

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**“EVALUACIÓN DE TINTURAS DE MELISA (*Melissa officinalis*)
Y MENTA COREANA (*Agastache rugosa*) PARA EL
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE
NEWCASTLE EN POLLOS ESTIRPE
SHAVER BLANCO”**

ANGEL OMAR ESTRADA CARDONA

GUATEMALA, JULIO DE 2011

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**“EVALUACIÓN DE TINTURAS DE MELISA (*Melissa officinalis*)
Y MENTA COREANA (*Agastache rugosa*) PARA EL
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE
NEWCASTLE EN POLLOS ESTIRPE
SHAVER BLANCO”**

TESIS

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

ANGEL OMAR ESTRADA CARDONA

Al Conferírsele el Grado Académico de

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, JULIO DE 2011

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO: Med. Vet. Leonidas Ávila Palma
SECRETARIO: Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL I: Lic. Zoot. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II: Mag.Sc. Med. Vet. Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III: Med. Vet. y Zoot. Mario Antonio Motta González
VOCAL IV: Br. Javier Enrique Baeza Chajón
VOCAL V: Br. Ana Lucía Molina Hernández

ASESORES

Mag.Sc. Med. Vet. LUCRECIA E. MOTTA RODRÍGUEZ
Mag.Sc. Med. Vet. LUCERO SERRANO ARRIAZA
Lic. ARMANDO CÁCERES
Mag.Sc. Med. Vet. FEDERICO J. VILLATORO PAZ

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

**En cumplimiento con lo establecido por los estatutos de la
Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su
consideración el trabajo de tesis titulado:**

**“EVALUACIÓN DE TINTURAS DE MELISA (*Melissa officinalis*)
Y MENTA COREANA (*Agastache rugosa*) PARA EL
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE
NEWCASTLE EN POLLOS ESTIRPE
SHAVER BLANCO”**

**Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad
de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Como requisito previo a optar al título profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

TESIS QUE DEDICO

A DIOS: Por su amor, fidelidad, paciencia, misericordia y por regalarme una nueva vida llena de alegría, felicidad, amor e infinitas bendiciones.

A MIS PADRES: Angel Francisco Estrada Recinos y Mauricia Cardona de Estrada por su amor, cariño, bondad, paciencia, esfuerzo e inspiración en mi vida.

A MI FAMILIA: A mis hermanos, abuela, tíos, tías, a la familia Machado, familia La Guardia y familia García por darme su cariño, consejos y apoyo incondicional en todo lo realizado.

A MI NOVIA: Sofia Regina Machado Lemus por su amor, cariño, amistad, sinceridad, apoyo y por llenar cada día de mi vida de amor, alegría y felicidad.

A MIS AMIGOS: Ma. Renee La Guardia por ser mi amiga y mi hermana; David Granados, Robinson Monroy, Gigo Villagran y Carlos Tabora por darme sus consejos, apoyo en los buenos y malos momentos.

A DULLY: Por enseñarme que la vida da muchas sorpresas y es necesaria la paciencia para obtener un poco de amor.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala por haberme permitido realizar en ella mis estudios.

A todos los catedráticos de esta casa de estudios que me transmitieron sus conocimientos, algunos su amistad y grandes consejos.

A mis asesores Mag.Sc.. Lucrecia Motta, Mag.Sc.. Lucero Serrano, Lic. Armando Cáceres y Mag.Sc.. Federico Villatoro por su tiempo, apoyo, amabilidad, dedicación y paciencia invertida en esta investigación.

Al Centro de Investigación de Etnoveterinaria y Terapias Alternativas (CIETA), por brindarme las herramientas y facilidades.

Al personal del Laboratorio de Ornitopatología y Avicultura (LOA), en especial a la Med. Vet. Beatriz Santizo, Med. Vet. Francisco Escobar, Med. Vet. Mayra Motta, Diego, Nelson y doña Chusita, por su amistad, apoyo, consejos, paciencia y disposición a ayudarme a realizar esta investigación.

Al personal del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por su apoyo, paciencia y disposición a ayudarme a realizar las tinturas.

A todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron en la realización de este trabajo de graduación.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	HIPÓTESIS.....	2
III.	OBJETIVO.....	3
3.1	Objetivo general.....	3
3.2	Objetivos específicos.....	3
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
4.1	Enfermedad de Newcastle (ENC).....	4
4.1.1	Definición.....	4
4.1.2	Sinónimos.....	4
4.1.3	Etiología.....	4
4.1.4	Epizootiología.....	7
4.1.5	Período de Incubación.....	8
4.1.6	Signos Clínicos.....	9
4.1.7	Lesiones.....	10
4.1.8	Diagnóstico.....	11
4.1.9	Control y Prevención.....	13
4.2	Plantas con actividad antiviral.....	14
4.2.1	Melisa (<i>Melissa officinalis</i>).....	14
4.2.2	Menta coreana (<i>Agastache rugosa</i>).....	15
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
5.1	Área de trabajo.....	17
5.2	Recursos humanos.....	17
5.3	Recursos de tipo biológico.....	17
5.4	Materiales y equipo.....	17
5.5	Metodología.....	20
5.5.1	Colección y elaboración de tinturas.....	20
5.5.2	Activación de cepa de virus de campo Newcastle.....	21
5.5.3	Titulación de la suspensión viral (Método de Reed and Muench).....	21

5.5.4	Ensayo experimental.....	22
5.5.5	Análisis estadístico.....	23
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
6.1	Determinación de titulación de suspensión viral.....	24
6.2	Efectividad de tratamientos alternativos para reducir mortalidad.....	25
6.3	Eficacia de tinturas para disminuir signos.....	25
6.4	Eficacia de tinturas para disminuir lesiones.....	27
6.5	Eficacia de tinturas para disminuir niveles de anticuerpos.....	28
6.6	Relación costo - beneficio.....	29
6.7	Discusión.....	30
VII.	CONCLUSIONES.....	33
VIII.	RECOMENDACIONES.....	34
IX.	RESUMEN.....	35
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	37
XI.	ANEXOS.....	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No. 1.....	41
Tabla No. 2.....	45
Tabla No. 3.....	49

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, la avicultura es una de las actividades productivas de mayor crecimiento a nivel mundial; debido a esto, las aves son susceptibles a padecer diferentes enfermedades, siendo transmitidas con gran facilidad de un lugar a otro. La bioseguridad y los tratamientos específicos en la avicultura, son importantes para evitar la proliferación de las enfermedades dentro de la granja e impedir la salida de las mismas; reduciendo el riesgo de contagio y pérdidas económicas a nivel global (Alexander 2004).

La enfermedad de Newcastle, es una enfermedad vírica producida por un Paramixovirus que causa morbilidad y mortalidad alta, además provoca grandes pérdidas económicas para los grandes y pequeños productores avícolas; se caracteriza por afectar tanto a aves domésticas como silvestres, siendo las más afectadas las aves de corral (Capua y Alexander 2009). Es endémica en muchos países y se caracteriza por carecer de tratamiento. En Guatemala es una de las enfermedades que afecta a los productores avícolas de las áreas rurales, debido a la falta de programas sanitarios continuos y de un tratamiento específico.

La etnoveterinaria utiliza plantas medicinales para el tratamiento de diversas enfermedades, usadas en la prevención y tratamiento. *Melissa officinalis* y *Agastache rugosa* se les conoce por poseer propiedades antivirales (Parameswari 2009, Wang 2009). En el presente estudio, evalué la efectividad y eficacia de *Melissa officinalis* y *Agastache rugosa* para reducir el porcentaje de mortalidad, signos, lesiones y niveles de anticuerpos provocados por el virus de Newcastle; para generar información de las dos plantas medicinales para el tratamiento de la infección por el virus de Newcastle en pollos estirpe Shaver blanco.

II. HIPÓTESIS

Las tinturas de *Melissa officinalis* y *Agastache rugosa* disminuyen el porcentaje de mortalidad en pollos estirpe Shaver blanco experimentalmente inoculados con virus de Newcastle.

III. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL:

Generar información de dos plantas medicinales para el tratamiento de la infección por el virus de Newcastle en pollos estirpe Shaver blanco.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Establecer la efectividad del tratamiento con *Melissa officinalis* y *Agastache rugosa* para reducir el porcentaje de mortalidad producida por el virus de Newcastle.
- Determinar la eficacia del uso de las tinturas para disminuir los signos, lesiones y niveles de anticuerpos provocadas por el virus de Newcastle.
- Analizar la relación costo-beneficio del tratamiento de la enfermedad de Newcastle a base de plantas medicinales.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 ENFERMEDAD DE NEWCASTLE (ENC)

4.1.1 DEFINICIÓN:

Enfermedad viral aguda, de distribución mundial, producida por un *Paramixovirus* serotipo 1, capaz de causar gran variedad de signos desde leves a graves, afecta el tracto respiratorio, digestivo y/o sistema nervioso; llegando a provocar una morbilidad y mortalidad altas, y grandes pérdidas económicas.

(Acha 2003, Alexander 2004, Biester 1964, Capua 2009, CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2002, OIE 2009, Ramírez 2003)

4.1.2 SINÓNIMOS:

Neumoencefalitis Aviar, Pseudopeste Aviar, Paramixovirus 1, Moquillo Aviar, Enfermedad de Ranikhet, Plaga Aviar Coreana.

(Acha 2003, Biester 1964, Moreno 1994, Saif 2003)

4.1.3 ETIOLOGÍA:

4.1.3.1 Características:

Producida por un miembro de la familia Paramyxoviridae del género Avulavirus, integrado por 9 grupos serológicos distintos y con diferentes hospederos primarios, además el virus de la Parainfluenza y el virus de la Parotiditis humana. El serotipo Paramixovirus 1 (PMV-1) es el virus de la ENC se considera el prototipo del género, además se encuentran los serotipos Paramixovirus 2 (PMV-2) hasta el Paramixovirus 9 (PMV-9).

