

NOTA TÉCNICA

PREVENCIÓN DEL CÓLERA AVIAR, CON EXTRACTOS ACUOSOS DE PLANTAS, EN POLLOS DE ENGORDE¹

Carrillo C.M.², Chinchilla E.A.², González L.A.², Toledo, R.A.², Zambrana H.G.²

RESUMEN

Prevención del cólera aviar con extractos acuosos de plantas en pollos de engorde. De octubre a diciembre de 1992, con extractos acuosos de las plantas, se realizaron, anfitoquímicos y pruebas microbiológicas en la bacteria *Pasteurella multocida*. La etapa de campo se realizó en la Granja Escuela de Capacitación Cooperativa Agropecuaria (GECA) en Chalatenango, El Salvador. Se evaluaron 16 tratamientos: cuatro plantas individuales, sus posibles combinaciones y el testigo. Se sometieron pollos de engorde, de la línea Arbos Acres, a la inoculación de la bacteria, para determinar el resultado preventivo de los tratamientos. Con el modelo de Weibull y la función de supervivencia se obtuvo significancia estadística solamente para los tratamientos con las combinaciones (Quina-Epacina, Palo hediondo-Tempate, Palo hediondo-Epacina y Quina- Tempate - Palo hediondo-Epacina; éste último tratamiento fue el mejor para la prevención del cólera aviar.

ABSTRACT

The prevention of fowl cholera with the aqueous extract of epacine (*Petiveria alliacea*), stinkwood (*Centrum lanatum*), Quina (*Coutarea hexandra*), and tempate (*Jatropha curcas*) in poultry production. This research was conducted from October to December, 1992, based upon the aqueous extracts from plants, at the Chemical, Agricultural and Pharmacy laboratories, by producing anphitochemicals and microbiological tests on the bacterium *Pasteurella multocida*. The field stage was performed at the training cooperative agricultural farm (GECA) at Chalatenango, and we evaluated 16 treatments with substances from the four individual plants, and their possible combinations and witness. We performed inoculation of the bacteria on chickens of the Arbos Acres line, in order to determine the preventive results of treatments. We utilized the Weibull model and the survival function, and we obtained significant statistics only for the treatments with the combinations of Quina/Epacine, Stinkwood/Tempate, Stinkwood/Epacine, and T16 (Quina/Epacine/Stinkwood/ Tempate), and it was this last treatment which showed results on the prevention of fowl cholera.



INTRODUCCIÓN

La crianza de aves de corral en El Salvador, es un medio de subsistencia en la precaria situación económica del campesino, además proporciona la proteína animal accesible y barata, que es necesaria en la dieta alimenticia. Pero una práctica realizada a la intemperie, sin ningún control higiénico, ni sanitario, expone a las aves a muchas enfermedades, que el campesino no puede controlar, ya que no tiene la capacidad económica para la compra de un medicamento químico.

Entre las enfermedades, que más mortalidad producen en las aves que cría el campesino, está el Cólera aviar, que es causada por la bacteria *Pasteurella multocida*, y causa hasta un 100 % de mortalidad.

El cólera aviar es una enfermedad infecciosa de las aves domésticas y salvajes, suele presentarse en forma septicémica, produce elevada morbilidad y mortalidad, también son frecuentes las manifestaciones crónicas. Se presenta esporádicamente o enzoóticamente en muchos países del mundo, ataca con mayor frecuencia en regiones templadas y cálidas. Su desencadenamiento, como su curso dependen de las influencias ambientales adversas, Dorn (1973).

La enfermedad se transmite por medio de desechos de las aves portadoras, que contaminan el suelo, los alimentos y el agua. Los insectos y aves silvestres son también portadoras. Además esta bacteria, penetra por lesiones de la piel, almohadilla plantar y el sistema respiratorio, Romagoza (1973). En el medio natural la

¹ Presentado en la XLII Reunión Anual del PCCMCA. El Salvador 1996.

² Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador.

bacteria *Pasteurella multocida*, subsiste viable en el estiércol no menos de un mes, unos tres meses en cadáveres en descomposición y en la tierra de jardín (Biester, Schware, 1994).

La utilización de algunas sustancias contenidas en raíces, corteza, hojas, flores y frutos, ya sea en forma de gases repelentes que suelta la planta, extractos en polvo, es una alternativa para sustituir el uso de productos químicos. Entre los químicos presentes en las plantas en forma natural están: Alcaloides, taninos, glicósidos, sesquiterpenlactonas, antraquinonas, etc.

