cabeza, actúa bloqueando el tracto respiratorio externo, lo cual impide la excreción de agua, produciendo stress en el insecto, llevándolo a un estado de quietud prolongado y ruptura de los órganos internos tales como el intestino.

Por otra parte Heukelbach *et al.*, (2010) observaron que la dimeticona, llenaba la apertura de las traqueas y las ramas traqueales, desplazando al aire y bloqueando la entrada del oxígeno al sistema nervioso central, produciendo sofocación en el piojo. Además se vio que los piojos quedaban inmovilizados al minuto y que esto tenía correlación con la entrada de la dimeticona a las tráqueas.

Spinosad: es una mezcla natural de dos componentes activos espinosina A y D, producido por la bacteria del suelo *Sacchpolyspora spinosa*. Este compuesto tiene un amplio espectro de actividad contra insectos, incluyendo varias especies de piojos (Kirst, 2010; Villegas, 2012). Interfiere en primer lugar con el receptor nicotínico de la

acetilcolina y secundariamente con el receptor GABA de las células nerviosas de los insectos, produciendo una disrupción en la actividad neuronal y una contracción involuntaria de los músculos con parálisis y muerte del insecto (Salgado, 1998; Stough *et al.*, 2009; Villegas *et al.*, 2012; Clark *et al.*, 2013). Este compuesto podría ser utilizado para el control de piojos de la cabeza que son resistentes a la permetrina (Mougabure Cueto *et al.*, 2006; Clark *et al.*, 2013).

Ivermectina: es una lactona macrocíclica, carente de actividad bacteriana. Este producto se presenta en una relación 80:20 de avermectinas B_{1a} y B_{1b} sustancias producidas por la fermentación del microorganismo del suelo *Streptomyces avermitilis* (García Salazar *et al.*, 2011). La ivermectina se une selectivamente a los canales de cloruro mediados por glutamato en las células nerviosas de los invertebrados, la libre circulación de cloruros a través de los canales iónicos abiertos de cloruro produce la despolarización con parálisis secundaria y muerte (Jones & English, 2003; Clark *et al.*, 2013). La utilización de este compuesto es una opción atractiva para el tratamiento sistémico de la pediculosis (Ameen *et al.*, 2010).

Nanoinsecticidas: actualmente se utilizan técnicas experimentales que permiten fabricar, caracterizar y manipular partículas de tamaño muy pequeñas entre 1-100 nm, que se denominan nanopartículas (NPs). Las mismas presentan propiedades diferentes a las que tendrían dichas partículas si fueran de mayor tamaño (Willems & van den Wildenberg, 2005; Ragaei & Sabry, 2014). Investigadores del CIPEIN (Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas; 2013) demostraron que la exposición de piojos de la cabeza a la sílica nanoparticulada (SNP) produce mortalidad en los insectos expuestos. Las NPs se adsorben a la cutícula debido a sus propiedades físicas,

modificando las funciones hidrofóbicas de la cutícula produciendo daño sobre la misma y muerte por desecación. Para controlar la actividad acaricida (*Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*), pediculicida (*Pediculus humanus capitis*) y larvicida (*Anopheles subpictus* y *Culex quinquefasciatus*) vectores de la malaria y filariasis respectivamente, se emplearon NPs de óxido de Zinc (ZnO) y NPs de plata (Ag) utilizando para esta últimas extracto acuoso de *Tinospora cordifolia* (Menispermaceae) (Kirthi *et al.*, 2011; Jayaseelan *et al.*, 2011).

3.1.3 Resistencia a insecticidas

El uso continuo e intensivo de un insecticida en el control de una plaga suele traer aparejado el desarrollo de resistencia (Oppenoorth, 1985). La misma surge como resultado de la interacción insecto-insecticida. En esta interacción se seleccionan individuos que por distintos mecanismos bioquímicos, fisiológicos y modificaciones de conducta de una población o especie, son capaces de tolerar concentraciones mayores del compuesto que resultan letales para otros individuos de la misma especie (Brattsten *et al.*, 1986; Georghiou, 1987; Dent, 2000). Esta capacidad esta determinada genéticamente, por lo que es heredable a nuevas generaciones que seguirán sobreviviendo al tratamiento con insecticida mientras seguirá disminuyendo la proporción de individuos susceptibles en la población (Picollo, 1994; Devine & Denholm, 2003; Zhu, 2008). Los genes que confieren resistencia existen en el genoma de la población como un carácter preadaptativo y la capacidad de desarrollo de resistencia depende de la variabilidad genética de la especie. El aumento de la

concentración significa solamente la selección de individuos más resistente sin lograr el control y aumentando el riesgo toxicológico y ecotoxicológico.

Los mecanismos más comunes y que confieren mayores niveles de resistencia son la modificación de los sitios de acción y el aumento en la actividad de las enzimas detoxificantes. En algunos casos, más de un mecanismo puede estar presente en un mismo individuo, situación conocida como resistencia múltiple (Scott, 1990; Gullan & Cranston, 2005).

Cabe resaltar que la infestación de piojos de la cabeza se distribuyó a través del mundo y aumentó desde los años 1990, especialmente por la ineficacia de los productos pediculicidas. En la Argentina el uso excesivo de productos que contienen piretroides generó fenómenos de resistencia en las poblaciones de piojos (Picollo *et al.*, 1998; 2000). Toloza *et al.*, (2014) realizó un estudio sobre resistencia a piretroides en la Argentina encontrando insectos resistentes en ciudades tales como: Comodoro Rivadavia, Bariloche, Cultral-Co, Bahía Blanca, Buenos Aires y Tucumán.

Este fenómeno de resistencia genera gran preocupación debido a la falta en el mercado de nuevos productos pediculicidas que aseguren el control de esta plaga. Ante esta situación los insecticidas de origen botánico representan una gran alternativa al uso de plaguicidas sintéticos.

3.1.4 Insecticidas botánicos

El uso excesivo de plaguicidas es un motivo de preocupación por parte de los investigadores y la población en los últimos años. La utilización indiscriminada trajo

aparejado el desarrollo de resistencia; con el resurgimiento y aparición de nuevas plagas, toxicidad en los organismos "no blanco" y efectos adversos sobre el medio ambiente poniendo en peligro la sustentabilidad de los ecosistemas (Jeyasankar & Jesudasan, 2005). Los productos naturales son una excelente alternativa al uso de insecticidas sintéticos para reducir los efectos negativos sobre la salud humana y el medio ambiente (Isman, 2000; Koul, 2008). Además presentan alta selectividad, baja persistencia ambiental, baja toxicidad en mamíferos y otras plantas y una rápida acción.

Los insecticidas que presentan estas características son los insecticidas botánicos, derivados de plantas aromáticas (Weinzierl & Henn, 1991). A pesar de que hay un amplio reconocimiento sobre las propiedades insecticidas de muchas plantas, solo un grupo de productos botánicos se han utilizado para el control de plagas debido a que su comercialización ha sido obstaculizada por diversas razones como sustentabilidad del producto botánico, estandarización de los extractos, y la aprobación del ente regulador, como así también el costo del producto. (Isman, 1997; Ayvaz *et al.*, 2010).

Las plantas y los insectos llevaron un proceso de coevolución estrecho y de alta importancia. El término coevolución como tal, fue utilizado por primera vez por Ehrlich & Raven (1964) para explicar las interacciones entre dos grupos de organismos con estrechas relaciones ecológicas.

Como resultado de esta coevolución las plantas desarrollaron diferentes mecanismos por los cuales, por un lado atraen a los insectos que le son beneficiosos, y por otro, se defienden del ataque producido por otros insectos fitófagos (Schoonhoven

et al., 1998). Los mecanismos de defensa, pueden ser de tipo físico o químico. Los primeros, son aquellos que implican una modificación morfológica en la planta, que supone una barrera para que el insecto no se acerque a ella, como lo son las espinas, tricomas, ceras, color, forma, etc, (Viejo Montesinos, 1996; Caballero-Garcia, 2004). Los mecanismos químicos permiten a la planta producir una diversidad de compuestos con funciones diferentes, que según su modo de acción pueden clasificarse como sustancias tóxicas, defensivas, repelentes, disuasorias o atrayentes. Las sustancias no nutricionales producidas por individuos de una especie y que afectan el comportamiento, el desarrollo, la distribución o la biología de individuos de otras especies son denominadas aleloquímicos (Ryan & Moura, 2002; Regnault-Roger, 2004; Koul, 2005). Se clasifican en tres categorías basada en un análisis costo-beneficio en alomonas, kairomonas y sinomonas (Dicke & Sableéis, 1988; Mareggiani, 2001; Koul, 2005). En las plantas estos compuestos químicos, son llamados metabolitos secundarios, desempeñan una función importante como defensas químicas contra microorganismos, insectos, otros herbívoros e incluso otras plantas (Balandrin & Klocke, 1985; Rosenthal & Berenbaum 1992; Akinboro & Bakare, 2007; Tegegne *et al.*, 2008). Los metabolitos secundarios (terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos, alcaloides), difieren de los metabolitos primarios; en que no se encuentran en todos los grupos de plantas, se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a unas familias o incluso a algunas especies (Ávalos-García & Perez Urria-Carril, 2009).

Podemos decir entonces que las plantas son verdaderos “laboratorios” en donde se biosintetizan una gran cantidad de sustancias químicas y por ello se las considera como la fuente de compuestos químicos más importantes que existe.

3.1.4.1 Aceites esenciales

En el reino vegetal, a nivel mundial se calcula que existen unas 17.500 plantas aromáticas distribuidas entre unas pocas familias: Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae y Piperaceae, las cuales contienen compuestos volátiles, que les otorgan a ellas un olor, sabor o aroma característicos. Estas plantas fueron utilizadas desde la antigüedad como plantas medicinales, hierbas y especias. Hoy en día, se utilizan en la industria, particularmente en cosmética, perfumería y como detergentes; así como en la industria alimenticia (Isman & Akhtar, 2007; Koul *et al.*, 2008; Tripathi *et al.*, 2009; Lubbe & Verpoorte, 2011). Actualmente estos compuestos volátiles se utilizan como controladores de plagas producidos por insectos. De hecho una de las fracciones de los compuestos de las plantas aromáticas, los aceites esenciales (AEs) tiene un desarrollo prometedor en este campo (Shaaya & Rafaeli, 2007).

Los AEs son una mezcla compleja de compuestos naturales, que se originan del metabolismo secundario de las plantas. Son volátiles, de olor característico, líquidos, límpidos o coloreados, de baja densidad y lipofílicos. En su composición química se hallan hidrocarburos del grupo de los terpenos, junto con compuestos oxigenados de

bajo peso molecular (alcoholes, aldehídos, cetonas, éstres y ácidos) que son los que le dan al AE el aroma característico (Stashenko *et al.*, 1998).

Los metabolitos secundarios volátiles se pueden clasificar teniendo en cuenta los grupos funcionales que contienen sus moléculas, según se muestra en la **tabla 3.1**.

Tabla 3.1 Composición química de los AEs según los grupos funcionales de las moléculas constituyentes

Grupo Funcional	Naturaleza Química	Ejemplos
Hidrocarburos	acíclicos	mirceno, ocimeno, etc
	monocíclicos	terpinenos, p-cimeno, etc
	bicíclicos	pinenos, canfeno, sabineno, etc
Alcoholes	acíclicos	geraniol, linalol, citronelos, etc
	monocíclicos	mentol, α -terpineol, carveol, etc
	bicíclicos	borneol, etc
Aldehídos	acíclicos	citronelal, geranial, neral, etc
Cetonas	acíclicos	tagetona, etc
	monocíclicos	mentona, carvona, pulegona, etc
	bicíclicos	canfor, fenchona, pinocarvona, etc
Esteres	acíclicos	acetato de citronelilo, etc
	monocíclicos	acetato de α -terpinilo, etc
	bicíclicos	acetato de isobornilo, etc
Éteres		1,8-cineole
Fenoles		timol, carvacrol, etc

Los AEs pueden ser sintetizados en distintos órganos de la planta, como semillas, hojas, flores, frutos, raíces, tallos. Se almacenan dentro de los pelos glandulares o células epidérmicas, cavidades secretoras de la pared celular o en otros

sitios dependiendo de la especie vegetal (Bakkali *et al.*, 2008; Koul *et al.*, 2008; Tripathi *et al.*, 2009; Yáñez Rueda, 2011; Regnault-Roger, 2013). Entre los principales métodos de extracción se encuentra la hidrodestilación, destilación por vapor de arrastre, y extracción con dióxido de carbono líquido (Tripathi *et al.*, 2009; Lubbe & Verpoorte, 2011).

Existen aproximadamente 3000 AEs conocidos, de los cuales 300 poseen importancia económica para las industrias cosméticas, de perfumes, farmacéutica, agronómica, alimenticia y sanitaria (Bakkali *et al.*, 2008; Lubbe & Verpoorte, 2011; Mann & Kaufman, 2012). En su composición química presentan varios componentes (en general de entre 10-60) en diferentes concentraciones. En general se puede decir que están caracterizados por dos o tres componentes en alta concentración (20-70%) y el resto se presenta en cantidades denominadas de traza (≈ 1%). Generalmente, los componentes mayoritarios son los que determinan las propiedades biológicas de los AEs (Bauer *et al.*, 2001; Pichersky *et al.*, 2006; Bakkali *et al.*, 2008).

La toxicidad de los AEs está determinada por la composición química del aceite, que puede variar en cantidad y calidad de acuerdo al clima, condiciones ecológicas, órgano de la planta, edad, método de extracción, tiempo de extracción y parte del vegetal utilizado (Lee *et al.*, 2001; Angioni *et al.*, 2006; Koul *et al.*, 2008; Mondal & Khalequzzaman, 2010; Regnault-Roger, 2013).

La composición química del AE es muy variada según las diferentes especies de plantas, por ejemplo, el 1,8-cineol es el mayor constituyente del aceite de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), mientras que el linalol es abundante en el cilantro (*Coriandrum sativum*), ambos monoterpenos demostraron tener actividad en piojos de la cabeza.

Dentro de la misma especie de planta, los quimiotipos son muy comunes. El ejemplo más representativo es el thymus (*Thymus vulgaris*) que presenta numerosos quimiotipos los cuales son nombrados según el componente mayoritario, timol, carvacrol, terpineol y linalol (Regnault-Roger, 2013).

La rápida acción de los AEs o sus constituyentes frente a ciertos insectos plaga indica que poseen un modo de acción neurotóxico interfiriendo con la octopamina, lo cual los convierte en productos altamente selectivos dado que este tipo de receptores no se halla presente en los vertebrados (Price & Berry, 2006; Picollo *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2011; Ebadollahi, 2013). Además pueden actuar a diferentes niveles sobre la fisiología del insecto. Los modos de acción más conocidos son aquellos que actúan sobre el sistema nervioso, como agonistas de neurotransmisores o interfiriendo con los canales implicados en la transmisión del impulso nervioso (Wink, 2000; Saaya & Rafaeli, 2007; Bakkali *et al.*, 2008), intervienen en el proceso digestivo, como antialimentarios o produciendo efectos tóxicos por ingestión (Rodríguez-Hernández & Vedramin, 1998; Tripathi *et al.*, 2002; Tapondjou *et al.*, 2005; Sánchez Chopa *et al.*, 2006; Stefanazzi *et al.*, 2006; Benzi *et al.*, 2009a; Regnault-Roger, 2013). También resultan tóxicos a través del contacto directo o del ingreso al organismo por vías respiratorias, como su acción como repelente y fumigante (Yang *et al.*, 2004; Werdin González, *et al.*, 2010; Regnault-Roger, 2013).

En la actualidad, los AEs son los compuestos más ensayados para el control de plagas de importancia en la salud humana y en particular en el piojo de la cabeza. (Fournet *et al.*, 1996; Laurent *et al.*, 1997; Mulla & Su, 1999; Isman, 2000; Baki *et al.*, 2002; Araújo *et al.*, 2003; Breuer *et al.*, 2003; Dua *et al.*, 2003; Blackwell *et al.*, 2004;

El-Shazly & Hussein, 2004; Pérez-Pacheco *et al.*, 2004; Prabakar & Jebanesan, 2004; Sivagnaname & Kalyanasundaram, 2004; Sukontason *et al.*, 2004; Wandscheer *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2004; Jaenson *et al.*, 2005; Luna *et al.*, 2005; Omolo *et al.*, 2005; Ferrero *et al.*, 2006; Promsiri *et al.*, 2006; Prowse *et al.*, 2006; Toloza *et al.*, 2006; Sfara *et al.*, 2009; Tarelli *et al.*, 2009; Huerta *et al.*, 2010; Bagavan *et al.*, 2012; Di Campli *et al.*, 2012; Kovendan *et al.*, 2013; Rassami & Soonwera, 2013).

3.1.5 Especies vegetales en estudio

3.1.5.1 *Schinus areira* L. (Anacardiaceae)

S. areira es un árbol originario de la región andina peruana, y actualmente distribuido en Argentina (desde Jujuy hasta Río Negro), sureste de Brasil, Perú, Colombia, Ecuador, Uruguay, oeste de México, Guatemala e Islas Canarias. Es conocido



vulgarmente con el nombre de Aguaribay, Gualaguay (Argentina), Anacahuita (Uruguay), Aroeira (Brasil), Árbol de la Pimienta, Muelle, Molli, Falso Pimentero (Ecuador, Colombia, Bolivia y Perú), Perú-pire y Piru (México) (Duke, 2009).

El uso popular en varios países le atribuye a *S. areira* propiedades como regulador del ciclo menstrual, antiinflamatorio, diurético, antiséptico, antidiarreico, antirreumático, antibronquítico, cicatrizante, carminativo y antiblenorrágico (Alonso & Desmarchelier, 2005; Duke, 2009). El aguaribay se encuentra aprobado por la Food and Drug Administration estadounidense como suplemento dietario y categorizado en clase I, como especie segura para consumo humano por la Asociación Americana de Productos Herbarios de los Estados Unidos (McGuffin *et al.*, 1997); a su vez, es importante destacar que los extractos etanólicos de hojas y frutos no poseen efectos tóxicos sobre ratas y ratones (Ferrero *et al.*, 2007; Bras *et al.*, 2010).

El AE de hojas y frutos de este árbol posee actividades antifúngicas y antibacteriales (Dikshit *et al.*, 1986; Gundinza, 1993; Hayouni *et al.*, 2008). Asimismo, el aceite de hojas posee actividad antioxidante y citotoxicidad mediante un mecanismo

relacionado con la apoptosis en diferentes tipos celulares de cáncer de mama y leucemia (Díaz *et al.*, 2008).

En lo que respecta a su actividad sobre insectos, se demostró que *S. areira* es bioactivo sobre *Musca domestica*, *Drosophila melanogaster*, *Cydia pomonella*, *Phthorimea operculella*, *Chrysoperla externa*, *Trichogramma pintoi*, *Culex quinquefasciatus*, *Sitophylus zeamais*, *Tribolium castaneum*, *Triatoma infestans*, *Blattella germanica*, *Pediculus humanus capitis*, *Xanthogaleruca luteola* (Wimalaratne *et al.*, 1996; Steinbauer, 1995; Chirino *et al.*, 2001; Iannacone & Lamas, 2003a, 2003b; Pérez-Pacheco *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2005; Dal Bello & Padín 2006; Ferrero *et al.*, 2006, 2007b; Toloza *et al.*, 2006; Huerta *et al.*, 2010).

3.1.5.2 *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae)

T. vulgaris (con más de 400 subespecies a nivel mundial) es un arbusto perenne y endémico de la cuenca mediterránea que se cultiva a nivel mundial en suelos secos y soleados de climas templados; vulgarmente se conoce como Tomillo (Argentina,



España); Tomilho (Brasil); Thym (Francia); Thyme (Inglaterra, Estados Unidos); Thymian (Alemania); Timo (Italia) (Gigord *et al.*; 1999; Morales, 2002).

Más allá de su utilización culinaria común, se lo recomienda para el tratamiento de afecciones de las vías respiratorias, trastornos gastrointestinales, depresión, halitosis, insomnio e irritación vaginal; la Comisión E aprobó el tomillo para síntomas de bronquitis, tos ferina y catarro y para el tratamiento de la actinomicosis, onicolisis, y paroniquia debido a sus propiedades antifúngicas (Zarzuelo & Crespo, 2002; Naghibi *et al.*, 2005; López Luengo, 2006). Además su AE está incluido en algunos enjuagues bucales para controlar la placa bacteriana (Baca, 2003).

En lo que respecta a sus propiedades farmacológicas se cita su actividad espasmolítica, antiespasmódica, antioxidante, expectorante, antiséptica, analgésica, antiinflamatoria, eupéptica, estrogénica, citotóxica, carminativa, diurética (Youdim & Deans, 2000; Miura *et al.*, 2002; Baranauskiene *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2005; Al-Bayati *et al.*, 2008).

Varios estudios demostraron que *T. vulgaris* posee actividad antibacteriana en un amplio espectro de bacterias Gram positivas y negativas (Burt & Reinders, 2003; Ozcan *et al.*, 2003, Nostro *et al.*, 2004; Al-Bayati *et al.*, 2008; Solomakos *et al.*, 2008; Tohidpour *et al.*, 2010); en los trabajos científicos también se menciona su actividad antiviral, antifúngica, antiparasítica y nematicida (López Luengo, 2006; Santoro *et al.*, 2007; Koch *et al.*, 2008, Kumar *et al.*, 2008; Nguetack *et al.*, 2009; Sasanelli *et al.*, 2009; Saad *et al.*, 2010). El tomillo probó su actividad biológica en distintos artrópodos como *Varroa destructor*, *Dermanyssus gallinae*, *Apis mellifera*, *A. obtectus*, *Bemisia tabaci*, *Eretmocerus mundus*, *Culex quinquefasciatus*, *Culex pipiens pallens*, *Tenebrio molitor*, *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae*, *Spodoptera littoralis*, *Odontotermes assamensis* y *Pediculus humanus capitis* (Regnault-Roger & Hamraoui, 1994; Shaaya *et*

al., 1997; Yang *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2005; Pavela, 2005, 2008; Al-mazraawi *et al.*, 2009; Damiani *et al.*, 2009; George *et al.*, 2009; Pavela *et al.*, 2009; Mac-Mary *et al.*, 2012; Pandey *et al.*; 2012)

3.1.5.3 *Aloysia citriodora* Palau (Verbenacea)

A. citriodora (sin. *A. triphylla* L'Her.; *Lippia*

citriodora (Lam.) Kunth; *L. triphylla* (L'Her.) Kuntze) es un arbusto perenne originario del norte Argentino (Salta, Jujuy, Catamarca, La Rioja, Tucumán) que crece de forma silvestre en Perú, Chile, Paraguay, Uruguay, Brasil, México y sur de Estado Unidos y se introdujo en Europa, China, India y norte de África (Siedo, 2006). Se



conoce vulgarmente como Cedrón (Argentina, Paraguay, Uruguay, Chile), Capim Cidrão (Brasil), Hierba Luisa, Hierba de la Princesa (España), Erba Luigia (Italia), Yerba Luisa (Cuba), Citronelle (Francia) y Lemon Verbena (Inglaterra) (Duke, 2009). Es una planta aromática que se utiliza en la preparación de té de hierbas; como carminativa, antiespasmódica, antipirética, propiedades sedantes y digestivas (Santos-Gomes *et al.*, 2005; Oliva *et al.*, 2010; Mosavi, 2012). Además, se usa para controlar el vértigo, náuseas, insomnio, flatulencias, dispepsia, desordenes neuronales leves, para apaciguar la congestión nasal y bronquial y alivia la hinchazón de ojos. Es un ingrediente común en repelentes de insectos, ya que su AE posee propiedades insecticida y bactericida (Bandoni & Dellacasa, 2003).

Algunos autores informaron que los compuestos famélicos (principalmente flavonoide, ácidos fenólicos y fenilpropanoide) son los responsables de la mayor parte de las actividades farmacológicas de la planta, tales como analgésicos, efectos antiinflamatorios y antioxidantes (Nakamura *et al.*, 1997; Laporta *et al.*, 2004; Mosavi, 2012).

El AE de *A. citriodora* demostró poseer actividad nematocida (Duschatzky *et al.*, 2004), fungicida (Teixeira *et al.*, 2005) y antibacterial (Burt, 2004; López *et al.*, 2004; Sartoratto, 2004; Teixeira *et al.*, 2007; Rodríguez-Vaquero *et al.*, 2010, Rojas *et al.*, 2010). Este aceite también produjo distintas actividades biológicas sobre insectos como *Aedes aegypti*, *Rhizopertha dominica*, *Musca domestica*, *Pediculus humanus capitis* y *Nezara viridula*, entre otros (Gillij *et al.*, 2008, Benzi *et al.*, 2009b; Palacios *et al.*, 2009; Toloza *et al.*, 2010; Werdin González, 2010b).

3.1.5.4 *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae)

A. polystachya (sin. *Lippia polystachya* Griseb.) es un arbusto de hojas aromáticas, originario de las regiones subtropicales de Sudamérica siendo común en Paraguay y Argentina; en nuestro país crece en las provincias de



Salta, Tucumán, San Juan, La Rioja, Catamarca, San Luís, Chaco, Corrientes, donde se lo conoce comúnmente como Burro, Té de Burro, Poleo Real, Poleo Riojano o Poleo de

Castilla (Pascual *et al.*, 2001; Siedo, 2006). Esta planta se encuentra muy arraigada en el uso popular, puede hallarse tanto en forma silvestre como en las casas y jardines. Se adapta fácilmente a los cambios de suelo. Es utilizada para saborizar el mate o el tereré, e industrialmente cultivada para formar parte de la yerba mate "compuesta".

Esta planta tiene diversos usos en la medicina popular, indicándose para trastornos digestivos (dolor gastrointestinal, náuseas, gastritis, diarrea) y respiratorios (resfríos y gripes); en Argentina y Paraguay también se utiliza en el tratamiento de "desórdenes nerviosos" (Siedo, 2006; Aguado *et al.*, 2007). La acción terapéutica de esta planta incluye actividad antipirética, sedativa, estomáquica, tónica, carminativa, diurética y antiespasmódica (Aguado *et al.*, 2006; Dadé *et al.*, 2009). Algunos trabajos indican que la administración oral del extracto crudo de *A. polystachya* en ratones y del extracto alcohólico en ratas exhiben efectos ansiolítico y antidepresivo debido a una actividad hipnosedativa; a su vez, se demostró que dichos extractos presentan una baja toxicidad y no producen mortalidad en ratas (Mora *et al.*, 2005; Hellión-Ibarrola *et al.*, 2006, 2008).

