Potencial del orégano como alternativa natural para controlar *Haemonchus contortus* en ovinos de pelo.

J.A. Munguía-Xóchihua^{1*}, W. Valenzuela-Medrano¹, J.C. Leyva-Corona¹, M.I. Morales-Pablos², J.A. Figueroa-Castillo³

Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias del Instituto Tecnológico de Sonora.
²Campo Experimental Norman E. Bourloug, del CIRNO-INIFAP.
³Depto. Parasitología FMVZ-UNAM. Ciudad Universitaria.

Potential of the Oregano as natural alternative to control <u>Haemonchus contortus</u> in hair ovines.

Abstract

With the aim of evaluating the potential of oregano in reducing the load of eggs of *Haemonchus contortus* in haired sheeps (n= 15), homogeneous in age (8 to 12 months), received an oral dose of 4,500 infective larvae (L3) of *H. contortus*. Five animals were randomly assigned to one of three groups to receive: 1). Grinded oregano (GRD), 2). Levamisole (LEV) as gold-test and a 3). *Control* group was considered, which received no treatment against the parasite. At 19 days of evaluation, the GRD reduced 64.9% (P < 0.05) the load of eggs. As conclusion, a single dose of grinded oregano shows potentially as natural alternative to control *H. contortus* in haired sheeps raised at the northwest of Mexico.

Key words: oregano, parasite, evaluation, ovine.

Resumen

Con el objetivo de evaluar el potencial del orégano en la reducción de la carga de huevos de *Haemonchus contortus* en ovinos de pelo (n= 15), homogéneos en edad (8 a 12 meses), recibieron una dosis oral de 4,500 larvas infectantes (L3) de *H. contortus*. Aleatoriamente, cinco animales se asignaron a uno de tres grupos para recibir: Orégano molido (ORM), 2). Levamisole (LEV) como prueba de oro y se consideró un 3). Grupo control, el cual no recibió ningún tratamiento contra el parasito. A los 19 días de evaluación, el ORM redujo 64.9% (P<0.05) la carga de huevos. En conclusión, una sola dosis de orégano molido muestra potencial como alternativa natural para controlar *H. contortus* en ovinos de pelo criados en el noroeste de México.

Palabras clave: orégano, parásito, evaluación, ovinos.

150

^{*}Autores de correspondencia Email: javier.munguia@itson.edu.mx

Introducción

El éxito en la rentabilidad de un sistema de producción ovino, se basa en obtener una satisfactoria cosecha de cordero, lo cual es el reflejo de una óptima fertilidad y prolificidad del hato, sin embargo, fallas en el manejo sanitario ocasionan infestaciones parasitarias en la población animal. Esta situación genera bajos rendimientos y en casos más severos, la pérdida parcial o total de la cosecha por alta mortalidad. Haemonchus contortus es un nematodo hematófago capaz de afectar clínica y sub-clinicamente a la población joven y adulta de ovinos. Los casos de anemia son comunes por la severa pérdida de sangre, mientras que una baja conversión alimenticia es observada en animales en producción y frecuentemente alta mortalidad en animales jóvenes (Symons, 1995).

El uso inadecuado, inespecífico y frecuente de compuestos químicos, ha sido el principal método de control de nematodos gastroentericos (NGE) y ha ocasionado un incremento de la prevalencia de NGE resistentes (Leathwick et al., 2001; Terril et al., 2001). Cambios al concepto de producción orgánica y uso de productos pecuarios orgánicos, ha despertado el interés en áreas como la ethnoveterinaria con el uso de aceites esenciales y de plantas como el orégano (Hussain, 2008), ya que permite el consumo de carne o leche durante el tratamiento y ser utilizado en hatos con resistencia a compuestos químicos. Además, para la ganadería orgánica no es fácil encontrar opciones en el mercado para controlar parásitos gastrointestinales, por lo que muchas veces este tipo de sistemas de producción se frustran en el intento de certificación (Avalos et al., 2012).

De las especies de orégano con fines culinarios más comunes son Origanum vulgare, nativo de Europa y el Lippia graveolens, originario de México. En el caso del orégano europeo (Origanum vulgare) de la familia Labiatae se ha estudiado poco; este no posee efectos tóxicos si se consume en su estado natural en dosis y tiempo prudente. En las dos propiedades observado especies se han antioxidantes, antimicrobiana, antitumoral. antiséptica, tónica, digestiva e insecticida, debido a que contienen varios componentes de importancia comercial de tipo terpenoide (carvacol, timol, limoneno), hidrocarbonos (β-cariofileno, p-cimeno, canfor, linalol, a-pineno), entre muchos otros (Pascual et al., 2001).