(Acha 2003, Alexander 1988, Alexander 2004, Capua 2009, CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2002, OIE 2009)

4.1.3.2 Propiedades físico químicas:

Causada por un virus ARN de cadena simple, no segmentado, de 15,186 nucleótidos, de polaridad negativa, protegido de una cápside de simetría helical y de envoltura lipoproteica con micrograffías electrónicas, donde se ubican los componentes antigénicos que le dan la especificidad serológica.

(Alexander 1988, Alexander 2004, Moreno 1994, Saif 2003)

La partícula viral mide 100-500 nm y su envoltura contiene 2 glicoproteínas y 7 polipéptidos. El peso molecular promedio es de 5×10^6 δ. El genoma viral esta formado por 6 proteínas: Proteína L (polimerasa ARN directa) asociada con la nucleocápside; HN responsable de la actividad de hemoaglutinación y neuraminidasa, forma la protección más larga en la superficie del Paramixovirus; F (proteína de fusión) responsable de la fusión celular y formación de policariocitos, forma la protección más corta de la superficie del Paramixovirus; NP (proteína nucleocápside); P (fosforilación) asociado a la nucleocápside, y M (matrix o membrana). El orden de las proteínas en el genoma viral es 3'N-P-M-F-NH-L5'.

(Alexander 1988, Moreno 1994, Saif 2003)

El virus de Newcastle presenta una Hemoaglutinina a nivel de las proyecciones de la envoltura, produce hemoaglutinación debido a que el virus se adsorbe a los receptores celulares del glóbulo rojo, con elusión subsiguiente, debido a la digestión enzimática del receptor celular por la neuraminidasa viral. Además contiene una hemolisina que le permite producir hemólisis en grado variable de los glóbulos rojos que hemoaglutina.

(Moreno 1994, Saif 2003)

4.1.3.3 Replicación Viral:

El virus al encontrar una célula se fija a los receptores celulares, por medio del polipéptido HN. La fusión del virus y la membrana celular trae la acción de la proteína F, lo que permite la entrada completa de la nucleocápside en la célula. La replicación viral intracelular se lleva a cabo completamente a nivel de citoplasma, porque el virus

ARN tiene sentido negativo. La polimerasa ARN directa puede producir transcripción de sentido positivo actuando como mensajero de ARN y así poder usar el mecanismo celular, para permitir la traducción en proteína y genomas virales. La proteína F es sintetizada como un precursor no funcional F0, el cual requiere división de F1 a F2 por las proteasas del huésped. El significado de esta división es lo que da lugar a la patogenicidad de cada cepa viral.

(Pattison 2008, Saif 2003)

4.1.3.4 Resistencia a los agentes físicos y químicos:

4.1.3.4.1 El calor es capaz de alterar las propiedades de infectividad, hemoaglutinación y antigenicidad del virus a una temperatura de 100 °C en un minuto y a 56 °C en 6 horas; mientras que a 37 °C se requieren de horas y aún de días para afectar las propiedades ya mencionadas.

4.1.3.4.2 La partícula viral es inactivada a pH ácido, y además es sensible a productos como el éter.

4.1.3.4.3 Las sustancias químicas como la formalina, betapropiolactona y el fenol son usados para destruir la infectividad del virus sin afectar su inmunogenicidad.

(Moreno 1994, OIE 2002)

4.1.3.5 Cepas del virus de Newcastle:

Son clasificadas de acuerdo a: Tiempo promedio que matan al embrión de pollo, índice de patogenicidad intracraneal e índice de patogenicidad intravenosa.

4.1.3.5.1 Cepas Velogénicas Viscerotrópicas (forma Doyle): Caracterizada por ser una infección aguda letal; cepas virulentas asociada con lesiones intestinales hemorrágicas.

4.1.3.5.2 Cepas Velogénicas Neurotrópicas (forma Beach): Caracterizada por una alta mortalidad; cepas virulentas capaces de causar signos respiratorios y nerviosos, sin provocar lesiones intestinales.

4.1.3.5.3 Cepas Mesogénicas (forma Beaudette): Son cepas moderadamente virulentas con baja mortalidad; con signos respiratorios y ocasionalmente nerviosos, siendo usadas ocasionalmente como cepas vacunales.

4.1.3.5.4 Cepas Lentogénicas (forma Hitchner): Son cepas casi avirulentas; con infecciones respiratorias leves o subclínicas, usadas como cepas vacunales como la cepa La Sota.

4.1.3.5.5 Cepa Entérica Asintomática: Consiste en una infección entérica subclínica.
(Acha 2003, Alexander 2004, CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2009, Pattison 2008, Saif 2003)

4.1.4 EPIZOOTIOLOGÍA:

4.1.4.1 Hospederos Susceptibles:

Enfermedad que afecta a una gran cantidad de aves tanto domésticas como silvestres, causando signos en algunas especies mientras que en otras el virus es asintomática; infecciones en seres humanos, aunque es poco frecuente presentándose sobre todo en obreros de mataderos de aves, personal de laboratorio y vacunadores que aplican vacunas con virus vivos. Los índices de mortalidad y morbilidad dependen de la especie afectada y cepa viral.

(Acha 2003, Alexander 2004, Biester 1964, Capua 2009, CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2002)

Las aves de corral más afectadas son los pollos y gallinas productoras de carne y huevo; siendo los pavos, gansos y patos los menos susceptibles. Entre los portadores asintomáticos de la ENC se encuentra los órdenes Columbiformes (palomas), endémicas a los virus lentogénicos y mesogénicos; Psittaciformes, algunas especies tienden a portar el virus velogénico; y Anseriformes (aves acuáticas).

(Capua 2009, CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2002)

4.1.4.2 Distribución Geográfica:

Enfermedad de distribución mundial, el virus velogénico es endémico en Asia, África, parte de México, América Central y del Sur. Aunque algunos países principalmente europeos han sido declarados libres con vacuna. Los únicos países sin presentar casos en su historia, según la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) son Guayana Francesa, Guyana, Nueva Caledonia, Samoa y Vanuatu.

(Acha 2003, Capua 2009, CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2002, Saif 2003)

4.1.4.3 Transmisión:

4.1.4.3.1 Transmisión Directa: Las aves excretan el virus en las heces, aire exhalado y secreciones respiratorias, se transmite por inhalación o ingestión de agua y comida contaminada (vía fecal-oral); aves evisceradas y equipo de trabajo. Las aves gallináceas eliminan el virus durante 1-2 semanas, mientras que las aves psitácidas durante meses o incluso más de un año.

(Capua 2009, CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2002, Pattison 2008, Saif 2003)

4.1.4.3.2 Transmisión Indirecta: Sucede mediante el contacto con galpones infectados, criadoras contaminadas, aves migratorias, mascotas, personal y vehículos no controlados sanitariamente, vestimentas humanas, etc.

(Acha 2003, Capua 2009, Moreno 1994, OIE 2002, Pattison 2008)

4.1.5 PERÍODO DE INCUBACIÓN:

El período de incubación en las aves de corral varía entre 2 a 15 días (promedio de 5-6) dependiendo de la virulencia de la cepa, susceptibilidad del huésped, edad, estado inmunológico, infección de otros organismos y condición ambiental.

(Capua 2009, Biester 1964, CFSPH 2009, Moreno 1994, Saif 2003)

4.1.6 SIGNOS CLÍNICOS:

Dependen de la patogenicidad de la cepa del virus y susceptibilidad del hospedero; la cepa viral puede afectar uno o varios sistemas, de esta forma los signos son muy variados; estando las aves letárgicas, inapetentes, plumas erizadas, edema conjuntival (síntoma temprano de la enfermedad), edema de la cabeza y/o cuello. Afectando:

(Acha 2003, Alexander 2004, Capua 2009, CFSPH 2009, Ramírez 2003, Saif 2003)

4.1.6.1 Sistema respiratorio:

Estertores audibles sobre todo en la noche, descarga muconasal, cianosis.

(Biester 1964, Capua 2009, CFSPH 2009, Moreno 1994, Saif 2003)

4.1.6.2 Sistema digestivo:

Diarrea verde acuosa en aves que no mueren temprano por la infección, disminución en la producción de huevos, huevos fárfaros o deformes (huevos de color anormal, ásperos, cáscara delgada y/o albúmina acuosa).

(Acha 2003, Biester 1964, Capua 2009, CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2002, Pattison 2008, Saif 2003)

4.1.6.3 Sistema nervioso:

Los signos se presentan al final de la enfermedad, algunos días después de iniciarse los signos respiratorios. Consisten en decaimiento, temores musculares, espasmos clónicos, paresia o parálisis de las alas y/o patas, opistótonos, tortícolis, deambulación en círculos y muerte.

(Acha 2003, Biester 1964, Capua 2009, Moreno 1994, OIE 2002, Pattison 2008, Saif 2003)

La morbilidad de la enfermedad puede alcanzar el 100%, con una mortalidad de 30 a 90 % dependiendo de la presencia de anticuerpos vacunales, de lo contrario la mortalidad puede ser de 100%.

(Biester 1964, Capua 2009, CFSPH 2009)

Las aves que sobreviven las dos primeras semanas de la enfermedad pueden presentar trastornos neurológicos o disminución permanente en la producción de huevos.

(CFSPH 2009)

Curso clínico de infección de gallinas (*Gallus gallus*) con
Paramyxovirus aviar tipo 1

	Velogénica		Mesogénico	Lentogénico	Enterica Asintomática
	Viscerotrópico	Neurotrópico			
Diarrea	+++	-	-	-	-
Dificultades respiratorias	-	+++	++	(+)	-
Signos SNC	(++)	+++	(++)	-	-
Descenso en producción de huevos	+++	+++	++	(+)	-
Morbilidad	+++	+++	++	(+)	-
Mortalidad	+++	++	+	(+)	-

Severidad de los signos observados: +++ severo, ++ intermedio, + leve, () signos clínicos solamente en casos comprometidos o aves jóvenes.