De acuerdo con la bibliografía existente se conocen dos variedades de *A. polystachya* en Argentina una proveniente del noroeste argentino, rica en α -tujona, y otra del nordeste, rica en carvona (Aguado *et al.*, 2007).

El AE exhibió actividad antifúngica inhibiendo la germinación de esporas y el crecimiento de micelios de hongos fitopatogénicos (Zygodlo & Grow, 1995). Con respecto a la actividad insecticida se demostró el efecto del AE en *Pediculus humanus capitis*, *C. quinquefasciatus* y *R. dominica* (Tolosa *et al.*, 2006; Gleiser & Zygodlo, 2007; Benzi *et al.*, 2009a; Kembro *et al.*, 2009) y del extracto etanólico sobre de *Tribolium*

castaneum; a su vez, en esta especie los extractos etanólicos y hexánicos modificaron la fisiología nutricional y provocaron repelencia (Gutiérrez *et al.*, 2008).

3.2.1 Objetivos generales

Evaluar la actividad por exposición a vapores y por exposición a superficies tratadas en *P. h. capitis* producida por los aceites esenciales de *Schinus areira* (fruto y hoja), *Thymus vulgaris*, *Aloysia polystachya*, *Aloysia citriodora*, en adultos y huevos de *Pediculus humanus capitis*.

3.2.2 Objetivos específicos

-  Evaluar la actividad insecticida por exposición a vapores en adultos de *P. h. capitis* de los AEs de *S. areira* , (fruto y hoja), *T. vulgaris*, *A. polystachya* y *A. citriodora*.
-  Evaluar la actividad insecticida por exposición a vapores en huevos de *P. h. capitis* de los AEs de *S. areira* (fruto y hoja), *T. vulgaris*, *A. polystachya* y *A. citriodora*.
-  Evaluar la actividad insecticida por exposición a superficies tratadas en adultos de *P. h. capitis* de los AEs de *S. areira* (fruto y hoja), *T. vulgaris*, *A. polystachya* y *A. citriodora*.
-  Evaluar la actividad insecticida por exposición a superficies tratadas en huevos de *P. h. capitis* de los AEs de *S. areira* (fruto y hoja), *T. vulgaris*, *A. polystachya* y *A. citriodora*.

3.3 Materiales y Métodos

3.3.1 Insectos

Los piojos utilizados en el presente trabajo se obtuvieron de las cabezas de niños infestados de entre 3-5/6 años que concurrían a los jardines de infantes de la ciudad de Bahía Blanca, y que según lo reportado por los padres nunca recibieron tratamiento pediculicida o bien hacia un mes que los niños no habían sido tratados, por lo tanto se consideró a estas poblaciones como susceptibles. Los piojos se recogieron y se transportaron al Laboratorio de Zoología de Invertebrados II del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la UNS. Para extraer adultos y ninfas para los bioensayos se utilizó un peine fino de plástico y un peine metálico (ASSY) de dientes lisos para la extracción de huevos; la finalidad de utilizar este peine es evitar tirar el cabello de los niños y permitir la remoción de los huevos con el menor daño posible. Los piojos se examinaron cuidadosamente bajo lupa (Olympus SZ 40), descartando los ejemplares dañados (WHO 1981); utilizando solo aquellos que se encontraban en buen estado dos horas después de su recolección.

3.3.2 Material vegetal

Los órganos vegetales (hojas y frutos) de *S. areira* y hojas de *A. citriodora* se recolectaron durante la época estival en la ciudad de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina (38° 43' S 62° 16' O), las hojas de *A. polystachya* en las localidades de Lamarque y Pomona, provincia de Río Negro, Argentina (39° 24' S 65° 42' O). Las especies fueron identificadas por el Dr. Carlos Villamil y la Dra. Gabriela

Murray del Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS. Se depositó un ejemplar de cada planta en el Herbario del Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia de la UNS (BBB): *S. areira* - CV 10444; *A. polystachya* - MGM 452; *A. citriodora* - MGM 480. Las hojas *T. vulgaris* se recolectaron en la época estival en la ciudad de Salta, provincia de Salta, Argentina (24° 47' S 65° 24' O) y los AEs derivados fueron donados por el Ing. N. A. Bonini, Profesor Asociado de Química Orgánica I de la Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de Salta.

3.3.3 Obtención y caracterización de los AEs

Todos los AEs se aislaron a partir de material vegetal fresco, por destilación por arrastre de vapor de agua en un aparato tipo Clevenger durante 3 a 4 horas. El rendimiento fue para el de hojas de *A. citriodora* 0,38%, *A. polystachya* 0,54% y para *S. areira* fue de 0,22% y 0,42% (p/v) para hojas y frutos, respectivamente. Para el AE *T. vulgaris* no se contó con dicho valor.

Una vez obtenidos, los AEs se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se conservaron en heladera (4°C). La composición química de cada aceite se determinó en el laboratorio de Química de Productos Naturales (INQUISUR-CONICET-UNS) por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa. Los compuestos se identificaron por comparación de sus índices de retención (Kovats) con los índices de compuestos conocidos, de sus espectros de masa con los de la base de datos de cromatógrafo (NBS75K.L MS DATA) y cuando fue posible, por comparación con muestras auténticas. Los porcentajes relativos se obtuvieron a partir de las áreas de

cada pico. Los análisis de CG-EM se realizaron en un cromatógrafo Hewlett-Packard 6890 acoplado a un espectrómetro de masas Hewlett-Packard 5972A equipado con una columna capilar (HP-5, 30 m x 0,25 mm, 0,25 mm), utilizando helio como gas carrier (1 ml/min, split 1:50) y un volumen de inyección de 2 μ l. La temperatura inicial del horno se mantuvo a 50°C por 2 minutos, luego se programó a 5°C/min hasta 200°C, manteniendo luego esta temperatura por 15 min. Los espectros de masa se registraron a 70 eV, en un rango de masas m/z de 35 a 350 uma, manteniendo la temperatura del inyector a 250°C. Los compuestos determinados para cada aceite y sus porcentajes relativos se muestran en la **Tabla 3.2**.

Tabla 3.2 Composición química de los aceites esenciales

Tiempo retención (min)	Compuesto	Hojas de <i>S. areira</i>	Frutos de <i>S. areira</i>	<i>A. polystachya</i>	<i>A. citriodora</i>	<i>T. vulgaris</i>
6,68	triciclono	0,82				
6,84	α -tujeno					1,54
7,30	α -pineno	3,56	2,96		2,28	1,42
7,71	canfeno	5,31	1,19			
8,11	sabineno	1,48			22,93	
8,41	β -felandreno		2,37			
8,50	β -pineno	2,13	0,58			
8,91	β -mirceno	1,72	16,35			1,93
8,96	α -felandreno	13,80	25,47			
9,57	<i>p</i> -cimeno				1,82	28,37
9,67	limoneno	15,68	40,34	16,50	7,44	
10,58	γ -terpineno					8,06
10,90	3-careno		1,35			
11,78	2-careno		0,47			
12,82	Octanoato de metilo		1,32			
13,31	citronelal				51,29	
14,34	1-terpinen-4-ol		3,34			
14,74	carvona			83,5		
17,21	timol					47,19
17,43	acetato de bornilo	0,80	0,17			
17,47	carvacrol					3,17
19,85	copaeno		0,10			
20,25	elemeno		0,17			
20,73	(-)-aristoleno		0,21			
21,00	β -cariofileno	1,36	1,61		2,37	2,84

Tabla 3.2 continuación

Tiempo retención (min)	Compuesto	Hojas de <i>S. areira</i>	Frutos de <i>S. areira</i>	<i>A. polystachya</i>	<i>A. citriodora</i>	<i>T. vulgaris</i>
21,85	α -cariofileno		0,25			
22,09	β -cubebeno	7,30				
22,12	α -curcumeno				9,57	
22,91	germacreno B		0,25			
23,10	δ -cadineno	5,26				
23,71	elemol	9,00				
24,14	α -farneseno		1,10			
24,56	Óxido de β -cariofileno					5,48
25,64	γ -eudesmol	3,61				
26,05	β -eudesmol	2,80				
26,08	δ -selineno		0,40			

3.3.4 Bioensayos de Toxicidad

A pesar de los diversos productos comerciales que se hallan disponibles en el mercado para el tratamiento de los piojos de la cabeza, su uso trae aparejado gran preocupación frente al desarrollo de resistencia que presentan estos insectos a dichos productos. Hoy en día se observa una tendencia cada vez mayor a la utilización de productos naturales (AEs) para su control. Debido a esto se realizaron distintos bioensayos para comprobar la actividad pediculicida de los AEs de *S. areira* (fruto y hoja), *T. vulgaris*, *A. polystachya* y *A. citriodora*.

3.3.4.1 Toxicidad por exposición a vapores en adultos y huevos de *P. h. capitis*

La toxicidad por exposición a vapores de los AEs se evaluó en adultos y huevos de desarrollo medio (Mougabure Cueto *et al.*, 2006) utilizando cámaras fumigante. En un cubreobjeto de 24 x 24 mm se colocó 50 µl de los AEs puros. Como control se utilizaron cubreobjetos sin la adición de ninguna sustancia. Los cubreobjetos se colocaron en el fondo de cajas de Petri (5,5 cm de diámetro x 1,2 cm de alto). Cada caja fue recubierta con una tapa plástica con un orificio central cubierto de tela de voile para permitir la circulación de aire. Sobre este tejido se colocaron 10 huevos o 10 adultos protegidos por una segunda caja plástica y el conjunto de cajas fue herméticamente sellado con cinta adhesiva. Para cada AE se realizaron tres réplicas.

Para los adultos se registró el tiempo de volteo cada 5 minutos (min.) durante 1 hora. El efecto de volteo se definió como la incapacidad del insecto de caminar normalmente, quedando recostado sobre el dorso y sin mostrar movimiento de sus

patas (Tolosa *et al.*, 2010). Finalizado este periodo, los insectos se removieron de la arena experimental y se observó si durante las cuatros horas posteriores había recuperación. Durante el estudio, las unidades experimentales se mantuvieron a 28 ± 1 °C y a 75 ± 5 % de humedad relativa en estufa marca Ionomex y en oscuridad.

Con estos datos de tiempo de volteo, se estimaron los valores de TV₅₀ (minutos necesarios para afectar el 50% de los piojos expuestos) utilizando el programa SPSS 15.0. El modelo de regresión fue verificado usando el estadístico Chi-cuadrado (χ^2). A fin de comparar los valores de TV₅₀ para los distintos AEs se consideraron significativamente diferentes aquellos valores cuyos intervalos de confianza del 95% no se superponen (NSIC, P < 0,05).

Cuando los piojos se expusieron a un aceite determinado y no mostraron síntomas de intoxicación dentro de una hora, el tiempo de volteo fue registrado como TV₅₀ > 60 minutos.

Con respecto a los huevos, los mismos fueron expuestos durante 24 hs. a los vapores de los AEs, transcurrido este tiempo se procedió a la remoción de los cubreobjetos que contenían los AEs. La toxicidad se basó en el número de huevos no eclosionados durante los 12 días posteriores al tratamiento. Se consideró como criterio de mortalidad que los huevos tuvieran el opérculo cerrado o huevos con el opérculo abierto y la ninfa en su interior (Mougabure Cueto *et al.*, 2006).

Para ello se calculó el Porcentaje de Inhibición de la Eclosión (P.I.E.) usando la fórmula:

$$\text{P.I.E (\%)} = [(C-T)/C] \times 100$$

donde C es el número de huevos eclosionados en el control y T es el número de huevos eclosionados en los tratamientos (Yang *et al.*, 2005). Los huevos tratados se colocaron en recipientes de plásticos cerrados conteniendo una solución acuosa saturada de NaCl mantenidos en estufa y oscuridad bajo las mismas condiciones de temperatura y humedad relativa que los adultos.

Los datos obtenidos se analizaron mediante la prueba de varianza ANOVA y las medias fueron separadas mediante el test de diferencias mínimas (DMS, $P > 0,05$).

Además se realizó un análisis de regresión para estudiar las relación de la comparación entre los valores TV_{50} (minutos) de los adultos y los porcentajes de mortalidad de los huevos (% mortalidad) utilizando el programa estadístico SPSS 15.0.

3.3.4.2 Toxicidad por exposición a superficies tratadas en adultos y huevos de *P. h.capitis*

Para este tipo de bioensayo se utilizaron cajas de Petri de vidrio (5,5 cm de diámetro x 1,2 cm de alto) dentro de las cuales se colocaron papeles de filtro (Whatman N° 1, 5,5 cm de diámetro) que se rociaron con 100 μ l de soluciones hexánicas de los AEs a distintas concentraciones; como control se utilizó hexano solo.

Para los adultos las concentraciones evaluadas fueron: 0,84; 0,63; 0,42 y 0,21 mg/cm^2 permitiendo la evaporación del solvente durante 2 minutos. Luego se colocaron 10 adultos y pelos para brindarles a los piojos de la cabeza una superficie para asirse, y se taparon. Para determinar la actividad ovicida se utilizaron cinco

concentraciones: 0,21; 0,105; 0,052; 0,026 y 0,013 mg/cm², después de la evaporación del solvente se colocaron 10 huevos de desarrollo medio los cuales se taparon.

Los adultos y los huevos tratados se mantuvieron bajo las mismas condiciones de temperatura, humedad relativa, en estufa y oscuridad que para los bioensayos por exposición a vapores. Se realizaron tres réplicas por cada tratamiento.

En adultos se evaluó el Tiempo de volteo (TV₅₀), que fue determinado cada 5 minutos durante 1 hora. El cálculo del TV₅₀ se realizó utilizando el programa SPSS 15.0. Para comparar los valores de este parámetro se utilizó el criterio de la no superposición de sus intervalos de confianza del 95 % (NSIC, P < 0,05).

Para determinar la actividad ovicida, se basó en el número de huevos que no eclosionaron durante los 12 días posteriores al tratamiento. Se consideró como criterio de mortalidad que los huevos tuvieran el opérculo cerrado o huevos con el opérculo abierto y la ninfa en su interior (Mougabure Cueto *et al.*, 2006).

Para ello se calculó el Porcentaje de Inhibición de la Eclosión (P.I.E.) usando la fórmula:

$$\text{P.I.E (\%)} = [(C-T)/C] \times 100$$

donde C es el número de huevos eclosionados en el control y T es el número de huevos eclosionados en los tratamientos (Yang *et al.*, 2005). Los huevos tratados se colocaron en recipientes de plásticos cerrados conteniendo una solución acuosa saturada de NaCl mantenidos en estufa y oscuridad bajo las mismas condiciones de temperatura y humedad relativa que los adultos.

Los datos obtenidos se analizaron mediante la prueba de varianza ANOVA y las medias fueron separadas mediante el test de diferencias mínimas (DMS, $P > 0,05$).

Además se realizó un análisis de regresión para estudiar las relación de la comparación entre los valores TV_{50} (min.) de los adultos y los porcentajes de mortalidad de los huevos (% mortalidad) a la concentración $0,21 \text{ mg/cm}^2$, correspondiente a la mínima concentración evaluada para adultos y a la máxima para huevos utilizando el programa estadístico SPSS 15.0.

3.4 Resultados

3.4.1 Toxicidad por exposición a vapores en adultos de *P. h. capititis*

Al evaluar la actividad fumígena sobre piojos adultos se observó que todos los AEs fueron efectivos (**Tabla 3.3**). Los tiempos de volteo 50 (TV₅₀) fluctuaron entre 10,80 y 38,35 min. Los efectos variaron de acuerdo al AE, siendo los que presentaron mayor actividad pediculicida los provenientes de *S. areira*, no encontrándose diferencias significativas entre los órganos vegetales ($P > 0,05$). Por otra parte, los AEs de *T. vulgaris* y *A. polystachya* mostraron valores de TV₅₀ entre 18,25 y 20,64 min. respectivamente, no hallándose diferencias entre los mismos ($P > 0,05$). Por último, el efecto fumigante del AE de *A. citriodora* fue significativamente menor al resto de los AEs ($P < 0,05$).

En resumen el orden de efectividad de los AEs de forma decreciente fue (**Fig. 3.1**):

S. areira (fruto) = *S. areira* (hoja) < *T. vulgaris* = *A. polystachya* < *A. citriodora*

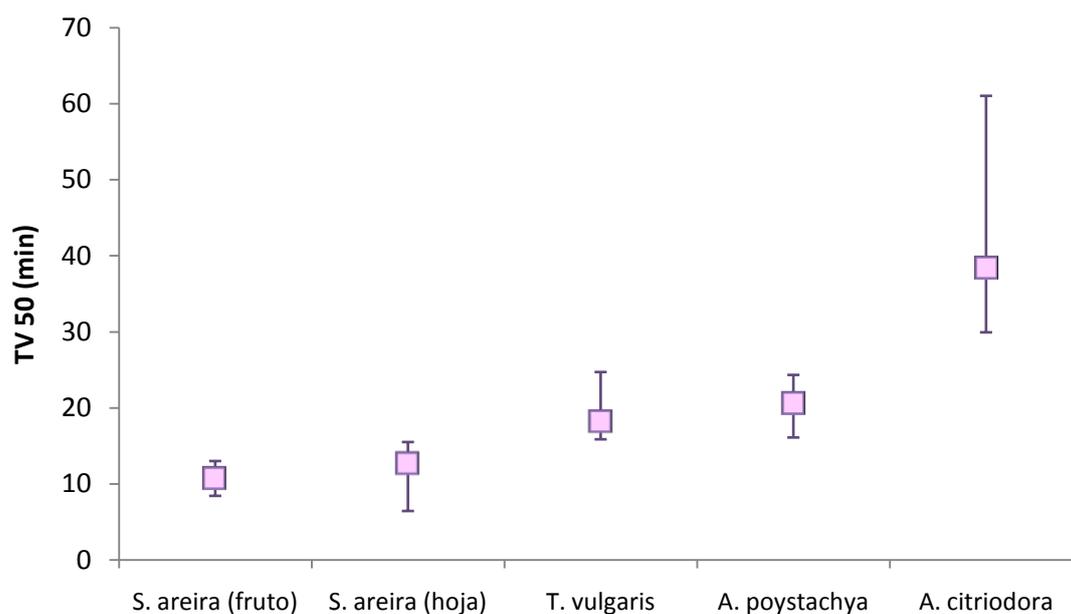
Tabla 3.3 Valores de TV₅₀ en adultos de *P.h. capititis* expuestos a vapores de los AEs cada 5 minutos durante 1 h.

Aceite	TV ₅₀ (min)	IC 95%	Pendiente ± ES
<i>S. areira</i> (fruto)	10,80 A	8,43 – 13,01	2,75 ± 0,48
<i>S. areira</i> (hoja)	12,75 A	6,44 – 15,51	6,34 ± 0,68
<i>T. vulgaris</i>	18,25 B	15,87 – 21,72	10,98 ± 0,92
<i>A. polystachya</i>	20,64 B	16,11 – 24,34	6,32 ± 0,50
<i>A. citriodora</i>	38,35 C	29,97 – 61,05	1,84 ± 0,38

Referencia:TV₅₀: tiempo de voleto 50; los valores seguidos por distinta letra indican que se encontraron diferencias significativas (NSIC, $p < 0,05$). IC 95%: intervalo de confianza del 95%. ES: error estándar

*Los aceites esenciales están ordenados por efectividad decreciente

Figura 3.1 Efectividad por exposición a vapores de los AEs en adultos de *P. h. capitata*



3.4.2 Toxicidad por exposición a vapores en huevos de *P. h. capitata*

Se evaluó la toxicidad por exposición a vapores en huevos de estadio medio de *P. h. capitata* después de 12 días de tratamiento. Todos los AEs fueron efectivos mostrando un porcentaje de inhibición que varió entre un 100 y 77% (**Tabla 3.4**). El P.I.E de los AEs de *S. areira* (fruto y hoja), y *T. vulgaris* fue del 100% no observándose diferencias significativas ($P > 0,05$). Para *A. polystachya* fue del 90% y para *A. citriodora* la inhibición fue del 77%, encontrándose diferencias significativas entre estos dos AEs ($P < 0,05$).

Tabla 3.4 Valores del P.I.E en huevos de *P.h. capitis* expuestos a vapores de los AEs durante 24 hs. de exposición

Aceite	% Eclosión	P.I.E
<i>S. areira</i> (fruto)	0	100 A
<i>S. areira</i> (hoja)	0	100 A
<i>T. vulgaris</i>	0	100 A
<i>A. polystachya</i>	10	90 B
<i>A. citriodora</i>	23	77 C

Referencia: P.I.E: porcentaje de inhibición de la eclosión; los valores seguidos por distinta letra indican que se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$)

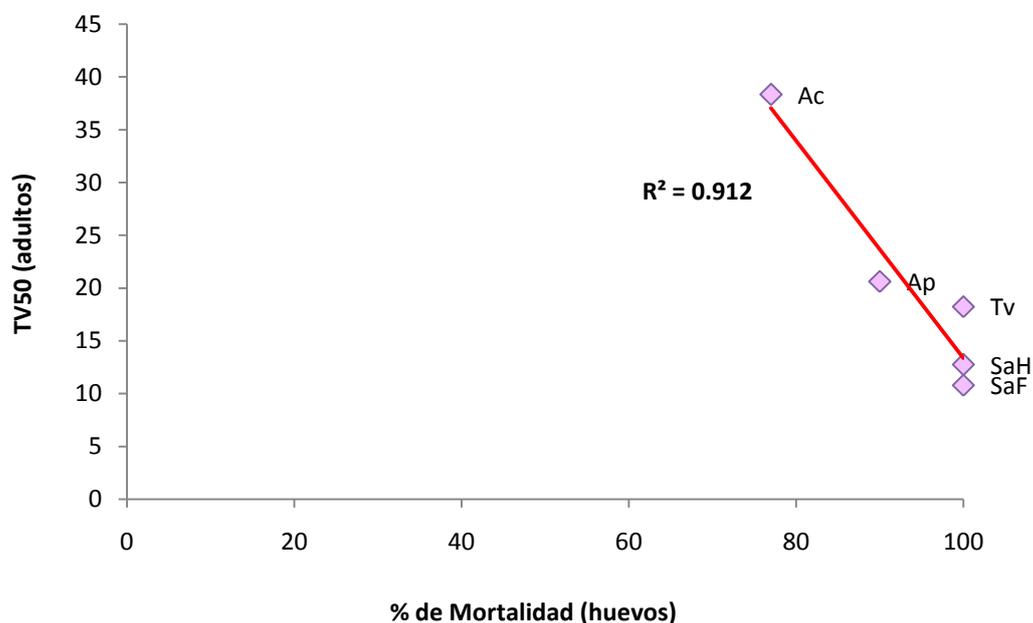
Para enriquecer este estudio se procedió a realizar una comparación de la efectividad de los AEs entre los TV_{50} obtenidos para adultos y las mortalidades sobre huevos. Se encontró una relación significativa entre la actividad pediculicida de los vapores de los AEs entre huevos y adultos.

La fórmula resultante de dicho análisis fue:

$$TV_{50} (\text{adultos}) = - 1,029 \% \text{ de mortalidad huevos} + 116,2$$

El valor de R^2 indica que el ajuste del modelo explica el 91% de la variabilidad del TV_{50} ya que el valor de P del ANOVA fue $P < 0,01$, existe una relación estadística significativa entre las variables (**Fig 3.2**). Todos los AEs tuvieron un comportamiento similar como fumigante en ambos estados.

Figura 3.2 Regresión lineal entre la toxicidad de los vapores de los AEs en adultos (TV50) y en huevos (% de mortalidad) de *P. h capitis*



Referencia: SaH: *Schinus areira* hoja; SaF: *Schinus areira* fruto; Tv: *Thymus vulgaris*; Ap: *Aloysia polystachya*; Ac: *Aloysia citriodora*.

3.4.3 Toxicidad por exposición a superficies tratadas en adultos de *P. h. capitis*

Los efectos tóxicos de los AEs se evaluaron por comparación de los valores de TV₅₀ (Tabla 3.5). En base a dichos valores, para *T. vulgaris* y *A. polystachya* solo se hallaron diferencias significativas a la menor concentración ensayada ($P < 0,05$). En cambio para *A. citriodora* se observaron diferencias significativas a las concentraciones de 0,84; 0,63 y 0,42 mg/cm² ($P < 0,05$). Con respecto a los órganos vegetales de *S. areira* a la concentración de 0,84 mg/cm² el TV₅₀ fue $> 60'$.

Al comparar la actividad pediculicida entre los aceites para una concentración determinada no se observaron diferencias significativas para 0,84 mg/cm² para *T. vulgaris*, *A. polyastachya* y *A. citriodora* ($P > 0,05$). Cuando se analizaron las concentraciones de 0,63 y 0,42 mg/cm² solo se hallaron diferencias significativas para *A. citriodora*, ($P < 0,05$). Sin embargo a la concentración menor (0,21 mg/cm²) se observaron diferencias significativas entre los AEs de *T. vulgaris*, *A. polystachia* y *A. citriodora* ($P < 0,05$), siendo el primero el más efectivo.

Tabla 3.5 Toxicidad por exposición a superficies tratadas con los AEs en adultos de *P.h. capitata* cada 5 minutos durante 1 h.