El objetivo del presente ensayo fue determinar el efecto preventivo del extracto acuoso de las cuatro plantas en contra del cólera aviar Epacina (*Petiveria alliacea*), Palo Hediondo (*Cestrum lanatum*), Quina (*Coutariea hexandra*) y Tempate (*Jatropha curcas*) en contra de la bacteria *Pasteurella multocida*, aplicando un método científico, para proporcionar al campesino una alternativa accesible y económica.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en la Granja Escuela de Capacitación Cooperativa Agropecuaria (GECA), del municipio de Nueva Concepción, Departamento de Chalatenango; y en las Facultades de Ciencias Agronómicas y Química y Farmacia, de la Universidad de El Salvador.

El trabajo se hizo en dos fases: Una fase de laboratorio y una fase de campo, de octubre a diciembre de 1992. Antes de estas fases se recolectaron, desecaron y molieron las plantas que se evaluaron. La recolección se realizó en los alrededores de la GECA, donde también se secaron a la sombra. El molido de las plantas recolectadas se hizo utilizando un molino eléctrico, en el laboratorio de la unidad de Química de la Facultad de Ciencias Agronómicas.

La fase de laboratorio implicó preparar extractos de cada una de las plantas y de la mezcla de ellas, siguiendo dos metodologías: método de reflujo y método de macerado. En el método de reflujo se sometió la muestra vegetal a un proceso de reflujo durante diez horas, utilizando etanol 95° o agua como disolvente. El método macerado consistió en poner en contacto la muestra vegetal y el disolvente de agua por 24 horas.

En los extractos elaborados se realizó análisis fitoquímico y microbiológico; consistiendo el primero en la determinación cualitativa de metabolitos secundarios presentes en las plantas estudiadas. Se utilizaron las pruebas o métodos para determinar: alcaloides, taninos, glicósidos saponínicos, glicósidos flavonoides, antraqui-

nonas y sesquiterpenlactonas. El análisis microbiológico determinó la susceptibilidad de la bacteria *Pasteurella multocida*, al exponer ésta al contacto con los diferentes extractos elaborados, conteniendo los metabolitos secundarios presentes. Para desarrollar este análisis, la bacteria se sembró en cajas Petri por medio de cultivo agar sangre y al mismo tiempo se aplicó el extracto utilizando cilindros perforados de acero inoxidable, de 10 m de altura y 5 mm de diámetro dentro de los cuales se colocó el extracto y se observó el efecto inhibitorio, al medir el área circular donde no creció la bacteria.

La elaboración de los extractos y el análisis fitoquímico se realizó en el Laboratorio de Investigación Aplicada y Tesis Profesionales de la Facultad de Química y Farmacia. El análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas.

La fase de campo se desarrolló en una galera de 37 m² con piso de cemento, limpiada y desinfectada con formalina al 10 % y cal, una semana antes del inicio del ensayo. La galera se dividió en 16 espacios de 1,5 m² cada uno, con tela metálica de gallinero, donde cada sección o división albergó doce pollos.

Durante la primera y segunda semana de vida de los pollos, los comederos utilizados fueron bandejas y después de la tercera semana se utilizaron los platos de los comederos de tolva. Los bebederos fueron recipientes plásticos con capacidad de un galón. Las primeras dos semanas se colocaron de dos a cuatro bebederos por población total y de la tercera semana en adelante se asignó un bebedero por tratamiento. La alimentación fue a base de concentrado iniciador las primeras dos semanas, y de la tercera semana en adelante se alimentó con concentrado finalizador, ambos concentrados para pollo de engorde.

Los tratamientos fueron administrados en forma de polvo en el agua de bebida, durante un período de cinco días consecutivos en la tercera y sexta semana de vida de los pollos. Se utilizó una dosis de 1,06 g/litro (4 g/galón)

La inoculación de la bacteria *Pasteurella multocida* se realizó en la séptima semana de vida de los pollos, con gotero por vía nasal y digestiva; para muestrear y observar inmediatamente después hasta el décimo séptimo día. Para determinar la causa de la muerte se realizó la necropsia. Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

1. Testigo sin medicamento
2. Quina: 4 g
3. Tempate: 4 g
4. Palo hediondo: 4 g
5. Epacina: 4 g
6. Quina: 2 g + Tempate: 2 g

7. Quina: 2 g + Palo hediondo: 2 g
8. Quina: 2 g + Epacina: 2 g
9. Palo hediondo: 2 g + Tempate: 2 g
10. Tempate: 2 g + Epacina: 2 g
11. Palo hediondo: 2 g + Epacina: 2 g
12. Quina: 1,33 g + Tempate: 1,33 g + Epacina: 1,33g
13. Quina: 1,33g+Montehediondo: 1,33g+Epacina: 1,33g
14. Palo hediondo: 1,33+Tempate 1,33 g+Epacina: 1,33 g
15. Quina: 1,33g+Tempate: 1,33 g+palo hediondo: 1,33g
16. Quina: 1 g +Tempate: 1 g +Palo hediondo: 1 g + Epacina: 1 g.