(Capua 2009)

4.1.7 LESIONES:

4.1.7.1 Lesiones Macroscópicas:

No produce lesiones macroscópicas patognomónicas, sin embargo, se presenta edema de la cabeza o región periorbital, edema del tejido intersticial del cuello a nivel de la entrada torácica, congestión o hemorragias en la faringe caudal, mucosa traqueal y pulmones; petequias y pequeñas equimosis en mucosa del proventrículo, cerca de la base de las papilas y concentradas alrededor del orificio anterior y posterior; hemorragias, úlceras, edema y/o necrosis en amígdalas cecales y tejidos

linfáticos de la pared intestinal (incluyendo las placas de Peyer); hemorragias en timo y bursa; esplenomegalia, bazo friable y de color rojo oscuro o moteado; necrosis pancreática, edema pulmonar; ovarios hemorrágicos, edematosos o degenerativos, y ruptura de yemas en cavidad abdominal.

(Acha 2003, Capua 2009, CFSPH 2009, OIE 2002, Pattison 2008, Ramírez 2003, Saif 2003)

4.1.7.2 Lesiones Microscópicas:

Las lesiones microscópicas causadas por la ENC:

4.1.7.2.1 Bazo e hígado: Hiperemia, hemorragias, degeneración hidrópica, hialinización de capilares y arteriolas, trombosis en capilares, necrosis en células endoteliales y necrosis focal en hígado.

4.1.7.2.2 Aparato respiratorio: Congestión, edema e infiltración abundante de células linfoides a nivel del epitelio de la mucosa traqueal, infiltración de abundantes fagocitos en lumen traqueal, engrosamiento y opacidad en membrana de sacos aéreos.

4.1.7.2.3 Sistema nervioso central: Degeneración neuronal, infiltración perivascular de linfocitos e hipertrofia de células endoteliales principalmente en médula, cerebro medio, cerebelo y tronco cerebral.

4.1.7.2.4 Aparato digestivo: Lesiones necróticas y hemorrágicas en mucosa intestinal y proventrículo.

4.1.7.2.5 Sistema reproductor: Atresia de folículos con infiltración de células inflamatorias y formación de agregados linfoides.

(Alexander 2004, Moreno 1994, Pattison 2008, Saif 2003)

4.1.8 DIAGNÓSTICO:

4.1.8.1 Clínico:

La ENC debe ser considerada en caso de existir altas tasas de morbilidad y mortalidad en las parvadas, y muertes inesperadas. Por no existir lesiones patognomónicas, tomar en cuenta signos y lesiones indicativas de la enfermedad.

(CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2002)

4.1.8.2 De laboratorio:

4.1.8.2.1 Identificación del agente: Inoculación de embriones de pollo de 9-11 días de edad: Se examina la actividad de hemoaglutinación del líquido corioalantoideo, y el agente que hemoaglutina es sometido a la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (HI).

(Capua 2009, CFSPH 2009, OIE 2002)

4.1.8.2.2 Evaluación de la patogenicidad:

- Tiempo medio de muerte (TMM) en embriones de pollo: Las cepas velogénicas tiene un TMM menos de 60 horas, las cepas mesogénicas de 60 a 90 horas y las cepas lentogénicas superior a las 90 horas.
- Índice de patogenicidad intracraneal (IPIC) en pollitos de 1-3 días: Se miden por un sistema de puntuación que evalúa la enfermedad o la muerte de los pollos, con valores rangos de 0 a 2.0, el más virulento se aproxima a 2.0 y las cepas lentogénicas están cerca de 0.0.
- Índice de patogenicidad intravenosa (IPIV) en pollos de 6 semanas de edad: Se mide por un sistema de puntuación que evalúa la enfermedad o la muerte de los pollos, con valores rangos de 0 a 3.0, el más virulento se aproxima a 3.0, mientras que las cepas lentogénicas y algunas mesogénicas tienen valores de 0. Algunos virus pueden producir enfermedad grave con un IPIV de valor cero, por lo que es preferido la prueba IPIC.

(Capua 2009, CFSPH 2009, OIE 2002, Saif 2003)

4.1.8.2.3 Pruebas serológicas: ELISA, Prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación, Prueba de Neutralización del virus (NV) y PCR.

(Capua 2009, CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2002, OIE 2009, Pattison 2008)

4.1.8.3 Diagnóstico diferencial:

Cólera aviar, influenza aviar altamente patógena, laringotraqueitis, forma diftérica de la viruela aviar, psitacosis o clamidiosis en aves psittacidas, micoplasmosis, bronquitis infecciosa, aspergilosis, problemas de manejo tales como privación de

agua o alimento y mala ventilación. En mascotas tomar en cuenta psitacosis, enfermedad de pacheco, salmonelosis, adenovirus y deficiencias nutricionales.

(Capua 2009, CFSPH 2009, OIE 2002)

4.1.9 CONTROL Y PREVENCIÓN:

La higiene es uno de los puntos más importantes para la prevención y control de la ENC en relación con la inmunización; siendo la bioseguridad de gran ayuda para prevenir la infección de las parvadas. Las parvadas no deben de estar en contacto con aves domésticas con estado de salud desconocido y aves migratorias para evitar el contacto con comederos, bebederos y alimento. Control de plagas como insectos y roedores. Realizar adecuadas medidas de desinfección a todo vehículo y personal al momento de ingresar y egresar de la granja. Los empleados se deben de duchar y cambiar de ropa exclusiva de trabajo. Destrucción de las aves infectadas y expuestas a la infección, así como aves muertas a través de fosas o incineración. Aconsejable la cría de todo dentro / todo fuera, con desinfección entre grupos de 21 días.

(Biester 1964, CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2002, Pattison 2008, Saif 2003)

La vacunación se debe de realizar para reducir las grandes pérdidas económicas, esto se logra mediante la administración de cepas activas La Sota y Hitchner B1 a través de agua de bebida, aspersion, vía intranasal o intraocular, logrando sus máximos niveles de anticuerpos a los 13-15 días. La vacunación protege a las aves de los signos clínicos, pero no necesariamente de la replicación y eliminación del virus. Los pollos sanos son vacunados entre 1 a 4 días de edad. Los programas de vacunación dependen de cada granja en particular, tomando en cuenta la prevalencia e incidencia de la enfermedad, localización de la granja, medidas de bioseguridad, anticuerpos maternos dependiendo de la línea genética, y desafío de campo.

(Acha 2003, Biester 1964, CFSPH 2009, Moreno 1994, OIE 2002, OIE 2009)

4.2 PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL

4.2.1 MELISA (*Melissa officinalis*):

4.2.1.1 Sinónimos:

Cedrón, Citronela, Hierba Luisa, Toronjil

(Cáceres 2006)

4.2.1.2 Descripción:

Planta perenne. Hojas opuestas, ovalas o trianguladas. Flores de corola blanca en grupos de 3-6 en un péndulo en las axilas de las hojas. Crece en clima templado en alturas hasta 1000 msnm, necesitando suelos profundos y bien drenados.

(Cáceres 2006)

4.2.1.3 Farmacología:

El extracto acuoso de las hojas es usado contra bacterias y virus de Newcastle, paperas y herpes 2 con inhibición del efecto citopático en cultivo de células epiteliales humanas, actividad antihistamínica, espasmolítica, citostático, antioxidante. En SNC demuestra actividad sedante, hipnótica, efecto analgésico periférico. El extracto exhibe propiedad hipolipidémica y hepatoprotector. Los extractos acuosos y alcohólicos presentan actividad antiviral (influenza, mixovirus) e insecticidas. El extracto etanólico es inactivo para HSV-1 en cultivo de células Vero.

(Cáceres 2006)

4.2.1.4 Composición química y principios activos:

Las hojas y flores contienen 10-12% de elementos minerales, taninos catéquicos, ácidos fenólicos (cafeino, clorogénico, rosmarínico), flavonoides (luteolina, rhamanzina), sesquiterpenos (β -cariofileno, germacreno-D), principios amargos, mucílagos urónicos, resina y aceite esencial que contiene terpenos (pineno, limoneno, cariofileno), alcoholes (geraniol, linalool, acetato de geranilo) y en mayor cantidad aldehídos [citral (20-30%), citronelal (30-40%), metilcitronelal].

(Cáceres 2006)

4.2.1.5 Estudios Antivirales:

Los extractos acuosos de las hojas de *M. officinalis* inhiben la replicación *in vitro* del Virus Herpes Simple tipo 2 e Influenza Virus A2; los taninos del extracto acuoso inhiben la hemoaglutinación inducida por el virus de Newcastle y virus de la papera. El extracto de *M. officinalis* inhibe la replicación del Herpes Virus Simple Tipo 2 *in vitro*, debido al citral y citronelal responsables de inhibir la síntesis proteica en las células. El extracto y aceites esenciales presentan actividad inhibitoria contra Herpes Virus Simple tipo 1 y 2 *in vitro*, afectando al virus antes de la adsorción pero no después de la penetración.

(Allahverdiyev 2004, Parameswari 2009, Schnitzler 2008)

4.2.2 MENTA COREANA (*Agastache rugosa*):

4.2.2.1 Sinónimos:

Agastache

(Cáceres 2006)

4.2.2.2 Descripción:

Hierba anual que puede comportarse como semiperenne de 1.5 m de altura. Hojas opuestas, pecioladas, base truncada o cordada, puntas agudas y crenadas. Flores púrpura. Crece en terrenos de clima templado, de altura media, adaptándose fácilmente en el Altiplano central.

(Cáceres 2006)

4.2.2.3 Farmacología:

El extracto alcohólico tiene actividad antitumoral, citotóxica y antiviral en modelos animales. El extracto acuoso ha demostrado *in vitro* ser útil en el tratamiento de lesiones celulares inducidas por procesos oxidativos (peroxidación). La infusión de hojas al 10% tiene actividad espasmolítica mediada por receptores muscarínicos y una importante actividad espasmolítica mediada por receptores musculotrópicos (DE50 479mg).