Aceite	Concentración (mg/cm ²)	Pendiente ± ES	TV ₅₀ ^a	IC 95%
<i>T. vulgaris</i>	0,84	2,76 ± 0,89	3,93 a A	1,07 – 5,65
	0,63	3,69 ± 0,65	6,30 a A	4,94 – 7,23
	0,42	5,87 ± 1,10	6,49 a A	5,32 – 7,79
	0,21	10,78 ± 2,29	9,90 b A	8,89 – 10,99
<i>A. polystachya</i>	0,84	8,09 ± 1,63	5,96 a A	5,24 – 6,79
	0,63	3,44 ± 0,57	7,18 a A	5,44 – 8,65
	0,42	5,56 ± 1,07	8,14 a A	6,60 – 9,54
	0,21	5,22 ± 0,81	12,93 b B	11,03 – 14,51
<i>A.citriodora</i>	0,84	3,53 ± 0,79	5,13 a A	3,37 – 6,40
	0,63	5,34 ± 1,28	11,37 b B	8,72 – 13,26
	0,42	6,94 ± 1,48	16,23 c B	13,78 – 18,16
	0,21	3,29 ± 0,44	18,01 c C	14,57 – 20,05
<i>S. areira</i> (hoja)	0,84	–	> 60'	–
<i>S. areira</i> (fruto)	0,84	–	> 60'	–

Referencia: TV₅₀: tiempo de volteo 50; ^a: valores seguidos por distinta letra mayúscula indican diferencias significativas entre los AEs para una concentración determinada y valores seguidos por distinta letra minúscula, diferencias significativas entre las concentraciones para un AE (NSIC, P < 0,05). IC 95%: intervalo de confianza del 95%. ES: error estándar.

3.4.4 Toxicidad por exposición a superficies tratadas en huevos de *P. h. capitis*

Después de 12 días de tratamiento, los efectos ovicidas de los AEs se midieron en base al Porcentaje de Inhibición de la Eclosión (P.I.E), que fue concentración dependiente (**Tabla 3.6**).

Con el aceite de *T. vulgaris* el P.I.E fue de 20% a 0,013 mg/cm², de 33% a 0,026 mg/cm², no encontrándose diferencias significativas ($P > 0,05$) entre estas concentraciones, para 0,052 mg/cm² el P.I.E fue de 57% hallándose diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las mayores y menores concentraciones. A las concentraciones de 0,105 mg/cm² y de 0,21 mg/cm² el P.I.E fue de 93% y 100% respectivamente, no encontrándose diferencias significativas ($P > 0,05$).

Para *A. polystachya* a las concentraciones menores no se hallaron diferencias significativas en el porcentaje de inhibición ($P > 0,05$), oscilando este entre un 20 y un 26,66%. Sin embargo a la concentración de 0,052 mg/cm² se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto a las mayores y menores. A las concentraciones de 0,105 mg/cm² y de 0,21 mg/cm² el P.I.E fue de 90% y 100% respectivamente, no encontrándose diferencias significativas ($P > 0,05$).

En el caso de *A. citriodora* a las menores concentraciones (0,013 a 0,052 mg/cm²) no se observó inhibición, pero a las de 0,105 hasta 0,21 mg/cm² el P.I.E oscilo entre un 20 y 30% respectivamente, observándose diferencias significativas ($P < 0,05$).

Con respecto al AE de *S. areira* (hoja y fruto) a la máxima concentración de 0,21 mg/cm² no se observó inhibición.

Al analizar el comportamiento entre una misma concentración para los aceites de *T. vulgaris*, *A. polystachya*, *A. citriodora* y *S. areira* se vió que a todas ellas (0,21; 0,052; 0,026 y 0,013 mg/cm²) no se observaron diferencias significativas entre *T. vulgaris* y *A. polystachya* ($P > 0,05$), pero si entre estas dos y *A. citriodora* y *S. areira* ($P < 0,05$). Los aceites de hoja y fruto de *S. areira* resultaron significativamente los menos efectivo ($P < 0,05$).

Tabla 3.6 Toxicidad por exposición a superficies tratadas con los AEs en huevos de *P.h. capitis* durante 24 hs.

Planta	Concentración (mg/cm ²)	Eclosión (%)	P.I.E ^a	
<i>T. vulgaris</i>	0,21	0	100	a A
	0,105	3,70	93,30 ± 3,3	a A
	0,052	43,40	56,60 ± 3,3	b A
	0,026	66,67	33,33 ± 8,1	c A
	0,013	80,00	20,00 ± 0	c A
<i>A. polystachya</i>	0,21	0	100	a A
	0,105	10,00	90,00 ± 0	a A
	0,052	50,00	50,00 ± 5,7	b A
	0,026	73,33	26,66 ± 3,3	c A
	0,013	80,00	20,00 ± 3,3	c A
<i>A. citriodora</i>	0,21	70,00	30,00 ± 3,3	a B
	0,105	80,00	20,00 ± 3,3	b B
	0,052	100	0	c B
	0,026	100	0	c B
	0,013	100	0	c B
<i>S. areira</i> (hoja)	0,21	100	0	C
<i>S. areira</i> (fruto)	0,21	100	0	C
Control (hexano)		100	0	C

Referencia: P.I.E: porcentaje de inhibición de la eclosión; ^a: valores seguidos por distinta letra mayúscula indican diferencias significativas entre los AEs para una concentración determinada y valores seguidos por distinta letra minúscula, diferencias significativas entre las concentración para un AE (P < 0,05).

Por otra parte se procedió a realizar una regresión lineal entre AEs entre los TV₅₀ (adultos) y el porcentaje de mortalidad en huevos a la concentración de 0,21 mg/cm². Se encontró una relación significativa entre la actividad pediculicida por contacto de los AEs entre huevos y adultos.

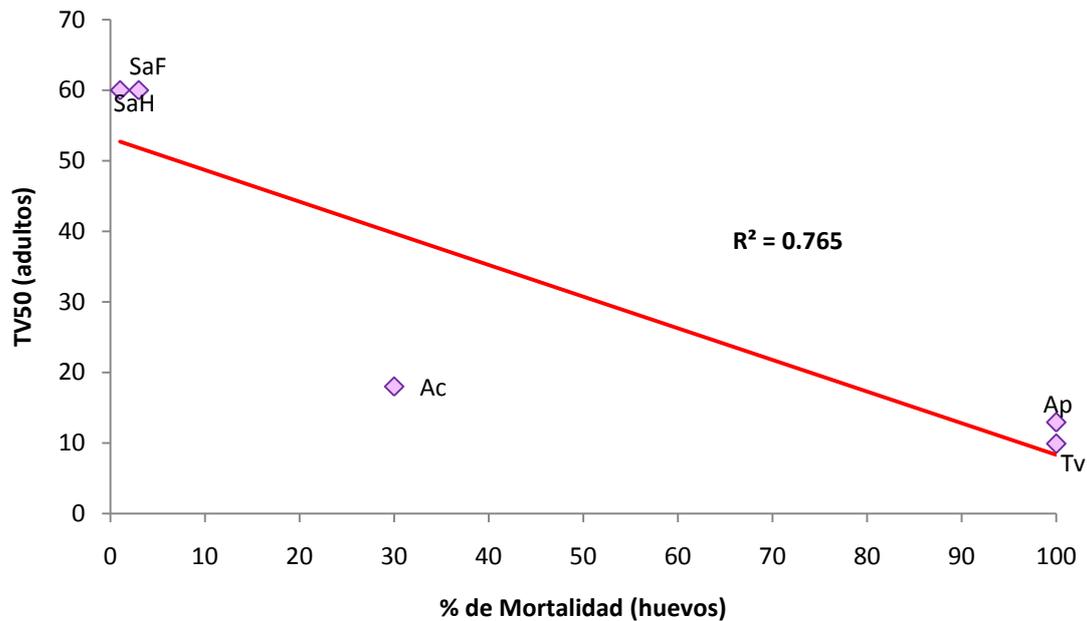
La fórmula resultante de dicho análisis fue:

$$TV50 (\text{adultos}) = - 0,448 \% \text{ de mortalidad huevos} + 53,14$$

El valor de R^2 indica que el ajuste del modelo explica el 76% de la variabilidad del TV_{50} .

Ya que el valor de P del ANOVA fue $P < 0,05$, existe una relación estadística significativa entre las variables. Todos los AEs tuvieron un comportamiento similar en superficies tratadas en ambos estados.

Figura 3.3 Regresión lineal entre la toxicidad por contacto de los AEs en adultos (TV_{50}) y en huevos (% de mortalidad) de *P. h capitatis*



Referencia: SaH: *Schinus areira* hoja; SaF: *Schinus areira* fruto; Tv: *Thymus vulgaris*; Ap: *Aloysia polystachya*; Ac: *Aloysia citriodora*.

3.4.5 Análisis comparativo entre los AEs según la vía de exposición

Dados los resultados obtenidos en los bioensayos anteriores, se procedió a comparar la eficacia de los AEs según su efecto tóxico discriminando la vía de

exposición del producto: fumigante y por contacto. Para ello, los huevos de *P. h. capitís* se expusieron a los AEs durante el valor de TV₉₉ hallado para adultos (toxicidad por exposición a vapores y toxicidad por exposición a superficies tratadas), según las metodologías descritas **3.3.4.1** y **3.3.4.2**.

Para el caso de toxicidad por exposición a vapores, los AEs más efectivos fueron los de *S. areira*. Por lo tanto, los huevos de *P. h capitís* fueron expuestos a los vapores durante 30 minutos (TV₉₉ hojas *S. areira*) y 35 minutos (TV₉₉ frutos *S. areira*). El P.I.E. obtenido fue de 33 y 26%, respectivamente, valores de inhibición sustancialmente menores a los obtenidos cuando los huevos fueron expuestos durante 24 horas (P.I.E. = 100%) (**Tabla 3.7**).

Para el caso de toxicidad por exposición a superficies tratadas, el AE más efectivo a la concentración de 0,21 mg/cm² (concentración compartida entre adultos y huevos) fue el de *T. vulgaris*. En consecuencia, los huevos de *P. h capitís* fueron expuestos a discos de papel de filtro tratados con el AE durante 21 minutos (TV₉₉ *T. vulgaris*). El P.I.E. obtenido fue de 93%, porcentaje cercano a cuando los huevos fueron expuestos durante 24 horas y significativamente menor al de *S. areira* (**Tabla 3.7**).

Tabla 3.7 Análisis comparativo entre los AEs según la vía de ingreso

Vía de exposición	AEs	Tiempo de exposición (en min)	PIE
Fumigante	<i>S. areira</i> (hoja)	30	33,3 ± 5,1 A
	<i>S. areira</i> (fruto)	35	26,6 ± 3,3 A
Contacto	<i>T. vulgaris</i>	21	93,3 ± 3,3 B

Referencia: P.I.E: porcentaje de inhibición de la eclosión; los valores seguidos por distinta letra indican que se encontraron diferencias significativas (P < 0,05)

3.5 Discusión

Durante décadas el control del piojo de la cabeza se realizó con una variedad de insecticidas convencionales tales como el DDT y lindano entre los años 1940-50, carbaril y malation (1960-70) y los piretroides a partir de la década de los 80 hasta la actualidad (Mumcuoglu *et al.*, 1995.; Picollo *et al.*, 1998, 2000; Kasai *et al.*, 2009, Toloza *et al.*, 2010). Como alternativa a los insecticidas convencionales se presentan los AEs de las plantas los cuales poseen un potencial como productos naturales para el control de *P. h. capitis*. Entre sus propiedades podemos mencionar su baja persistencia en el medio, su selectividad frente a otros insectos plagas, enemigos naturales y organismos no blancos (Hadfield-Law, 2000; Mumcuoglu *et al.*, 2002; Werdin González *et al.*, 2013) y la baja probabilidad de desarrollar poblaciones resistentes, dado los múltiples sitios de acción sobre los cuales los AEs pueden actuar (Regnault-Roger *et al.*, 2013).

Los AEs pueden ser aplicados en el hombre de la misma manera que los pediculicidas convencionales, y al ser obtenidos fácilmente pueden estar al alcance de la población en general (Isman, 2000).

En este trabajo se evaluó la actividad adulticida y ovicida por exposición a vapores y a superficies tratadas de los AEs provenientes de *S. areira* (Anacardiaceae), *T. vulgaris* (Lamiaceae), *A. polystachya* (Verbenaceae) y *A. citriodora* (Verbenaceae).

La vía principal de ingreso de los vapores de los AEs a los insectos es a través del sistema respiratorio (Smith & Salkeld, 1966). En efecto, los constituyentes volátiles de los AEs pasan a la fase gaseosa de la cámara fumigante y luego, durante la

inspiración, ingresan por medio de los espiráculos a la red de tráqueas y traqueolas conduciéndolos a los distintos órganos y tejidos alcanzando de esta manera su sitio de acción (Veal, 1996; Yang *et al.*, 2003; Sahaf *et al.*, 2007).

El tiempo de volteo (TV₅₀) fue utilizado como parámetro toxicológico para evaluar la actividad insecticida de los AEs en adultos de *P. h. capititis*. Dado que en ningún caso se observó recuperación de los insectos expuestos, el TV₅₀ podría ser considerado como un buen estimador de la letalidad de un producto. De esta manera el TV₅₀ permite evaluar en forma simple, precisa y rápida el efecto tóxico de los AEs en *P. h. capititis*.

Todos los AEs produjeron toxicidad por exposición a vapores en adultos de *P. h. capititis*. Los más efectivos fueron los que correspondieron a los órganos vegetales de *S. areira* con un TV₅₀ de 10,80 y 12,75 min. para fruto y hoja respectivamente, no observándose diferencias significativas entre los mismos ($P > 0,05$). Esto estaría indicando que esta respuesta podría estar asociada a que estos órganos vegetales comparten los compuestos tales como limoneno, α -pineno, canfeno, β -pineno, β -mirceno, α -felandreno, acetato de bornilo y β -cariofileno, presentándose los mismos en distintas proporciones.

Una de las variables que podrían estar afectando la toxicidad observada de todos los AEs evaluados en *P. h. capititis* sería el punto de ebullición (Pe) de los monoterpenos presentes. Es sabido que a menor punto de ebullición, mayor tendencia del producto a pasar a la fase gaseosa (Phillips, 2009). En efecto, los valores de los puntos de ebullición de los compuestos mayoritarios de los AEs de *S. areira* son menores (< 175 °C) que los correspondientes a los de los otros AEs (> 207 °C).

En nuestro laboratorio la toxicidad por exposición a vapores de estos dos aceites fue estudiada frente a otros insectos plagas. A diferencia de los resultados obtenidos frente a *P. h. capitis*, se observó una moderada actividad fumigante en ninfas II de *Nezara viridula* (Werding *et al.*, 2008). Al estudiar el efecto tóxico del AE de hoja de *S. areira* frente *Trissolcus basalus* (Hymenoptera), enemigo natural de *N. viridula* se concluyó que no era selectivo (Werding *et al.*, 2013). Benzi (2013), trabajando con adultos de *Rizopertha dominica* observó que el aceite de hoja resultó más tóxico que el de fruto. Por otra parte se informó sobre la falta de toxicidad de los AEs de hojas y frutos de *S. areira* frente a adultos *Blattella germanica* luego de 24 hs de exposición (Sánchez Chopa, 2010). Resultados similares se hallaron frente a adultos *Tribolium castaneum* y *Sitophilus oryzae* (Descamps, 2007; Benzi *et al.*, 2009b). Sin embargo en larvas de 25 días de *T. castaneum* solo fue efectivo el AE de *S. areira* fruto (Descamps, 2007).

Tolosa *et al.*, 2006 evaluó los efectos adulticidas del AE de *S. areira* (hoja) cuya procedencia fue la ciudad de Córdoba en piojos de la cabeza y halló un TV₅₀ dos veces y media más a los registrados en nuestro estudio. Por otra parte analizó el comportamiento de los monoterpenos presentes en el AE de *S. areira* presentando un TV₅₀ entre 27,20 y 48,90 minutos.

La variabilidad de los resultados podría deberse a la metodología utilizada y a la procedencia del material vegetal dado que plantas de la misma especie obtenidas de zonas geográficas diferentes pueden presentar distinta composición química (Angioni *et al.*, 2006; Koul *et al.*, 2008; Mondal & Khalequzzaman, 2010).

Cuando se analizó el efecto pediculicida del AE de *T. vulgaris* se halló un TV_{50} de 18,25 min. En nuestro laboratorio se evaluó la actividad insecticida de este aceite en ninfas II y adultos de *Nezara viridula* mostrando un gran efecto tóxico y selectividad frente a *T. basalis* (Werdin González, 2010; Werdin *et al.*, 2013).

Otros autores encontraron actividad fumigante de *T. vulgaris* en otros insectos plagas por ejemplo en *Myzus persicae* (Aphididae) y adultos de *Lycoriella mali* (Sciaridae) (Digilio *et al.*, 2008; Choi *et al.*, 2006).

El análisis cromatográfico del AE de *T. vulgaris* utilizado en nuestro trabajo permitió identificar los siguientes compuestos: α -pineno (1,42%), α -tujona (1,54%), β -mirceno (1,93%), β -cariofileno (2,84%), carvacrol (3,17%), óxido de β -cariofileno (5,48%), y terpineno (8,06%), p-cimeno (28,37%) y timol (47,19%).

En relación a una muestra comercial de aceite de *T. vulgaris* se estableció un $TV_{50} > 60'$. Los compuestos mayoritarios presentes en este aceite fueron: mirceno (4,4%), p-cimeno (11%) y timol (68,2%) y al evaluar el efecto adulticida del componente mayoritario (timol) se registró un $TV_{50} > 60'$ (Tolozza *et al.*, 2006).

En nuestro AE y en el comercial (Tolozza *et al.*, 2006), los componentes mayoritarios fueron el timol y el p-cimeno. Los puntos de ebullición (Pe) del timol y p-cimeno son 232 y 177°C respectivamente, lo que estaría indicando que el p-cimeno evaporaría más rápidamente, además de presentarse en una proporción aproximadamente dos veces y media más en nuestro aceite que en el comercial. Este compuesto por si solo mostró actividad pediculicida (Yang *et al.*, 2009). Además en

nuestro AE existen otros componentes que mostraron ser efectivos en el control de piojos de la cabeza (Yang *et al.*, 2009; Toloza *et al.*, 2010).

En muchos casos dada la complejidad química de los AEs la actividad insecticida se ve reforzada por la interacción entre compuestos que actúan sinérgicamente (Isman *et al.*, 2011), situación que se reflejaría en la respuesta observada en este estudio.

Con respecto a los AEs de *A. polystachya* y *A. citriodora* se encontraron diferencias significativas entre ellos en su actividad fumigante en adultos del piojo de la cabeza.

Estos AEs provenientes de la familia Verbenaceae, también fueron evaluados en nuestro laboratorio siendo efectivos en adultos de *R. dominica* y *N. viridula*, no encontrándose diferencias entre ellos en la actividad insecticida (Werdin González, 2010 y Benzi, 2013). Sin embargo en ninfas II de *N. viridula*, el aceite de *A. citriodora* mostró una mayor actividad a la exposición a vapores que el de *A. polystachya*, resultando *A. citriodora* selectivo para *T. basalis* (Werdin González *et al.*, 2008).

En nuestro estudio, los componentes del AE de *A. polystachya* fueron: limoneno (16,5%) y carvona (83,5%), siendo el TV₅₀ de 20,64 min. Toloza (2010), al caracterizar la composición química del AE de *A. polystachya*, proveniente de Córdoba, determinó que los compuestos mayoritarios presentes fueron: limoneno (6%), carvona (6,1%) y α -tujona (71,9%), obteniendo un TV₅₀ en piojos adultos de 23,43 min., resultados similares a los hallados en la presente tesis.

Sin embargo, este mismo autor al evaluar la actividad pediculicida de la carvona obtuvo un TV₅₀ > 60`y para el limoneno un TV₅₀ de 27,20 min. Siguiendo con la misma

línea de pensamiento de Phillips, (2009) en relación al Pe, los mismos son 230 y 176°C para la carvona y el limoneno respectivamente, en consecuencia el mismo evaporaría más rápido. El limoneno mostró una fuerte actividad insecticida debido a una potente acción inhibitoria de la colinesterasa (Prates *et al.*, 1998; Tripathi *et al.*, 2002, Picollo *et al.*, 2008; Toloza *et al.*, 2008b; Abdelgaleil *et al.*, 2009).

Savelev *et al.*, 2003, analizaron las interacciones sinérgicas y antagónicas de terpenoides anticolinesterasa “in vitro” de un AE de *Salvia lavandulaefolia* concluyendo que existen evidencias de sinergia dado que la actividad inhibitoria de los terpenos de manera individual es más baja que la del aceite en su conjunto.

Los resultados obtenidos sugieren que la actividad adulticida de *A. polystachya* podría deberse a la sumatoria de ambos terpenos y/o al elevado porcentaje de carvona presente en el aceite que contribuiría a la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE).

El aceite de *A. citriodora* presentó el menor efecto tóxico, siendo el TV₅₀ de 38,35 min. Los componentes de este AE fueron: p-cimeno (1,82%), α-pineno (2,28%), β-cariofileno (2,37%), limoneno (7,44%), α-curcumeno (9,57%), sabineno (22,93) y citronelal (51,29%), siendo el Pe de este último componente de 208°C.

En relación a la actividad fumigante del AE de *A. citriodora*, en nuestro laboratorio Benzi (2013) observó actividad adulticida en *R. dominica*.

Estudios realizados con dos quimiotipos de *A. citriodora*, quimiotipo1 (componentes mayoritarios: geranial: 12,1% y pulegona: 85,7%) proveniente de Yungas de Jujuy y quimiotipo 2 (componentes mayoritarios: neral: 6% y pulegona:

82,3%) de La Rioja, mostraron un $TV_{50} > 60'$ y 3,02 minutos respectivamente (Tolosa *et al.*, 2010). En nuestro estudio el TV_{50} fue marcadamente mayor al del quimiotipo 2.

La literatura pone énfasis en que una variedad de factores geográficos y ecológicos pueden conducir a diferencias cuantitativas y cualitativas en los AEs. Al mismo tiempo, un número de otros factores pueden influir en su composición tales como el estado de desarrollo de la planta, su fisiología, la edad y las condiciones de crecimiento además, del método de aislación, las condiciones de análisis y almacenamiento (Argyropoulou *et al.*, 2007). Esto estaría explicando las respuestas observada en nuestro trabajo en donde los componentes de nuestro AE difieren marcadamente del estudio en el cual se hizo referencia en el párrafo anterior, no solo por la procedencia del material vegetal sino también por la composición química.

El desarrollo embrionario es un período de grandes cambios que involucra una expresión génica diferencial y una variación bioquímica a lo largo de eventos tales como el clivaje y gastrulación, la formación de la banda germinal, la morfogénesis, entre otros (Scholtz & Wolff, 2013). Dada la importancia de estos cambios, los procesos toxicocinéticos y toxicodinámicos de los insecticidas podrían modificarse durante el desarrollo embrionario. Por ejemplo, Picollo *et al.*, 1976; reportaron que los estadios tempranos de los huevos de *Triatoma infestans* son más tolerantes a los organofosforados, que los estadios medios y tardíos. Resultados similares se encontraron para *Triatoma patagónica*, aunque en esta última, hacia el final del desarrollo embrionario la tolerancia aumentó significativamente (Visciarelli, 2005).

La susceptibilidad de los huevos del *P. h. capitatus* al spinosad fue similar durante los estadios embrionarios temprano, medio y tardío; esto podría deberse a que este

insecticida no se metaboliza en el huevo y/o puede ser acumulado durante las primeras etapas del desarrollo hasta la aparición posterior al órgano blanco (Mougabure Cueto *et al.*, 2006).

Pocos son los estudios que han evaluado la actividad ovicida en el piojo de la cabeza (Rossini *et al.*, 2008). Todos los AEs produjeron toxicidad por exposición a vapores. El P.I.E para los órganos vegetales de *S. areira* y *T. vulgaris* fue del 100%, en tanto que para *A. polystachya* fue del 90% y para *A. citriodora* del 77%.

Estudios previos informaron sobre la eficacia de algunos de los componentes presentes en nuestros AEs en huevos de *P. h. capitis* (Lalhou & Barrada, 2003; Yang *et al.*, 2004), empleándose diferentes metodologías.

Es sabido que los monoterpenos son compuestos lipofílicos y Veal (1996) mencionó que la penetración a través de la hemolinfa de los piojos puede ser lenta y limitada y en consecuencia la entrada de los productos sería a través del sistema traqueal. En huevos el intercambio de gases entre la atmósfera y el embrión depende de su difusión a través de los micrópilos del opérculo, de esta manera los monoterpenos presentes en los AEs pueden alcanzar el embrión a través de estas estructuras. Además cambios en las membranas que rodean al embrión afectan la permeabilidad del corión incrementando la toxicidad del producto (Smith & Salked, 1966).

La toxicidad por contacto depende de varios factores entre los que figuran la lipofilidad de los productos y la tasa de difusión a través de la cutícula (Rossini *et al.*, 2007; Tarelli *et al.*, 2009). La sustancia tóxica entra en contacto con la cutícula y

difunde a través de ella en forma horizontal y vertical. Por difusión horizontal, los compuestos pueden alcanzar el sistema traqueal desde donde se distribuyen al resto del cuerpo hasta alcanzar su tejido blanco; por difusión vertical, estas sustancias pueden cruzar el tegumento, alcanzar la hemolinfa y así ser distribuida por todo el organismo (Tarelli *et al.*, 2009).

Algunas de las variables fisicoquímicas que pueden afectar la tasa de penetración son la densidad del producto, la densidad de los componentes y su estructura molecular. Aquellos componentes con mayor densidad generalmente penetran más fácilmente (Phillips, 2009).

En los bioensayos por exposición a superficies tratadas se observó que no todos los AEs produjeron toxicidad en adultos.

Los AEs de *T. vulgaris*, *A. polystachya* y *A. citriodora* tuvieron efectos tóxicos, mostrando variación en las respuesta en adultos. Sin embargo los órganos vegetales de *S. areira* no fueron efectivos en este tipo de ensayos.

En nuestro estudio los AEs de hojas y frutos de *S. areira* mostraron un $TV_{50} > 60'$. En nuestro laboratorio se evaluó la actividad insecticida por contacto de este aceite, en machos adultos de *B. germanica* y adultos de *R. dominica*, hallándose que los dos aceites produjeron actividad insecticida, sin embargo el aceite de hoja generó mejor efecto tóxico que el de fruto en ambos insectos (Sánchez Copa, 2009, Benzi *et al.*, 2009b). Con respecto a ninfas II y adultos de *N. viridula* estos aceites mostraron efecto tóxico (Werdin González *et al.*, 2008; Werdin González, 2010).

Sánchez Chopa & Descamps (2012) observaron que este aceite tuvo efecto tóxico en adultos alados y ápteros de *Metopolophium dirhodum* (Hemíptera).

