

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO *in vitro* DEL EXTRACTO DE *Albizia lophantha* SOBRE LOS
NEMATODOS GASTROINTESTINALES DE EQUINOS**

AUTOR: EDISSON GIOVANNI CHICAIZA TISALEMA

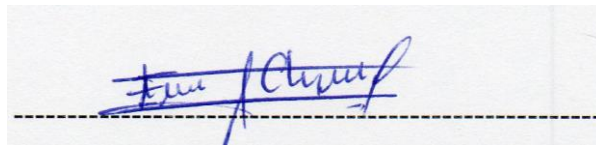
**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN ESTRUCTURADO DE MANERA
INDEPENDIENTE COMO REQUISITO PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

CEVALLOS – ECUADOR

2015

AUTORÍA

“El suscrito, EDISSON GIOVANNI CHICAIZA TISALEMA, portador de la cédula de identidad número: 1804328134, libre y voluntariamente declaro que el presente trabajo de investigación titulado: “EFECTO *in vitro* DEL EXTRACTO DE *Albizia lophantha* SOBRE LOS NEMATODOS GASTROINTESTINALES DE EQUINOS” es original, auténtica y personal. En tal virtud, declaro que el contenido será de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes consultadas”



EDISSON GIOVANNI CHICAIZA TISALEMA

CI. 180432813-4

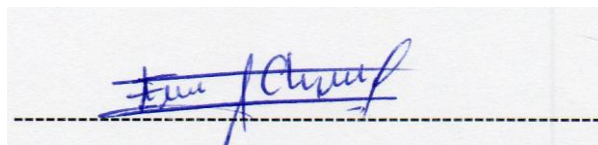
AUTOR

DERECHOS DEL AUTOR

“Al presentar esta tesis como uno de los requisitos previos para obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista, en la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que haga de esta tesis un documento disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de esta tesis dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de esta tesis o parte de ella.



EDISSON GIOVANNI CHICAIZA TISALEMA

CI. 180432813-4

AUTOR

EFFECTO *in vitro* DEL EXTRACTO DE *Albizia lophantha* SOBRE LOS NEMATODOS GASTROINTESTINALES DE EQUINOS

REVISADO POR:



Dr. Roberto Almeida


TUTOR



Ing. Marcos Barros PhD
ASESOR DE BIOMETRÍA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO:

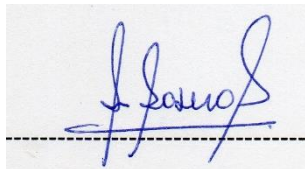
Fecha



16/12/2015

Ing. Mg. Hernán Zurita

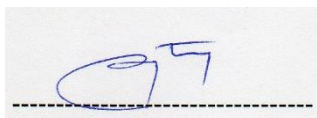
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



16/12/2015

Dr. Marco Rosero

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



16/12/2015

Dr. Pedro Díaz PhD

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

Esta tesis lo dedico con mucho cariño a mis queridos padres Luz y Rodrigo quienes han sido el pilar fundamental en mi vida, brindándome los mejores de sus consejos, guiándome y apoyando siempre que siga por un buen camino durante todo el trayecto de mis estudios.

A mis hermanos Danilo, Jefferson y Mónica por todo su apoyo brindado, por sus palabras de aliento, por ser las personas que me comprenden y me acompañan incondicionalmente en cada etapa de mi vida.

A toda mi familia por su cariño y apoyo incondicional.

Edisson Giovanni Chicaiza

AGRADECIMIENTOS

A dios por darme la vida, sabiduría e inteligencia, permitiéndome así culminar un objetivo muy importante planteado en mi vida.

A mis padres por el cariño la paciencia y el sus consejos brindados durante mi vida estudiantil.

A todos los docentes de la facultad de Ciencias Agropecuarias, quienes me han brindado todos sus conocimientos y experiencias durante el trayecto de las actividades académicas.

A la facultad de Ciencias Agropecuarias por darme la oportunidad de formarme como profesional lleno de conocimientos teóricos como prácticos, para así de esta manera poder impartirlo a la sociedad.