(Cáceres 2006)

4.2.2.4 Composición química y principios activos:

El tamizaje fotoquímico de las hojas y flores presenta alcaloides, esteroides insaturados, flavonoides (chalconas, acacetina, derivados de luteolina, apigenina y diosmetina), antraquinonas, cardenólidos y aceite esencial compuesto de cerca de 30 constituyentes, los prioritarios son: metilchavicol (91%), óxido de cariofileno, espatulenol, anilsaldehído, dihidroactinidiolido, 4-metoxicinamaldehído. El aceite esencial se obtiene de las hojas y flores secas por arrastre de vapor o hidroestilación; las inflorescencias producen 2-6 veces más aceite volátil por gramo que las hojas; de varias especies del género, *A. rugosa* es la que produce más aceite, pero es la que tiene menor diversidad en su composición.

(Cáceres 2006)

4.2.2.5 Estudios Antivirales:

4-metoxicinamaldehído provoca inhibición del efecto citopático del Virus Respiratorio Sincitial Humano (VRS) por interferencia de adhesión vírica en estudio *in vitro*. El extracto acuoso metanólico de las raíces de *Agastache rugosa* exhiben actividad antiviral contra el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) *in vitro*. Inhibe la infección por poliovirus, por flavonoide que provoca tumefacción y trastornos específicos en el complejo de Golgi.

(Kim 1999, Sandoval 1997, Wang 2009)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 AREA DE TRABAJO

- Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC)
- Laboratorio de Ornitopatología y Avicultura (LOA), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USAC.

5.2 RECURSOS HUMANOS

- 1 Estudiante investigador
- 4 Asesores
- Químicos Biólogos del Laboratorio LIPRONAT
- Médicos Veterinarios y Técnicos del Laboratorio LOA

5.3 RECURSOS DE TIPO BIOLÓGICO

- 56 Embriones de pollo 11 días de edad
- 36 Pollos estirpe Shaver blanco seronegativos al virus de NC
- Cepa de virus de campo Newcastle
- Glóbulos rojos lavados de pollo al 5%
- Tintura de Melisa (*Melissa officinalis*) al 10% en etanol al 50%
- Tintura de Menta coreana (*Agastache rugosa*) al 10% en etanol al 70%

5.4 MATERIALES Y EQUIPO

5.4.1 MATERIALES:

- 3 quintales de concentrado Iniciación Polla Aliansa®
- Algodón
- Anti-Stress Fórmula®
- Baja lenguas
- Bandejas

- Bata blanca de laboratorio
- Bebedero de campana
- Bolsas plásticas
- Cámara fotográfica
- Comedero de bandeja
- Comedero tubular de 45 cm. de diámetro
- Desinfectantes (Alcohol etílico 70%, Cloro, Virkon®S, Formol 90%)
- Esmalte de uñas
- Focos de 40 W
- Frasco lavador
- Guantes de látex
- Jeringas y agujas desechables
- Lanceta
- Marcador, lapicero, lápiz
- Masking tape
- Palillos de madera
- Papel filtro
- Papel periódico
- Placas de poliestireno fondo en “v” de 96 pocillos
- Rodete de cartón
- Tijera de disección
- Tiras de papel filtro Whatman No.40
- Viruta

5.4.2 REACTIVOS:

- Solución PBS
- Solución salina isotónica
- Solventes: Agua desmineralizada, etanol al 50%, 70% y 95%.

5.4.3 EQUIPO:

- Agitador
- Balanza
- Balanza analítica
- Balanza de humedad
- Bandejas de aluminio
- Cámara de desafío
- Campanas de flujo laminar
- Desecador
- Equipo de percolación de acero inoxidable
- Estufa eléctrica
- Gradillas
- Horno de secado a 40° y 105° C
- Incubadora a 37° C
- Micropipeta multicanal
- Ovoscopio
- Pinzas de disección con dientes
- Pipetas
- Probetas
- Refrigeradora a 5° C
- Rotador
- Soporte de metal
- Tijeras mayo con punta
- Tijeras metzembaum

5.4.4 CRISTALERÍA:

- Beakers
- Crisoles de porcelana
- Erlenmeyers
- Frascos de vidrio color ámbar de 1000 ml

- Placa de vidrio
- Tubos con tapón de rosca de 10 ml
- Viales

5.5 METODOLOGÍA

5.5.1 COLECCIÓN Y ELABORACIÓN DE TINTURAS:

Obtuve comercialmente el material vegetal para la elaboración de las tinturas de *Melissa officinalis* y *Agastache rugosa* en el Laboratorio QUINFICA, S.A. y en el Laboratorio FARMAYA, S.A. respectivamente. Sequé el material vegetal de cada planta medicinal en hornos de secado y realicé la prueba de mejor solvente siguiendo los criterios descritos por Kuklinski (2000).

Elaboré las tinturas de *Melissa officinalis* al 10% en etanol al 50% y *Agastache rugosa* al 10% en etanol al 70% por el proceso de percolación, colocando 250 gr de material vegetal en un percolador y agregando 2.5 L de etanol a concentración respectiva; dejando reposar por 48 horas. Obtuve 1.8 L de tintura de cada planta, recolectando está en frascos de vidrio color ámbar y almacenando los frascos en refrigeración a 5° C según el procedimiento descrito por Kuklinski (2000) y Sharapin (2000), realizado en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

(Gaitán 2005, Solís 2003)

La evaluación de la efectividad y eficacia de las tinturas de *Melissa officinalis* y *Agastache rugosa* las llevé a cabo en el Laboratorio de Ornitopatología y Avicultura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Los siguientes procedimientos descritos en este estudio fueron realizados en las instalaciones de dicho laboratorio.

5.5.2 ACTIVACIÓN DE CEPA DE VIRUS DE CAMPO NEWCASTLE:

Realicé inoculaciones en huevos embrionados de pollos de 11 días de edad previó al ingreso de los pollos Shaver blanco a la cámara de desafío, según la

técnica descrita en Manual de Patólogos Aviares (American Association of Avian Pathologists 2008). Previó a inocular, observé la viabilidad mediante un ovoscopio, e identifiqué el sitio de inoculación (cámara de aire). Desinfecté y perforé la cáscara del huevo por medio de una lanceta a 3 mm arriba de la cámara de aire; mediante una jeringa inoculé 0.1 ml del inóculo (cepa Newcastle) en un ángulo de 45°. Sellé el agujero con esmalte, y coloqué los embriones en la incubadora a 37° C durante 5 días.

Colecté el líquido alantoideo de los huevos embrionados por aspiración con el uso de una jeringa y aguja, depositando 0.03 ml del líquido alantoideo en una placa de vidrio y le agregue 0.03 ml de glóbulos rojos al 5%. Esto lo mezclé con un palillo de madera para obtener una reacción positiva a aglutinación.

El líquido alantoideo positivo a aglutinación lo sometí a la prueba de Hemoaglutinación (HA) con una antisuero de Newcastle según la técnica descrita en la OIE (2009), obteniendo en las tres activaciones y titulaciones de la cepa viral de Newcastle un título de 2^{10} (1,024 Log²). La OIE (2009) establece que todo líquido alantoideo infectivo y fresco debe poseer un título HA $> 2^4$ (16 Log²) diluido 1/10 en solución salina isotónica sin aditivos, durante la investigación el líquido alantoideo infectivo fue inoculado fresco, sin dilución y aditivos.

5.5.3 TITULACIÓN DE LA SUSPENSIÓN VIRAL (MÉTODO DE REED AND MUENCH):

Realicé diluciones seriadas con base 10 del inóculo de la cepa viral de Newcastle activa. Efectué 5 repeticiones por cada dilución, inoculando los embriones de pollo como se mencionó anteriormente. A los 5 días post inoculación obtuve los resultados con base aglutinación positiva o negativa a través de pruebas de HA en una placa de vidrio. Usé el método matemático Reed and Muench para determinar la DI₅₀ (Dosis Infectiva), cuyo resultado indica el número de unidades infecciosas por unidad de volumen, usualmente 1 ml; descrita por American Association of Avian Pathologists (2008):

$$DP = \frac{(\% \text{ de infectados en la dilución siguiente por encima de } 50\%) - 50\%}{(\% \text{ de infectados en la dilución siguiente por encima de } 50\%) - (\% \text{ de infectados en la dilución siguiente por debajo de } 50\%)}$$

5.5.4 ENSAYO EXPERIMENTAL:

Usé pollos estirpe Shaver blanco de 22 días de edad seronegativos al virus de NC, los cuales fueron criados en condiciones adecuadas de bioseguridad, manejo y alimentación. Realicé tres grupos de 12 individuos cada uno, siendo grupo uno (Control), grupo dos (Tratados con tintura de *Melissa officinalis*), grupo tres (Tratados con tintura de *Agastache rugosa*), fueron colocados en la cámara de desafío en tiempos diferentes. En los tres grupos se mantuvieron las mismas condiciones ambientales y de manejo, para no interferir y provocar alteración de los resultados.

Inicialmente realicé exámenes serológicos a cada individuo obteniendo la muestra de sangre mediante tiras de papel filtro, para determinar los niveles de anticuerpos circulantes a través de la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (HI), según la técnica descrita en la OIE (2009).

Al ingresar a la cámara de desafío, los pollos estirpe Shaver blanco de cada grupo fue inoculado vía ocular con 0.03 ml de la cepa viral de Newcastle. Se estableció en el grupo control, el día para administrar el tratamiento de las tinturas en los siguiente grupos con base a signos clínicos característicos de la ENC.

Administré las tinturas de *Melissa officinalis* al 10% en etanol al 50% y *Agastache rugosa* al 10% en etanol al 70% como agua de bebida a una dilución de 1:5 (Cáceres, 2006). Las tinturas se administraron desde el sexto día post inoculación hasta los 36 días de edad; evalué los signos y mortalidad diariamente en los tres grupos experimentales, durante su permanencia en la cámara de desafío.