El AE de *T. vulgaris* presentó un TV₅₀ que osciló entre 3,93 y 9,90 min. En nuestro laboratorio el efecto tóxico de este AE en ninfas II y adultos de *N. viridula*, produjo mayor toxicidad en adultos que en ninfa II. Yang *et al.*, (2004) demostró que el AE de *T. vulgaris* resultó tóxico por contacto en adultos de *P. h. capitatus*. Además se observó actividad tóxica en larvas de *C. quinquefasciatus* (Pavela, 2009), obreras de *A. mellifera* y adultos de *V. destructor* (Damiani *et al.*, 2009) y *Tetranychus urticae* (Escobar Mata *et al.*, 2013).

Las especies del género *Aloysia*, mostraron un TV₅₀ que varió entre 5,96 y 12,93 min. para *A. polystachya* y para *A. citriodora* entre 5,13 y 18,01 minutos. En el laboratorio estos aceites produjeron actividad insecticida en ninfas II y adultos de *N. viridula* y en adultos de *R. dominica* (Benzi *et al.*, 2009b; Werdin González *et al.*, 2010; Werdin González, 2010).

En este trabajo se observó que el AE de *T. vulgaris* y *A. polystachya* fueron los más tóxicos por contacto siendo su efecto mayor que el de *A. citriodora*. Esto podría estar relacionado con la densidad de los componentes mayoritarios tales como el timol y la carvona presentes en *T. vulgaris* y *A. polystachya* respectivamente, cuyas densidades son superiores (0,96 g/ml) a la del citronelal (0,85g/ml) componente de *A. citriodora*. Por otra parte el componente mayoritario de los órganos vegetales del AE de *S. areira* que es el limoneno posee una densidad de 0,84 g/ml y además dado que el punto de ebullición de los componentes mayoritarios de los órganos vegetales de *S. areira* son marcadamente menores que el de los otros AEs, estos compuestos podrían

evaporar más rápidamente por lo que estarían menos tiempo en contacto con el insecto, provocando un menor efecto tóxico tal lo mostrado en este trabajo.

En cuanto a la estructura molecular, los compuestos aromáticos/cíclicos como el timol, la carvona y el limoneno tienen una baja tasa de degradación en los organismos resultando más tóxicos que los lineales o acíclicos, como el citronelal (Phillips 2009; Abdelgaleil *et al.*, 2009).

A pesar de los resultados obtenidos es necesario continuar con los estudios sobre la interacción de los componentes de los AEs para tener una idea más acabada sobre el comportamiento de los mismos (Kim *et al.*, 2004; Pavela *et al.*, 2009; Benzi, *et al.*, 2009a; Gutiérrez *et al.*, 2009; Toloza *et al.*, 2010; Werdin González *et al.*, 2010b)

El huevo presenta externamente un corion, el mismo está constituido por proteínas, con una composición específica de aminoácidos mayoritariamente aromáticos, y asociadas a lípidos, principalmente ácidos grasos (Cunningham *et al.*, 2001). No se ha detectado quitina como constituyente de esta vaina externa. Además la porción proteica posee abundantes aminoácidos como tirosina y fenilalanina que participan en la esclerotización, dándole resistencia a la degradación física y química (Burkhart *et al.*, 1999b; Burkhart & Burkhart, 2005). Internamente al corion se encuentran al menos tres membranas embrionarias de composición mayoritariamente lipídicas. De esta manera se establece una matriz lipofílica que permitiría el transporte de sustancias apolares, como los componentes de los AEs, desde el exterior, a través del corion y de las membranas embrionarias, hasta el embrión donde ejercerían su efecto ovicida (Burkhart *et al.*, 1999a).

Con respecto a la toxicidad por exposición a superficies tratadas como se mencionara anteriormente, todos los AEs mostraron actividad ovicida siendo la misma concentración dependiente, a excepción de aquellos pertenecientes a los órganos vegetales de *S. areira*.

Al igual que en el presente trabajo, Werdin González, 2010 al evaluar el efecto ovicida en huevos 5-6 días de desarrollo de *N. viridula*, observó que los aceites proveniente de hojas y frutos de *S. areira* fueron los menos tóxicos y el aceite de *T. vulgaris* mostró ser el más efectivo, situación similar a lo observada en este estudio.

Otros autores informaron sobre la toxicidad de este aceite sobre huevos de *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) (Regnault-Roger & Hamaraoni, 1995).

Con referencia a los aceites de ambas especies de *Aloysias*, Werdin González *et al.*, 2010 en *N. viridula* no observó diferencias entre significativas entre los P.I.E. Aunque en nuestro trabajo se observa que en general *A. plystachya* resulta más tóxica que *A. citriodora*, las respuestas observadas estarían relacionadas con las variaciones intrínsecas en el desarrollo embrionario de cada especie de insecto en estudio.

Los niveles de oxigenación son otras de las propiedades fisicoquímicas que pueden influir tanto en la actividad adulticida como ovicida. Los compuestos mayoritarios presentes en los AEs en estudio tales como el timol, la carvona y el citronelal son compuestos mono-oxigenados, cuyas estructuras poseen un alcohol simple, una cetona o fenol como grupo funcional y resultaron ser muy activos en adultos y huevos de *P. h. capitis*. Sin embargo compuestos no-oxigenados como el

limoneno, β -pineno, α -pineno mostraron una baja actividad o bien no produjeron ningún efecto (Priestly *et al.*, 2006).

En general los AEs utilizados en este estudio tuvieron un comportamiento similar al actuar en fase gaseosa como por contacto, tanto en huevos de desarrollo mediano como en adultos bajo las metodologías aplicadas. Esto podría deberse a que en este punto del desarrollo embrionario, la organogénesis ya se encuentra en un estadio avanzado (Gillot, 2005) y los sitios de acción podrían estar disponibles para que los AEs puedan ejercer su efecto tóxico.

Por último al realizar el análisis comparativo entre los AEs según la vía de exposición se puede concluir que el tratamiento con los AEs de *S. areira* en fase de vapor durante aproximadamente media hora provocaría un 99% de volteo de adultos y un efecto ovicida menor al 35%; en tanto que el tratamiento con el AE de *T. vulgaris* aplicado durante los 21 minutos por contacto provocaría un 100% de volteo en adultos y un 92% de mortalidad en huevos de *P. h. capitis*.

CAPÍTULO IV

4. ENSAYO DE IRRITACIÓN/CORROSIÓN AGUDA POR VÍA DERMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES

4.1 Introducción

Ante la necesidad de evaluar cuidadosamente los riesgos potenciales sobre la salud humana que implica el uso de plaguicidas (dentro de los cuales se enmarcan los insecticidas), diversos organismos internacionales, tales como la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA: Environmental Protection Agency), el Ministerio Japonés de Agricultura, Silvicultura y Pesca (JMAFF: Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries), la Comunidad Europea y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD: Organization for Economic Cooperation and Development), promulgaron guías de referencia destinadas a regular los protocolos de evaluación de toxicidad de dichos compuestos químicos. Estas guías establecen los diferentes estudios de toxicidad que deben llevarse a cabo para evaluar los efectos adversos potenciales de la exposición a plaguicidas y así poder determinar su uso seguro para el humano y el ambiente. Estos documentos son revisados y actualizados periódicamente en función de los nuevos planteos y requisitos a escala global respecto de la evaluación de plaguicidas (Moser, 2000; Breckenridge & Stevens, 2008; Hanson & Ritter, 2010).

La evaluación de toxicidad de un compuesto involucra la identificación de posibles efectos adversos sobre la salud humana relacionados con su exposición. Un efecto adverso es definido como un cambio en la morfología, fisiología, crecimiento y desarrollo de un organismo, el cual provoca la pérdida de la funcionalidad, el deterioro

de la capacidad de adaptarse frente a un estrés externo o el incremento de la susceptibilidad a otras influencias ambientales (Hanson & Ritter, 2010).

Los estudios de toxicidad son conducidos en animales de laboratorio en los cuales las respuestas tóxicas provocadas por la sustancia en evaluación son consideradas similares a las que ocurrirían en el humano, lo cual permite la extrapolación de los datos animales al hombre. Las especies de mamíferos que generalmente se usan para este tipo de estudios como modelos de experimentación son rata, ratón, conejo y cobayo (Blazka & Hayes, 2008; Hanson & Ritter, 2010).

La evaluación de la toxicidad de una sustancia se debe realizar considerando varios factores, los cuales determinan el tipo de estudio que corresponde llevar a cabo, de manera que, la información que se obtenga sea útil para establecer el riesgo potencial de su empleo. Las características físico-químicas del compuesto en estudio es uno de estos factores a tener en cuenta: si la sustancia es líquida o sólida, hidrosoluble o liposoluble, influirá en la absorción y el modo de acción en el organismo. Otro factor a considerar es la vía más probable por la cual la sustancia estará en contacto e ingresará al organismo. Este punto a tener en cuenta, depende del uso que se le dará al compuesto y determina la ruta de exposición a la cual será evaluado. Además, los estudios de toxicidad deben contemplar los efectos producidos luego de la exposición a la sustancia a corto, mediano y largo plazo, y si las alteraciones producidas son temporales o irreversibles (Breckenridge y Stevens, 2008; Devine *et al.*, 2008; Hanson & Ritter, 2010).

A principios del siglo XX, se consideraba a la piel como una barrera relativamente inerte frente al ingreso de sustancias al organismo. En la actualidad, se

sabe que esto es incorrecto. Aunque constituye una de las principales barreras de defensa primaria del organismo, muchos compuestos pueden atravesar el estrato córneo de la piel, llegar a la capa de células germinales de la epidermis y desencadenar un efecto local. Además, muchas sustancias pueden ser absorbidas, ingresar al torrente circulatorio y pueden provocar un efecto sistémico. Considerando que representa un área superficial muy grande, la piel puede ser la ruta principal de entrada de sustancias al organismo (Hayes *et al.*, 2008).

4.1.1 Evaluación de la toxicidad de insecticidas

Para que una sustancia produzca un efecto indeseable en el organismo, en primer lugar debe ser absorbida, a menos que también actúe directamente de manera local. Los sitios principales por los cuales puede ingresar el compuesto son los pulmones, el tracto gastrointestinal y la piel. Una vez que la sustancia es absorbida, el sistema circulatorio la distribuye a todos los órganos donde puede ejercer su efecto deletéreo, tales como el sistema nervioso central, riñones, hígado, sistema hematopoyético, aunque también podrá ejercer su acción directamente en la sangre (Eaton & Gilbert, 2008). Por lo tanto, resulta importante evaluar la toxicidad que puede provocar una sustancia considerando la vía más probable a la cual el humano se encuentre expuesto. En el caso particular de un insecticida, el humano podría tomar contacto con la sustancia a través de las tres vías: oral, dérmica e inhalatoria.

La vía oral es una de las rutas más probables por las que un insecticida puede ingresar al organismo, ya que puede ser ingerido de manera intencional o accidental, a

través de residuos presentes en los alimentos, agua, los envases reutilizados, entre otros. Por lo tanto, se deben evaluar los efectos producidos por el insecticida a través de un estudio de toxicidad por exposición oral, en el cual la sustancia en cuestión es administrada a los animales experimentales mediante intubación gástrica o en la dieta (Blazka & Hayes, 2008; Eaton & Gilbert, 2008; Wilson *et al.*, 2008; Costa, 2010; Ramsingh, 2010). Por otro lado, si el insecticida va a ser aplicado sobre la piel como repelente de insectos o como pediculicida, también es importante que se evalúe su toxicidad potencial mediante estudios de exposición dérmica. En este caso, la sustancia se aplica directamente sobre la piel rasurada de los animales de experimentación y luego se observan los efectos a nivel local y sistémico. Esta vía de exposición también es probable para las personas encargadas de las tareas de aplicación y traslado del plaguicida (Blazka & Hayes, 2008; Eaton & Gilbert, 2008; Costa, 2010; Ramsingh, 2010). Por último, se requiere que se realicen estudios de toxicidad por exposición inhalatoria para compuestos gaseosos, volátiles o aerosoles. Los encargados de realizar fumigaciones son los que más riesgos presentan ya que el producto puede ingresar a su organismo a través de las vías respiratorias (Blazka y Hayes, 2008; Eaton y Gilbert, 2008; Costa, 2010; Ramsingh, 2010).

El período de tiempo durante el cual el humano puede estar expuesto a un insecticida puede ser variable. La exposición puede ocurrir a partir de un único episodio o incidente, o puede suceder de manera continua. Para evaluar estas situaciones, los estudios de toxicidad en animales experimentales se dividen en cuatro categorías según la duración de la exposición al compuesto: agudos, subagudos, subcrónicos y crónicos (Eaton & Gilbert, 2008).

En la actualidad, los aceites esenciales y los extractos vegetales son los compuestos más ensayados para el control de plagas de importancia en la salud humana. El desarrollo de estos compuestos para su introducción en el mercado, requiere la evaluación no sólo de la efectividad del compuesto, sino también el estudio de los efectos adversos sobre el humano y el ambiente que implicaría su utilización.

La exposición por vía dérmica de un compuesto puede provocar efectos deletéreos en la región de la piel que estuvo en contacto con dicho compuesto, tales como irritación y/o corrosión dérmica. La irritación dérmica constituye una respuesta inflamatoria de carácter local y reversible, caracterizada por la presencia de eritema (enrojecimiento cutáneo) y/o edema (acumulación de líquido), mientras que la corrosión dérmica consiste en el daño irreversible de la piel, con producción de necrosis de la epidermis y dermis (OECD, 2002; Repetto Jiménez & Repetto Kuhn, 2009b).

Todas las sustancias en las cuales una de las vías más probables de ingreso al organismo es a través de la piel, deben ser evaluadas mediante estudios de toxicidad por vía dérmica a fin de detectar los efectos adversos potenciales que pueden provocar a nivel local. Los pediculicidas constituyen una de las clases de sustancias que deben ser evaluadas por esta vía de exposición (Blazka & Hayes, 2008; O' Malley, 2010).

4.2. Objetivo general

Evaluar el efecto irritante y/o corrosivo en la piel de conejos Neozelandés albinos de los AEs de *S. areira* (hoja y fruto), *T. vulgaris*, *A. polystachya* y *A. citriodora* para su posible uso como pediculicida.

4.3 Materiales y Métodos

4.3.1 Animales de experimentación

La evaluación de irritación/corrosión de los AEs de *S. areira* (hojas y frutos) *T. vulgaris*, *A. polystachya* y *A. citriodora* se realizaron en conejos pertenecientes a la raza Neozelandés albinos, adultos-jóvenes y sanos, con un peso corporal entre 2 y 2,5kg (OECD, 2002). Los animales fueron provistos por el Bioterio del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS, y se mantuvieron en dichas instalaciones durante el transcurso de los estudios en condiciones constantes de temperatura ($20 \pm 3^{\circ}\text{C}$) y humedad relativa (60-70 %) bajo un fotoperíodo de 12 horas-luz: 12 horas-oscuridad, alojándose en jaulas individuales de acero inoxidable debidamente etiquetadas, en donde recibieron alimento balanceado en pellets (Marca Ganave) y agua potable de red *ad libitum*. Los animales se aclimataron a las condiciones del Bioterio durante un periodo mínimo de 20 días. Los conejos se observaban diariamente, para detectar la aparición de cualquier patología o cambio de comportamiento. Finalizado el periodo de aclimatación se procedió a realizar los ensayos.

4.3.2 Diseño experimental

El ensayo se diseñó según las pautas establecidas por la Guía N° 404 de la OECD para evaluar efectos locales de irritación y corrosión (OECD, 2002). Para la realización del mismo, veinticuatro horas antes de la exposición, se rasuró cuidadosamente la región dorsal del conejo a ambos lados de la columna vertebral, utilizando una

máquina eléctrica (Gama, GM560), tomando los recaudos necesarios para no provocar daños en la piel y asegurar el íntimo contacto de los AEs a evaluar.

Siguiendo el protocolo de la guía, se utilizó un primer conejo al cual se le aplicaron de manera secuencial tres parches de gasas de 6 cm² impregnados con 0,5 ml del aceite puro, cubiertos con un film adherente no irritante (Tegaderm Film, 3M), y cinta adhesiva hipoalergénica. Para evitar que el conejo lamiera o desprendiera el parche se utilizó un collar “isabelino”. Antes de la aplicación de los AEs se tuvo en cuenta el pH de los mismos debido a que un $\text{pH} \leq 2$ o $\geq 11,5$ se define como tóxico y peligroso por corrosividad, no siendo necesario el ensayo sobre animales vivos. Los AEs de *S. areira*, *T. vulgaris*, *A. polystachya* y *A. citriodora* presentaron un $\text{pH} \approx 5$.

El primer parche se aplicó durante un período de tres minutos, el segundo durante 1 hora y el tercero por 4 horas. Transcurridos los tiempos de exposición se retiraron los parches y se limpiaron los residuos de la sustancia con algodón y abundante agua. Inmediatamente después se realizó un registro de las características que presentaba la zona de piel que estuvo en contacto con el aceite, evaluando signos de efectos locales de corrosión e irritación (OECD, 2002).

Para esto, se utilizó una escala de puntuación de 0 a 4 (**Tabla 4.1**), según la cual se determinó el grado de severidad de eritema y edema. Los casos en los cuales se detectara la presencia de algún efecto, se llevaría a cabo un seguimiento de los mismos en los días subsiguientes, para registrar la reversibilidad o persistencia de los mismos.

Tabla 4.1 Sistema de puntuación para describir la formación de eritema y/o edema luego de la exposición dérmica a los extractos (OECD, 2002).

Puntuación	Formación de eritema	Puntuación	Formación de edema
0	Eritema ausente	0	Edema ausente
1	Muy leve, casi imperceptible	1	Muy leve, casi imperceptible
2	Bien definido	2	Leve, con bordes definidos
3	Moderado a severo	3	Moderado, con elevación de 1 mm
4	Severo, con formación de escara	4	Severo, más de 1mm de elevación, expandido más allá del área de exposición

Una vez realizada la evaluación en el primer conejo, se llevó a cabo el test confirmatorio con el segundo y tercer animal el cual consistió en la aplicación de un único parche por espacio de 4 horas. En cada animal se utilizó un parche control, libre de cualquier sustancia.

4.4 Resultados

La **Tabla 4.2** muestran los resultados obtenidos a partir de la observación de las zonas de piel de los animales luego de retirar los parches y los residuos del aceite, una vez finalizado cada período de exposición.

Para los AEs de hoja y fruto de *S. areira*, *T. vulgaris*, *A. polystachya* y *A. citriodora* no se observaron efectos de corrosión/irritación (**Fig. 4.2**).

Tabla 4.2: Efectos observados en la piel de conejo expuesta a los aceites esenciales.

Aceite	Conejos	Tiempo de Exposición					
		3 minutos		1 hora		4 horas	
		Eritema	Edema	Eritema	Edema	Eritema	Edema
<i>S. areira</i> (hoja)	C1	0	0	0	0	0	0
	C2	-	-	-	-	0	0
	C3	-	-	-	-	0	0
<i>S. areira</i> (fruto)	C1	0	0	0	0	0	0
	C2	-	-	-	-	0	0
	C3	-	-	-	-	0	0
<i>T. vulgaris</i>	C1	0	0	0	0	0	0
	C2	-	-	-	-	0	0
	C3	-	-	-	-	0	0
<i>A. polystachya</i>	C1	0	0	0	0	0	0
	C2	-	-	-	-	0	0
	C3	-	-	-	-	0	0
<i>A. citriodora</i>	C1	0	0	0	0	0	0
	C2	-	-	-	-	0	0
	C3	-	-	-	-	0	0

Referencia: C1, C2, C3: conejos 1, 2 y 3

Figura 4.1 Efecto dérmico del AE de *T. vulgaris* en test *in vivo* de corrosión / irritación. **A:** 3 min, **B:** 1 h, **C:** 4 h de exposición



4.5 Discusión

La capacidad de la piel para metabolizar los productos químicos que se difunden a través de ella hace que ésta se constituya en una verdadera barrera, lo cual influye en la actividad biológica potencial de xenobióticos y en la aplicación de fármacos que conduce a su degradación o su activación como sensibilizadores de la piel o carcinógenos (Hotchkiss, 1998; Rice & Mauro, 2008).

El 80% de los casos de dermatitis refieren a intoxicación por contacto, situación que se debe a la acción directa de los productos químicos en la piel. Para que un producto no produzca una reacción adversa debe tenerse en cuenta la concentración y el tiempo de exposición. La piel es más sensible en algunos sitios anatómicos que otros por ejemplo, los párpados tienen una epidermis fina como así también el cuero cabelludo de las personas con calvicie. Se debe tener presente que la piel de los animales de laboratorio que son utilizados para los ensayos, es más delgada y sensitiva que la humana frente a los posibles productos irritantes.

Durante los ensayos de evaluación de la irritación/corrosión por vía dérmica ninguno de los AEs produjeron efectos sobre la piel de los conejos neozelandeses albinos en estudio.

Experiencias “in vitro” con un Champú de hierbas con paw paw cuyos ingredientes vegetales contienen extracto de paw paw (*Asimina triloba*), té verde (*Melaleuca alternifolia*) y timol demostraron tener actividad pediculicida tanto en huevos como en adultos (McCage *et al.*, 2002). También, champús basados en extractos de plantas tailandesas como *Tamarindus indica*, *Averrhoa bilimbi* y *Accacia*

concinna y un champú del árbol del neen (*Azadirachta indica*) produjeron el mismo efecto (Rassami & Soonwera, 2013 y Heukelbach *et al.*, 2006).

En la presente tesis no se han realizado estudios de irritación/corrosión ocular “in vivo” dado que los protocolos establecidos por la guía OECD 2012 tratan de reducir sustancialmente este tipo de bioensayos para no ocasionar dolor y/o estrés en los animales testeados.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES GENERALES

Pediculus humanus capitis es el agente etiológico responsable de la “pediculosis capitis”, un problema de salud pública que ha afectado a la humanidad a lo largo de toda su historia; es una enfermedad íntimamente relacionada al hombre y sus culturas que tiene distribución mundial y afecta particularmente a la población infantil en edad escolar, estimándose en cientos de millones de casos a escala global.

En este contexto, en la presente tesis doctoral se llevó a cabo por primera vez en la ciudad de Bahía Blanca (Provincia de Buenos Aires) un estudio de prevalencia en jardines de infantes. La misma fue del 42,7%. Entre las variables analizadas que influyeron fueron el género y la longitud del pelo, siendo las niñas con pelo largo las que presentaron mayor grado de infestación. Cabe aclarar que cuando el valor de prevalencia supera el 5%, la infestación de *P. h. capitis* se considera de importancia epidémica. El grado de infestación tiene importancia en el momento de decidir el método de control, en este trabajo se observó que el 28,6% de la población infantil presentó infestación activa.

El uso excesivo de pediculicidas sintéticos generó la aparición de fenómenos de resistencia. Los aceites esenciales derivados de las plantas, se presentan como una alternativa interesante en el manejo del agente etiológico de la pediculosis. Son pocos los trabajos realizados sobre la actividad biológica de los AEs lo cual estaría relacionado con las dificultades en el manejo del material biológico en los estudios de laboratorio. En consecuencia resultó de interés evaluar el efecto de diferentes AEs en *P. h. capitis*.

En particular los AEs utilizados en este estudio fueron aquellos extraídos de distintos órganos vegetales de plantas aromáticas como: *Schinus areira* (Hoja y Fruto), *Thymus vulgaris* (Hoja), *Aloysia polystachya* (Hoja) y *Aloysia citriodora* (Hoja), analizando la actividad ovicida y adulticida por exposición a vapores y a superficies tratadas en *P. h. capitis*.

Todos los aceites mostraron actividad fumigante tanto en adultos como en huevos de *P. h. capitis*, siendo los más efectivos para adultos los de *S. areira* (hoja y fruto) y para huevos los antes mencionados como así también *T. vulgaris*. Además, se observó que los AEs se comportaron de la misma manera en huevos y adultos.

El aceite de *T. vulgaris* fue el más tóxico en adultos y en huevos al analizar la toxicidad por contacto. Los aceites de *A. polystachya* y *A. citriodora* produjeron un menor efecto tóxico. Cabe destacar que los AEs de *S. areira*, (hoja y fruto) no fueron efectivos en ninguno de los estados evaluados. A la concentración de 0,21 mg/cm² el comportamiento de los AEs fue similar tanto en huevos como en adultos.

A pesar de que en esta tesis doctoral se han utilizados AEs que han sido evaluados previamente por otros autores es importante resaltar que en algunas actividades analizadas, los efectos observados variaron significativamente y esto podría deberse no solo a la técnica empleada sino a la existencia de diferencias en la composición química de los AEs, lo que estaría indicando que en este estudio se ha trabajado con quimiotipos diferentes. Además la correlación composición/actividad no solo puede atribuirse a los componentes mayoritarios de los aceites sino también a los componentes minoritarios presentes en los AEs, los cuales pueden jugar un rol más o menos importante en la actividad pediculicida.

Es sabido que para introducir un pediculicida en el mercado es necesario no solo analizar la efectividad de los compuestos sino estudiar los efectos adversos sobre el humano y el ambiente. En efecto, los productos naturales como es el caso de los aceites esenciales que se aplican de forma tópica sobre el cuero cabelludo requieren de estudios de toxicidad por exposición dérmica. En base a lo expuesto, se realizaron bioensayos de irritación/corrosión por vía dérmica en conejos de raza Neozelandés albinos de los aceites esenciales, no observándose alteraciones en la respuesta.

La prevalencia de *P.h. capitis* hallada en este trabajo en niños de jardines de infantes demuestra la necesidad de desarrollar estrategias de control, a corto plazo que incluyen el saneamiento ambiental y la educación sanitaria tendiente a adoptar medidas de control y prevención y la eliminación del piojo de la cabeza. Aunque los pediculicidas sintéticos siguen siendo efectivos se debe continuar con la búsqueda de nuevos compuestos que no desarrollen resistencia en las poblaciones de insectos. Estos problemas pueden ser resueltos a través del desarrollo de nuevas alternativas de control como los productos naturales tales como los AEs que son selectivos, tienen múltiples sitios de acción y reducen el posible fenómeno de resistencia.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta tesis el aceite esencial de *Thymus vulgaris* podría convertirse en una herramienta válida para ser utilizada en el manejo de *Pediculus humanus capitis* dado que a una concentración baja y aplicado durante 21 minutos produciría un efecto de volteo apreciable en adultos (seguido de mortalidad) y toxicidad en huevos; no mostrando irritación y/o corrosión dérmica.