Debido a las propiedades del orégano, su uso puede resultar positivos para el control de *H. contortus* en la especie ovina. Por lo tanto, el objetivo del trabajo fue evaluar la eficacia del orégano molido en ovinos de pelo infestados artificialmente con *Haemonchus contortus*.

Materiales y método

Descripción del lugar y animales de estudio

El ensayo se realizó en las instalaciones de un Centro de Acopio de una Asociación de ovinocultores, ubicado en el kilómetro 4.5 de la carretera Esperanza-Hornos (N: 26°36'09.26'', 109°54'22.27'', 42 m/snm) en el Municipio de Cajeme Sonora. Se seleccionaron 15 ovinos de diferentes cruzas entre 8 y 12 meses de edad y homogéneos en proporción de sexo. Se fijó un periodo de acondicionamiento al lugar de 20 días para los animales, evento transcurrido de los -50 a -30 d respecto a la aplicación de los tratamientos (0 d) (Tabla 1). En todo momento, los animales tuvieron acceso libre al agua y alfalfa henificada.

Infestación con <u>Haemonchus contortus</u>

Las larvas infectantes (L3) de la cepa "Guerrero" de *Haemonchus contortus* fue proporcionada por el Depto. de Parasitología de la FMVZ- UNAM, administradas individualmente a los ovinos al -29d en una dosis única de 4,500 L3 (Tabla 1). Posterior a la infestación, se consideraron 24 días (prepatencia) para asegurar la reproducción parasitaria. La presencia de la carga parasitaria artificial fue confirmada con la colecta seriada de tres muestreos de heces a los -5d, -4d y -3d para el respectivo conteo de huevos por gramo de heces (HGH) mediante la técnica de McMaster (Munguía, 2003).

Asignación de tratamientos

De los 15 animales, aleatoriamente se seleccionaron tres grupos de cinco animales para recibir uno de tres tratamientos: 1). *Orégano Molido* (ORM) en suspensión acuosa a dosis de 260 mg/kg; 2). *Clorhidrato de Levamisol* (LEV) a una dosis de 8 mg/kg vía intramuscular profunda y un grupo 3). *Control*, ovinos infectados sin tratamiento.

El ORM y LEV procedían de una marca comercial de especies aromáticas y veterinaria respectivamente.

Tabla 1. Esquema cronológico de la evaluación de tratamientos en ovinos parasitados artificialmente con larvas infectantes de *Haemonchus contortus*.

Actividad por período										
Adaptación	Infestación	Prepat.	Conteo 1	Conteo 2	Tratamiento	Evaluación				
-30d	-29d	-5d	-4d	-3d	0d	5d	7d	11d	15d	19d

Colecta de muestras

Para determinar la variable *Eficacia* (%) en los diferentes tratamientos, después del tratamiento (0 d), de forma seriada se tomaron (2 a 5 gr) muestras de heces por 19 días (Tabla 1) y fue calculada de acuerdo por Wood *et al.*, (1995) mediante:

$$E = \frac{XC - XT}{XC} \times 100$$

Donde:

E= Porcentaje de efectividad

XC= Cantidad promedio de huevos en el grupo control

XT=Cantidad promedio de huevos en el grupo tratado

Análisis estadístico de la información

Debido al tipo de distribución (Poisson), la variable número de huevos por gramo de heces (HGH) del parásito en cada día de evaluación fue transformada $(b_{ij}=Log X_{ij}+1)$ para normalizarla. El supuesto de homocedasticidad en los valores fue considerado mediante la prueba de Barlett. Con los datos transformados, se procedió al análisis de varianza bajo la estructura de un diseño completo al azar con mediciones repetidas mediante el procedimiento GLM (SAS, 2004), considerando al Tratamiento y Tratamiento por tiempo como factores fijos de variación. Un análisis de covarianza fue considerado para ajustar el efecto de la carga inicial (d0) sobre la variable de respuesta. La comparación de medias se realizó mediante el procedimiento LSMEANS (SAS, 2004). Para su presentación, los datos fueron transformados en sus unidades originales (HGH).