Los nombres científicos de las plantas utilizadas se indica a continuación: Quina (*C. hexandra*); Epacina (*P. alliacea*), Palo hediondo (*C. lanatum*) y Tempate (*J. curcas*).

Para el análisis estadístico se utilizó el modelo de Weibull, que estima el factor relativo de riesgo de muerte para cada tratamiento comparados con el tratamiento testigo.

También se aplicó un análisis descriptivo con la función de supervivencia de Kaplan-Meier, que calcula la probabilidad de supervivencia para cada tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis titoquímicos cualitativos en los extractos etanólicos y acuoso de las plantas, confirmaron la presencia de alcaloides taninos y glicósidos flavonoides en común en todos los extractos evaluados (Cuadro 1 al 5); la presencia de sesquiterpenlactonas solamente se

Cuadro 1. Resultados del análisis fitoquímico preliminar para Epacina en extracto alcohólico (Etanol 95°).

Metabolico secundario	Nombre de la prueba	Resultados según/N coloración o precipitación formada
Alcaloides	Dragendorff	+ Precipitado color marrón
	Mayer	+ Precipitado blanco amarillo
	Wagner	+ Precipitado café marrón
Taninos	Tricloruro de hierro	+ Coloración azul
	Solución de gelatina	+ Precipitado blanco
	Dicromato de potasio	+ Precipitado café
	Solución sub-acetato de plomo	+ Precipitado blanco
Glicosidos	Lieberman- Burchard	+ Formación de anillo rojo
Saponinico	S Salkoski	+ Formación de anillo
Flavonoides	Prueba de shinoda	+ Formación de anillo
Antraquinonas	Bomtrager rosado	(-) No formación de color
Sesquiterpen	Balget	+ Formación de color rojo
Lactonas	Legal	+ Formación de color rojo

Cuadro 2. Resultados del análisis fitoquímico preliminar para Tempate en extracto alcohólico (Etanol 95°).

Metabolico secundario	Nombre de la prueba	Resultado según coloración o precipitación formada
Alcaloides	Dragendorff	+ Precipitado color marrón
	Mayer	+ Precipitado blanco amarillento
	Wagner	+ Precipitado café marrón
Taninos	Tricloruro de hierro	+ Coloración azul
	Solución de gelatina	+ Precipitado blanco
	Dicromato de potasio	+ Precipitado café
	Solución sub-acetato de plomo	+ Precipitado blanco
Glicosidos	Lieberman-Burchard	+ Formación de anillo rojo
Saponinicos	Salkoski	+ Formación de anillo
Flavonoides	Prueba de shinoda	+ Coloración roja
Antraquinonas	Borntrager	(-) No formación de color rosado
Sesquiterpen-	Balget	- No formación de color rojo
Lactonas	Legal	- No formación de color rojo

Cuadro 3. Resultados del análisis fitoquímico preliminar para Quina, en extracto alcohólico (Etanol 95 °).

Metabolico secundario	Nombre de la prueba	Resultado según coloración o precipitación formada
Alcaloides	Dragendorff	+ Precipitado color marrón
	Mayer	+ Precipitado blanco amarillento
	Wagner	+ Precipitado café marrón
Taninos	Tricloruro de hierro	+ Coloración azul
	Solución de gelatina	+ Precipitado blanco
	Dicromato de potasio	+ Precipitado café
	Solución sub-acetato de plomo	+ Precipitado blanco
Glicosidos	Lieberman-Burchard	+ Formación de anillo rojo
Saponinicos	Salkoski	+ Formación de anillo
Flavonoides	Prueba de shinoda	+ Coloración roja
Antraquinonas	Borntrager	(-) No hubo coloración rosada
Sesquiterpen-	Balget	+ Coloración roja
Lactonas	Legal	+ Coloración roja

Cuadro 4. Resultados del análisis fitoquímico preliminar para Palo hediondo en extracto alcohólico (Etanol 95).