CAPITULO VI

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelgaleil, S. A. M; Mohamed, M. I. E.; Badwy, M. E. I. & El-arami, S. A. A. (2009). Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. *Journal Chemistry. Ecology*, 35: 518-525.
- Abrahamovich, A.; Cicchino, A.; González, A.; Castro, D del C. & Mandez, E. (1996). *Pediculus capitis*: Estudio sobre la influencia del sexo y la edad en la prevalencia anual, mensual y estacional. *Archivos Argentinos de Dermatología*, 46: 91-96.
- Adler, P. H. & Foottit, R. G. 2009. Introduction. En: Foottit, R. G. & Adler, P. H. *Insect Biodiversity: Science and Society*. Wiley-Blackwell, UK. Cap 1: 1-6.
- Aguado, M. I.; Nuñez, M. B.; Dudik, H. N.; Bela, A. J.; Raisman, J. S.; Sansberro, P. A. (2006). Diseño de Comprimidos de Extracto de *Aloysia polystachya* por Compresión Directa. *Acta Farmacológica Bonaerense*, 25: 225-230.
- Aguado, M. I.; Nuñez, M. B.; Bela, A. J.; Sosa, A. C.; Sansberro, P. A. (2007). Ensayos preliminares en *Aloysia polystachya* (Griseb.) Mold. (Verbenaceae) y sus tinturas. *Latin American Journal of Pharmacy*, 26: 411-414.
- Aguilar Rebolledo, F.; Servando, J; Juárez Ocaña, J. M.; Mejía Aranguré, J. M. & Sanabria Salcedos, M. (2003). Conceptos básicos de epidemiología y estadística. *Revista Médica*, 41: 419-427.
- Akhter, S.; Mondal, M. M. H.; Alim, M. A. & Moinuddin, M. A. (2010). Prevalence of lice infestation in humans in different socio-economics satatus at Mymensingh in Bangedesh. *International Journal Biology Research*, 1: 13-17.
- Akinboro, A & Bakare, A. A. (2007). Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 470-475.
- Al-Bayati, F. A. (2008). Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and metanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. 116: 403-406.
- Al-mazra'awi, M. S.; Ateyyat, M. (2009). Insecticidal and repellent activities of medicinal plant extracts against the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Hom: Aleyrodidae) and its parasitoid *Eretmocerus mundus* (Hym. Aphelinidae). *Journal of Pest Science*, 82: 149-154.
- Ali, N. & Ramzan, F. (2004). Head lice infestation in school children at Dera Ismail Khan. *Pakistan Journal Zoology*, 36: 273-280.
- Alonso, J.; Desmarchelier, C. (2005). Plantas Medicinales Autóctonas de Argentina. Bases Científicas para su Aplicación en Atención Primaria de la Salud. *Fitociencia*, Argentina. 663 pp.

- Almeida Filho, N. & Rouquayrol, M. Z. (2011). *Epidemiología y Saúde*. Ed. Lugar 570pp
- Ameen, M.; Arenas, R.; Villanueva-Reyes, J.; Ruiz-Esmenjaud, D.; Millar, D.; Domínguez-Dueñas, F.; Haddad-Angula, A. & Rodríguez-Alvarez, M. (2010). Oral ivermectin for treatment of pediculosis capitis. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 29: 991-993.
- Amr, Z & Nusier, M. (2000). Pediculosis capitis in northern Jordan. *International Society of Dermatology*, 39: 919-921.
- Angioni, A.; Barra, A.; Coroneo, V.; Dessi, S. & Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from steam/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4364-4370.
- Arakaki, A. (2011). La pobreza en la Argentina 1974-2006. Construcción y análisis de la información. Documentos de Trabajos N° 16.
- Araújo, A.; Ferreira, L. F.; Guidon, N.; Maues Da Serra, F. N.; Reinhard, K. J. & Dittmar, K. (2000). Ten thousand years of head lice infection. *Parasitology Today*, 16: 269.
- Araújo, E. C. C.; Silveira, E. R.; Lima, M. A. S.; Andrade Neto, M.; de Andrade, I. L. & Lima, M. A. A. (2003). Insecticidal Activity and Chemical Composition of Volatile Oils from *Hyptis martiusii* Benth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3760-3762.
- Argyropoulou, C.; Daferera, D. Tarantilis, P. A.; Fasseas, C. & Polissiou M. (2007). Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* H.B.K. (Verbenaceae) at two developmental stages. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35: 831-837.
- Arriaza, B.; Standen, V.; Nuñez, H. & Reinhard, K. (2013). Study of archaeological nits/eggs of *Pediculus humanus capitis* by scanning electro microscopy. *Micron*, 45: 145-149.
- Ascunce, M. S.; Toups, M. A.; Kassu, G.; Fane, J.; Scholl, K. & Reed, D. I. (2013). Nuclear genetic diversity in human lice (*Pediculus humanus*) reveals continental differences and high inbreeding among worldwide populations. *PLoS One* 8, e57619.
- Askew, R. R. (1971). *Parasitis Insecta*. Heniemann Educational. London. 316pp.
- Atias, A. M. & Neghme, A. R. (1995). *Parasitología Clínica*. 3 ed. Publicaciones Técnicas Mediterráneo. Santiago, Chile. 617pp.
- Ávalos García, A.; Perez Urria-Carril, E. (2009). Metabolismo secundario de las plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal, 2: 119-145.
- Ayvaz, A.; Sagdic, O.; Karaborklu, S. & Ozturk, I. (2010). Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. 13 pp. *Journal of Insect Science* 10:21 available online: insectscience.org/10.21.
- Baca, P.; Junco, P.; Bravo, M. (2003). Caries incidence in permanent first molars after discontinuation of a school-based chlorhexidine-thymol varnish program. *Community Dent Oral Epidemiology*, 3: 179-183.

- Bacot, A. W. (1917). A contribution to the bionomics of *Pediculus humanus* (vestimenti) and *Pediculus capitis*. *Parasitology*, 9: 228-58.
- Baki, M. A.; Rahman, M. A. A.; Khatune, N. A.; Zahid, R. A.; Khalequzzaman, M.; Husain, M. M. & Sadik, G. (2002). Synergic Effects of *Wedelia calendulacea* Less. Plant Extracts with *Lambda cyhalothrin* on common Housefly *Musca domestica* L. *Online Journal of Biological Science*, 2: 686-689.
- Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oil. A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
- Bagavan, A.; Rahuman, A. A.; Kamaraj, C.; Elango, G.; Zahir, A. A.; Jayaseelan, C.; Santhoshkumar, T. & Marimuthu, S. (2012). Contact and fumigant toxicity of hexane flower bud extract of *Syzygium aromaticum* and its compounds against *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). *Parasitology Research*, 109: 1329 – 1340.
- Balandrin, M. & Klocke, J. A. (1985). Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. *Science*, 228: 1154-1160.
- Bandoni, A. L. & Dellacasa, E. (2003). Hierbaluisa. *Aloysia citriodora* Palau. *Revista de Fitoterapia*, 3: 19-25.
- Baranauskiene, R.; Venskutonis, P. R.; Viskelis, P.; Dambrauskiene, E. (2003). Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7751-7758.
- Barat, S. K. & Scaria, K. Y. (1962). The nature of the cementing substances found in the infested pig bristles. *Bulletin Center Leather Research Institute*, 9:73-74.
- Barker, S.C., M. Whiting, K.P. Johnson & A. Murrell. (2003). Phylogeny of the lice (Insecta: Phthiraptera) inferred from small subunit rRNA. – *Zoologica Scripta*, 32: 407–414.
- Bauer, K.; Garbe, D. & Surburg, H. (2001). *Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation Properties and Uses*. Wiley-VCH. Weinheim, 293 pp.
- Bauer, E., Jahnke, C. & Feldemeier, H. (2009). Seasonal fluctuations of head lice infestation in Germany. *Parasitology Research*, 104: 677-681.
- Beccaria, L. & Minujín, A. (1985). Métodos alternativos para medir la evolución del tamaño de la pobreza. Documento de Trabajo N° 6. INDEC, Buenos Aires.
- Ben-Yakir, K.; Mumcuoglu, K.; Manor, O.; Ochanda, J. & Galun, R. (1994). Immunization of rabbits with a midgut extracts of the human body louse *Pediculus humanus capitis*: the effect of induced resistance on the louse population. *Medical and Veteriinary Entomology*, 8: 114- 118.
- Bentancourt, C. M.; Scatoni, I. B. & Morelli, E. (2009). Orden Phthiraptera. En *Insectos del Uruguay*. Universidad de la República. Facultad de Agronomía-Facultad de Ciencias.

- Benzi, V.; Sánchez Chopa, C. & Ferrero, A. A. (2009a). Comparación del efecto insecticida de dos especies de *Aloysia* (Verbenaceae) sobre *Rhizopertha dominica* (Insecta, Coleoptera, Bostrichidae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. Sociedad Fotoquímica latinoamericana, 8: 151-153.
- Benzi, V.; Stefanazzi, N. & Ferrero, A. A. (2009b). Biological activity of essential oils from leaves and fruit of pepper tree (*Schinus molle* L.) to control rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.). Chilean Journal of Agricultural Research, 62: 154-159.
- Benzi, V. (2013). Productos de origen natural con bajo impacto ambiental como fuentes alternativas para el manejo integrado de plagas, aplicados al control de *Rhizopertha dominica* (Insecta, Coleoptera). Tesis doctoral en Biología. Universidad Nacional del Sur. 161pp.
- Bibi, F.; Tasawar, Z. & Ali, Z. (2011). The prevalence of human pediculosis in Kot Addu district Muzaffargarh (Punjab) Pakistan. The Journal of animal and plant science, 21: 364-367.
- Blackwell, A.; Evans, K. A.; Strang, R. H.C. & Cole, M. (2004). Toward development of neem based repellents against the Scottish Highland biting midge *Culicoides impunctatus*. Medical and Veterinary Entomology, 18: 449-452.
- Blazka, M. E. & Hayes, A. W. (2008). Acute toxicity and eye irritancy. En: Principles and methods of toxicology, Fifth Edition. Editor: A. Wallace Hayes. CRC Press, pp: 1131-1177.
- Bloomquist, J. R. (2004). Insecticides: Chemistries and Characteristics. En: Ware, G. W. & Whitacre, D. M. The Pesticide Book. 6 ed. Meister Media Worldwide. Ohio, EEUU. 496pp.
- Bonilla, D. L.; Durden, L. A.; Eremeeva, M. E. & Dasch, G. A. (2013). Pediculus infestation and louse-borne diseases: Challenges in diagnosis, treatment, prevention and control. PLOS Pathogens, 9: 1-5.
- Borges, R. & Mendes, J. (2002). Epidemiological aspects of head lice in children attending day care centers urban and rural schools in Uberlândia, central Brazil. Memórias Del Instituto Oswaldo Cruz, 97: 189-192.
- Borges-Moroni, R.; Mendes, J.; Brandao, J. S. & Lima Bindá, A. (2011). Head lice infestation in children in day-care centers and schools of Manaus, Amazon, Brazil. Revista de Patología Tropical, 40: 263-270.
- Boutellis, A., Abi-Rached, L. & Rault, D. (2014). The origin and distribution of human lice in the world Infection. Genetics and Evolution, 23: 209-217.
- Bras, C. L.; Dominguez, S.; Codón, S.; Minetti, A. & Ferrero, A. (2010). Consequences of subchronic exposure to ethanolic extract from fruits and leaves of *Schinus molle* var *areira* L. in mice. Journal of Ethnopharmacology, 132: 321-327
- Bras, C. L. (2012) Evaluación de la toxicidad de extractos de frutos y hojas de *Schinus areira* L. en modelos experimentales de mamífero, para su aplicación segura como insecticida botánico. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur. 203 pp.

- Brattsten, L. B.; Holyoke, C. W.; Jr.; leeper, J. R. & Raffa, K. F. (1986). Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. *Siente*, 231: 1255-1260.
- Breckenridge, C .B. & Stevens, J. T. (2008). Crop protection chemicals: Mechanism of action and hazard profiles. En: *Principles and Methods of Toxicology*. 5th Edition. Editado por A. Wallace Hayes, 727-792pp.
- Breuer, M.; Hoste, B.; De Loof, A. & Naqvib, S. N. H. (2003). Effect of *Melia azedarach* extracto n the activity of NADPH-cytochrome c reductase and cholinesterase in insects. *Pesticide Biochemistry and physiology*, 76: 99-103.
- Brown A.E. (2006). Mode of action of insecticides and related pest control chemicals for production agriculture, ornamentals and turf. Pesticide information Leaflet N° 43. Maryland Cooperative Extension, University of Maryland, College Park, MD, USA.
- Bueno Marí, R.; Moreno Marí, J.; Oltra Moscardó, M.T. & Jiménez Peydró, R. (2009). Artrópodos con interés vectorial en la salud pública en España. *Revista Española de Salud Pública*, 83(2): 201-214.
- Burgess, I. F.; Brown, C. M. & Burgess, N. A. (1994). Synergized pyrethrin mousse, a new approach to head lice eradication: efficacy in field and laboratory studies. *Pyrethrum Post*, 19: 441-46.
- Burgess, I. F.; Brown, C.; Peock, S. & Kaufman, J. (1995). Head lice resistant pyrethroid insecticides in Britain. *British Medical Journal*, 311-752.
- Burgess, I. F. (2004). Human lice and their control. *Annual Review of Entomology*, 49: 457-481.
- Burgess, I. F.; Brown, C. M. & Lee, P. N. (2005). Treatment of head louse infestation with 4% dimeticone lotion randomized controlled equivalence trial. *British Medical Journal*, 330: 1423-1425.
- Burgess, I. F. (2009a). The mode of action of dimeticone 4% lotion against head lice, *Pediculus capitis*. *BMC Pharmacology*, 9: 3.
- Burgess, I. F. (2009b). Head lice. *Clinical Evidence (Online)* pii: 1703.
- Burgess, I. F.; Brunton, E. R. & Burgess, N. A. (2009c). Clinical trial showing superiority of a coconut and anise spray over permethrin 0.43% lotion for head louse infestation, ISRCTN96469780. *European Journal of Pediatrics*, DOI 10.1007/s00431-009-0978-0.
- Burgess, I. F. & Burgess, N. A. (2011). Dimeticone 4 % liquid gel found to kill all lice and eggs with a single 15 minute application. *BMC Res Notes*, 4:15.
- Burkhart, C. N.; Burkhart, C. G.; Pchalek, I. & Arbogast, J. (1998). The ladherent cylindrical nit structure and its chemical denaturation in vitro: an assessment with therapeutic implications for head lice. *Archives of Pediatric and Adolescent Medicine*, 152: 711-715.

- Burkhart, C. N.; Burkhart, C. G.; Gunning, W. T. & Arbogast, J. (1999a). Scanning Electron Microscopy of Human Head Louse (Anoplura: Pediculidae) Egg and its Clinical Ramifications. *Journal of Medical Entomology*, 36: 454-456.
- Burkhart, C. N.; Arbogast, J.; Smythe, P. & Burkhart, C. G. (1999b). Histochemical Analysis of the Nit of *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Medical Entomology*, 36: 530-532.
- Burkhart, C. N.; Stankiewicz, B. A.; Pchalek, I.; Kruge, M. A. & Burkhart, C. G. (1999c). Molecular composition of the louse sheath. *Journal of Parasitology*, 85: 559-561.
- Burkhart, C. N. (2002). Nit sheath and bacterial symbiotes of the human head louse (*Pediculus humanus capitis*) (master's thesis), Toledo, Ohio: Medical College of Ohio.
- Burkhart, C. N. & Burkhart, C. G. (2005). Head lice: Scientific assessment of the nit sheath with clinical ramifications and therapeutic options. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 53: 129-133.
- Burkhart, C. N. & Burkhart, C. G. (2007). Fomite transmission in head lice. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 56: 1044-1047.
- Burt, S. & Reinders, R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*, 36: 162-167.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food, a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223- 253.
- Busvine J. R. (1948). The head and body races of *Pediculus humanus* (L). *Parasitology*, 39: 1-16.
- Busvine J. R. (1978). Evidence from double infestations for the specific status of human head lice and body lice (Anoplura). *Systematic Entomology*, 3: 1-8.
- Busvine, J.; Burn, J. & Gamlin, R. (1948). Experiments with DDT and Gamma BHC for use against Head Lice. *The Medical Officer*, 79: 121-124.
- Buxton, P. A. (1946). The louse: an account of the lice which infest man and their medical importance and control. Editorial Edward Arnold. London.
- Caballero Garcia, C. (2004). Efectos de terpenoides naturales hemisintéticos sobre *Leptinotarse decemlineata* (SAY) y *Spodoptera exigua* (HUBNER) (Lepidoptera: Noctumae). Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid: Facultad de Ciencias Biológicas, 107 pp.
- Carter, D. (1990). Insect egg glue. PhD thesis, Department of Applied Biology, Cambridge University.
- Castex, M.; Suárez, S. & De La Cruz, M. (2000). Presencia de la pediculosis en convivientes con niños positivos a *Pediculus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 52: 225-227.

- Castro, D.; Abramovich, A. H.; Cichino, A. C.; Rigoni, A. M.; Rafaelli, C. & de Barrio, A. (1994). Prevalencia y estacionalidad de la *Pediculosis capitis* en la población infanto-juvenil de la región sanitaria, Buenos Aires, Argentina. *Revista. Saúde Publica*, 28: 295-299.
- Castro, D. & Cicchino, A. C. (1998). Anoplura. En *Biodiversidad de Artrópodos Argentinos*. Morrone, J. & Coscarón, S. Ed. Sur.
- Catalá, S.; Carrizo, L.; Córdoba, M.; Khairallah, R.; Moschella, F.; Nacif, J.; Nieto, A.; Torres, J. & Tutito R. (2004). Prevalência e intensidade da infestação por *Pediculus humanus capitis* en escolares de seis a onze anos. *Revista de la Sociedad Brasileira de Medicina Tropical*, 37: 499- 501.
- Catalá, S.; Junco, L. & Vaporaky, R. (2005). *Pediculus capitis* infestation accordin to sex and social factors in Argentina. *Revista Saude Pública*, 39: 438-443.
- Cavoski, I.; Caboni, L. & Miano T. (2011). Natural Pesticidas and Future Perspectivas. In *Pesticidas in the Modern World-Pesticides Use and Managment*. Dr. Stoycheva, M. (Ed), 169-190 pp.
- Cazorla, D; Ruiz, A & Acosta M. (2007). Estudio clínico-epidemiológico sobre pediculosis capitis en escolares de Coro, estado Falcón, Venezuela. *Investigación Clínica*, 48: 445-457.
- Cazorla., D.; Cuencas Talavera, J.; Acosta Quintero, M. & Morales Moreno, P. (2012). Aspectos clínico-epidemiológicos sobre pediculosis capitis en Arenales, Estado Falcón, Venezuela. *Revista Argentina de Dermatología*, online Vol 93 N° 1 En: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-300X2012000100004&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1851-300X.
- Chaudhry, S.; Maqbool, A.; Ijaz, M.; Ahmad, N.; Latif, M. & Mehmood, K. (2012). The importance of socio-economic status and sex on the prevalence of human Pediculosis in governmet schools children in Lahore, Pakistan. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 28: 952-955.
- Chirino, M.; Cariac, M. J. & Ferrero, A.A. (2001). Actividad insecticida de extractos crudos de drupas de *Schinus molle* L. (Anacardaceae) sobre larvas neonatas de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptero: Tortricidae). *Boletín de la Sanidad Vegetal. Plagas*, 27: 305-314.
- Choi, W. I.; Lee E. H.; Choi, B. R.; Park, H. M. & Ahn, Y. J. (2003). Toxicity of Plant Essential Oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*, 96: 1479-1484.
- Chouela, E.; Chouela, E. & Garrido, A. (2007). Pediculosis 2007. Opciones terapéuticas. *Dermatología Argentina*, XIII (3): 168-171.
- Cicchino, A. & D. del C. Castro. (1998). Anoplura. En: Morrone, J. J. & Coscarón, S. (Editores), *Biodiversidad de Artrópodos argentinos*, Buenos Aires, Argentina. Cap. 10: 125-150pp.

- Clayton D. H.; Adams, R. J. & Bush, S. E. (2008). Phthiraptera, the Chewing Lice. En Parasitic diseases of wild birds. Eds. C. T. Atkinson, N. J. Thomas y D. B. Hunter. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa. U.K., Cap 29: 515-526.
- Clark, J. M.; Yoon, K. S.; Lee, S. H. & Pittendrigh, B. R. (2013). Human lice: Past, present and future control. Pesticide Biochemistry and Physiology, 106: 162-171.
- Clore, E. (1988). Nursing management of pediculosis. Pediatric Nursing, 3: 4.
- Clore, E. & Longyear, I. (1990). Comprehensive pediculosis screening programs for elementary school. Journal of School Health, 60: 212-214.
- Cloudsley-Thompson, J. L. (1998). Evolution and Adaptation of Terrestrial Arthropods. Berlin: Springer Verlag.
- Costa, L. G. (2010). Toxic effects of pesticides. En: Casarett & Doull's Essentials of toxicology. Second Edition. Editores: Curtis D. Klaassen y John B. Watkins III. The McGraw-Hill Companies. 309-321pp.
- Cruickshank, R. H.; Johnson, K. P.; Smith, V. S.; Adams, R. J.; Clayton D.H. & Page, R. D. M. (2001). Phylogenetic Analysis of Partial Sequences of Elongation Factor 1 α Identifies Major Groups of Lice (Insecta: Phthiraptera). Molecular Phylogenetics and Evolution. 19: 202-215.
- Culpepper, C. H. (1948). Rearing and maintaining a laboratory colony of body lice on rabbits. American Journal of Tropical Medicine, 28: 499-504.
- Dadé, M. M.; Fioravanti, D. E.; Schinella, G. R.; Tournier, H. A. (2009). Total antioxidant capacity and polyphenol content of 21 aqueous extracts obtained from native plants of Traslasierra valley (Argentina). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 8: 529- 539.
- Dal Bello, G.; Padín, S. (2006). Olfatómetro simple para evaluar la actividad biológica de aleloquímicos vegetales en *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). Agrociencia, 10: 23-26.
- Damiani, N.; Gende, L. B.; Bailac, P.; Marcangeli, J. A.; Eguaras, M. J. (2009). Acaricidal and insecticidal activity of essential oils on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). Parasitology Research, 106: 145-152.
- Degerli, S.; Malatyali, E. & Mumcuoglu, K. (2013). Head lice prevalence and associated factors in two boarding schools in Sivas. Turkiye Parazitol Derg, 37: 32-35.
- Delgado, A.; Kurdelas, R.; Gamarra, K.; Artola, S.; Das Neves Guerreiro, M.; Maure, A.; Silva, C.; Souto, M.; Flores, M. & Martínez, R. (2010). Prácticas de prevención y tratamiento de la pediculosis capitis en Comodoro Rivadavia. Argentina. Latin American Journal Pharmacy, 29: 132-136.
- Del Ponte, E. (1959). Orden Anoplura. En: Manual de Entomología Médica y Veterinaria Argentinas. Eds. Librería del Colegio. Buenos Aires. Argentina. Cap XII. 102-119pp.

- Dent, A. (2000). *Insect Pest Management*. 2 ed. CABI Publishing, Cambridge.UK. 410pp.
- De Paz, N.; Gil, A. G.; Ezpeleta, O. & López de Cerain, A. (2005). Aplicación de la estrategia secuencial de la OCDE para evaluar la irritación y corrosión dérmica de un producto fitosanitario. *Revista Toxicológica*, 22: 30-36.
- Descamps, L. R. (2007). Actividad biológica de extractos vegetales y aceites esenciales de *Schinus molle* var. *areira* (Anacardiaceae) en *Tribolium castaneum* Herbst. (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae), plaga de grano almacenado. Tesis doctoral en Agronomía. Universidad Nacional del Sur. 147pp.
- Devera, R. (2012). Epidemiología de la pediculosis capitis en América Latina. *Saber*, Universidad de Oriente, Venezuela, 24: 25-36.
- De Villalobos, C.; Ranalletta, M.; Sarandón, R. & González, A. (2003). La pediculosis de ayer y de hoy. Un estudio epidemiológico sobre la infestación de *Pediculus capitis* en niños de La Plata, Buenos Aires, Argentina. *Entomology Vectors*, 10: 567-577.
- Devine, G. J.; Eza, D.; Ogusuku, E. & Furlong, M. J. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 25: 74-100.
- Devine, G. J. & Denholm, I. (2003). Insecticide and Acaricide Resistance. En: Resh, V. H. & Cardé, R. T. *Encyclopedia of Insects*. Academic Press. USA. 569-577pp.
- Díaz, C.; Quesada, S.; Brenes, O.; Aguilar, G.; Ciccío, J. F. (2008). Chemical composition of *Schinus molle* essential oil and its cytotoxic activity on tumour cell lines. *Natural Products Research*, 22: 1521-1534.
- Di Campli, E.; Di Bartolomco, S.; Delli Pizza, P.; Di Giulio, M.; Grande, R.; Nostro, A. & Cellini, L. (2012). Activity of tree oil and nerolidol alone or in combination against *Pediculus capitis* (head lice) and eggs. *Parasitology Research*, 111: 1985-1992.
- Digilio, M. C.; Mancini, E.; Voto, E. & De Feo, V. (2008). Insecticide activity of Mediterranean essential oils. *International Journal of Plant*, 3: 17-23.
- Dikshit, A.; Naqvi, A.A.; Husain, A. (1986). *Schinus molle*: a new source of natural fungitoxicant. *Applied and Environmental Microbiology*, 51: 1085-1088.
- Downs, A. M.; Stafford, K. & Coles, G. C. (1999). Head lice: Prevalence in school children and insecticide resistance. *Parasitology Today*, 15:1-4.
- Downs, A. M. (2004). Managing head lice in an era of increasing resistance to insecticides. *American Journal of Clinical Dermatology*, 5: 169-177.
- Driver, G. C. (1974). Lice in the Old Testament. *Palestine Exploration Quarts*, 106: 159-160.
- Dua, V. K.; Pandey, A. C.; Singh, V.; Sharma, V. P. & Subbarao, S. K. (2003). Isolation of repellent ingredients from *Lantana camara* (Verbenaceae) flowers and their repellency against aedes mosquitoes. *Journal of Applied Entomology*, 127: 509-511.

