



REDVET. Revista Electrónica de
Veterinaria

E-ISSN: 1695-7504

redvet@veterinaria.org

Veterinaria Organización
España

Aricama Giraldo, Héctor Jaime; Salazar Salazar, Daniel F.; Uribe Diaz, Santiago; Isaza,
Jaime Angel

Inhibición del virus de Bronquitis Infecciosa Aviar mediante el uso de aceites esenciales

REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. 18, núm. 10, octubre, 2017, pp. 1-9

Veterinaria Organización

Málaga, España

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63653470010>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Inhibición del virus de *Bronquitis Infecciosa Aviar* mediante el uso de aceites esenciales - Inhibition of bird *infectious bronchitis* virus through the use of essential oils

Héctor Jaime Aricapa Giraldo¹, Daniel F. Salazar Salazar², Santiago Uribe Diaz³, Jaime Angel-Isaza³

¹MSc. Profesor del Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas. E-mail: hjaricapa@hotmail.com

²Medico Veterinario Zootecnista, Universidad de Caldas E-mail: Danielsalazar0411@gmail.com

³Medico Veterinario Zootecnista, Universidad de Caldas E-mail: Sant_uribe91@hotmail.com, Danielsalazar0411@gmail.com

⁴Médico Veterinario Zootecnista, Estudiante maestría Ciencias Veterinarias, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. E-mail: Jaime.angel92@gmail.com

Resumen

Se evaluó la capacidad de inhibición viral de los aceites esenciales de *Lippia origanoides*, *Rosmarinus officinalis* e *Illicium verum* a tres concentraciones, sobre el virus responsable de producir la enfermedad de Bronquitis infecciosa aviar. Los aceites esenciales (AE) de *Lippia origanoides*, *Rosmarinus officinalis* e *Illicium verum* se obtuvieron por hidrodestilación a partir de cada una de las plantas y se diluyeron con el fin de obtener concentraciones de 100 µg/mL, 33,3 µg/mL y 11,1 µg/mL para cada uno de los aceites. El virus fue incubado junto con cada aceite en las tres concentraciones para posteriormente ser inoculada la mezcla aceite virus en huevos embrionados de pollo de engorde (*Gallus gallus*) de nueve días de edad, al séptimo días pos inoculación se determinó la mortalidad embrionaria para cada uno de los tratamientos. Los datos fueron sometidos a la prueba de Kruskal-Wallis y regresión logística. Se observó que los AE en cualquier concentración presentaron estadísticamente ($p < 0,05$) menor muerte embrionaria que los huevos control, por medio de regresión logística se determinó que el aceite de *Rosmarinus officinalis* en concentración de 100 µg/mL presento mayor probabilidad (91,8%) de supervivencia de los embriones al virus de Bronquitis infecciosa aviar. En conclusión los tres aceites esenciales utilizados tiene la capacidad de disminuir la muerte embrionaria, no obstante la mayor protección embrionaria fue ejercida por el *Rosmarinus officinalis* utilizado a 100 ppm.

Palabras Clave: Desinfectante, avicultura, aceite esencial, Coronavirus aviar embrión.

Abstract

Objective: Evaluated the capability of viral inhibition from the essential oils of *Lippia origanoides*, *Rosmarinus officinalis* and *Illicium verum* with three concentrations, about the bronchitis virus. **Methodology:** The essential oils of *Lippia origanoides*, *Rosmarinus officinalis* and *Illicium verum* were obtained by hydrodistillation. were used concentrations of 100 µg/mL, 33,3 µg/mL and 11,1 µg/mL for each oil, they were combined and incubated with bronchitis virus and afterwards this mixture was inoculated into embryonated eggs of broiler chicken (*Gallus gallus*) free of specific antibodies of nine days old, the seventh day post inoculation embryo mortality for each treatment was determined. **Results:** It was observed that the essential oils in any concentration had statistically ($p < 0,05$) lower embryonic death eggs control, by logarithmic regression was determined that *Rosmarinus officinalis* oil in concentration of 100 µg/mL showed higher probability (91,8%) of the survival of embryos of the bronchitis virus. **Conclusion:** The three essential oils used have the capability to decrease embryonic death; however the most protection was exercised by *Rosmarinus officinalis* used to 100 ppm.

Key Words: Disinfectant, poultry, essential oil, avian Coronaviruses, embryo

INTRODUCCION

La bronquitis infecciosa aviar (VBI) es producida por el virus ARN del genero *Coronavirus*, de la familia *Coronaviridae*, el cual tiene como principal vía de contagio el tracto respiratorio, no obstante puede ser propagado por contacto directo o por fómites. En el ave el agente se replica en el aparato respiratorio y digestivo causando sintomatología propia de estos sistemas, alcanzando en cuadros severos de la enfermedad la presencia de afecciones renales (Cavanagh, 2005).