Resultados y discusión

En las medias generales de la tabla 2, se observa que con la administración de LEV se eliminó (P<0.05) el 90.2% de la carga parasitaria en ese grupo (Tabla 2), mientras que con ORM (64.9%) la reducción (P<0.05) en esta variable fue de 25.8% respecto al *control* (90.2%). Cabe señalar que por

ser medias generales (19 días) por tratamiento, el grupo LEV no muestra su 100% efectividad como prueba de oro, pero ese efecto si es posible visualizar a través del tiempo en la tabla 3.

Debido a que el Control no se desparasitó, este llegó a 2,000 HGH y al evaluar el efecto del tratamiento durante el periodo de estudio, se observó que el LEV redujo (P<0.05) a su totalidad la carga de huevos a partir 7d, lo cual era de esperar por ser la prueba de oro (Tabla 3). Por otro lado, la reducción en la variable HGH en el ORM fue más lenta durante el periodo de evaluación, ya que se observó que la media en los HGH continuo incrementando de 720 (0d) hasta 810 HGH (7d) y a partir del 11d la carga disminuyó progresivamente hasta 430 HGH al final del periodo. Esto fue probablemente a que los componentes del orégano fueron asimilados lentamente, por lo que la población de parásitos existentes pudo continuar en aumento hasta el 7d.

En la mayoría de los trabajos in vivo, los compuestos vegetales han mostrado una baja eficacia y es difícil que igualen a los antihelmínticos sintéticos disponibles (Githiori et al., 2005). La variación en la eficacia de los diferentes compuestos control de naturales para parásitos gastrointestinales, es determinada por mecanismos de distribución y biotransformación de los aceites esenciales y compuestos de las plantas en monogástricos o poligástricos (Hennessy, 1997). La difusión transcuticular es la forma común de entrada en nematodos parásitos para diferentes sustancias, también es la ruta predominante para la asimilación compuestos como los Bencimidazoles, Levamisol e Ivermectina en helmintos (Geary et al., 1999). En general el extracto hidro-alcohólico puede contener algunos químicos orgánicos no polares con más polaridad que el extracto acuoso, teniendo mayor solubilidad en los lípidos. Entre otros factores, el tipo de solución y los métodos de extracción pueden en gran medida afectar la actividad de los compuestos botánicos (Eguale et al., 2007).

Tabla 2. Medias generales del numero de huevos por gramo de heces (HGH) y % de eficiencia por efecto de las diferentes presentaciones de orégano y Levamisol en ovinos infestados artificialmente con *Haemonchus contortus*.

Tratamiento	HGH					
	Media	± EE	% EF			
Control	1771.66	\pm 132.79 $^{\rm a}$				
LEV	173.33	± 132.79 b	90.2			
ORM	621.66	\pm 132.79 $^{\rm c}$	64.9			

a b c Indican diferencia estadística (P<0.05) entre hileras. EE= Error estándar. % EF= Eficacia respecto al control.</p>

Tabla 3. Comportamiento de los diferentes compuestos orgánicos y químicos sobre el conteo de huevos (HGH) durante el periodo de estudio.

periodo de estudio.											
			Tratamiento								
	Día	LEV				ORM			Control		
		Media	± EE	% EF	Media	± EE	% EF	Media	± EE		
	0	1010	± 325.3	24.6	720	± 325.3	46.3	1340	± 325.3		
	5	30	$\pm 325.3^{a}$	97.7	720	$\pm 325.3^{b}$	45.9	1330	$\pm 325.3^{b}$		
	7		CE		810	\pm 325.3 ^a	67.5	2490	$\pm 325.3^{b}$		
	11		CE		610	\pm 325.3 ^a	55.8	1380	$\pm 325.3^{b}$		
	15		CE		440	\pm 325.3 ^a	78.9	2090	$\pm 325.3^{b}$		
	19		CE		430	$\pm 325.3^a$	78.5	2000	± 325.3 ^b		

^{a b c} Indican diferencia estadística (P<0.05) entre columnas. CE= carga eliminada. EE= Error estándar.

Una forma de explicar el mecanismo de acción del orégano sobre H. contortus es la extrapolación de resultados en la eficacia contra Trypanosoma cruzi, en donde se muestra la importancia de la presencia del grupo hidroxilo en compuestos fenólicos como el carvacol y el timol, la actividad del timol es atribuida a la característica de los fenolicohidroxilo, que es más ácido que el grupo de hidroxilo alifático. Una característica importante de los aceites esenciales y sus componentes es su hidroficidad; la citrometría de flujo muestra que debido a esta característica, los aceites esenciales impregnan la membrana celular y matan a los parásitos por afectar las vías metabólicas citoplasmáticas o gránulos y no por comprometer la integridad de la membrana del parásito, que daría lugar a la lisis de la membrana celular (Santoro et al., 2007).