Sacrifiqué a los 12 individuos de cada grupo 15 días post inoculación, previo al sacrificio realicé toma de muestras sanguíneas de cada individuo mediante el uso de

tiras de papel filtro, para determinar los niveles de anticuerpos circulantes mediante la prueba HI, según la técnica descrita en la OIE (2009). Realicé las necropsias en los tres grupos experimentales, con la finalidad de evaluar las lesiones provocadas por el virus de Newcastle en cada grupo y determinar la efectividad y eficacia del uso de las dos tinturas medicinales en sus respectivos grupos.

5.5.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Determiné si el porcentaje de mortalidad, signos, lesiones y niveles de anticuerpos depende del tratamiento, por medio de la Prueba G de Heterogeneidad con un alfa del 5% y Prueba de t con un alfa del 5% descrita por Sokal y Rohlf (2000).

Analicé la relación costo-beneficio del tratamiento de la ENC a base de plantas medicinales con un tratamiento paliativo, que incluye antibióticos más utilizados en el mercado, multivitamínicos, costos de programas de vacunación y pérdidas económicas por mortalidad de aves, por medio de la Prueba de t con un alfa del 5%.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 DETERMINACIÓN DE TITULACIÓN DE SUSPENSIÓN VIRAL

Determiné la titulación de la cepa viral de Newcastle activa mediante el Método de Reed and Muench con base a aglutinación positiva y negativa, realizando cinco repeticiones por diluciones seriadas en embriones de pollo de 11 días de edad (Tabla No.1).

Tabla No.1. Determinación de titulación de suspensión viral (Método Reed and Muench)

Inoculación de la dilución viral	Embriones		Acumulación de números		Proporción Aglutinación/ Total	% de aglutinación
	Aglutinación (+)	Aglutinación (-)	Aglutinación (+)	Aglutinación (-)		
10^{-3}	5	0	23	0	23/23	100
10^{-4}	5	0	18	0	18/18	100
10^{-5}	4	1	13	1	13/14	93
10^{-6}	4	1	9	2	9/11	82
10^{-7}	3	2	5	4	5/9	56
10^{-8}	2	3	2	7	2/9	22

Fuente: datos experimentales

$$DP = \frac{(\% \text{ de infectados en la dilución siguiente por encima de } 50\%) - 50\%}{(\% \text{ de infectados en la dilución siguiente por encima de } 50\%) - (\% \text{ de infectados en la dilución siguiente por debajo de } 50\%)}$$

$$DP = \frac{56 - 50}{56 - 22} = \frac{6}{34} = 0.18$$

Log de punto final 50%

$$\begin{aligned} &= (\text{Log dilución arriba de } 50\%) - (DP \times \text{log factor de dilución}) \\ &= -7 - (0.2 \times 1.0) = -7.2 \end{aligned}$$

Por cada 0.1 ml del inóculo, la titulación cepa viral de Newcastle es de $10^{8.2}$.

6.2 EFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS PARA REDUCIR MORTALIDAD

Se evaluó diariamente la mortalidad de los individuos en cada uno de los grupos, durante su proceso de infección en la cámara de desafío (Tabla No.2) y (Anexo: Tabla No. 1, 2 y 3).

Tabla No. 2. Efectividad de tratamientos alternativos para reducir mortalidad de Newcastle por infección experimental

Grupo	Mortalidad	
	Vivos*	Muertos*
Grupo 1: Control	12	0
Grupo 2: Tratado con Melisa	12	0
Grupo 3: Tratado con Menta	12	0

Fuente: datos experimentales

* = Número de aves

Los individuos de los grupos uno, dos y tres infectados experimentalmente con virus de Newcastle, no presentaron mortalidad durante su permanencia de 15 días en la cámara de desafío. Estadísticamente, según Prueba G de Heterogeneidad ($G_H < X^2_{0.05}$) no existe diferencia significativa entre el grupo control y los grupos tratados con plantas medicinales.

6.3 EFICACIA DE TINTURAS PARA DISMINUIR SIGNOS

Se estableció en el grupo uno, el sexto día para iniciar el tratamiento de las tinturas en los grupo dos y tres; con base a la diarrea verde acuosa, signo clínico característico de la ENC (Capua 2009); evaluándose los signos clínicos diariamente en los individuos de los tres grupos infectados experimentalmente con virus de Newcastle (Tabla No.3) y (Anexo: Tabla No. 1, 2 y 3).

Tabla No. 3. Eficacia de tinturas para disminuir signos clínicos de Newcastle por infección experimental

Grupo	Signos	
	Positivos*	Negativos*
Grupo 1: Control	12	0
Grupo 2: Tratado con Melisa	7	5
Grupo 3: Tratado con Menta	6	6

Fuente: datos experimentales

* = Número de aves

Todos los pollos del grupo uno presentaron signos clínicos de la ENC. Los pollos del grupo dos mostraron sintomatología más leve que el grupo uno, mientras que el grupo tres se observó una disminución en los signos clínicos en comparación a los otros grupos. Según Prueba G de Heterogeneidad ($G_H < X^2_{0.05}$), no existe diferencia significativa en la presencia de signos clínicos en los tres grupos.

Se comparó los signos clínicos presentes en los individuos de los tres grupos experimentalmente infectados con la ENC (Tabla No.4).

Tabla No.4. Comparación de los signos clínicos en los tres grupos experimentalmente infectados con ENC

Grupo	Signos clínicos					
	Diarrea verde acuosa	Estertores	Ojos almen-drados	Empas-tamiento de cloaca	Postra-ción	Boqueo
Grupo 1: Control	+++	+++	++	+	-	-
Grupo 2: Tratado con Melisa	++	++	++	-	++	++
Grupo 3: Tratado con Menta	+	++	+++	+	+	++

(+++) = Grave presencia de signos clínicos

(++) = Moderada presencia de signos clínicos

(+) = Leve presencia de signos clínicos

(-) = Ausencia de signos clínicos

Fuente: datos experimentales

El grupo uno presentó mayor gravedad en los signos digestivos y respiratorios, sin observarse postración y boqueo, mientras que en el grupo dos los signos fueron moderados siendo negativo al empastamiento de cloaca y grupo tres presentó signos de forma moderada y leve, a excepción de los ojos almendrados presentes en los pollos.

6.4 EFICACIA DE TINTURAS PARA DISMINUIR LESIONES

Se evaluó la eficacia de *M. officinalis* y *A. rugosa* como agua de bebida para disminuir las lesiones de ENC en pollos experimentalmente infectados durante un período de 15 días (Tabla No.5) y (Anexo: Tabla No. 1, 2 y 3).

Tabla No.5. Eficacia de tinturas para disminuir lesiones en pollos experimentalmente infectadas con ENC

Grupo	Lesiones	
	Negativos*	Positivos*
Grupo 1: Control	0	12
Grupo 2: Tratado con Melisa	0	12
Grupo 3: Tratado con Menta	0	12

Fuente: datos experimentales

* = Número de aves

Los individuos de los grupos uno, dos y tres infectados experimentalmente con la ENC, presentaron lesiones características de la enfermedad. Estadísticamente, según Prueba G de Heterogeneidad ($G_H < X^2_{0.05}$) no existe diferencia significativa entre el grupo control y los grupos tratados mediante plantas medicinales con respecto a la presencia de lesiones.

Se comparó las lesiones encontradas a la necropsia en los pollos de los grupos uno, dos y tres experimentalmente infectados con el virus de Newcastle (Tabla No.6).

Tabla No.6. Comparación de las lesiones en los tres grupos experimentalmente infectados con ENC.

Grupo	Lesiones								
	Hemorragias en grasa exterior del proventrículo	Enteritis	Hemorragias en primera porción del duodeno	Placas de Peyer activadas	Hemorragias en páncreas	Hemorragias en tónsilas cecales	Hidropericardio	Edema alrededor de la tráquea	Moco en el inicio de la tráquea
Grupo 1: Control	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Grupo 2: Tratado con Melisa	-	-	+	-	+	+	+	-	-
Grupo 3: Tratado con Menta	-	-	+	-	+	+	+	+	+

(+) = Presencia de lesiones

(-) = Ausencia de lesiones

Fuente: datos experimentales

El grupo uno presentó la mayoría de las lesiones reportadas en la literatura a excepción del moco en el inicio y edema alrededor de la tráquea, el grupo dos y tres mostraron lesiones hemorrágicas en la primera porción del duodeno, hemorragias en páncreas y tónsilas cecales e hidropericardio, además el grupo tres presentó moco en el inicio y edema alrededor de la tráquea.

6.5 EFICACIA DE TINTURAS PARA DISMINUIR NIVELES DE ANTICUERPOS

Antes de infectar a los pollos con el virus de Newcastle, realicé pruebas serológicas a cada uno de los individuos mediante la prueba de HI para determinar los niveles de anticuerpos circulantes, ya que los pollos fueron criados en aislamiento; los resultados fueron de 0 Log² contra la ENC por lo que se prosiguió a inocular con la cepa viral de Newcastle. Previó al sacrificio de los individuos de los tres grupos se tomaron muestras serológicas a cada uno para determinar los niveles

de anticuerpos mediante la prueba HI, según la técnica descrita en la OIE (Tabla No.7) y (Anexo: Tabla No. 1, 2 y 3).

Tabla No.7. Eficacia de tinturas para disminuir niveles de anticuerpos de pollos experimentalmente infectadas

Grupo	Títulos Promedios Log ²	
	Pre inoculación	Pre sacrificio
Grupo 1: Control	0	5.9
Grupo 2: Tratado con Melisa	0	0
Grupo 3: Tratado con Menta	0	3.8

Fuente: datos experimentales

Los individuos del grupo uno y tres infectados experimentalmente presentaron anticuerpos positivos contra la ENC, mientras los pollos del grupo dos no presentaron anticuerpos. Estadísticamente, existe diferencia significativa entre el grupo control y grupo tratado con Melisa según Prueba t de Student ($t < X^2_{0.05}$).