En la actualidad no se cuenta con un tratamiento efectivo para las aves ya infectadas, lo que representa un reto para la medicina preventiva en conjunto con la bioseguridad como las principales medidas de control de este agente, por tal razón se recurre al uso de desinfectantes químicos y medicamentos que ponen en riesgo la seguridad alimentaria de los consumidores; debido a esto se ha emprendido la búsqueda de nuevas alternativas naturales con capacidad de controlar la presencia de agentes patógenos (Barbour *et al.*, 2010); dentro de esta búsqueda los aceites esenciales de plantas se postulan como una opción natural y viable en el control de dichas enfermedades.

Los aceites esenciales son sustancias aromáticas producidas por fuentes vegetales como flores, semillas, frutos y raíces (Prabuseenivasa *et al.*, 2006) para defender la planta de diferentes organismos perjudiciales. En los últimos años tomando como base el uso etnofarmacológico en el tratamiento de heridas que se le ha dado a estas sustancias, ha crecido el interés por su

aparente capacidad de inhibir el desarrollo de bacterias, hongos y virus (Wu et al., 2010).

Químicamente los AE presentan dos componentes principales, el aromático compuesto por fenoles, óxidos, alcoholes, ésteres, aldehídos y cetonas que determinan el aroma de la planta, y un segundo componente conformado por unidades de isoprenos denominados terpenos, dentro de los cuales, los de mayor importancia son los monoterpenos (dos unidades de isoprenos) que representan más del 90% de los ácidos esenciales, y los sesquiterpenos formados por tres unidades de isoprenos (Bakkali et al., 2008).

Dentro de estas opciones se encuentran la *Lippia origanoides* una planta cuyo género (*Lippia*) se encuentra ampliamente distribuido por América tropical y subtropical incluyendo aproximadamente 200 especies, la *Lippia origanoides* particularmente se postula como una fuente importante de aceites esenciales (Betancourt et al., 2012).

Los aceites esenciales de las plantas *Illicium verum* y *Rosmarinus officinalis*, también conocidas en Colombia como anís estrellado y romero respectivamente, han tendido importancia en la medicina tradicional siendo utilizadas como: anti fúngicos y antivirales, convirtiéndose en sustancias con gran potencial para ser utilizadas en la industria avícola, en el área de bioseguridad y prevención de enfermedades (Hussain et al., 2010). El presente estudio pretende evaluar la capacidad de inhibición viral que poseen los aceites esenciales de *Lippia origanoides*, *Rosmarinu sofficialis* e *Illicium verum* aplicando tres concentraciones diferentes sobre el virus de la Bronquitis infecciosa aviar.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación fue realizada por estudiantes de la Universidad de Caldas, facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, con colaboración de Promitec S.A, el bioensayo se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de Bioara S.A ubicado en Guaduas Cundinamarca (Colombia). Los aceites esenciales de las hojas de *Lippia origanoides*, *Rosmarinus officinalis* e *Illicium verum*, se obtuvieron por hidrodestilación asistida, en los laboratorios de CENIVAM (Centro nacional de investigaciones para la agroindustrialización de especies vegetales aromáticas y medicinales tropicales) de la universidad industrial de Santander, en Bucaramanga Colombia.

Para el experimento se utilizaron 165 huevos embrionados de pollo de engorde (*Gallusgallus*) libres de patógenos específicos (*Newcastle* y *Bronquitis infecciosa aviar*) de nueve días de edad y pesos entre 50,0 y 57,0 gramos; antes de iniciar el experimento cada huevo fue inspeccionado utilizando un ovoscopio para asegurar la viabilidad de los embriones.

Para el bioensayo se utilizaron tres concentraciones de cada aceite esencial (100 µg/mL, 33,3 µg/mL y 11,1 µg/mL), a estas se les incorporó la cepa

vacunal “131” del virus de Bronquitis infecciosa aviar, la mezcla aceite-virus se incubo durante 60 minutos a 37 grados centígrados para posteriormente ser inoculada en los huevos.

Para evaluar la capacidad de inhibición viral de los aceites esenciales *Lippia origanoides*, *Rosmarinus officinalis* e *Illicium verum* contra el virus de VBI, los tratamientos fueron distribuidos en un modelo multifactorial de tres aceites esenciales a tres concentraciones 100 µg/mL, 33,3 µg/mL y 11,1 µg/mL para cada aceite (Tabla 1), además de un grupo control negativo al cual solamente se le inocular el virus de VBI y un control positivo que fue inoculado con el agente y un desinfectante comercial; utilizando 15 huevos para cada tratamiento. Diariamente durante un periodo de siete días posterior a la inoculación se registró la mortalidad de los embriones por medio de ovoscopia.