Es conocido que las terapias naturales para el control de enfermedades son más lentas independientemente de sus beneficios en el organismo, por lo que de acuerdo a los resultados observados, se considera que en condiciones de manejo en campo sería necesaria una segunda aplicación usando la presentación de orégano molido.

Conclusiones

En este ensayo, aunque el efecto antihelmíntico del orégano molido fue relativamente lento respecto al uso de un desparasitante químico como el levamisol comercial, el primero mostró potencial en la eliminación de la carga de huevos de *H. contortus*. En este sentido, acompañado de un buen programa de bioseguridad en el hato, el orégano representa una buena alternativa para el control de nematodos de forma natural en sistemas de producción animal.

Bibliografía

Avalos, C.R., J.C. Leyva., J.A. Navarro., R. Meza & M.I. Morales. (2012). Ovinocultura ecológica, alternativa de diversificación productiva: tecnologías y procedimientos. Folleto técnico No. 9. Campo Experimental Todos Santos del CIRNO-INIFAP. ISBN 978-607-425-826-4.

Eguale, T., Tilahun, G., Debella, A., Feleke, A. & Makonnen, E. (2007). *In vitro* and *in vitro* anthelmintic activity of crude extracts of *Coriandrum sativum* against *Haemonchus contortus*. *J Ethnopharmacology*, 110, 428-433.

Geary, T.G., Sangster, N.C. & Thompson, D.P. (1999). Frontiers in anthelmintic pharmacology. *Vet Parasitol*, 84, 275-295.

Githiori, J.B., Thamsborg, S.M. & Atanasiadou, S. (2005). Use the plants in novel approaches to control of gastrointestinal nematodes in small ruminants. Proc. Novel Approaches to the Control of Helminths Parasites Livestock, 2005. Worm control or worm management: New paradigms in integrated control. Mérida Yucatán, México.

[%] EF= Eficacia respecto al control. El d 0 representa la carga inicial y no es debida a tratamiento.

- Hennessy, D.R. (1997). Modifying the formulation or delivery mechanism to increase the activity of anthelmintic compounds. *Vet Parasitol*, 72,367-390.
- Hussain, A. (2008). Evaluation of anthelmintic activity of some ethnoboyanials. Thesis Doctor of Philosophy. Parasitology department of parasitology faculty of veterinary science. University of Agriculture. Faisalabad. Pakistan. Pp 135.
- Leathwick, D.M., Pomroy, W.E. & Heath, A.C.G. (2001). Anthelmintic resistance in New Zealand. New Zealand Vet J, 49.227-235.
- Munguía, X.J.A. (2003). Manual de prácticas del laboratorio de parasitología. Instituto Tecnológico de Sonora. Pp.34,63,71.
- Pascual, M.E., Slowing, K., Carretero, E., Sánchez, M.D. & Villar, A. (2001). Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: A review. *Journal of Pharmacology*, 76,201-214.
- Santoro, G.F., Cardoso, M.G., Guimaraes, L.G.L., Salgado, A.P.S.P., Menna, B. R.F. & Soares, M.J. (2007). Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growyh and ultraestructure. *Parasitol Res*, 100, 783-790.

- SAS. SAS/STAT. (2004). User's Guide, Software Version 9.1.2 Cary, NC: SAS Institute Inc., USA.
- Symons, L.E.A. (1985). Anorexia, occurrence, pathophysiology and possible causes in parasitic infections. Adv Parasitol, 24, 103-133.
- Terril, T.H., Kaplan, R.M., Larsen, M., Samples, O.M., Miller, J.E. & Gelaye, S. (2001). Anthelmintic resistance on goats farms in Georgia: efficacy of anthelmintics against gastrointestinal nematodes in two selected goat herds. *Vet Parasitol*, 97, 261-268.
- Wood, I.B., Amaral, N.K., Bairden, K., Duncan, J.L., Kassai, J., Malone, J.B., Pankavich, J.A., Reinecke, R.K., Slocombe, O., Taylor, S.M. & Vercruysse, J. (1995). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine and caprine). Vet Parasitol, 58,181-213.