Metabolico secundario	Nombre de la prueba	Resultado según coloración o precipitación formada
Alcaloides	Dragendorff	+ Precipitado color marrón
	Mayer	+ Precipitado blanco amarillento
	Wagner	+ Precipitado café marrón
Taninos	Tricloruro de hierro	+ Coloración azul
	Solución de gelatina	+ Precipitado blanco
	Dicromato de potasio	+ Precipitado café
	Solución sub-acetato de plomo	+ Precipitado blanco
Glicosidos	Lieberman-Burchard	- No hay formación de anillo
Saponinicos	Salkoski	- No hay formación de anillo
Flavonoides	Prueba de shinoda	+ Coloración roja
Antraquinonas	Borntrager	- No hay coloración rosada
Sesquiterpen-	Balget	- No hay coloración roja
Lactonas	Legal	- No hay coloración roja

Cuadro 5. Resultados del análisis fitoquímico preliminar para la mezcla de las cuatro plantas en extracto acuoso.

Metabolico secundario	Nombre de la prueba	Resultado según coloración o precipitación formada
Alcaloides	Dragendorff	+ Precipitado color marrón
	Mayer	+ Precipitado blanco amarillento
	Wagner	+ Precipitado color café marrón
Taninos	Tricloruro de hierro	+ Coloración azul
	Solución de gelatina	+ Precipitado blanco
	Dicromato de potasio	+ Precipitado café
	Solución sub-acetato de plomo	+ Precipitado blanco
Glicosidos	Lieberman-Burchard	+ Formación de anillo rojo
Saponinicos	Salkoski	+ Formación de anillo
Flavonoides	Prueba de shinoda	+ Coloración roja
Antraquinonas	Borntrager	- No formación de color rosado
Sesquiterpen-	Balget	+ Formación de color rojo
Lactonas	Legal	+ Formación de color rojo

dió en los extractos de quina, epacina y las mezclas de las cuatro plantas (Cuadros 1,3,4 y 5).

De los análisis microbiológicos en extractos etanólicos y acuosos, para determinar la susceptibilidad de la bacteria *Pasteurella multocida* a estos extractos; se observaron varios puntos de importancia: 1) Inhibición bacteriana, tanto en extractos acuosos, como alcohólicos, siendo escasamente mayor en los alcohólicos; 2) la inhibición bacteriana, en los extractos de las mezclas de

las cuatro plantas, presentó resultados o valores semejantes; 3) con los extractos de la epacina, de las mezclas de las cuatro plantas, se obtuvieron los mayores resultados de inhibición bacteriana, siguiendo en orden los resultados para la Quina, palo hediondo y tempate; 4) la inhibición de la bacteria con respecto al tiempo, presentó una relación directamente proporcional, lo que se observa en las lecturas o medición del diámetro de inhibición a los 24, 48 y 72 horas (Cuadros 6-9).

Cuadro 6. Resultados de análisis microbiológico efectuados a la *Pasteurella multocida* con los extractos acuosos. Primera repetición. (Lectura de área inhibida).

Especie vegetal	Lectura en mm a 24 horas	Lectura en mm a 48 horas	Lectura en mm a 72 horas
Quina	9	10	10
Epacina	9,5	11,5	12
Palo hediondo	6	8	9
Tempate	7,5	8,5	9
Mezcla a reflujo	9	11,4	11,4
Mezcla macerada	9	10	10

Cuadro 7. Resultados de análisis microbiológico efectuados a la *Pasteurella multocida* con los extractos acuosos. Segunda repetición. (Lectura en diámetro del área inhibida).

Especie vegetal	Lectura en mm a 24 horas	Lectura en mm a 48 horas	Lectura en mm a 72 horas
Quina	9	10	10
Epacina	9	11	12,5
Palo hediondo	6	9	9,5
Tempate	7,5	9	9,5
Mezcla a reflujo	9	11,5	11,5
Mezcla macerada	9	10,5	10,5

Cuadro 8. Resultados de análisis microbiológico efectuados a la *Pasteurella multocida* con los extractos alcohólicos. Primera repetición. (Lectura en diámetro del área inhibida).

Especie vegetal	Lectura en mm a 24 horas	Lectura en mm a 48 horas	Lectura en mm a 72 horas
Quina	10	10	10,5
Epacina	10	13,5	16
Palo hediondo	9,5	9,8	9,8
Tempate	10	10	12
Mezcla	10,5	10,8	10,8

Cuadro 9. Resultados de análisis microbiológico efectuados a la *Pasteurella multocida* con los extractos alcohólicos. Segunda repetición. (Lecturas en diámetro del área inhibida).