- Duke, J. A. (2009). *Duke's handbook of medicinal Plants of Latin America* CRC Press, Estados Unidos. 910pp.
- Durden, L. A. & Musser, G. G. (1994). The sucking lice (Insecta, Anoplura) of the world: a taxonomic checklist with records of mammalian hosts and geographical distributions. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 218: 4-90.
- Durden, L. A. (2008). Introduction of Dale H. Clayton as the Henry Baldwin Ward medalist for 2008. *Journal of Parasitology*, 94: 1193-1194.
- Duschatzky, C.; Martínez, A.; Almeida, N. (2004). Nematicidal activity of the essential oils of several Argentina plants against the root-knot nematode. *Journal of Essential Oil Research*, 16: 626-628.
- Eaton, D. L. & Gilbert, S. G. (2010). Principles of toxicology. En: Casarett & Doull's *Essentials of Toxicology*. Second Edition. Editores: Curtis D. Klaassen y John B. Watkins III. McGraw-Hill LANGE. 5-19pp.
- Ebadollahi, A. (2013). Essential oils isolated from Myrtaceae family as natural insecticides. *Annual Review & Research in Biology*, 3: 148-175.
- Eddy, G. W. (1952). Effectiveness of certain insecticides against DDT resistant body lice in Korea. *Journal Economy Entomology*, 45: 1043-1051.
- Ehrlich, P. & Raven, P. (1964). Butterflies and plants: a study of coevolution. *Evolution*, 18: 586-608.
- El-Basheir, Z. M. & Fouad, M. A. (2002). A pilot survey on head lice, Pediculosis in Sharkia Governate and treatment of lice with natural plant extracts. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 32: 725-736.
- El-Shazly, A. M. & Hussein, K. T. (2004). Chemical analysis and biological activities of the essential oil of *Teucrium leuclidum* Boiss. (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 32: 665-674.
- Escobar Mata, A. N.; Molina Moncayo, C. E. & Zapata Jaramillo, G. A. (2013). Comparación de la actividad acaricida entre *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris* contra el acaro *Tetranychus urticae*. Tesis de grado. Universidad Politécnica Salesiana de Quito. Ecuador. 111 pp.
- Falagas, M. E.; Matthaïou, D. K.; Rafailidis, P. I.; Panos, G. & Pappas, G. (2008). Worldwide prevalence of head lice. *Emergency Infections Disease*, 14: 1493-1494.
- Feldmeier, H. (2010). Diagnosis of head lice infestations: an evidence-based review. *The Open Dermatology Journal*, 4: 69-71.
- Fernández, S.; Fernández, A.; Armentia, A. & Pineda, F. (2006). Allergy due to head lice *Pediculus humanus capitis*. *Allergy*, 61: 1372.

- Fernández-Rubio, F. (1999). Artrópodos y salud humana. Ed. Gobierno de Navarra. Departamento de salud, 275pp.
- Ferrero, A. A.; Werdin González, J. O. & Sánchez Chopa, C. (2006). Biological activity of *Schinus molle* on *Triatoma infestans*. *Fitoterapia*, 77: 381–383.
- Ferrero, A. A.; Ferrero, A. A.; Sánchez Chopa, C.; Werdin González, J.; Alzogaray, R. (2007). Repellence and toxicity of extracts from *Schinus molle* (Anacardiaceae) on *Blattella germanica* (Dictyoptera, Blattellidae). *Fitoterapia*, 78: 311-314.
- Ferrero, A. A.; Carriac, M. J.; Cervellini, P. M.; Gutiérrez, M. M. & Laumann, R. A. (2008). Los Artrópodos: una guía para su estudio. Editorial de la Universidad Nacional del Sur, Argentina. 262pp.
- Ferris, G. F. (1935). Contributions Howard a Monograph of the sucking lice. Stanford University Publications: Biological Sciences, 2: 1-634.
- Ferris, G. F. (1951). The sucking Lice. *Memories of the Pacific Coast Entomological Society*, 1: 1-320.
- Fontúrbel, B. L. & Mondaca, D. (2000). Coevolución insecto-planta en la polinización. *Revista Estudiantil de Biología*, 1: 18-27.
- Fournet, A.; Rojas de Arias, A.; Charles, B. & Bruneton, J. (1996). Chemical constituents of essential oils of Mufia, Bolivian plants traditionally used as pesticides, and their insecticidal properties against Chagas' disease vectors. *Journal of Ethnopharmacology*, 52: 145-149.
- Frankowski, B. L. & Weiner, L. B. (2002). Head Lice: Clinical report. *American Academy of Pediatrics*, 110: 638-643.
- Gallardo, A.; Mougabure Cueto, G. & Picollo, M. I. (2009). *Pediculus humanus capitis* (head lice) and *Pediculus humanus humanus* (body Lice): response to laboratory temperature and humidity and susceptibility to monoterpenoids. *Parasitology Research*, 105: 163-167.
- Gallardo, A.; Toloza, A.; Vassena, C.; Picollo, M. I. & Mougabure-Cueto, G. (2013). Comparative efficacy of comercial combs in removing head lice (*Pediculus humanus capitis*) (Phthiraptera: Pediculidae). *Parasitology Research*, 112: 1363-1366.
- Gállego Berenguer, J. (2003). Phylum Artropoda: Clase Insecta. En *Manual de Parasitología: Morfología y biología de los parásitos de interés sanitario*. 2 ed. Universidad de Barcelona, 25: 415-423.
- García, S & Basabe, N. (2008). Pediculosis. En *Parasitosis Regionales*. Costamagna, S. R. & Visciarelli, E. C. Ed. UNS
- García Salazar, B.; Hernández Moreno, D.; Soler Rodríguez, F. & Pérez López, M. (2011). Empleo de ivermectina como parasiticida en ovino: posibles efectos tóxicos y repercusiones ambientales. *Anales de Veterinaria*, 27: 23-32.

- Gbakima, A. A. & Lebbie, A. R. (1992). The head louse in Sierra Leone: an epidemiological study among school children, in the Njala area. *West African Journal of Medicine*, 11: 165–71.
- George, D. R.; Sparagano O. A. E.; Port, G.; Okello, E.; Shiel, R. S.; Guy, J. H. (2009). Repellence of plant essential oils to *Dermanyssus gallinae* and toxicity to the non-target invertebrate *Tenebrio molitor*. *Veterinary Parasitology*, 162: 129-134.
- Georghiou, G. P. (1987). Insecticides and pest resistance: the consequences of abuse. En: 36th Faculty Research lecture. University of California, Riverside, 1-27.
- Gigord, L.; Lavigne, C.; Shykoff, J. A. & Atlan, A. (1999). Evidence for effects of restorer genes on male and female reproductive functions of hermaphrodites in the gynodioecious species *Thymus vulgaris* L. *Journal of Evolutionary Biology*, 12: 596-604
- Gilbert, S. F. (1997). *Development Biology*, 5th ed., Sinauer Associates Institute, Sunderland, Massachusetts, 918 pp.
- Gillij, Y. G.; Gleiser, R. M. & Zygadlo, J. A. (2008). Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresource Technology*, 99: 2507-2515.
- Gillot, C. (2005). *Insects and Humans*. En: Gillot, C. *Entomology*. 3 ed. Springer. Netherlands. Cap. 725-776.
- Gleiser, R. M.; Zygadlo J. A. (2007). Insecticidal properties of essential oils from *Lippia turbinata* and *Lippia polystachya* (Verbenaceae) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 101: 1349-1354.
- Goates, B. M.; Atkin, J. S.; Wilding, K. G.; Birch, K. G.; Cottam, M. R.; Bush, S. E. & Clayton, D. H. (2006). An effective nonchemical treatment for head lice: a lot of hot air. *Pediatrics*, 118: 1962-1970.
- Goddard, J. (2008). *Infectious Diseases and Arthropods*. 2 ed. Human Press. 252pp.
- Golob, P.; Moss, C.; Dales, M.; Fidge, A.; Evans, J. & Gudrups, I. (1999). The use of species and medicinal bioactive protectants for grains. *FAO Bulletin of Agriculture Service*. Bull. N° 137. Roma, Italia.
- González, A.; Castro D. D. C. & De Villalobos C. (2005). Phthiraptera. En *Artrópodos de Interés Médico en Argentina*. 1 ed. Fundación Mundo Sano, Cap 7: 41-46.
- González Audino, P.; Barrios, S.; Cassena, C.; Mougabure Cueto, G.; Zerba, E. & Picollo, M. I. (2005). Increased Monooxygenase Activity Associated with Resistance to Permethrin in *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina. *Journal Medical Entomology*, 42: 342-345.
- Gratz, N.G. (1997). *Human Lice: Their prevalence, control and resistance to insecticides*. Geneva, Suiza: WHO/CTD/WHOPES/97.8; 1997, pp 1-28.

- Grimaldi, D. & Engel, M. S. (2006). Fossil *Liposcelididae* and the lece ages (Insecta: Psocodea). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science*, 273: 625-633.
- Gundinza, M. (1993). Antimicrobial activity of essential oil from *Schinus molle*. *Central African Journal of Medicine*, 39: 231-234.
- Gulati, P. V.; Kamat, J. & Singh, K. P. (1981). A community based epidemiological study of louse infestation. *Journal Clinician*, 45: 177-181.
- Gullan, P. J. & Cranston, P. S. (2005). *The Insects. An outline of entomology*. 3 ed. Blackwell Ltd. United Kingdom. 529pp.
- Gutiérrez, F. S., Stefanazzi, N., Murray, A. P.; Ferrero, A. (2008). Bioactividad de extractos de hojas de *Aloysia polystachya* (Verbenaceae) en larvas y adultos de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *Boletín de la Sanidad Vegetal Plagas*, 34: 501-508.
- Gutiérrez, M. M.; Stefanazzi, N.; Werdin González, J.; Benzi, V. & Ferrero, A. A. (2009). Actividad fumigante de aceites esenciales de *Schinus molle* (Anacardiaceae) y *Tagetes terniflora* (Asteraceae) en adultos de *Pediculus humanus capitis* (Insecta; Anoplura; Pediculidae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8: 176-179.
- Gutiérrez, M. M.; Werdin González, J.; Stefanazzi, N.; Serralunga, G.; Yañez, L. & Ferrero, A. A. (2012). Prevalence of *Pediculus humanus capitis* infestation among Kindergarten children in Bahía Blanca city, Argentina. *Parasitology Research*, 111: 1309-1313.
- Habedank, B.; Schrader, G.; Scheurer, S. & Schein, E. (1999). Investigations on the in vitro feeding and in vitro breeding of the human body louse *Pediculus humanus corporis* (Anoplura: Pediculidae). In: Robinson, W. H.; Rettich, F. & Rambo, G. W. eds. *Proceedings of the 3rd International Conference on Urban Pests*. Prague 1999.
- Hadfield-Law, L. (2000). Head lice for A & E nurses. *Accident and Emergency Nursing*, 8: 84-87.
- Hahn, D. C.; Price, R. D. & Osenton, P.C. (2000). Use of lice to identify cowbird hosts. *Auk* 117 (4), 943-951.
- Hansen, R. C. & O'Haver, J. (2004). Economic considerations associated with *Pediculus humanus capitis* infestation. *Clinical Pediatrics*, 43: 523-527.
- Hanson, L. & Ritter, L. (2010). Toxicity and safety evaluation of pesticides. En: *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. Third Edition. Volume 1. Edited by Robert Krieger. Academic Press, Elsevier. pp: 333-336.
- Hayes, B. B.; Patrick, E. & Maibach, H. J. (2008). Dermatotoxicology. En: *Principles and methods of toxicology*. Fifth Edition. Editor: A. Wallace Hayes. CRC Press. pp: 1359-1405.
- Hayouni, E. A.; Chraief, I.; Abedrabba, M.; Bouix, M.; Leveau, J. Y.; Mohammed, H.; Hamdi, M. (2008). Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical

compositions and their preservative effects against Salmonella inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, 125: 242-25

- Hazrati Tappeh, K.; Chavshin, A. R.; Mohammadzadeh Hajipirloo, H.; Khashaveh, S.; Hanifian, H.; Bozorgomid, A.; Mohammadi, M.; Jabbari Gharabag, D. & Azizi, H. (2012). Pediculosis capitis among Primary School Children and Related Risk Factors in Urmia, the Main City of West Azarbaijan, Iran. *Journal Arthropod-Borne Disease*, 1: 79-85.
- Hellión-Ibarrola, M. C., Ibarrola, D. A., Montalbetti, Y., Kennedy, M. L., Heinichen, O., Campuzano, M., Tortoriello, J., Fernández, S., Wasowski, C., Marder, M., De Lima, T. C. M., Mora, S. (2006). The anxiolytic-like effects of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae) in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 105: 400-408.
- Hellión-Ibarrola, M. C., Ibarrola, D.A., Montalbetti, Y., Kennedy, M.L., Heinichen, O., Campuzano, M., Ferro, E.A.; Alvarenga, N.; Tortoriello, J., De Lima, T.C. M.; Mora, S. (2008). The antidepressant-like effects of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae) in mice. *Phytomedicine*, 15: 478-483.
- Hernández-Contreras, N.; Chang Camero, Y.; santana Suárez, Y.; Machado Martinez, E.; Martínez-Izquierdo, A. M. & Pui-Vázquez, L. (2010). Uso deliberado de diversos productos para el control de *Pediculus capitis* (De Geer, 1778) por padres o tutores de niños de escuelas primarias. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 62: 119-124.
- Heukelbach, J.; Oliveira, F. A. S. & Speare, R. (2006). A new shampoo based on neem (*Azadirachta indica*) is highly effective against head lice in vitro. *Parasitology Research*, 99: 353–356.
- Heukelbach, J.; Asenov, A.; Liesenfeld, O.; Mirmohammadsadegh, A. & Oliveira, F. A. (2009). A new two-phase dimeticone pediculicide shows high efficacy in a comparative bioassay. *BMC Dermatology*, 9: 12.
- Heukelbach, J.; Oliveira, F. A.; Richter, J. & Häussinger, D. (2010). Dimeticone-Based Pediculicides: A physical approach to eradicate head lice. *The Open Dermatology Journal*, 4: 77-81.
- Hotchkiss, S. A. M. (1998). Dermal Methabolism. En: *Dermal Absorption and Toxicity Assessment*. Ed. Marcel Dekker, 43-101. <http://www.pan-uk.org/pestnews/actives/Lindane.htm>.
- Huerta, A.; Chiffelle, I.; Puga, K.; Azúa, F. & Araya, J. (2010). Toxicity and repellence of aqueous and ethanolic extracts from *Schinus molle* on elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola*. *Crop Protection*, 29: 1118- 1123.
- Huh, S.; Pai, K. S.; Lee, S. J.; Kim, K. J. & Kim, N. H. (1993). Prevalence of head louse infestation in primary schoolchildren in Kanwon-do, Korea. *Journal of Parasitology*, 31: 67-69.
- Hunter, J. & Barker, S. (2003). Susceptibility of head lice (*Pediculus humanus capitis*) to pediculicides in Australia. *Parasitology Research*, 90: 476-478.

- Iannacone, O. J. & Lamas, M. G. (2003a). Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Perú *Entomotropica*, 18: 95-105.
- Iannacone, O. J.; Lamas, M. G. (2003b). Efectos toxicológicos de extractos de molle (*Schinus molle*) y lantana (*Lantana camara*) sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pintoii* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Copidosoma koehleri* (Hymenoptera: Encyrtidae) en el Perú. *Agricultura Técnica*, 63: 347-360.
- Isman, M.B. (1997). Neem and other botanical insecticides commercialization. *Phytoparasitica*, 25: 339-344.
- Isman, M.B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603-608.
- Isman, M.B. (2006). Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.
- Isman, M. B. & Machial, C. M. (2006). Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. En: Rai, M. & Carpinella, M. C. *Naturally occurring Bioactive Compounds*. Elsevier B. V., Netherlands. Cap. 2: 29-44.
- Isman, M.B. & Akhtar, Y. (2007). Plant Natural Products as a Source for Developing Environmentally Acceptable Insecticides. En: *Insecticides Design Using Advanced Technologies*, Shaaya, I., R. Nauen and A.R. Horowitz (Eds.). Springer, Berlin, Heidelberg, pp: 235-248.
- Isman, M.B. (2008). Botanical insecticides: for richer, for poorer. *Pest Management Science*, 64: 8-11.
- Isman, M. B.; Miresmailli S & Machial, C. (2011). Commercial opportunities for pesticide based on plant essential oils in agriculture, Industry and consumer product. *Photochemistry Review*, Diez 197-204.
- Jaenson, T. G. T.; Palsson, K. & Borg-Karlson, A. K. (2005). Evaluation of extracts and oils of tick-repellent plants from Sweden. *Medical and Veterinary Entomology*, 19: 345-352.
- Jayaseelan, C.; Rahuman, A. A.; Rajakumar, G.; Kirthi, A. V.; Santhoshkumar, T.; Marimuthu, S.; Bagavan, A.; Kamaraj, C.; Zahir, A. A. & Elango, G. (2011). Synthesis of pediculocidal and larvicidal silver nanoparticles by leaf extract from heartleaf moonseed plant, *Tinospora cordifolia* Miers. *Parasitology Research*, 109: 185–194.
- Jeyasankar, A. & Jesudasan, R.W.A. (2005). Insecticidal properties of novel botanicals against a few lepidopteran pests. *Pestology*, 29: 42-44.
- Johnson, K. P.; Weckstein, J. D.; Witt, C. C.; Faucet, R. C. & Moyle, R. G. (2002). The perils of using host relationships in parasite taxonomy: phylogeny of the *Degeeriella complex*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22: 101-110.

- Jones, K. N. & English, J. C. (2003). Review of common therapeutic options in the United States for the treatment of pediculosis capitis. *Clinical Infectious Diseases*, 36: 1355-1361.
- Yoshizawa, K. & Jonson, K. P. (2006). Morphology of male genitalia in lice and relatives and phylogenetic implications. *Systematic Entomology*, 31: 350-361.
- Khater, H. F. (2012). Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. *Pharmacologia*, 3: 641-656.
- Kamiabi, F. & Nakhaei, F. H. (2005). Prevalence of Pediculosis capitis and determination of risk factors in primary school children in Kerman. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 11: 988-992
- Karim, T.; Musa, S. & Khaunum, H. (2012). Pediculosis among the children of different social status in Dhaka. *Bangladesh Journal of Zoology*, 40: 175-181.
- Kasai, S.; Ishii, N.; Natsuaki, M.; Fukutomi, H.; Komagata, O.; Kobayashi, M. & Tomita, T. (2009). Prevalence of kdr-like mutations associated with pyrethroid resistance in human head louse populations in Japan. *Journal of Medical Entomology*, 46: 77-82.
- Kembro, J. M.; Marin, R. H.; Zygadlo, J. A.; Gleiser, R. M. (2009). Effects of the essential oils of *Lippia turbinata* and *Lippia polystachya* (Verbenaceae) on the temporal pattern of locomotion of the mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) larvae. *Parasitology Research*, 104: 1119-1127.
- Kester, J. (2001). *Endocrine Disrupting Chemicals*. Philadelphia Lippincott William and Wilkins. 362-373.
- Kim K. C & Ludwig H. W. (1978). The family classification of the Anoplura. *Systematic Entomology*, 3: 249-284.
- Kim, K. C. (1982). Host specificity and phylogeny of Anoplura. *Deuxième Symposium sur la Spécificité Parasitaire des Parasites de Vertébrés*. 13-17 avril 1981, Paris Edition du Museum, 123: 123-127.
- Kim, K. C. (1988). Evolutionary parallelism in Anoplura and eutherian mammals. *Biosyst Haematoph Insects*, 37:91-114.
- Kim, K. C.; Pratt H. D. & Stojanovich C. J. (1986). *The sucking lice of North America. An Illustrated Manual for identification* Pennsylvania State University, Pennsylvania. 241pp.
- Kim, I. S.; Hwan Yi, J.; Tak, J. & Joon-Ahn, Y. (2004). Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: dermanyssidae). *Veterinary Parasitology*, 120: 297–304
- Kim, S.; Park, M. H.; Ohh, H. C. Cho & Ahn, Y. J. (2003). Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). *Journal of Stored Products Research*, 39: 11-19.

- Kirst, H. A. (2010). The spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research. *The Journal of Antibiotics (Tokyo)*, 63: 101-111.
- Kirthi, A. V.; Rahuman, A. A.; Rajakumar, G.; Marimuthu, S.; Santhoshkumar, T.; Jayaseelan, C. & Valayutham, K. (2011). Acaricidal, pediculocidal and larvicidal activity of synthesized ZnO nanoparticles using wet chemical route against blood feeding parasites. *Parasitology Research*, 109: 461-472.
- Kittler, R.; Kaysar, M. & Stonekin, M. (2003). Molecular evolution of *Pediculus humanus* and the origin of clothing. *Current Biology*, 13: 1414-1417.
- Ko, C. J & Elston, D. M. (2004). Pediculosis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 50: 1-12.
- Koch, C.; Reichling, J.; Schneele, J; Schnitzler, P. (2008). Inhibitory effect of essential oils against herpes simplex virus type 2. *Phytomedicine*, 15: 71–78
- Kokturk, A.; Baz, K.; Bugdayci, R.; Sasmaz, T.; Tursen, U.; Kaya, T. I. & Ikizoglu, G. (2003). The prevalence of pediculosis capitis in schoolchildren in Mersin, Turkey. *International Journal of Dermatology*, 42: 694-698.
- Kondratieff, B.C. & Black IV, W.C. 2005. *The Arthropods*. Ed: Marquardt, W.C. *Biology of Disease Vectors*. 2ed. Elsevier Academic Press. UK. Cap. 1: 3-7.
- Koul, O.; Suresh, W. & Dhaliwal, G. S. (2008). Essential Oils as Green pesticides: Potential and Constraints. *Biopesticides International*, 4: 63-84. , SURESH WALIA
- Kovendan, K.; Murugan, K.; Kumar, P. M.; Thiyagarajan, P. & William, S. J. (2013). Ovicidal, repellent, adulticidal and field evaluations of plant extract against dengue, malaria and filarial vectors. *Parasitology Research*, 112: 1205-1219.
- Kumar, A.; Shukl, R.; Singh, P.; Prasad, C.; Dubey, N. K. (2008). Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 575-580.
- Kumar, P.; Mishra, S.; Malik, A. & Satya, S. (2011). Insecticidal properties of *Mentha* species: A review. *Industrial Crops and Products*, 34: 802-817.
- Kwaku-Kpikpi, J. E. (1982). The incidence of the head louse (*Pediculus humanus capitis*) among pupils of two schools in Accra. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 76: 378.
- Lahlou, M. & Berrada, R. (2003). Composition and niticidal activity of essential oils of three chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatized in Morocco. *Flavour and Fragrance Journal*, 18: 124–127.
- Laporta, O.; Pérez-Fons, L.; Balan, K.; Paper, D.; Cartagena, V. & Micol, V. (2004). Bifunctional antioxidative oligosaccharides with anti-inflammatory activity for joint health. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 15: 30-33.

- Laurent, D. L.; Vilaseca, A.; Chantraine, J. M.; Ballivian, C.; Saavedra, G. & Ibañez, R. (1997). Insecticidal Activity of Essential oils on *Triatoma infestans*. *Phytotherapy Research*, 11: 285-290.
- Lee, B.; Choi, S.; Lee & Park, B. (2001). Fumigant toxicity of essential oil and their constituent compounds towards the rice weevil *S. oryzae* (L.). *Crop Protection*, 20: 317-320.
- Lee, S.; Umano, K.; Shibamoto, T.; Lee, K. G. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91: 131-137.
- Leeson, H. S. (1941). The effect of temperature upon hatching of the eggs of *Pediculus humanus corporis* De Geer (Anoplura). *Parasitology*, 33: 243-49.
- Leo, N.; Hughes, J.; Yang, X.; Poudel, S.; Brogdon, W. & Barker, S. (2005). The head and body lice of humans are genetically distinct (Insecta: Phthiraptera, Pediculidae): evidence from double infestations. *Heredity* 95: 34-40.
- Light, J. L.; Toups, M. A. & Reed, D. L. (2008). What's in a name: The taxonomic status of human head and body lice. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47: 1203-1216.
- Light, J. L.; Smith, V. S.; Allen, J. M.; Durden, L. A. & reed, D. L. (2010). Evolutionary history of mammalian sucking lice (Phthiraptera: Anoplura). *BMC. Evolutionary Biology*, 10: 292.
- Linardi, P. M.; Maria, M., Botelho, J. R., Cunha, H. C. & Ferreira, J. B. (1989). Pediculose capitis: Prevalência em escolares da rede municipal pública de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 84: 368-372.
- Linardi, P. M. (2001). Piolhos (Sugadores e Mastigadores) pp183-238. En *Brisola Marcondes C. Entomología. Médica e Veterinária*. Editora Atheneu. 432pp.
- Loja Herrera, B. (2002). Contribución al estudio florístico de la provincia de Concepción, (Junín): Dicotiledóneas. Proyecto Fin de Carrera. Tesis para optar por el grado de Magíster en Botánica Tropical. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela de Post-Grado. Lima.
- López, A; Theumer, M; Zygadlo, J; Rubinstein, H. (2004). Aromatic plants essential oils activity on *Fusarium verticillioides* Fumonisin B1 production in corn grain. *Mycopathologia*, 158: 343-349.
- López-Luengo, M. T. (2006). Tomillo. Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. *Revista de la Oficina de Farmacia*, 25: 74-77.
- López-Moreno, S; Garrido-Latorre, F & Hernández-Ávila, M. (2000). Desarrollo histórico de la epidemiología: su formación como disciplina científica. *Salud Pública de México*, 42: 133-143.
- Lubbe, A. & Verpoorte, R. (2011). Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial Crops and Products*, 34: 785-801.