Edisson Giovanni Chicaiza

RESUMEN EJECUTIVO

El uso de plantas con propiedades antihelmínticas, es una manera de contrarrestar el uso indiscriminado de desparasitantes químicos. Entre las plantas y arbustos forrajeros nativos o de otra localidad tienen la capacidad de aportar nutrientes de buena calidad, ya que también producen metabolitos secundarios que muestran efecto sobre los NGI en los animales.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antihelmíntica *in vitro* del extracto de *Albizia lophantha* sobre NGI de equinos. Para lo cual se tomaron muestras de heces de 10 caballos parasitados y fueron analizadas mediante la técnica de Mc Master. Se hizo una siembra y cultivo de huevos de NGI de equinos en cajas Petri de cultivo celular, para cultivar larvas de primer (L₁) y segundo estadio (L₂).

El extracto de *Albizia lophantha* fue empleado en tres dosis (T1: 0 mg de extracto/mL de cultivo (mg/mL), T2: 0.04 mg/mL, T3: 0.08 mg/mL, T4: 0.12 mg/mL). Se llevó a cabo un diseño completamente al azar utilizando cuatro tratamientos con seis repeticiones. Las variables fueron analizadas según el diseño empleado mediante el PROC GLM del SAS. La comparación de medias se la realizó mediante la prueba de Tukey en el paquete estadístico SAS 2009.

Se observó diferencias ($P=0.0001$) en las variables estudiadas, mayor inhibición en la eclosión de huevos (T4:43% y T3:11%) y menor supervivencia larval con dosis altas (T4: 0%, T3: 0% a las 36 y 60 horas después de aplicar el extracto respectivamente). El extracto fue eficaz en el control *in vitro* de nematodos gastrointestinales de caballos.

Esta investigación se realizó en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, ubicada en el Cantón Cevallos, Tungurahua, Ecuador, a 2900 msnm.

Palabras claves: Antihelmíntico, eclosión de huevos, fase larvaria, inhibición, taninos.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Pág.

CAPÍTULO I.....	1
PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. ANÁLISIS CRÍTICO DEL PROBLEMA	1
1.3. JUSTIFICACIÓN	2
1.4. OBJETIVOS	2
1.4.1. Objetivo general.....	2
1.4.2. Objetivos específicos	3
CAPITULO II.....	4
MARCO TEORICO E HIPÓTESIS	4
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	4
2.2. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES.....	7
2.2.1. Parasitismo en Equinos	7
2.2.1.1. Localización de los nematodos más comunes en equinos	8
2.2.2. NEMATODOS	8
2.2.2.1. Características morfológicas de los nematodos.....	8
2.2.2.2. Sistema digestivo.....	8
2.2.2.3. Sistema Excretor.....	9
2.2.2.4. Sistema Nervioso.....	9
2.2.2.5. Sistema Reproductor.....	9
2.2.2.6. Ciclo evolutivo	10
2.2.2.7. Daños que causan los parásitos en el equino	10
2.2.2.8. Diagnóstico parasitológico	11
2.2.3. NEMATODOS GASTROINTESTINALES MÁS COMUNES EN EQUINOS	11

2.2.3.1. <i>Parascaris equorum</i>	11
2.2.3.1.1. Ciclo Biológico.....	12
2.2.3.2. <i>Oxiuros equi</i>	12
2.2.3.2.1. Ciclo Biológico.....	12
2.2.3.3. <i>Strongyloides Westeri</i>	13
2.2.3.3.1. Ciclo Biológico.....	13
2.2.3.4. <i>Trichostrongylus axei</i>	13
2.2.3.4.1. Ciclo Biológico.....	13
2.2.3.5. <i>Strongylus spp.</i>	14
2.2.3.5.1. Grandes Estróngilos.....	14
2.2.3.5.1.1. <i>Strongylus vulgaris</i>	14
2.2.3.5.1.2. <i>Strongylus equinus</i>	15
2.2.3.5.1.3. <i>Strongylus edentatus</i>	15
2.2.3.5.1.4. Ciclo biológico de los grandes estróngilos del equino	15
2.2.3.5.2. Pequeños Estróngilos.....	16
2.2.3.5.2.1. Ciclo biológico de los pequeños estróngilos del equino.....	16
2.2.3.6. Control y tratamiento.....	17
2.2.4. <i>Albizia lophantha</i>	17
2.2.4.1. Descripción.....	17
2.2.5. TANINOS.....	18
2.2.5.1. Taninos hidrosolubles (TH).....	18
2.2.5.2. Taninos condensados (TC)	18
2.2.5.3. Efectos antihelmínticos de los (TC)	19
2.2.6. HIPÓTESIS	19
2.2.7. VARIABLES DELA HIPÓTESIS	19
2.2.7.1. Variable Independiente:.....	19
2.2.7.2. Variable Dependiente:	19