6.6 RELACIÓN COSTO - BENEFICIO

Se analizó la relación costo - beneficio de tratamientos paliativos, que incluye antibióticos más utilizados en el mercado, multivitamínicos, costos de programas de vacunación y pérdidas económicas por mortalidad de pollos y tratamientos alternativos a base de plantas medicinales para ser usados en 12 pollos infectados experimentalmente con la ENC; usando la Prueba de t de Student (Tabla No.8).

Tabla No.8. Relación costo – beneficio de los tratamientos paliativos y tratamientos alternativos contra Newcastle para 12 pollos

	Tratamientos Paliativos Precios Quetzales	Tratamientos Alternativos Precios Quetzales
Antibióticos	173	0
Multi-vitamínicos	32	0
Programas de Vacunación	210	0
Muerte del 90% aves a un precio de Q50.00	540	540
Planta medicinal	0	177
Alcohol etílico al 95%	0	64

Fuente: datos experimentales

Según Prueba de t de Student ($t > X^2_{0.05}$), no existe diferencia significativa en la relación costo – beneficio entre los tratamientos paliativos y tratamientos alternativos.

6.7 DISCUSIÓN

La importancia del presente estudio radica en la falta de tratamientos paliativos eficaces y efectivos para tratar enfermedades virales aviares, como la enfermedad de Newcastle, por lo que es necesario hacer uso de las plantas medicinales que proporcionan tratamientos alternativos, económicos, efectivos y eficaces para diversas enfermedades. Debido a la frecuencia de la enfermedad de Newcastle, falta de tratamientos específicos y altos costos de tratamientos paliativos en granjas avícolas, aves de traspatio y recintos de aves exóticas; es necesario realizar estudios que validen la aplicación de la etnoveterinaria como alternativa terapéutica en el sector avícola.

Las plantas medicinales utilizadas se seleccionaron debido a sus propiedades antivirales *in vitro* contra miembros de la familia Paramyxoviridae descritas por Parameswari (2009) y Wang (2009).

Los mismos signos clínicos se presentaron en el grupo control, como en los dos grupos con tratamientos alternativos, sin tener estos la capacidad de disminuir los signos en pollos infectados experimentalmente con la ENC. La postración y boqueo en el grupo dos y tres se debe a la concentración de alcohol etílico 50% y 70% respectivamente para cada tratamiento, ya que el grupo control no presentó estos signos.

Las lesiones descritas por Capua (2009) y Samour (2010) se presentaron en los tres grupos infectados experimentalmente, sin mostrar disminuciones en los individuos de los diferentes grupos.

Los títulos promedios de anticuerpos en los individuos del grupo control y tratados con Menta coreana, indican la presencia del virus de la ENC; sin embargo los individuos del grupo tratado con Melisa no presentaron anticuerpos contra la enfermedad. MacLachlan (2011) refiere que utilizando las pruebas de inhibición de la hemoaglutinación y neutralización viral detectan anticuerpos contra Newcastle a los 12 – 16 días de post infección, observándose picos a las 3 – 4 semanas. Según Parameswari (2009), los taninos en las hojas de *Melissa officinalis* inhiben la hemoaglutinación inducida por el virus de Newcastle. Los taninos son compuestos polifenólicos, su característica principal es bloquear y precipitar las proteínas con efectos adversos, como inhibición del crecimiento, inhibición del transporte intestinal de nutrientes, reducción de oligoelementos y absorción de vitaminas. Marzo (1990), evaluó el efecto de los taninos sobre la respuesta inmune en pollos en crecimiento, concluyendo que los taninos deterioran el sistema inmunológico debido a los efectos adversos dando como resultado disminución de formación de anticuerpos circulantes y células formadoras de anticuerpos tras la vacunación con agentes patógenos; por lo anterior no se presentó títulos de anticuerpos en el grupo tratado con Melisa.

Los tratamientos alternativos a base de plantas medicinales son métodos económicos, efectivos y eficaces cuando se ha comprobado científicamente su actividad; de lo contrario, presenta comportamiento semejante o parecido a los tratamientos paliativos en cuanto a su relación costo – beneficio. En este estudio, no existió un mejor beneficio de los tratamientos alternativos ni un menor costo para contrarrestar los efectos de los individuos experimentalmente infectados con el virus de Newcastle.

La información generada en este estudio sirve de punto de partida para otras investigaciones con la finalidad de respaldar a la etnoveterinaria como alternativa terapéutica en el sector avícola, ya que es necesario evaluar otras plantas con actividades antivirales con la finalidad de encontrar tratamientos específicos para todas aquellas enfermedades que carezcan de uno en el sector avícola.

VII. CONCLUSIONES

1. La tintura de hoja de *Melissa officinalis* al 10% en etanol 50% no presenta eficacia para disminuir los signos y lesiones provocadas por el virus de Newcastle en pollos experimentalmente inoculados con virus de Newcastle.
2. La tintura de hoja de *Agastache rugosa* al 10% en etanol 70% no presenta eficacia para disminuir los signos, lesiones y niveles de anticuerpos provocados por el virus de Newcastle.
3. Las tinturas de *M. officinalis* al 10% en etanol al 50% y *A. rugosa* al 10% en etanol al 70% en pollos provocan postración y boqueo al ser administradas como agua de bebida en dilución de 1:5.
4. Las tinturas de Melisa y Menta coreana no tienen una mejor relación costo – beneficio en comparación a los tratamientos paliativos contra la enfermedad de Newcastle.
5. Las tinturas de *M. officinalis* y *A. rugosa* no presenta efectividad para contrarrestar los efectos producidos por el virus de Newcastle en pollos infectados experimentalmente.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Evaluar la efectividad del extracto acuoso de las hojas de Melisa y Menta coreana, para reducir la mortalidad, signos, lesiones y niveles de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle. Según Cáceres (2006) el extracto acuoso de las hojas de *M. officinalis* es activo contra el virus de Newcastle.
2. Desarrollar investigaciones que evalúen la efectividad de las tinturas de *M. officinalis* y *A. rugosa* contra el virus de Newcastle, en una menor dilución y durante un mayor tiempo con base a este estudio.
3. Estudiar la actividad antiviral de las plantas *in vitro*, como inoculaciones de embriones o cultivo celular, para reducir la mortalidad, disminuir signos, lesiones y niveles de anticuerpos de otras enfermedades virales.
4. Investigar de las plantas utilizadas en este estudio, otras propiedades medicinales (antimicrobiana, antifúngica, antiparasitaria) en especies menores y otros animales de producción.
5. Realizar estudios sobre Fitoterapia en Medicina Veterinaria, que sean prácticos y factibles de elaborar, con la finalidad de beneficiar a los pequeños productores del área rural.

IX. RESUMEN

El objeto del estudio fue generar información científica que respalde la etnoveterinaria como alternativa terapéutica en el sector avícola. Evalué la efectividad de las tinturas de *Melissa officinalis* al 10% en etanol al 50% y *Agastache rugosa* al 10% en etanol al 70% en pollos estirpe Shaver blanco inoculados experimentalmente, para reducir el porcentaje de mortalidad, disminuir signos, lesiones y niveles de anticuerpos provocados por el virus de Newcastle.

Llevé a cabo la activación, titulación de la suspensión viral mediante el Método Reed and Muench (Association of Avian Pathologists 2008) y título viral a través de la prueba de hemoaglutinación (OIE 2009). Realicé tres grupos de 12 individuos seronegativos al virus de NC cada uno, siendo grupo uno (control), grupo dos (tratados con tintura de *Melissa officinalis*), grupo tres (tratados con tintura de *Agastache rugosa*), fueron colocados en la cámara de desafío en tiempos diferentes. Siendo inoculados vía ocular con 0.03 ml del inóculo de la cepa viral. Administrando las tinturas como agua de bebida a una dilución de 1:5 desde los 28 días de edad hasta el momento del sacrificio.

Las tinturas de *M. officinalis* y *A. rugosa* no presentan eficacia para disminuir los signos y lesiones provocadas por el virus de Newcastle en pollos estirpe Shaver blanco experimentalmente inoculados.

La información generada en este estudio sirve de punto de partida para otras investigaciones con la finalidad de respaldar a la etnoveterinaria como alternativa terapéutica en el sector avícola.

SUMMARY

The purpose of this investigation was to generate scientific information to support the ethno-veterinary therapeutic option in the poultry sector. To evaluate the effectiveness of the tinctures of *Melissa officinalis* to 10% in 50% ethanol and *Agastache rugosa* to 10% in 70% ethanol in chickens white Shaver strain experimentally inoculated, to reduce the mortality rate, to decrease the signs, lesions and antibody levels induced by the virus Newcastle.

I conducted the activation, degree of viral suspension by Reed and Muench method (Association of Avian Pathologists 2008) and viral titer by hemoagglutination test (OIE 2009). I made three groups of 12 individuals seronegative to NC virus each, with group one (control), group two (treated with tincture of *Melissa officinalis*), group three (treated with tincture of *Agastache rugosa*), were placed in the chamber challenge at different times. The virus strain inoculated intraocularly with 0.03 ml of inoculum. The tinctures administering as drinking water at a dilution of 1:5 from 28 days of age until slaughter.

The tinctures of *M. officinalis* and *A. rugosa* have no effectiveness to reducing the signs and injuries caused by Newcastle virus in chickens white Shaver strain experimentally inoculated.