- Luna, J. de S.; dos Santos, A. F.; de Lima, M. R. F.; de Omena, M. C.; de Medone, F. A. C.; Bieber, L. W. & Sant'Ana, A. E. G. (2005). A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 97: 199-206.
- Lyal, C. H. (1985). Phylogeny and Classification of the Psocodea with Particular Reference to the Lice (Psocodea Phthiraptera). *Systematic Entomology*, 10: 145-165.
- McCage, C. M.; Ward, S. M.; Paling, C. A.; Fisher, D. A.; Flynn, P. J. & McLaughlin, J. L. (2002). Developments of a paw paw herbal shampoo for the removal of head lice. *Phytomedicine*, 9: 743-748.
- McGuffin, M.; Hobbs, C.; Upton, R.; Goldberg, A. (1997). *Botanical safety handbook*. CRC Press, Estados Unidos. 256pp.
- Mac-Mary, S.; Messikh, R.; Jeudy, A.; Lihoreau, T.; Sainthillier, J. M.; Gabard, B.; Schneider, C.; Auderset, P. & Humbert, P. (2012). Assessment of the Efficacy and Safety of a New Treatment for Head Lice. *International Scholarly Research Network. ISRN Dermatology*. doi:10.5402/2012/460467.
- Madke, B. & Khopkar, U. (2012). *Pediculus capitis: An update*. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol*, 78: 429-438.
- Mahzoon, S. & Azadeh, B. (1983). Elephantiasis of external ears: rare manifestation of pediculosis capitis. *Acta Dermato-Venereologica*, 63: 248-255.
- Malcolm, C. E. & Bergman, J. N. (2007). Trying to keep ahead of lice: a therapeutic challenge. *Skin Ther letter*, 11: 1-6.
- Mann, R. S. & Kaufman, P. E. (2012). *Natural Product Pesticides: Their Development, delivery and Use Against Insect Vectors*. *Mini –Reviews in Organic Chemistry*, 9: 185-202.
- Marcondes, C. B. (2011). *Entomología médica e veterinária*. 2 Ed. São Paulo. Editora Atheneu. 526pp.
- Mareggiani, G. (2001) Manejo de insectos mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal. *Manejo Integrado de Plagas*, 60: 22-30.
- Martínez, E.; Delgado, M. & Liu, M. (1995). Prevalencia y factores condicionantes de la pediculosis capitis en escolares de Arequipa. *Revista Peruana de Parasitología*, 11: 65-67.
- Matsumura, F. (2003). *Insecticides*. En: Resh, V.H. & Cardé, R.T. *Encyclopedia of Insects*. Academic Press. USA, 566-569.
- Maunder, J. W. (1971). Resistance to organochlorine insecticides in head lice and trials using alternative compounds. *Medical Officer* 125: 27-29.

- Mehlhom, H.; Abdel-Ghaffar, F; Al-Rasheid, K. A.S.; Schmidt, J & Semmler, M. (2011). Ovicidal effects of a neem seed extract preparation on eggs of body and head lice. *Parasitology Research*, 109: 1299–1302.
- Meincking, T. L. & Taplin, D. (1986). Comparative Efficacy of treatment for *Pediculus capitis* Infestations. *Archives of Dermatological Research*, 122: 267.
- Meinking, T. L. & Taplin, D. (1996). Infestations: pediculosis. *Current Problems in Dermatology*, 24: 157-163.
- Meinking, T. L.; Serrano, L.; Hard, B.; Entzel, P.; Lemard, G.; Rivera, E. (2002). Comparative in vitro pediculicidal efficacy of treatments in a resistant head lice population in the United States. *Archives of Dermatology Research*, 138: 220-224.
- Milano, A. M. F.; Oscherov, E. B. & Legal, A. S. (2007). Pediculosis y otras ectoparasitosis en una población infantil urbana del nordeste argentino. *Parasitología Latinoamericana*, 62: 83-88.
- Miller, F. H. Jr. (1969). Antennal tuft organs of *Pediculus humanus* Linn. And *Phthirus pubis* (Linn.) (Anoplura: Pediculidae) *Journal of the New York Entomology Society*, 77:85-89.
- Miura, K.; Kikuzaki, H.; Nakatani, N. (2002). Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50: 1845-1851.
- Mondal, M. & Khalequzzaman, M. (2010). Toxicity of Naturally Occurring of Plant Essential Oil against *Tribolium castaneum* (Herbest). *Journal of Biological Sciences*, 10: 10-17.
- Montgomery, B. E. (1959). Arthropds and ancient man. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 5: 68-70.
- Mora, S., Díaz-Véliz, G., Millán, R., Lungenstrass, H., Quirós, S., Coto-Morales, T., Hellión-Ibarrola, M. C. (2005). Anxiolytic and antidepressant-like effects of the hydroalcoholic extract from *Aloysia polystachya* in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*, 82: 373-378.
- Morales, R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. En: *Thyme. The genus Thymus* (eds. Stahl-Bikup, E.; Sáez, F.). Taylor y Francis. Inglaterra. 1-43.
- Moreno-Altamirano, A. & López-Moreno, S. (2000). Actualidades epidemiológicas: Discurso médico, salud pública y epidemiología moderna. *Revista de la Facultad de Medicina, UNAM*, 43: 245- 247.
- Moreno Marí, J.; Oltra Moscardó, M. T.; Falcó Garí, J. V. & Iménez Peydró, R. (2007). El control de plagas en ambientes urbanos: criterios básicos para un diseño racional de los programas de control. *Revista Española de Salud Pública*, 81: 15-24.
- Morrone, J. J. & Coscarón, S. (1998). Biodiversidad de Artrópodos Argentinos: Una Perspectiva Biotaxonómica. Ed. Ediciones Sur, 599pp

- Mosavi, A. A. (2012). The Optimizacoin of Lemon Vervena (*Lippia citriodora*) Medical Plant Tissue Culture. International Journal of Agronomy and Plant Production, 3: 561-565.
- Moser, V. C. 2000. The functional observational battery in adult and developing rats. Neurotoxicology, 21: 989-996.
- Motovali-Eman, M.; Aflatoonian, M. R. & Fekri, A. (2008). Epidemiological aspects of Pediculosis capitis and treatment evaluation in primary school children in Iran. Pakistan. Journal of Biological Sciences, 11: 260-264.
- Mougabure Cueto, G.; Zerba, E. & Picollo, M. I. (2006). Embryonic development of human lice: rearing conditions and susceptibility to spinosad. Memorias del Instituto Oswaldo Cruz. Río de Janeiro, 101: 257-261.
- Mougabure Cueto, G.; Zerba, E. & Picollo, M. I. (2008). Evidence of pyrethroid resistance in eggs of *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) from Argentina. Journal of Medical Entomology, 45: 693-697.
- Muesebeck, C. F. W. (1953). Studies name of the body and head lice. Journal Economic Entomology, 46: 524.
- Mulla, M. S. & Su, T. (1999). A ctivity and Biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. Journal of American Mosquito Control Association, 15: 133-152.
- Mumcuoglu, K. Y., Miller, J. & R. Galun. (1990). Susceptibility of the human head and body louse, *Pediculus humanus* to insecticides. Insect Science and its Application, 11: 223-226.
- Mumcuoglu, K.; Hemingway, J.; Miller, J.; Ioffe-Uspensky, I.; Klaus, S.; Ben- Ishai, F. & Galun, R. (1995). Permethrin resistance in the head louse *Pediculus capitis* from Israel. Medical and Veterinary Entomology, 9: 427-432.
- Mumcuoglu, K.; Miller, C.; Zamir, C.; Zentner, G.; Helbin, V. & Ingber, A. (2002). The in vivo pediculicidal efficacy of natural remedy. The Israel Medical Association Journal, 4: 790-793.
- Mumcuoglu, K. (2006). Internacional guidelines for effective control of head louse infestations.Phthiraptera.Central.http://www.phthiraptera.org/Guidelines/International_Guidelines.html
- Mumcuoglu, K.; Gilead, L. & Ingber, A. (2009). New insights in pediculosis and scabies. Expert Review Dermatology, 4: 285-302.
- Murray, F. & Torrey, S. (1975). Virulence of Rickettsia prowazeskii for head lice. Annals of the New York Academy of Sciences, 266: 25-34.
- Naghibi, F.; Mosaddegh, M.; Motamed, S. M.; Ghorbani, A. (2005). Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2: 63-79.

- Nakamura, T.; Okuyama, E.; Tsukada, A.; Yamazaki, M.; Satake, M. & Nishibe, S. (1997). Acteoside as the analgesic principle of Cedron (*Lippia triphylla*), a Peruvian medicinal plant. *Chemical and Pharmacy Bulletin*, 45: 499-504.
- Nazari, M. & Saidijam, M. (2007). *Pediculus capitis* infestation according to sex and social factors in Hamedan-Iran. *Pakistan Journal of Biology Sciences*, 10: 3473-3475.
- Nelson, B. C. (1972). A revision of the new world species of *Ricinus* (Mallophaga) occurring on Passeriformes (Aves). University of California. Publication in Entomology. 68. USA.
- Nelson, W. A.; Schemanchuk J. A. & Haufe W. O. (1970). *Haematopinus eurysternus*: Blood of cattle infested with the short nosed cattle louse. *Experimental Parasitology* 28, 263-271.
- Novo, R. J.; Viglianco, A. & Nassetta, M. (1997). Actividad repelente de diferentes extractos vegetales sobre *Tribolium castaneum* (Herbst). *Agriscientia XIV*, 31-36.
- Nerio, L.; Olivero-Verbel, J. & Stashenko, E. (2009). Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grow in Colombia against *Sitophilus zeamais* Mostschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*, 45: 212-21
- Nguetack, J.; Lekagne Dongmo, J.B.; Dakole, C.D.; Leth, V.; Vismer, H.F.; Torp, J.; Guemdjom, E.F.N.; Mbeffo, M., Tamgue, O., Fotio, D; Amvam Zollo, P.H.; Nkengfack, A.E. (2009). Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 131: 151-156.
- Nostro, A.; Blanco, A. R.; Cannatelli, M. A.; Enea, V.; Flamini, G.; Morelli, I.; Roccaro, A. S.; Alonzo, V. (2004). Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *Microbiology Letters*, 230: 191-195.
- Ntalli, N. G & Menkissoglu-Spiroudi, U. (2011). Pesticide of Botanical Origin: a Promising Tool in Plant Protection. En: *Pesticides*. M. Stoytcheva (Ed). 24pp.
- Nutanson, I.; Steen C. J.; Schwartz, R. A. & Janniger, C. K. (2008). *Pediculus humanus capitis*. *Acta Dermatoven APA*, 17: 147-159.
- Ochoa, F. L. (2006). Estudios de prevalencia de tipo analítico o transversal. En: *Epidemiología básica y principios de investigación*. 2 Ed. Editores Blanco, J. H. & Maya, J. M. pp: 96-100.
- O'Malley, M. (2010). The regulatory evaluation of the skin effects of pesticides. En: *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. Third Edition. Volume 1. Edited by Robert Krieger. Academic Press, Elsevier. pp: 701-787.
- OECD. (2002). Test N° 404: Acute dermal Irritation/Corrosion, OECD Guidelines for the testing of chemicals, Section 4: Health Effects, OECD Publishing.
- OECD (2012). Acute eye Irritation/Corrosion. OECD Guidelines for the testing of chemicals

- Oh, J. M.; Lee, I.; Lee, W. J.; Seo, M.; Park, S. A.; Lee, S. H.; Seo, J. H.; Yong, T. S.; Park, S. J.; Shin, M.H.; Pai, K.S.; Yu, J.R. & Sim, S. (2010). Prevalence of pediculosis capitis among Korean children. *Parasitology Research*, 107: 1415–1419.
- Olea, N. & Fernández, M. (2001). Plaguicidas persistentes. Congreso Implementación del Convenio de Contaminantes Orgánicos Persistentes. Madrid 26-27 de Noviembre.
- Oliva, M. de las.; Beltramoni, E.; Gallucci, N.; Casero, C.; Zygadlo, J. & Demo, M. (2010). Antimicrobial activity of essential oils of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton from different regions of Argentina. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9: 29-37.
- Omolo, M. O.; Okinyo, D.; Ndiege, I. O.; Lwandeb, W. & Hassanalib, A. (2005). Fumigant toxicity of the essential oils of some African plants against *Anopheles gambiae* sensu stricto. *Phytomedicine*, 12: 241-246.
- Oppenoorth, F. J., (1985). Biochemistry and Genetics of Insecticide Resistance. In: Kerkut, G. A. and L. I. Gilbert (Eds.). *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* Vol. 12, pp 731-773, Pergamon Press. UK.
- Ozcan, G.; Sagdic, O.; Ozcan, M. (2003). Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. *Food Science and Technology International*, 9: 85-88.
- Padín, S.; Ringuelet, J. & Dal Bello, G. (2000). Aceites esenciales para el control de insectos de granos almacenados. *Anales de SAIPA. Sociedad Argentina para la investigación de Productos Aromáticos. IX Congreso Nacional de Recursos Naturales Aromáticos y Medicinales*, XVI: 13-19.
- Palácios, S. M.; Bertoni, A.; Rossi, Y.; Santander, R. & Urzúa, A. (2009). Insecticidal activity of essential oils from native medicinal plants of Central Argentina against the house fly, *Musca domestica* (L.). *Parasitology Research*, 106: 207-212.
- Pandey, A.; Chattopadhyay, P.; Banerjee, S.; Pakshirajan, K. & Singh, L. (2012). Antitermitic activity of plant essential oils and their major constituents against termite *Odontotermes assamensis* Holmgren (Isoptera: Termitidae) of North East India. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 75: 63-67.
- Park, B. S.; Choi, W. S.; Kim, J. H.; Kim, K. H.; Lee, S. E. (2005). Monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris*) as potential mosquito repellents. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21: 80-83.
- Pascual Pérez, J. M. & de Hoyos López, M. C.(2004). Escabiosis y pediculosis. *Pediatría Integral*, 4: 317-326.
- Pascual, M. E.; Slowing, K.; Carretero, E.; Sánchez Mata, D.; Villar, A. (2001). *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 76: 201-214.
- Pascual-Pérez, J. & De Hoyos-López, M. (2004). Escabiosis y pediculosis. *Pediatría Integral*, 8: 317-326.

- Pavela, R. (2005). Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia*, 76: 691-696.
- Pavela, R. (2008). Larvicidal effects of various Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 102: 555-559.
- Pavela, R.; Vrchotová, N. & Tříška, J. (2009). Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 105: 1365–1370.
- Pérez-Pacheco, R.; Rodríguez-Hernández, C.; Lara-Reyna, J.; MontesBelmont, R. & Ramirez Valverde, G. (2004). Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* SAY (DIPTERA: CULICIDAE). *Acta Zoológica Mexicana*, 20: 141-152.
- Perotti, M. A.; Allen, J. M.; Reed, D. L. & Braig, H. R. (2007). Host symbiont interactions of the primary endosymbiont of human head and body lice. *The FASEB Journal* 21, 1058-1066 and effect of synergist on permethrin toxicity in *Pediculus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Buenos Aires. *Journal Medical Entomology*, 37: 721-725.
- Philogène, B.J.R.; Regnault-Roger, C. & Vincent, C. 2004. Productos fitosanitarios insecticidas de origen vegetal: promesas de ayer y de hoy. En: Regnault-Roger, C.; Philogène, B.J.R. & Vincent, C. *Biopesticidas de origen vegetal*. Mundi-Prensa. Madrid, España. Cap. 1: 1-18pp.
- Phillips, A. K. (2009). Toxicity and repellency of essential oils to the german cockroach (*Blattella germanica*). Tesis Master of Science, Auburn, Alabama. 141 pp.
- Pichersky, E.; Noel, J. & Dudavera, N. (2006). Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science*, 311: 808-811.
- Picollo, M. I.; Wood, E.; Licastro, S. A. de; Zerba, E.N. (1976). Acción ovicida de insecticidas organofosforados en *Triatoma infestans*. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 10: 309-319.
- Picollo, M. I. (1994). Métodos de Detección y Monitoreo de Resistencia en Triatominos. *Acta Toxicológica Argentina*, 2: 56-58.
- Picollo, M. I.; Vassena, C. V.; Casadio, A. A.; Massimo, J. & Zerba, E. N. (1998). Laboratory studies of susceptibility and resistance to insecticidas in *Pediculus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal Medical Entomology*, 87: 1172-1179.
- Picollo, M. I.; Vassena, C. V.; Mougabure Cueto, G. A.; Verneti, M. & Zerba, E. N. (2000). Resistance to insecticides and effect of synergists on permethrin toxicity in *Pediculus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Buenos Aires. *Journal Medical Entomology*, 37: 721-725.
- Picollo, M. I.; Toloza, A. C.; Mougabure Cueto, G.; Zygadlo, J. & Zerba, E. (2008). Anticholinesterase and pediculicidal activities of monoterpenoids. *Fitoterapia*, 79: 271-278.

- Piquero-Casals, V.; Pérez, M.; Quintero, I.; Ramirez, B. & Piquero-Martín, J. (2004). Epidemiología de la Pediculosis capitis en escolares del Distrito sanitario N° 3 en Caracas, Venezuela. *Dermatología Venezolana*, 42: 19-22.
- Pollack, J.; Kiszewski, E. & Ispelman, A. (2000). Overdiagnosis and consequent mismanagement of head louse infestations in North America. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 19: 689-693.
- Prabakar, K. & Jebanesan, A. (2004). Larvicidal efficacy of some Curcubitaceous plant leaf extracts against *Culex quinquefasciatus* (Say). *Bioresource Technology*, 95: 113-114.
- Pray, W. S. (1999). Head lice perfectly adapted human predators. *American Journal Pharmaceutical Education*, 63.
- Prates, H. T.; Santos, J. P.; Waquil, J. M.; Fabris, J. D.; Oliveira, A. B. & Foster, J. E. (1998). Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*, 4: 243-249.
- Price, D. & Berry, M. (2006). Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. *Journal of Insect Physiology*, 52: 309-319.
- Priestley, C. M.; Burgess, I. F. & Williamson, E. M. (2006). Lethality of essential oil constituents towards the human louse, *Pediculus humanus*, and its eggs. *Fitoterapia*, 77: 303-309.
- Prieto, O.; Cicchino, A.; Abrahamovich, A. & Niñez, J. (1991). Piojos (Phthiraptera) parásitos del bovino y porcino. Estado actual de su conocimiento y propuestas para su manejo y control. *Revista de Medicina Veterinaria*, 72: 264-282.
- Promsiri, S.; Naksathit, A.; Kruatrachue, M. & Thavara, U. (2006). Evaluations of larvicidal activity of medicinal plant extracts to *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) and other effects on a non target fish. *Insect Science*, 13: 179-188.
- Prowse, G. M.; Galloway, T. S. & Foggo, A. (2006). Insecticidal activity of garlic juice in two dipteran pests. *Agricultural and Forest Entomology*, 8: 1-6.
- Ragaei, M. & Sabry, A. H. (2014). Nanotechnology for insect pest control. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 3: 528-545.
- Rajakumar, G.; Rahumar, A.; Velayutham, K.; Ramyadevi, J.; Jeyasubramanian, K.; Marikani, A.; Elango, G.; Kamaraj, C.; Santhoshkumar, T.; Marimuthu, S.; Zahir, A.; Bagavan, A.; Javaseelan, C.; Kirthi, A.; Iyappan, M. & Siva, C. (2013). Novel and simple approach using synthesized nickel nanoparticles to control blood-sucking parasites. *Veterinary Parasitology*, 191: 332-339.
- Ramirez, A.; Luduena-Almeida, F. F. & Almiron, W. R. (2003). Prevalence of *Pediculus humanus capitis* infestation in school children at Despenaderos, Córdoba Province. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba*, 60: 43-53.

- Ramos, J.; Gavilán, A.; Romero, T. & Ize, I. (2011). Mexican experience in local, regional and global actions for lindane elimination. *Environmental Science and Policy*, 5: 503-509.
- Ramsingh, D. (2010). The assessment of the chronic toxicity and carcinogenicity of pesticides. En: *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. Third Edition. Volume 1. Edited by Robert Krieger. Academic Press, Elsevier. pp: 463-482.
- Rassami, W. & Soonwera, M. (2013). In vitro pediculicidal activity of herbal shampoo base on Thai local plants against head louse (*Pediculus humanus capitis* De Geer). *Parasitology Research*, 112: 1411-1416.
- Reed, D. L.; Smith, V. S.; Hammond, S. L.; Rogers, A. R. & Clayton, D. H. (2004). Genetic analysis of lice supports direct contact between modern and archaic humans. *Plos Biology*, 2: 1972-1983.
- Reed, D. L.; Light, J. E.; Allen, J. M. & Kirchman, J. J. (2007). Pair of lice lost or parasites regained: the evolutionary history of anthropoid primate lice. *BMC Biology*, 5: 7.
- Regnault-Roger, C. & Hamraoui, A. (1994). Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. *Crop Protection*, 13: 624- 628.
- Regnault-Roger, C.; Philogène, B. & Vincent, C. (2004). Biopesticidas de origen vegetal. 1ra ed., Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España, pp20-38.
- Regnault-Roger, C. & Philogène, B. J. R. (2008). Past and Current Prospects for the Use of botanicals and Plant Allelochemicals in Integrated Pest Management. *Pharmaceutical Biology*, 46: 1-2.
- Regnault-Roger, C. (2013). Essential Oils in Insect Control. K. G Ramawat, J. M. Mérillon (eds.), *Natural Products*.
- Repetto Jiménez, M.; Repetto Kuhn, G. (2009b). Procesos fisiopatológicos de origen tóxico. En: *Toxicología fundamental*. Cuarta Edición. Ediciones Díaz de Santos, pp: 219-339.
- Retama-Salazar A. P & Ramirez-Morales R. (2006). Establecimiento de un nuevo género de piojos (Phthiraptera: Pediculidae) asociado al hombre (Primates: Hominidae). *Brenesia* 65: 61-70.
- Rice, P.J. & Coats, J. R. (1994). Insecticidal properties of several monoterpenoids to the house fly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal Economy Entomology*, 87: 1172-1179.
- Rice, R. H. & Mauro, T. M. (2008). Toxic responses of the skin. En: *Toxicology. The Basic Science of Poisons*. Ed 7. 1309pp.
- Ríos, S. M.; Fernández, J. A.; Rivas, F.; Sáenz, M. L. & Moncada, L. I. (2008). Prevalencia y factores asociados a la pediculosis en niños de un jardín de Bogotá. *Biomédica*. Instituto Nacional de Salud (Colombia), 28: 245-251.

- Rivera, M.; Mumcuoglu, K.; Matheny, R. & Matheny, D. (2008). Head lice eggs. *Anthropophthirus capitis*, from mummies of the Chinchorr tradition. Camarones 15D, northern Chile. *Chungara. Revista de Antropología Chilena*, 40: 331-39.
- Robinson, W. H. (2005). *Handbook of Urban Insects and Arachnids*. Cambridge University Press, EE.UU. 472pp.
- Rodríguez Vaquero, M. J.; Tomassini Serravalle, L. R.; Manca de Nadra, M. C. ; Strasser de Saad, A. M. (2010) Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions. *Food Control*, 21: 779-85.
- Rodríguez-Hernández, C. & Vedramin, J. (1998). Uso de índices nutricionales para medir el efecto insecticida de extractos de Meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. *Manejo Integrado de Plagas*, 48: 11-18.
- Rojas, L. B.; Velasco, J.; Días, T.; Gil Otaiza, R.; Carmona, J.; Usubillaga, A. (2010). Composición química y efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton contra patógenos genito-urinarios. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9: 56-62.
- Rossini, C.; Castillo, L. & González A. (2008). Plant extracts and their components as potential control agents against human head lice. *Phytochemistry Reviews*, 7: 51-63.
- Roy, B. & Tandon, V. (1992). Louse infestation in human population in Shillong, India. *Secretary Hlth Mental Hygiene*, 13: 15-20.
- Rosenthal, G. A. & Berenbaum, M. R. (1992). *Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites. Ecological and Evolutionary Processes*. 2nd ed. Academic Press, New York
- Rupes, V.; Moravec, J.; Chmela, J.; Ledvinka, J. & Zelenkova, J. (1995). A resistance of head lice *Pediculus capitis* to permethrin in Czech Republic. *European Journal Public Health*, 1: 30-32.
- Ruppert, E. E.; Fox, R. & Barnes, R. D. (2003). *Invertebrate Zoology: a Functional Evolutionary Approach*. 7 ed. Brooks Cole, EEUU. 1008pp.
- Ryan, C. A. & Moura, D. S. (2002). Systemic wound signaling in plants: A new perception. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99: 6519-6520.
- Saad, A.; Fadli, M.; Bouaziz, M.; Benharref, A.; Mezrioui, N. E.; Hassani, L. (2010). Anticandidal activity of the essential oils of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* and their synergism with amphotericin B and fluconazol. *Phytomedicine*, 17: 1057-1060.
- Saddozai, S. & Kakarsulemankhel, J. K. (2008). Infestation of head lice, *Pediculus humanus capitis* in school children at Quetta City and its Suburban areas Pakistan. *Pakistan Journal Zoology*, 40: 45-52.