Tabla 1. Concentraciones de AE y tratamientos.

Aceite Esencial	Concentración	Tratamiento
Control Negativo	0	T0-
Control Positivo	6ml/L	T0+
<i>Illicium verum</i>	100 µg/mL,	T1
	33,3 µg/mL	T2
	11,1 µg/mL	T3
<i>Lippia origanoides</i>	100 µg/mL,	T4
	33,3 µg/mL	T5
	11,1 µg/mL	T6
<i>Rosmarinus officinalis</i>	100 µg/mL,	T7
	33,3 µg/mL	T8
	11,1 µg/mL	T9

Análisis Estadístico: para cada uno de los tratamientos se llevó registro de la mortalidad embrionaria al día siete de inoculación del virus, para estos datos, debido a que dicha variable es un conteo, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) para determinar diferencias en la media de número de muertes de embriones entre tratamientos; además se realizó una regresión logística para determinar concentración adecuada que aumenta la probabilidad de supervivencia al virus y se realizó como parte del modelo de regresión se realizó el cálculo de odds-ratio como medida de asociación que cuantifica la magnitud de la asociación entre la variable respuesta y el factor de interés.

RESULTADOS

Al realizar la comparación entre el control negativo y el uso de desinfectante comercial no se observó diferencias significativa ($p = 0,894$), es decir aplicar el agente comercial no disminuye el promedio de muertes embrionarias;

respecto de la capacidad inhibitoria de los AE, las tres concentraciones usadas presentaron diferencias significativas al tener los tratamientos menor promedio de embriones muertos que los dos grupos control ($p < 0,05$), siendo el tratamiento siete (*Rosmarinus officinalis* concentración 100 µg/mL) el que presenta menor número de embriones muertos (Fig. 1).

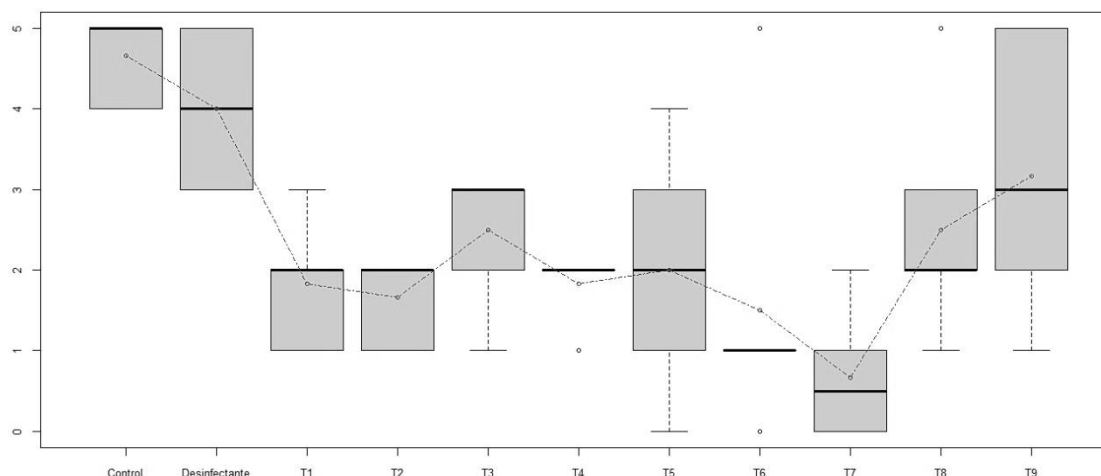


Figura 1. Cajas y bigotes para el virus de Bronquitis Infecciosa Aviar

Utilizando el modelo de regresión logística se observó que el aceite esencial tres (*Rosmarinus officinalis*) a la concentración uno (100 µg/mL) presenta la mayor supervivencia embrionaria, no obstante en los tres aceites esenciales a la concentración uno (100 µg/mL) la muerte embrionaria disminuyó significativamente ($p < 0,05$) con respecto al control, relacionando los aceites esenciales como el factor que explica la disminución de muerte embrionaria. Al realizar la medición del Odds – ratio como una medida que cuantifica la asociación entre la supervivencia de embriones como respuesta a las dosis de los aceites esenciales, se observa que el mejor tratamiento es T7 (*Rosmarinus officinalis* a la concentración de 100 µg/mL), es decir la probabilidad de supervivencia de un embrión contaminado con el virus de Bronquitis infecciosa aviar se multiplica 11,22 veces al recibir dicho tratamiento, lo que corresponde a una probabilidad de supervivencia de 91%, el segundo tratamiento con mayor probabilidad de supervivencia corresponde al AE de *Lippia origanoides* a la concentración de 11,1 µg/mL otorgando a los embriones un 80% de probabilidad de sobrevivir, en el caso de no recibir ningún tratamiento la probabilidad de supervivencia de los embriones es del 36% (tabla 2).