The information generated in this study provides a starting point for further research in order to support the ethno-veterinary therapeutic option in the poultry sector.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Acha P; Szyfres B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington, EEUU. 3era ed. Pan American Health Organization. p. 168-175.
2. American Association of Avian Pathologists. 2008. A laboratory manual for the isolation, identification and characterization of avian pathogens. 5ta. ed. Jacksonville, FL. p. 204-208, 217-221
3. Alexander, D. 1988. Newcastle disease. Massachusetts, US. Springer. 378 p.
4. Alexander, D; Bell, J.; et al. 2004. Technology review: Newcastle disease with special emphasis on its effect on village chickens. FAO 161.
5. Allahverdiyev, A; Duran, N; et al. 2004. Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus type-2. Phytomedicine (US) 11: 657-661.
6. Biester, H; Schwarte, L. 1964. Enfermedades de las aves. 4ta. ed. México. Hispano-Americana. p. 471-500.
7. Cáceres, A. 2006. Vademécum nacional de plantas medicinales. Guatemala. 262 p.
8. Capua, I; Alexander, D. 2009. Avian influenza and Newcastle disease a field and laboratory manual. Milan, Italia. Sprinzger. p. 19-26, 113-132.
9. CFSPH (The Center for Food Security & Public Health, USA). 2009. Enfermedad de Newcastle. Iowa State University, USA. (en línea). Consultado 8 jul. 2009. Disponible en http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/enfermedad_de_newcastle.pdf
10. Gaitán, I. 2005. PEO. Extractos y tinturas. Laboratorio de Bioensayos. Departamento de Citohistología, Facultad de Farmacia, USAC.
11. Kim, H; Lee, H; et al. 1999. HIV Integrase inhibitor activity of *Agastache rugosa*. Arch Pharm Res Vol 22, No 5, 520-523.
12. Kuklinski, C. 2000. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona, ES, Omega. 515 p.

13. MacLachlan, N; Dubovi, E. 2011. Fenner's veterinary virology. 4th ed. China. Elsevier. 507 p.
14. Marzo F; Tosar A; Santidrian S. 1990. Effect of tannic acid on the immune response of growing chickens. J Anim Sci (SPA) 68:3306-3312.
15. Moreno, R. 1994. La enfermedad de Newcastle y algunos avances recientes de diagnóstico. Ciencia Veterinaria (México) 6: 49-72.
16. OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal, Francia). 2002. Enfermedad de Newcastle. (en línea). Consultado 7 jul. 2009. Disponible en http://www.oie.int/esp/maladies/fiches/e_A160.htm
17. _____. 2009. Newcastle disease. OIE Terrestrial Manual 2009. Chapter 2.3.14: 576-589.
18. Parameswari, G; Meenatchisundaram, S; et al. 2009. Note of pharmacological activities of *Melissa officinalis* L. Ethnobotanical Leaflets (India) 13: 211-212.
19. Pattison M; McMullin P; Bradbury J; Alexander D. 2008. Poultry diseases. 6ta ed. China. Elsevier Health Sciences. p. 296-304.
20. Ramírez, C. 2003. La enfermedad de Newcastle: síntomas y lesiones. Ceniap Hoy (Venezuela) no. 2, mayo-agosto 2003.
21. Saif, Y.; Barnes, H. 2003. Diseases of Poultry. 11th ed. EEUU. Wiley-Blackwell. p. 64-88.
22. Samour, J. 2010. Medicina aviaria. 2da. ed. España. Elsevier. 526 p.
23. Sandoval, I; Carrasco, L. 1997. Poliovirus infection and expression of the poliovirus protein 2B provoke the disassembly of the Golgi complex, the organelle target for the antipoliovirus drug Ro-090179. Journal of Virology (ESP) June 1997: 4679-4693.
24. Schnitzler, P; Schuhmacher, A; et al. 2008. *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. Phytomedicine (Alemania) 15: 734-740.
25. Sharapin, N. 2000. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello y CYTED. 247 p.
26. Sokal, R; Rohlf, F. 1995. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. 3era ed. USA. W.H. Freeman and Company. P. 706-719.

27. Solís, P; Guerrero, N; et al. 2003. Manual de caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Guatemala. OEA. 132 p.
28. Wang, K; Chang J; et al. 2009. 4-Methoxycinnamaldehyde inhibited human respiratory syncytial virus in human larynx carcinoma cell line. *Phytomedicine (US)* 16: 882-886.

XI. ANEXOS

TABLA No. 1
GRUPO CONTROL

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS SEROLÓGICOS PREINOCULACIÓN

Grupo: Grupo control
 No. de Aves: 23 pollos
 Edad: 22 días de edad
 Prueba: Serología – Prueba de Inhibición de Hemoaglutinación (HI)
 Observaciones: Las muestras fueron tomadas mediante papel filtro, un día antes de la inoculación con la cepa viral de NC

Resultados

Suero Control Positivo: 5 Log²
 Suero Control Negativo: 0 Log²

<u>Muestra</u>	<u>Resultado</u>
1 – 23	0 Log ²
Promedio	0 Log²

Observaciones: Se inocularon únicamente 12 pollos de este grupo de forma aleatoria.

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS EN CAMARA DE DESAFIO

Día / Fecha	Diarrea	Dificultades respiratorias (Estertores, descarga muconal, cianosis)	Signos SNC (Decaimiento, temores musculares, espasmos clónicos, paresia o parálisis de alas y/o patas, opistótonos, tortícolis, deambulación en círculos)	Mortalidad (Número de aves)	Observaciones:
1 Viernes 12 febrero 2010	-----	-----	-----	-----	Se inocularon con una gota (0.025 ml) ocular a las 12.30 pm

Día / Fecha	Diarrea	Dificultades respiratorias	Signos SNC	Mortalidad	Observaciones:
2 Sábado 13 febrero 2010	-----	-----	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada
3 Domingo 14 febrero 2010	-----	-----	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada
4 Lunes 15 febrero 2010	-----	-----	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada
5 Martes 16 febrero 2010	-----	-----	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada
6 Miércoles 17 febrero 2010	Leve diarrea verde acuosa	-----	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada
7 Jueves 18 febrero 2010	Leve diarrea verde acuosa	-----	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada
8 Viernes 19 febrero 2010	Leve diarrea verde acuosa	Estertores leves	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada. Ojos almendrados era leve.
9 Sábado 20 febrero 2010	Leve diarrea verde acuosa	Estertores leves	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada. Ojos almendrados leve.
10 Domingo 21 febrero 2010	Leve diarrea verde acuosa	Estertores moderados	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían. Ojos almendrados leve. Empastamiento verde de cloaca en 2 aves.
11 Lunes 22 febrero 2010	Grave diarrea verde acuosa	Estertores graves	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían. Ojos almendrados era moderado. Empastamiento verde de cloaca en 2 aves

12 Martes 16 febrero 2010	Grave diarrea verde acuosa	Estertores graves	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían. Ojos almendrados era moderado. Empasta-miento verde de cloaca en 3 aves
13 Miércoles 17 febrero 2010	Grave diarrea verde acuosa	Estertores graves	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían. Ojos almendrados era moderado. Empasta-miento verde de cloaca en 3 aves.
14 Jueves 18 febrero 2010	Grave diarrea verde acuosa	Estertores graves	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían. Ojos almendrados era moderado. Empasta-miento verde de cloaca en 3 aves.
15 Viernes 19 febrero 2010	Grave diarrea verde acuosa	Estertores graves	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían. Ojos almendrados era moderado. Empasta-miento verde de cloaca en 3 aves. Sacrificio a las 12 aves a las 8:30 am

(Leve) = 1 – 3 pollos (Moderado) = 4 – 7 pollos (Grave) = 8 – 12 pollos

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS SEROLÓGICOS PRESACRIFICIO

Grupo: Grupo Control
 No. de Aves: 12 pollos
 Edad: 36 días de edad
 Prueba: Serología – Prueba de Inhibición de Hemoaglutinación (HI)
 Observaciones: Se tomaron las muestras serológicas mediante papel filtro, previo al sacrificio de los pollos.

Resultados

Suero Control Positivo: 5 Log²
 Suero Control Negativo: 0 Log²

<u>Muestra</u>	<u>Resultado</u>	<u>Muestra</u>	<u>Resultado</u>
1	4 Log ²	7	7 Log ²
2	8 Log ²	8	6 Log ²
3	6 Log ²	9	4 Log ²
4	6 Log ²	10	6 Log ²
5	6 Log ²	11	6 Log ²
6	6 Log ²	12	6 Log ²

Promedio

5.9 Log²

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS A LA NECROPSIA

Grupo: Grupo Control
 No. de Aves: 12 pollos
 Edad: 36 días
 Prueba: Necropsia
 Observaciones: Las necropsias fueron realizadas inmediatamente del sacrificio de los 12 pollos

Resultados

No.	Lesión
1	Hemorragias en grasa exterior del proventrículo
2	Enteritis
3	Hemorragias en primera porción del duodeno
4	Placas de Peyer activadas
5	Hemorragias en páncreas
6	Hemorragias en tónsilas cecales
7	Hidropericardio

Observaciones: Las lesiones observadas a la necropsia son características a las descritas en la enfermedad de Newcastle.

TABLA No. 2
GRUPO TRATADO CON MELISA

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS SEROLÓGICOS PREINOCULACIÓN

Grupo: Grupo tratado con Melisa
 No. de Aves: 24 pollos
 Edad: 22 días de edad
 Prueba: Serología – Prueba de Inhibición de Hemoaglutinación (HI)
 Observaciones: Las muestras fueron tomadas mediante papel filtro, un día antes de la inoculación con la cepa viral de NC

Resultados

Suero Control Positivo: 5 Log²
 Suero Control Negativo: 0 Log²

<u>Muestra</u> 1 – 24	<u>Resultado</u> 0 Log ²
Promedio	0 Log²

Observaciones: Se inocularon únicamente 12 pollos de este grupo de forma aleatoria.