- Saddozai, S. y Kakarsulemankhel, J. K. (2008). Infestation of head lice, *Pediculus humanus capitis*, in school children at Quetta City and its Suburban areas, Pakistan. *Pakistan Journal Zoology*, 40: 45-52.
- Sahaf, B. Z.; Moharramipour, S. & Meshkatsadat, M. H. (2007). Chemical constituents and fumigant toxicity of essential oil from *Carum copticum* against two stored product beetles. *Insect Science*, 14: 213-218.
- Sayyadi, M.; Sayyad, S. & Vahabi, A. (2014). Pediculosis Capitis. A Review Article *Life Science Journal*, 11:26-30.
- Salgado, V. L. (1998). Studies on the Mode of Action os spinosad: Insect Symtpms and Physiological Correlates *Insect. Pesticide Biochemistry and Physiology*, 60: 91–102.
- Sánchez Chopa, C.; Alzogaray, R. & Ferrero, A. A. (2006). Repellency of *Schinus molle* var. *areira* (Anacardiaceae) essential oils to the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). *Bioassay*, 1: 1-3.
- Sánchez Chopa, C. (2010): *Schinus molle* var. *areira* y *Solanum eleagnifolium*, nuevas alternativas botánicas para el control de *Blattella germanica* insecto plaga de importancia en la salud humana. Tesis Doctor en Biología. Universidad Nacional del Sur 187pp.
- Sánchez Chopa, C. Descamps, L. R. (2012). Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphidae) cereal crop pest. *Pest Management Science*, Publish online DOI 10.1002/ps.3334
- Santoro, G. F.; Cardoso, M. G.; Guimarães, L. G.; Salgado, A. P., Menna-Barreto, R F.; Soares, M. J. (2007). Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzii* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitology Research*, 100: 783-790.
- Santos-Gomes, P. C.; Fernandes-Ferreira, M.; Vicente, A. M. S. (2005). Composition of the essential oils from flowers and leaves of Vervain (*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton) grown in Portugal. *Journal Essential Oil Research*, 17: 73-78.
- Shaaya, E. & Rafaeli, A. (2007). Essential oil as biorrational insecticides. Potency and mode of action. En: *Insecticides design using advanced technology* (ed. Ishaaya, I.; Nauen, R.; Horowitz, A. R.). Springer, Alemania 314 pp.
- Sarov, B.; Neuman, L. & Herman, Y. (2004). Evaluation of an intervention programme for head lice infestation in school children. *Pediatrics Infestation Disease*, 12: 243-245.
- Sartoratto, A.; Machado, A.; Delarmelina, C.; Figueira, G.; Duarte, M.; Rehder, L. (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35: 275-280.
- Sasaki, T.; Poudel, S. K.; Isawa, I. I.; Hayashi, T.; Seki, N.; Tomita, T.; Sawabe, K. & Kobayashi, M. (2006). First molecular evidence of *Bartonella quintana* in *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae), collected from Nepalese children. *Journal Medical Entomology*, 43: 110-112.

- Sasanelli, N.; Anton, A.; Takács, T.; D'Addabbo, T.; Birò I.; Malov, X. (2009). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the nematicidal properties of leaf extracts of *Thymus vulgaris* L. *Helminthologia*, 46: 230-240.
- Savelev, S.; Okelloa, E.; Perryb, N. S. L.; Wilkinsa, R. M. & Perryb, E. K. (2003). Synergistic and antagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia lavandulaefolia* essential oil. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 75: 661-668.
- Schenone, H.; Saavedra, T. & Rojas, A. (1986). Infestación por *Pediculus humanus capitis*. Un prolongado problema de salud pública. *Boletín Chileno de Parasitología*, 41: 16-20.
- Schenone, H. & Lobos, M. (1997). *Pediculus capitis*, a permanent and renewed problem. *Boletín Chileno de Parasitología*, 52: 73-76.
- Scholtz, G. & Wolff, C. (2013). Arthropod embryology: cleavage and germ band development. En A. Minelli et al. (eds.), *Arthropod Biology and Evolution*, DOI: 10.1007/978-3-642-36160-9_4, 63-89. 532pp.
- Scholwaller, T.D. (2006). *Insect ecology. An Ecosystem Approach*. 2 ed. Elsevier Inc. EEUU. 572pp.
- Schoonhoven, L. M.; Jermy, T. & Van Loon, J. A. A. (1998). *Insect-Plant Biology*. London, Chapman & Hall.
- Scott, J. C. (1990). Investigating mechanisms of insecticide resistance: methods, strategies and pitfalls. In pesticide resistance. In *Arthropods* (R. J. Roushand & B. F. Tabashnik, Eds), pp. 39-57. Chapman & Hall, NY.
- Sfara, V.; Zerba, E. N. & Alzogaray, R. A. (2009). Fumigant Insecticidal Activity and Repellent Effect of Five Essential Oils and Seven Monoterpenes on First-Instar Nymphs of *Rhodnius prolixus*. *Journal of Medical Entomology*, 46: 511-515.
- Shaaya, E. U.; Kostujukovzky, M.; Eildberg, J.; Sukprakarn, C. (1997). Plants oils as fumigants and contact insecticide for the control of stored product insects. *Journal of Stored Products Research*, 33: 7-15.
- Shaaya, E. & Rafaeli, A. (2007). Essential oils as biorrational insecticides. Potency and mode the action. En: *Insecticides design using advanced technology* (ed. Ishaaya, I.; Nauen, R.; Horowitz, A. R.). Springer, Alemania. 314pp.
- Siedo, S. J. (2006). *Systematics of Aloysia (Verbenaceae)*. Tesis Doctoral. University of Texas. 309pp.
- Silva, G.; Orrego, O.; Hepp, R.; Tapia, M. (2005). Búsqueda de plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 40: 11-17.
- Sinniah, B.; Sinniah, D. & Rajeswari, B. (1981). Epidemiology of *Pediculus humanus capitis* infestation in Malaysian school children. *The American Journal Tropical Medicine and Hygiene*, 30: 734-738

- Sinniah, B.; Sinniah, D. & Rajeswari, B. (1983). Epidemiology and control of human head louse in Malaysia. *Tropical and Geographical Medicine*, 35: 357-362.
- Sivagnaname, N. & Kalyanasundaram, M. (2004). Laboratory Evaluation of Methanolic Extract of *Atlantia monophylla* (Family: Rutaceae) against Immature Stages of Mosquitoes and Non-target Organisms. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 115-118.
- Slifer, E. H. & Sekhon, S.S. (1980). Sense organs on the Antennal Flagellum of the Human Louse, *Pediculus humanus* (Anoplura). *Journal of Morphology*, 164: 161-166.
- Smith, V. S. (2004). Phthiraptera: Chewing and sucking lice, In (Gale Research Staff, ed.) *Grzimek's Animal Life Encyclopedia*. Vol 3 (Insects), Gale Group, USA. pp. 249-257.
- Smith, E. & Salkeld, E. (1966). The use and action of ovicides. *Annual review of Entomology*, 11: 331-368.
- Solomakos, N.; Govaris, A.; Koidis, P.; Botsoglou, N. (2008). The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat Science*, 80: 159-166.
- Sonnberg, S.; Oliveira, F. A.; Araújo de Melo, I. L. & de Melo Soares. M. M.; Becher, H. & Heukelbach, J. (2010). Ex Vivo Development of Eggs from Head Lice (*Pediculus humanus capitis*). *The Open Dermatology Journal*, 4: 82-89.
- Soutana, V.; Euthumia, P.; Antonios, M. & Angeliki, R. S. (2009). Prevalence of *Pediculus capitis* among school children in Greece and risk factors: a questionnaire survey. *Pediatric Dermatology*, 26: 701-705.
- Speare, R. & Buettner, P. G. (1999). Head lice in pupils of a primary school in Australia and implications for control. *International Journal of Dermatology*, 38:285-290.
- Speare, R.; Canyon, D. V.; Cahill, D. & Thomas, G. (2007). Comparative efficacy of two nit combs in removing head lice (*Pediculus humanus var. capitis*) and their eggs. *International Journal of Dermatology*, 46: 1275-1278.
- Stashenko, E. E.; Combariza, J. & Puertas, M. (1998). Aceites esenciales: Técnicas de extracción y análisis. *Laboratorio de cromatografía*, UIS, 30 pp.
- Stefanazzi, N.; Gutiérrez, M. M.; Stadler, T.; Bonini, N. A. & Ferrero, A.A (2006). Actividad biológica del aceite esencial de *Tagetes terniflora* Kunth (Asteraceae) en *Tribolium castaneum* Herbst (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae). *Boletín de la Sanidad Vegetal. Plagas*. España, 32: 439-447.
- Steinbauer, 1995 Steinbauer, M. J. (1995). The Insecticidal and Repellent Activity of *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) against *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae) and *Tribolium confusum* Jacquelin Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae). *General and Applied Entomology*, 26: 13-18.

- Stough, D; Shellabarger, S.; Quirino, J.; Gabrielsen, A. A. Jr. (2009). Efficacy and safety of spinosad and permethrin crème rinses for *Pediculosis capitis* (head lice). *Pediatrics*, 124: 389-395.
- Sukontason, K. L.; Boonchu, N.; Sukontason, K. & Choochote, W. (2004). Effects of eucalyptol on house fly (DIPTERA: MUSCIDAE) and blow fly (DIPTERA: CALLIPHORIDAE). *Revista do Instituto de Medicina Tropical*, 46: 97-101.
- Suleman, M. & Fatima, T. (1988). Epidemiology of head lice infestation in school children at Peshawer, Pakistan. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 91: 323-332.
- Taplin, D. & Meincking, T. L. (1995). *Pediculosis Infestations*. *Pediatrics Dermatology*, 7: 1480-515.
- Tapondjou, L. A.; Adler, C.; Fontem, D. A.; Bouda, H. & Reichmuth, C. (2005). Bioactivities of thymol and essential oils of *Cupressus semepervirens* and *Eucaliptus saligana* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Product Research*, 41: 91-102.
- Tarelli, G.; Zerba, E. N.; Alzogaray, A. (2009). Toxicity to vapor exposure and topical application of essential oils and monoterpenes on *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology*, 102: 1383-1388.
- Takano-Lee, M.; Edman, J. D.; Mullens, B. A. & Clark, J. M. (2005). Transmission potential of the human head louse, *Pediculus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *International Journal of Dermatology*, 44: 811-816.
- Tegegne, G.; Pretorius, J. C. & Swart, W. J. (2008). Antifungal properties of *Agapanthus africanus* L. extracts against plant pathogens. *Crop Protection*, 27: 1052-1060.
- Teixeira, M.; Figueira, G.; Sartoratto, A.; Garcia, V.; Delarmelina, C. (2005). Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 97: 305-311.
- Teixeira, M.; Leme, E.; Delarmelina, C.; Soares, A.; Figueira, G.; Sartoratto, A. (2007). Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *Journal of Ethnopharmacology*, 111: 197-201.
- Thomas, D.; McCarroll, L.; Roberts, R.; Karunaratne, P.; Roberts, C.; Casey, D.; Morgan, S.; Touhig, K.; Morgan, J.; Collins, F. & Hemingway, J. (2006). Surveillance of insecticide resistance in head lice using biochemical and molecular methods. *Archives of Disease in Childhood*, 91: 777-778.
- Tohidpour, A.; Sattari, M.; Omidbaigi, R.; Yadegar, A.; Nazemi, J. (2010). Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17: 142-145.
- Toloza, A. C.; Zygadlo, J.; Mougabure Cueto, G.; Biurrun, F. Zerba, E. & Picollo, M. I. (2006). Fimigant and Repellent Properties of Essential Oils and Component Compounds Against Permethrin-Resistant *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina. *Journal of Medical Entomology*, 43: 889-895.

- Toloza, A. C.; Lucia, A.; Zerba, E.; Masuh, H. Y Picollo, M. I. (2008a). Interspecific hybridization of *Eucalyptus* as a potential tool to improve the bioactivity of essential oils against permethrin-resistant head lice from Argentina. *Bioresource Technology*, 99: 7341-7347.
- Toloza, A. C.; Vassena, C. & Picollo, M. I. (2008b). Ovicidal and adulticidal effects of monoterpenoids against permethrin-resistant human head lice, *Pediculus humanus capitis*. *Medical and Veterinary Entomology*, 22: 335-339.
- Toloza, A. C.; Vassena, C.; Gallardo, A., González-Audino, P. & Picollo, M. I. (2009). Epidemiology of Pediculosis capitis in elementary schools of Buenos Aires, Argentina. *Parasitology Research*, 104: 1295-1298.
- Toloza, A. C.; Zygadlo, J.; Biurrún, F.; Rotman, A. & Picollo, M. I. (2010). Bioactivity of Argentinean essential oils against permethrin-resistant head lice, *Pediculus humanus capitis*. *Journal of Insect Science*. 10:185 available online insectscience.org/10.185.
- Toloza, A. C.; Ascunce, M. S.; Reed, D. & Picollo, M. I. (2014). Geographical Distribution of Pyrethroid Resistance Allele Frequency in Head Lice (Phthiraptera: Pediculidae) from Argentina. *Journal of Medical Entomology*, 51: 139-144.
- Toro, H. (2003). Introducción a la Entomología. En *Biología de los insectos*. Eds. Universitarias de Valparaíso. Cap.4: 115-128.
- Tripathi, A. K., Prajapati, V., Verma, N., Bahl, J. R., Bansal, R. P., Khanuja, S. P. S. & Kumar, S. (2002). Bioactivities of leaf essential oil of *Curcuma longa* (var.ch-66) on three species of stored-product beetles (Coleoptera). *Journal of Economical Entomology*, 95: 183-187.
- Tripathi, A. K.; Upadhyay, S.; Bhuiyan, M. & Bhattacharya, P. R. (2009). A review of essential oils as biopesticide in insect-pest management, *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 1: 52-63.
- Valles, S. M. (2008). Insecticidas. En: Carpinera, J. L. *Encyclopedia on Entomology*. 2 ed. Springer Science Business Media B. V. German. 1981-1993pp.
- Vassena, C. V.; Mougabure Cueto, G. A.; González Audino, P.; Alzogaray, R. A.; Viejo Montesinos J. L. (1996). Coevolución de plantas e insectos. *Boletín de la Sociedad Entomológica Argentina*, 13: 13-19.
- Vassena, C. V.; Mougabure Cueto, G. A.; González Audino, P.; Alzogaray, R. A.; Zerba, E. N. & Picollo, M. I. (2003). Prevalence and levels of permethrin resistance in *Pediculus humanus capitis* De Geer (Anoplura: Pediculidae) from Buenos Aires, Argentina. *Journal Medical Entomology*, 40: 447-450.
- Veal, L. (1996). The potential effectiveness of essential oils as a treatment for head lice, *Pediculus humanus capitis*. *Complementary Therapies in Nursing and Midwifery*, 2: 97-101.
- Veracx, A. & Rault, D. (2012). Biology and genetics of human head and body lice. *Trends Parasitology*, 28: 563-571.

- Villalobos, C.; Ranalletta, M.; Sarandón, R. & González, A. (2003). La pediculosis de ayer y de hoy. Un estudio epidemiológico sobre la infestación de *Pediculus capitis* en niños de La Plata, Buenos Aires, Argentina. *Entomology and Vectors*, 10: 567-577.
- Viejo Montesinos, J. L. (1996). Coevolución de plantas e insectos. *Boletín de la Sociedad Entomológica Argentina*, 13: 13-19.
- Villegas, S. C. & Breitzka, R. L. (2012). Head lice and the use of spinosad. *Clinical Therapeutics*, 34: 14-23.
- Visciarelli, E. C.; García, S. H.; Salomón, C.; Jofré, C. & Costamagna, S. R. (2003). Un caso de miasis humana por *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) asociado a pediculosis en Mendoza, Argentina. *Parasitología Latinoamericana*, 58: 166-168.
- Visciarelli, E. C. (2005). Biología de *Triatoma patagónica* Del Ponte, 1929 (Hemípter: Reduviidae). Caracterización morfológica, bioquímica y susceptibilidad a insecticidas durante el desarrollo embrionario comparativamente con *Triatoma infestans* (Klug, 19834) (Hemiptera: Reduviidae). Tesis Dr. en Bioquímica en la Universidad Nacional del Sur. 204 pp.
- Vladeni, S.; Peteinaki, E.; Maniatis, A. & Roussaki-Schultze, A. (2009). Prevalence of *Pediculosis capitis* among Schoolchildren in Greece and Risk Factors: A Questionnaire Survey. *Pediatric Dermatology*, 26: 701-705.
- Wall R, Shearer D. (1993). Lice (Phthiraptera), pp 284-312. En: Wall R. and Shearer D. (Eds). *Veterinary entomology*. Chapman & Hall. London, UK.
- Wandscheer, C. B.; Duque, J. E. da Silva, A. A. N.; Fukuyama, Y.; Wohlke, J. L.; Adelman, J. & Fontana, J. D. (2004). Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. *Toxicon*, 44: 829-835.
- Waniek, P. J. (2009). The digestive system of human lice: current advances and potential applications. *Physiological Entomology*, 34: 203-210.
- Wappler, T.; Smith, V. S. & Dagleish, R. C. (2004). Scratching an ancient itch: an Eocene bird louse fossil. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science*, 271 (Suppl 5), 5255-5258.
- Weinzierl, R. & Henn, T. (1991). Alternatives in insect management: biological and biorational approaches. North Central Regional Publication 401. Cooperative Extension Service, University of Illinois. 73pp.
- Weiss, R. A. (2009). Apes, lice and prehistory. *Journal of Biology*, 8: 20.
- Werdin, J. O.; Murray, A. P. & Ferrero, A. A. (2008). Bioactividad de aceites esenciales de *Schinus molle* var. *areira* (Anacardiaceae) en ninfas II de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Boletín de la Sanidad Vegetal*, 34: 367-375.

- Werdin González, J. O. (2010). Alternativas para el manejo integrado de *Nezara viridula* (L.), insecto plaga de la soja. Tesis Doctor en Biología. Universidad Nacional del Sur. Bs As. 253 pp.
- Werdin González, J. O.; Gutiérrez, M. M.; Murray, A. P. & Ferrero, A. (2010b). Biological Activity of essential Oils from *Aloysia polystachya* and *Aloysia citriodora* (Verbenaceae) against the Soybean Pest *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Natural Product Communications*, 5: 301-306.
- Werdin González, J. O.; Laumann, R. A.; da Silveira, S.; Blassioli Moraes, M. C.; Borges, M. & Ferrero, A. A. (2013). Lethal and sublethal effects of four essential oils on the egg parasitoids *Trissolcus basalis*. *Chemosphere*, 92: 608–615.
- Wigglesworth, J. B. (1941). The sensory physiology of the human louse *Pediculus humanus corporis* DeGeer. *Parasitology*, 33: 67-109.
- Willems, S.; Lapeere, H.; Haedens, N.; Pasteels, I.; Naeyaert, J. M. & De-Maeseneer, J. (2005). The importance of socio-economic status and individual characteristics on the prevalence of head lice in school children. *European Journal of Dermatology*, 39:387-392.
- Willems & van den Wildenberg . (2005). Roadmap report on nanoparticles.
- Wilson, N. H.; Hardisty, J. F. & Hayes, J. R. (2008). Short-term, subchronic and chronic toxicology studies. En: *Principles and methods of toxicology*. Fifth Edition. Editor: A. Wallace Hayes. CRC Press, pp: 1223-1264.
- Wimalaratne, P. D. C.; Slessor, K. N.; Borden, I. J. H.; Chong, L. J.; Abate, T. (1996). Isolation and identification of house fly, *Musca domestica* L., repellents from the Pepper Tree, *Schinus molle* L. *Journal of Chemical Ecology*, 22: 49-59.
- Wink, M. (2000). Interferente of alkaloids with neuroreceptors and ion channels. En: *Bioactive Natural Products*. Atta-Ur-Rahman, X. (Ed.) Elsevier. 3-129 pp.
- World Health Organization. (1981). Instructions for determining the susceptibility or resistance of body lice and head lice to insecticides. WHO/VBC/81.808.
- Yang, Y.; Lee, S. H.; Clark, J. M. & Ahn, Y. J. (2003). Ovicidal and Adulticidal effects of *Eugenia caryophyllata* bud and leaf oil compounds on *Pediculus capitis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4884-4888.
- Yang, Y.; Choi, H.; Choi, W.; Clark, J. M. & Ahn, Y. J. (2004). Ovicidal and Adulticidal Activity of *Eucalyptus globulus* Leaf Oil Terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 2507-2511.
- Yang, Y.; Lee, H. S.; Lee, S. H.; Clark, J. M. & Ahn, Y. J. (2005). Ovicidal and Adulticidal activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil compounds and related compounds against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *International Journal of Parasitology*, 35: 1595-1600.

- Yang, Y. C.; Lee, H. S.; Clark, J. M. & Ahn, Y. J. (2009). Ovicidal and Adulticidal Activity of Eucalyptus globules Leaf oil terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Agricultura and Foodl Chemistry*, 52: 2507-2511.
- Yoshizawa, K. & Jonson, K. (2006). Morphology of male Genitalia in Lice and their Relatives and Phylogenetic Implications. *Systematic Entomology*, 31: 350-361.
- Youdim, K. A. & Deans, S. G. (2000). Effect of thyme oil and thymol dietary supplementation on the antioxidant status and fatty acid composition of the ageing rat brain. *British Journal of Nutrition*, 83: 87-93.
- Zarzuelo, A. & Crespo, E. (2002). The medicinal and non-medicinal uses of thyme. En: *Thyme. The genus Thymus* (eds. Stahl-Bikup, E.; Sáez, F.). Taylor & Francis. Inglaterra. 263-292.
- Zerba, E. N. & Picollo, M. I. (2003). Prevalence and levels of permethrin resistance in *Pediculus humanus capitis* De Geer (Anoplura: Pediculidae) from Buenos Aires, Argentina. *Journal of Medical Entomology*, 40: 447-450.
- Zhu, K. Y. (2008). Insecticide Resistance. En: Capinera, J.L. *Encyclopedia of Entomology*. 2 ed. Springer Science+ Business Media B. V. German. 1979-1981pp.
- Zúñiga I. & Caro J. (2010). Pediculosis: Una ectoparasitosis emergente en México. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría*, 24: 56-63.
- Zygadlo J. A. & Grow, N. R. (1995). Comparative study of the antifungal activity of essential oils from aromatic plants growing wild in the central region of Argentina. *Flavour and Fragrance Journal*, 10: 113-118.

APÉNDICE

7. APÉNDICE

Publicaciones derivadas de la presente Tesis:

.- Gutiérrez, M. M; Stefanazzi, N; Werdin González J. Benzi, V. y Ferrero, A. A. (2009) "Actividad fumigante de aceites esenciales de *Schinus molle* (Anacardiaceae) y *Tagetes terniflora* (Asteraceae) en adultos de *Pediculus humanus capitis* (Insecta; Anoplura; Pediculidae)". Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 8 (3) 176-179. ISSN 0717-7917.

.- Gutiérrez, M. M.; Stefanazzi, N.; Werdin, J. Y Ferrero A. A. (2011). "Adulticidal activities for contact of *Aloysia citriodora* (Verbenacea) against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura; Pediculidae)". Biocell, 35 (3): p 213.

.- María M. Gutiérrez, Jorge Werdin González, Natalia Stefanazzi, Gabriela Serralunga, Loreto Yañez, Adriana Alicia Ferrero (2012). "Prevalence of *Pediculus humanus capitis* infestation among kindergarten children in Bahía Blanca city, Argentina". Parasitology Research, 3: 1309-1313. ISSN 0932-0113.

Presentaciones a Congresos vinculadas con la Tesis:

.-Gutiérrez, M. M; Stefanazzi, N; Werdin Gonzalez; J Y Ferrero, A. A. "Atividade fumigante dos óleos essenciais em *Pediculus humanus capitis* (Anoplura, Pediculidae)". XXII Congresso Brasileiro de Entomologia. Uberlândia. Brasil. 24 al 29 de agosto de 2008.

.- Gutiérrez, M. M; Stefanazzi, N; Werdin González; J y Ferrero, A. A. "Actividad ovicida de aceites esenciales de Anacardiaceae Y Labiatae frente a *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae)". XXX Congreso Nacional de Entomología. Talca. Chile. 3 al 5 de Diciembre del 2008.

.- Gutiérrez, M. M; Stefanazzi, N; Werdin González J, Benzi, V. y Ferrero, A. A. “Actividad fumigante de aceites esenciales de *Schinus molle* (Anacardiaceae) y *Tagetes terniflora* (Asteraceae) en adultos de *Pediculus humanus capitis* (Insecta; Anoplura; Pediculidae)”. 1º Congreso Internacional de Farmacobotánica. Chillán. Chile. 06 al 9 de enero del 2009.

.- Gutiérrez, M. M; Werdin González J, Stefanazzi, N y Ferrero, A. A. “Actividad ovicida de aceites esenciales de dos especies del género *Aloysia* (Verbenaceae) en *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). XVII Simposio Nacional de Química Orgánica. Mendoza. Argentina. 15 al 18 de noviembre de 2009.

.- María M. Gutiérrez, Jorge Werdin González , Natalia Stefanazzi , Adriana A. Ferrero. “Actividad fumigante de fruto de *Schinus molle* var *areira* (Anacardiacea) y hoja de *Aloysia polystachia* (Verbenacea) en adultos de *Pediculus humanus capitis* (Anolura, Pediculidae). V Simposio Brasileiro de Óleos Essenciais. Rio de Janeiro, Brasil. 3 al 6 de noviembre de 2009.

.- Gutiérrez, M. M; Stefanazzi, N; Werdin González J. y Ferrero, A. A. “Actividad insecticida por contacto del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Labiatae) en huevos y adultos de *Pediculus humanus capitis* (Anoplura, Pediculidae)”. Primeras Jornadas Bioquímicas del Sudoeste Bonaerense. Bahía Blanca. Provincia de Buenos Aires. 19 (1) 32. 4 y 5 de diciembre del 2009.

.- Gutiérrez, M. M; Stefanazzi, N; Werdin González J. y Ferrero, A. A. “Actividad insecticida por contacto del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Labiatae) en huevos y adultos de *Pediculus humanus capitis* (Anoplura, Pediculidae)”. Primeras Jornadas Bioquímicas del Sudoeste Bonaerense. Bahía Blanca. Provincia de Buenos Aires. 19 (1) 32. 4 y 5 de diciembre del 2009.

.- María M. Gutiérrez , N. Stefanazzi , J. Werdin González , V. Benzi y Adriana A. Ferrero. "Ovicidal activity of *Thymus vulgaris* (Labiatae) against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura, Pediculidae)". 2nd Meeting of the Latin American Association of Chemical Ecology (ALAEQ). Valle de Punilla (Huerta Grande), Cordoba, Province, Argentina.

.- Ariel C. Toloza, Marina Ascunce, Davis Reed, Adriana Delgado, Leonor Guardia-Claps, María Mercedes Gutiérrez y María I. Picollo. "Almost fixation in Knockdown resistance alleles to pyrethroids in head louse (*Pediculus humanus capitis*) populations from Argentina. Annual Meeting Entomological Society of America. Austin, Texas. 10-13 Noviembre, 2013.

.- María M. Gutiérrez, Cristina Bras, Adriana Ferrero. "Toxicidad dérmica del aceite esencial de *Thynus vulgaris* (Labiatae) posible uso como agente pediculicida". XI Simposio Argentino. XIV Simposio Latinoamericano de Farmacobotànica. 20-21-22 Noviembre 2013. Rosario, Argentina.