2.2.8. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	19
CAPÍTULO III	20
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	20
3.1. Enfoque, Modalidad y Tipo de Investigación	20
3.1.1. Enfoque.....	20
3.1.2. Modalidad.....	20
3.1.3. Tipo de investigación.....	20
3.2. UBICACIÓN DEL ENSAYO.....	20
3.3. FACTORES DE ESTUDIO	21
3.4. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	21
3.5. DATOS TOMADOS O RECOLECTADOS.....	22
3.6. MATERIALES	22
3.6.1. Materiales de campo.....	22
3.6.2. Material biológico.....	22
3.6.3. Materiales de laboratorio	22
3.6.4. Sustancias	23
3.6.5. Otros	23
3.7. MÉTODOS Y TÉCNICAS UTILIZADAS.....	23
3.7.1. Recoleta de las hojas.....	23
3.7.2. Obtención del extracto.....	23
3.7.3. Obtención de huevos de NGI de equinos	25
3.7.4. Variables de respuesta	25
3.7.5. Análisis estadístico	25
CAPÍTULO IV.....	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
RESULTADOS	26
DISCUSIÓN.....	27

CAPÍTULO V	29
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	29
5.1. CONCLUSIONES.....	29
5.2. RECOMENDACIONES	29
CAPÍTULO VI.....	30
PROPUESTA	30
6.1. TÍTULO.....	30
2.2. FUNDAMENTACIÓN	30
6.3. OBJETIVO	30
6.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	31
6.5. MANEJO TÉCNICO.....	31
6.5.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO	31
6.6. ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO DE <i>Albizia lophantha</i>	31
BIBLIOGRAFÍA:.....	32
ANEXOS:.....	38

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Tipos de variables con conceptualización, características, indicadores e índices.	19
Tabla 2. Tratamientos y dosis a aplicarse en la investigación.....	21
Tabla 3. Esquema de la distribución de los tratamientos en las placas.	21
Tabla 4. Concentración de taninos y fenoles totales de la <i>Albizia lophantha</i> y porcentaje de parásitos.....	26
Tabla 5. Inhibición de la eclosión de huevos <i>in vitro</i> de nematodos gastrointestinales de caballos a diferentes niveles de extracto de <i>Albizia lophantha</i>	26
Tabla 6. Supervivencia y mortalidad larval <i>in vitro</i> (por horas) de nematodos gastrointestinales de caballos a diferentes niveles de extracto de <i>Albizia lophantha</i>	27

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

El parasitismo gastrointestinal en equinos se ha convertido en uno de los casos más graves e importantes a tratarse en la producción equina, el desconocimiento de alternativas terapéuticas por parte de los criadores de equinos ha impulsado el uso así como también el abuso de fármacos existentes para prevenir o tratar la sintomatología que es presentada por parásitos gastrointestinales, lo cual afecta a la flora intestinal, provocando varios síntomas a los equinos en general, e incluso se ha demostrado la aparición de resistencia a los fármacos por el uso excesivo de los mismos.

La parasitosis por nematodos gastrointestinales en equinos, se considera como un problema sanitario importante, pues provoca entre otras muchas cosas, predisposición a muchas enfermedades, lo que reduce el desarrollo de sus funciones a las cuales son sometidos. Las infestaciones de parásitos es poco conocido por los dueños de los animales quienes, por consiguiente carecen de nociones sobre las formas de adoptar medidas necesarias para minimizar este riesgo. Las consecuencias que dejan las patologías parasitarias son muy manifiestas sobre todo en los sectores rurales del país.

1.2. ANÁLISIS CRÍTICO DEL PROBLEMA

El desconocimiento de la existencia de los productos o plantas que pueden controlar la endoparasitosis en los animales ha generado infestaciones de parásitos a nivel intestinal. Por la falta de asesoramiento técnico, muchas personas que se dedican a la crianza de caballos, desconocen del manejo adecuado en la alimentación que se les debe brindar a estos ejemplares.