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS EN CAMARA DE DESAFIO

Día / Fecha	Diarrea	Dificultades respiratorias (Estertores, descarga muconal, cianosis)	Signos SNC (Decaimiento, temores musculares, espasmos clónicos, paresia o parálisis de alas y/o patas, opistótonos, tortícolis, deambulación en círculos)	Mortalidad (Número de aves)	Observaciones:
1 Viernes 19 marzo 2010	-----	-----	-----	-----	Se inocularon con una gota (0.025 ml) ocular a las 13:00 pm

Día / Fecha	Diarrea	Dificultades respiratorias	Signos SNC	Mortalidad	Observaciones:
2 Sábado 20 marzo 2010	Diarrea verde acuosa pero era muy leve	-----	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada
3 Domingo 21 marzo 2010	Leve diarrea verde acuosa	-----	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada
4 Lunes 22 marzo 2010	Leve diarrea verde acuosa	-----	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada
5 Martes 23 marzo 2010	Moderada diarrea verde acuosa	-----	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada. Ojos almendrados era leve. Empastamiento verde de cloaca en 2 aves. Postración en 2 aves.
6 Miércoles 24 marzo 2010	Moderada diarrea verde acuosa	Estertores leves	-----	-----	Se les empezó a dar la tintura 1:5 únicamente. Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada. Ojos almendrados era leve. Empastamiento verde de cloaca en 3 aves. Postración de 3 aves post tratamiento.
7 Jueves 25 marzo 2010	Moderada diarrea verde acuosa	Estertores leves	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era leve.
8 Viernes 26 marzo 2010	Leve diarrea pero no de color verde acuosa	Estertores leves	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era leve. La diarrea ya no es verde acuosa sino café acuosa o verde clara.
9 Sábado 27 marzo 2010	No se observó diarrea. Heces duras de color café o verde claro	Estertores leves	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era leve. Postración en 2 aves.

Día / Fecha	Diarrea	Dificultades respiratorias	Signos SNC	Mortalidad	Observaciones:
10 Domingo 28 marzo 2010	Heces duras de color café o verde claro	Estertores leves	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era leve. Postración en 2 aves.
11 Lunes 29 marzo 2010	Heces duras de color café o verde claro	Estertores moderados. Leve boqueo	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era leve. Postración en 4 aves.
12 Martes 30 marzo 2010	Heces duras de color café o verde claro	Estertores moderados. Leve boqueo	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era leve. Postración en 4 aves.
13 Miércoles 31 marzo 2010	Heces duras de color café o verde claro	Estertores y boqueos moderados	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era moderado. Postración en 4 aves.
14 Jueves 1 abril 2010	Leve diarrea acuosa y heces duras de color verde claro	Estertores y boqueo moderados.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba de manera adecuada. Poco consumo de la tintura. Ojos almendrados era moderado. Postración en 4 aves.
15 Viernes 2 abril 2010	Leve diarrea acuosa y heces duras de color verde claro	Estertores y boqueos moderados.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba de manera adecuada. Poco consumo de la tintura. Ojos almendrados era moderado. Se sacrificaron a las 12 aves a las 10:00 am

(Leve) = 1 – 3 pollos

(Moderado) = 4 – 7 pollos

(Grave) = 8 – 12 pollos

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS SEROLÓGICOS PRESACRIFICIO

Grupo: Grupo tratado con Melisa
 No. de Aves: 12 pollos
 Edad: 36 días de edad
 Prueba: Serología – Prueba de Inhibición de Hemoaglutinación (HI)
 Observaciones: Se tomaron las muestras serológicas mediante papel filtro, previo al sacrificio de los pollos.

Resultados

Suero Control Positivo: 5 Log²
 Suero Control Negativo: 0 Log²

<u>Muestra</u>	<u>Resultado</u>
1 - 12	0 Log ²
Promedio	0 Log²

Observaciones: La prueba se repitió 2 veces obteniendo en ambas pruebas los mismos resultados

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS A LA NECROPSIA

Grupo: Grupo tratado con Melisa
 No. de Aves: 12 pollos
 Edad: 36 días
 Prueba: Necropsia
 Observaciones: Las necropsias fueron realizadas inmediatamente del sacrificio de los 12 pollos

Resultados

No.	Lesión
1	Hemorragias en la primera porción del duodeno
2	Hemorragia en páncreas
3	Tónsilas cecales hemorrágicas
4	Hidropericardio

Observaciones: Las lesiones observadas a la necropsia son características a las descritas en la enfermedad de Newcastle.

TABLA No. 3
GRUPO TRATADO CON MENTA COREANA

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS SEROLÓGICOS PREINOCULACIÓN

Grupo: Grupo tratado con Menta Coreana
 No. de Aves: 23 pollos
 Edad: 22 días de edad
 Prueba: Serología – Prueba de Inhibición de Hemoaglutinación (HI)
 Observaciones: Las muestras fueron tomadas mediante papel filtro, un día antes de la inoculación con la cepa viral de NC

Resultados

Suero Control Positivo: 5 Log²
 Suero Control Negativo: 0 Log²

<u>Muestra</u> 1 – 23	<u>Resultado</u> 0 Log ²
Promedio	0 Log²

Observaciones: Se inocularon únicamente 12 pollos de este grupo de forma aleatoria.

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS EN CAMARA DE DESAFIO

Día / Fecha	Diarrea	Dificultades respiratorias (Estertores, descarga muconal, cianosis)	Signos SNC (Decaimiento, temores musculares, espasmos clónicos, paresia o parálisis de alas y/o patas, opistótonos, tortícolis, deambulación en círculos)	Mortalidad (Número de aves)	Observaciones:
1 Viernes 2 julio 2010	-----	-----	-----	-----	Se inocularon con una gota (0.025 ml) ocular a las 15:45 pm
2 Sábado 3 julio 2010	Diarrea verde acuosa pero era muy leve	-----	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada

Día / Fecha	Diarrea	Dificultades respiratorias	Signos SNC	Mortalidad	Observaciones:
3 Domingo 4 julio 2010	Leve diarrea de color café y verde claro	Estertores y boqueos leves.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada.
4 Lunes 5 julio 2010	Leve diarrea café. Heces duras de color verde claro.	Estertores y boqueos leves.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada.
5 Martes 6 julio 2010	Leve diarrea café y verde clara. Heces duras de color verde claro.	Estertores y boqueos leves.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada. Ojos almendrados era leve.
6 Miércoles 7 julio 2010	Diarrea y heces duras de color verde claro.	Estertores y boqueos leves.	-----	-----	Se les empezó a dar la tintura 1:5 únicamente. Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían de manera adecuada. Ojos almendrados era moderado.
7 Jueves 8 julio 2010	Heces duras de color verde con blanco	Estertores y boqueos leves.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era moderado. Postración de 3 aves post tratamiento.
8 Viernes 9 julio 2010	Heces duras de color verde con blanco	Estertores moderados. Boqueo leve.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era grave. Postración en 6 aves post tratamiento.
9 Sábado 10 julio 2010	Heces duras verde con blanco. Leve diarrea verde acuosa y café clara.	Estertores moderados. Boqueo leve.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era grave. Postración de 3 aves post tratamiento. Plumas de la cara manchadas de color verde en 3 aves.

Día / Fecha	Diarrea	Dificultades respiratorias	Signos SNC	Mortalidad	Observaciones:
10 Domingo 11 julio 2010	Heces duras de color verde con blanco. Leve diarrea verde acuosa y café clara.	Estertores moderados. Boqueo leve.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era grave. Postración de 3 aves post tratamiento.
11 Lunes 12 julio 2010	Heces duras de color verde con blanco.	Estertores moderados. Boqueo leve.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era grave. Postración de 3 aves post tratamiento.
12 Martes 13 julio 2010	Heces duras de color verde con blanco.	Estertores y boqueos leves.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era grave. Postración de 2 aves post tratamiento.
13 Miércoles 14 julio 2010	Heces duras de color verde con blanco.	Estertores y boqueos leves.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era grave. Postración de 2 aves post tratamiento.
14 Jueves 15 julio 2010	Heces duras de color verde con blanco.	Estertores y boqueos leves.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era grave. Postración de 4 aves post tratamiento.
15 Viernes 16 julio 2010	Heces duras de color verde con blanco.	Estertores y boqueos leves.	-----	-----	Aves con buen ánimo. Se alimentaba y bebían la tintura de manera adecuada. Ojos almendrados era grave. Se sacrificaron a las 12 aves a las 7:30 am

(Leve) = 1 – 3 pollos

(Moderado) = 4 – 7 pollos

(Grave) = 8 – 12 pollos

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS SEROLÓGICOS PRESACRIFICIO

Grupo: Grupo tratado con Menta Coreana
 No. de Aves: 12 pollos
 Edad: 36 días de edad
 Prueba: Serología – Prueba de Inhibición de Hemoaglutinación (HI)
 Observaciones: Se tomaron las muestras serológicas mediante papel filtro, previo al sacrificio de los pollos.

Resultados

Suero Control Positivo: 5 Log²
 Suero Control Negativo: 0 Log²

<u>Muestra</u>	<u>Resultado</u>	<u>Muestra</u>	<u>Resultado</u>
1	5 Log ²	7	4 Log ²
2	3 Log ²	8	4 Log ²
3	4 Log ²	9	3 Log ²
4	4 Log ²	10	3 Log ²
5	4 Log ²	11	4 Log ²
6	4 Log ²	12	4 Log ²

Promedio

3.8 Log²

HOJA DE REGISTRO DE RESULTADOS A LA NECROPSIA

Grupo: Grupo tratado con Menta Coreana
 No. de Aves: 12 pollos
 Edad: 36 días
 Prueba: Necropsia
 Observaciones: Las necropsias fueron realizadas inmediatamente del sacrificio de los 12 pollos

Resultados

No.	Lesión
1	Edema alrededor de la tráquea
2	Moco en el inicio de la tráquea
3	Hemorragia en páncreas
4	Hemorragias en la primera porción del duodeno
5	Tónsilas cecales hemorrágicas
6	Hidropericardio

Observaciones: Las lesiones observadas a la necropsia son características a las descritas en la enfermedad de Newcastle.