Tabla 2. Probabilidad de Supervivencia Embrionaria Para Virus de Bronquitis Infecciosa Aviar.

Aceite Esencial	Concentración	Odds-ratio	Probabilidad de supervivencia
Control Negativo	-	0,578	0,366
<i>Illicium verum</i>	100 µg/mL,	2,983	0,748
	33,3 µg/mL	3,454	0,775
	11,1 µg/mL	1,727	0,633
<i>Lippia organoides</i>	100 µg/mL,	2,983	0,748
	33,3 µg/mL	2,590	0,21
	11,1 µg/mL	4,030	0,801
<i>Rosmarinus officinalis</i>	100 µg/mL,	11,227	0,918
	33,3 µg/mL	1,727	0,633
	11,1 µg/mL	NA	NA

Como se puede observar en el grafico 1 las barras expresan el conteo de muertes por tratamiento, y la línea central que muestra el comportamiento de los promedios de muerte en cada uno de los tratamientos. Se observa que el promedio de muertes mayor es para los dos grupos control.

DISCUSIÓN

El virus de la bronquitis infecciosa aviar se encuentra distribuido en todo el mundo causando grandes pérdidas económicas a la industria de aves de corral, como resultado de la disminución de parámetros productivos y deterioro en la calidad del huevos en aves de postura (Cavanagh, 2005), agravado por la falta de un tratamiento efectivo para el control del virus una vez infecte las aves, motivo por el cual los esquemas vacúnales y la bioseguridad siguen siendo la única herramienta de los productores para controlar este tipo de agente virales (Senne *et al.*, 2004). El estudio pretendía comprobar la capacidad de inhibición viral de los compuestos de origen natural conocidos como aceites esenciales provenientes de las plantas *Illicium verum*, *Lippia organoides* y *Rosmarinus officinalis*.

Los resultados del estudio indican que los AE utilizados poseen capacidad de inhibir la actividad del VBI, disminuyendo la muerte embrionaria en los huevos inoculados con el agente infeccioso, estos resultados concuerdan con lo observado por Yin y colaboradores en 2011 los cuales utilizando 0.97 mg/ml de aceite esencial de *Houttuynia cordata* obtuvieron la tasa media de inhibición del virus, además encontraron que la dosis podía aumentar hasta los 250 mg/ml sin causar daños en las células renales de mono verde (vero); en el mismo estudio con el fin de corroborar el efecto viricida del AE, inocularon huevos embrionados de pollo con una mezcla de aceite esencial con el virus, de manera similar a lo realizado en el presente experimento, encontrando resultados análogos en la disminución de muerte embrionaria en los huevos tratados con el AE.

Otro estudio realizado por (Jackwood *et al.*, 2010) utilizando una mezcla de aceites esenciales y oleorresinas demostraron la capacidad de estas sustancias en la inhibición del virus de VBI sin causar daño en células vero, además los autores del estudio evidencian la posibilidad de suministrar por medio de aspersión los AE como medida para el control del virus en fases tempranas de la enfermedad de VBI además de otras infecciones respiratorias como el Newcastle donde se ha demostrado capacidad inhibitoria por parte de los AE para el paramixovirus responsable de causar el cuadro patológico en las aves (Mohammadi *et al.*, 2015).

En la búsqueda por mejorar la comprensión del mecanismo de acción de los AE, se toman en cuenta dos estudios realizados sobre *Herpes virus*, los cuales reportaron efecto durante la fase de unión y no en el momento de la replicación, sugiriendo que el aceite esencial de *Melissa officinalis* afecta directamente el virus, posiblemente uniéndose o dañando proteínas implicadas en la penetración del virus en la célula huésped (Schnitzler *et al.*, 2001; Schnitzler *et al.*, 2008).