Especie vegetal	Lectura en mm a 24 horas	Lectura en mm a 48 horas	Lectura en mm a 72 horas
Quina	10	10	10,5
Epacina	13	13,5	15
Palo hediondo	12	13	13,5
Tempate	10	10	12
Mezcla	13	13,8	15

Con el modelo estadístico de Weibull, se obtuvieron tratamientos con diferencia estadística significativa. El tratamiento T11' resultó con diferencia estadística significativa y para los tratamientos T18', T9' y T16', resultaron con diferencia estadística altamente significativa.

Esta significancia representa el efecto a la aplicación de los tratamientos o extractos de las plantas, con respecto al tratamiento testigo, realizado en el ensayo de campo.

El análisis descriptivo con la función de supervivencia de Kaplan Meier determinó los porcentajes de supervivencia de 75%, 68%, 50% y 50% para los tratamientos T16', T8', T9' y T11' respectivamente.

De acuerdo a los resultados fitoquímicos y microbiológicos de los extractos de las plantas y al análisis estadístico de los tratamientos efectivos en ensayo de campo, se determinó que existió efecto inhibitorio y preventivo en contra de la bacteria *Pasteurella multocida*, debido al conjunto de los metabolitos secundarios siguientes: Alcaloides, taninos, glicósidos flavonoides y sesquiterpenlactonas.

CONCLUSIONES

Las cuatro plantas utilizadas en el ensayo mostraron acción preventiva contra la bacteria *Pasteurella multocida*, que provoca el cólera de las aves. La acción inhibitoria de las plantas en forma individual contra la *Pasteurella multocida*, fue menor que cuando se encuentran combinadas.

Los tratamientos que resultaron más eficaces en la prevención del cólera de las aves fueron:

T8 = Quina y epacina

T9 = Palo hediondo y tempate

T11 = Palo hediondo y epacina

T16 = Quina, Epacina, palo hediondo y tempate

El tratamiento T16, combinación de las cuatro plantas y que resultó con los mayores efectos en los ensayos de campo y laboratorio, fue la combinación de plantas con mejor acción preventiva contra la *Pasteurella multocida*.

Según los resultados de inhibición bacteriana, para preparar el medicamento, pueden utilizarse los extractos alcohólicos, acuoso o reflujo y acuoso en maceración; ya que todos presentaron inhibición a niveles semejantes.

Los taninos, alcaloides, flavonoides y sesquiterpenlactonas, por ser comunes en la composición química de las cuatro plantas, y en las combinaciones de estas y por encontrarse en las plantas y combinaciones de mayor efecto preventivo; se consideran los componentes químicos que en una acción coadyuvante posiblemente poseen inhibición bacteriana contra la *Pasteurella multocida*.

RECOMENDACIONES

Se recomienda la validación de la combinación de quina (*C. hexanara*), Epacina (*P. alliacea*), Palo hediondo (*C. lanatum*) y Tempate (*J. curcas*) en la prevención del cólera de las aves; en dosis de cuatro gramos por galón de agua. Como alternativa, al no encontrarse disponibles la totalidad de las plantas, se recomienda evaluar las combinaciones siguientes: 1) Quina (*C. hexandra*) y epacina (*P. alliacea*); 2) Palo hediondo (*C. lanatum*) y l'empate (*J. curcas*); y 3) Palo hediondo (*C. lanatum*) y Epacina (*P. alliacea*). Al preparar el medicamento se recomienda utilizar la técnica del extracto acuoso en maceración, que es la misma utilizada empíricamente por ser practica y económica. Se recomienda hacer la prueba o ensayo en otro tipo de ave; como aves ponedoras, aves de corral (gallinas indias, pavos, patos, gansos, etc.).

LITERATURA CITADA

- BIESTER, H.E.; SCHWARE, L.H. 1994. Enfermedades de las aves. Trad. por Dr. José Pérez Ofeiza. Hispanoamericana. México, D.F. pp. 276 -277, 279..280.
- CLAUS, E.D. 1968. Farmacognosia. 5 ed. Buenos Aires, Argentina. El Ateneo. pp. 82, 100-111, 124-126, 135-136, 238, 240.
- DORN, P. 1973. Manual de patología aviar. Trad. por José Romero Muñoz. Acriba. Zaragoza, España. 106p.
- ROMAGOZA, J.A. 1973. Avicultura. SALVAT. Barcelona, España. 360 p.
- SOLORZANO, R. s.f. Inventarios de plantas medicinales, granjas modelo permaculturales. ALTERTEC. Guatemala. 1 p.
- UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR. s.f. Enfermedades importantes de las aves. Facultad de Ciencias Agronómicas. pp 5-6.