Las consecuencias ocasionadas por enfermedades como la endoparasitosis es de hecho un grave problema, también hay que recalcar que existe el desconocimiento de programas de control de parásitos, o el manejo de antiparasitarios, todo lo mencionado nos conlleva a signos como: cólicos, diarreas, anorexia, apatía, pelaje hirsuto, y un mal

rendimiento de los caballos ya sea para carga, rodeo, adiestramiento, el arreo de ganado vacuno, entre otras actividades.

1.3. JUSTIFICACIÓN

La importancia de esta investigación implica ver el efecto *in vitro* del extracto de *Albizia lophantha* sobre nematodos gastrointestinales de caballos.

Dada la trascendencia de estas enfermedades dentro del campo económico y de sanidad animal, es necesario que quienes formamos parte de la medicina veterinaria nos preocupemos en diseñar y desarrollar investigaciones encaminadas a solucionar los problemas que se presentan, con el objetivo de mejorar la calidad de vida de sus integrantes, priorizando siempre el bienestar animal.

Según investigaciones realizadas se ha determinado que las plantas que contienen niveles altos en taninos es asociado con su capacidad para formar complejos con la proteína de los parásitos (Alonso-Díaz *et al.*, 2010), de esta manera, los taninos podrían afectar la biología de los nematodos interfiriendo con su motilidad, proceso de desovación, desarrollo larval y eclosión de huevos (Brunet *et al.*, 2011; Alonso-Díaz *et al.*, 2008; Molan *et al.*, 2002). Por lo tanto a través de esta investigación se tratará de conocer si esta planta *Albizia lophantha* que contiene taninos también puede generar dichos efectos en los nematodos gastrointestinales de caballos.

Es importante recalcar que la presente investigación se lo realiza con el objeto de entregar información sobre la situación actual, o con el fin de proporcionar datos y suministrar información actualizada que pueda ser utilizada en estudios posteriores.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

Determinar la actividad antihelmíntica *in vitro* del extracto de (*Albizia lophantha*) rico en taninos sobre nematodos gastrointestinales de equinos.

1.4.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del extracto de (*Albizia lophantha*) en la eclosión de los huevos de nematodos gastrointestinales de caballos.
- Establecer la dosis letal del extracto de (*Albizia lophantha*) en larvas de primer (L₁) y segundo estadio (L₂) de nematodos gastrointestinales de caballos.

CAPITULO II

MARCO TEORICO E HIPÓTESIS

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Investigaciones que se han realizado en Nueva Zelanda demuestran que el consumo de forrajes con contenidos medio a alto en TC por los ovinos parasitados, resultó en una reducción de los conteos de HPG (huevos por gramo) y parásitos adultos (Niezen *et al.*, 1995) citado por INIA 2004).

En México se realizó un estudio sobre el uso del agostadero planta con un alto nivel de taninos la misma que se lo utilizó como alternativa en la alimentación de cabras, esto permitió utilizar estas plantas como fuentes de nutrientes básicos, se aprovechó los efectos benéficos de los taninos (como antitimpánico o para aumentar la cantidad de proteína de sobrepaso). También se logró descubrir otro efecto benéfico de los taninos: su efecto antihelmíntico (AH) directo e indirecto (Torres *et al.*, 2008).

Con el objetivo de probar la actividad antihelmíntica, se evaluaron dos extractos, acuosos e hidro-alcohólicas de *Leucas martinicensis*, *Leonotis ocymifolia* y extracto acuoso de *Senna occidentalis* y *Albizia schimperiana* estos indujeron la inhibición completa de la eclosión de los huevos a una concentración inferior o igual a 1 mg/ml. Los extractos acuosos e hidro-alcohólicos de todas las plantas medicinales probados han demostrado estadísticamente significativa y dosis dependiente de la inhibición de la eclosión del huevo. Sobre la base de ED50, los extractos más potentes eran extractos acuosos e hidro-alcohólicas de *Leucas martinicensis* (0,09 mg/ml), los extractos acuosos de *Rumex abyssinicus* (0,11 mg/ml) y *Albizia schimperiana* (0,11 mg/ml). La mayoría de los extractos de plantas probadas han mostrado inhibición de desarrollo de las larvas notable. Los extractos acuosos de *Leonotis ocymifolia*, *Leucas martinicensis*, *Albizia schimperiana* y *Senna occidentalis* inducido 100, 99.85, 99.31, y 96.36% de inhibición del desarrollo larvario, respectivamente; mientras que los extractos hidro-alcohólicas de *Albizia schimperiana* inducidos 99,09 inhibición a la concentración más alta probada (50 mg/ml). Inhibición pobre se registró para los extractos hidroalcohólicos

de *Senna occidentalis* (9%) y *Leonotis ocymifolia* (37%) a 50 mg/ml (Eguale *et al.*, 2011).