En el presente estudio se evidenció que el tratamiento que obtuvo mejor resultado reduciendo la muerte embrionaria, corresponde al aceite de *Rosmarinus officinalis* a la concentración de 100 µg/mL, coincidiendo con lo observado en otro estudio, en el cual es usado AE de la misma planta a concentración de 100 ppm, obteniendo un porcentaje de inhibición viral del 89,2% para el *Herpesvirus* tipo uno (Portari *et al.*, 2009), además se comprobó que no existe citotoxicidad sobre células de mono verde con concentraciones de hasta 300 ppm, por su parte otro estudio determino la citotoxicidad de diferentes aceites esenciales, en el cual se usaron dos plantas del genero *Lippia* (*Lippia junelliana* y *Lippia turbinata*), hallando que para la generación de daños a la célula animal es necesario concentraciones superiores a los 313 ppm, concentración muy superior a las utilizadas para obtener inhibición viral (García *et al.*, 2003).

CONCLUSIONES

En este estudio se evidenció la efectividad de los AE (*Illicium verum*, *Lippia origanoides* y *Rosmarinus officinalis*) en la inhibición del virus de Bronquitis Infecciosa Aviar, donde cualquiera de los tratamientos represento un factor protector para los embriones. El aceite de *Rosmarinus officinalis* utilizado a 100ppm mostró los mejores resultados.

FINANCIACIÓN

La investigación fue financiada en su totalidad por Promitec S.A.S, se hace un reconocimiento especial a Biora S.A. a por el acompañamiento en el desarrollo de metodología científica.

BIBLIOGRAFÍA

- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. . Biological effects of essential oils Food and Chemical Toxicology 2008; 46(2): 446–475. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
- Barbour EK., Yaghi RH, Jaber LS, Shaib HA, Harakeh S. Safety and antiviral activity of essential oil against Avian Influenza and Newcastle Disease viruses. International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine 2010; 8(1): 60-64
- Betancourt LL, Ariza NC, Diaz GG, Afanador TG. Efecto de diferentes niveles de aceites esenciales de Lippia origanoides kunth en pollos de engorde. Revista MVZ Córdoba 2012; 17(2): 3033-3040.
- Cavanagh D. Coronaviruses in poultry and other birds. Avian Pathology 2005; 34: 439–448. Doi: <http://dx.doi.org/10.1080/03079450500367682>.
- García C, Talarico L, Almeida N, Colombres S, Duschatzky C, Damonte E. Virucidal Activity of Essential Oils from Aromatic Plants of San Luis, Argentina. Phytotherapy research 2003; 17(9): 1073–1075. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.1305>.
- Hussain AI, Anwar F, Chathal SA, Jabbar I A, Mahboob S, Nigam PS. Rosmarinus officinalis essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. Brazilian Journal of Microbiology 2010; 41: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822010000400002>.
- Jackwood MW, Rosenbloom R, Petteruti M, Hilt DA, McCall AW, Williams SM. Avian coronavirus infectious bronchitis virus susceptibility to botanical oleoresins and essential oils in vitro and in vivo. Virus Research 2010; 149(1):86-94. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2010.01.006>
- Mohammadi A, Mosleh N, Shomali T, Ahmadi M, Sabetghadam S. In vitro evaluation of antiviral activity of essential oil from Zataria multiflora Boiss. against Newcastle disease virus. Journal of HerbMed Pharmacology 2015; 4(3):71-74.
- Portari M, Torres RP, Jose RP, Mancini-Filho J. Inhibition of DNA Virus: Herpes-1 (HSV-1) in cellular culture replication, through an antioxidant treatment extracted from rosemary spice. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 2009; 45(1): 128-133. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502009000100016>.
- Prabuseenivasan S., Jayakumar M, Ignacimuthu S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complementary and Alternative Medicine 2006; 6:39. Doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-6-39>.
- Schnitzler P, Schön K, Reichling J. Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. Pharmazie. 2001; 56(4):343-347.
- Schnitzler P, Schuhmachera A, Astania A, Reichling J. Melissa officinalis oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. Phytomedicine 2008; 15(9): 734–740.

- Senne DA, King DJ, Kapczynski DR. Control of Newcastle disease by vaccination. Journal of Developmental Biology. 2004; 119:165-170.
- Wu S, Patel KB, Booth LJ, Metcalf JP, Lin HK, Wu W. Protective essential oil attenuates influenza virus infection: an in vitro study in MDCK cells. BMC Complement Altern Med 2010; 10:69. Doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-10-69>.
- Yin J, Li G, Li J, Yang Q, Ren X. In vitro and in vivo effects of *Houttuynia cordata* on infectious bronchitis virus. Avian Pathology 2011; 40(5):491-8. <http://dx.doi.org/10.1080/03079457.2011.605107>.

REDVET: 2017, Vol. 18 N° 10

Este artículo Ref. 101703_REDVET (080817_bronquitis) está disponible en
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101017.html>
concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101017/101703.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.

Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET®- <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>