Una investigación realizada en la Universidad del Quindío, en Colombia se avaluó la actividad antiparasitaria del extracto de hojas y frutos de *Ficus obtusifolia* Kunth (Moraceae) contra *Toxora canis* y *Toxocara cati* y como antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* y *Proteus vulgaris*. En ello el extracto etanólico del fruto demostró mayor mortalidad ante los parásitos adultos in vivo y presentó una mayor inhibición en huevos de *Toxocara canis*. Y se observó que ninguno de los extractos tuvo efectos antimicrobianos (Quesada *et al.*, 2009).

Un trabajo realizado en la Universidad Antioquia, Medellín Colombia se evaluó *in vitro* el efecto antiparasitario de extractos acuosos de *Nicotiana tabacum* y de extractos oleosos de *Azadirachta indica* sobre nematodos gastrointestinales en caprinos. El porcentaje de inhibición en la eclosión de huevos para el extracto acuoso de *N. tabacum* y el extracto oleoso de *A. indica* fue de 99 % y 80 %, respectivamente. Los resultados de la actividad nematicida a nivel *in vitro* muestran que los extractos de *N. tabacum* y *A. indica* pueden ser una alternativa promisoriosa para el control de nematodos en rumiantes (Zapata *et al.*, 2013).

En Cuba se evaluó la actividad antihelmíntica *in vitro* de extractos acuosos de hojas y semillas de Neem (*A. indica*) se estudió el efecto del extracto acuoso en la eclosión de huevecillos y el desarrollo larvario de estrombilidos gastrointestinales. Se prepararon tres concentraciones de extractos acuosos (500, 250 y 125 mg/ml). Se realizó una prueba *in vitro* de eclosión de huevecillos y otra de inhibición del desarrollo larvario. El extracto de semilla fue más efectivo en dosis de 500 mg/ml logrando reducir la eclosión de huevecillos en un 99.1% sin diferencias significativas ($p < 0.01$) con el Albendazol y en un 88.8% el desarrollo de las larvas hacia L3. Por su parte, el extracto de hojas inhibió más de un 80% la eclosión de huevos e interfirió en el desarrollo de las larvas en más de un 70%. Los resultados confirman que el árbol del Neem puede ser empleado como estrategia no farmacológica para el control parasitario, sin embargo se necesita de estudios *in vivo* y pruebas de toxicidad (Barrabí y Arece 2013).

En México se evaluó la actividad *in vitro* de *Rhizophora mangle* L., sobre el desarrollo larvario exógeno de estrongílicos gastrointestinales de ovino, utilizando tres extractos: de ellos procedentes del residual obtenido de lixiviación de la corteza como sub-producto en la producción de medicamentos registrados (acuoso y metanólico). Cada extracto se evaluó en tres niveles de concentraciones: 5 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL, sobre larvas de *Trichostrongylus* spp. Los resultados obtenidos demuestran que los tres extractos en concentraciones de 50 mg/mL, reducen significativamente ($p < 0.05$) el desarrollo de la L3 al cuarto día de experimento (sexto día de vida larvaria); con una media de efectividad de 64.12 %. Los resultados obtenidos evidencian que los extractos en estudio presentan actividad larvicida sobre los estrongílicos gastrointestinales de ovinos (Alemán *et al.*, 2011).

En la Universidad Nacional de Trujillo Perú se evaluó el efecto del extracto hidroalcohólico de las semillas de culantro, *Coriandrum sativum*, sobre la infectividad de huevos larvados con L2 de *Toxocara canis*. Para ello, se obtuvieron huevos no embrionados a partir de hembras grávidas del parásito los cuales fueron colocados en placas de Petri con SSFE durante 15 días para lograr su embrionación. Cuando estuvieron totalmente embrionados (huevo con L2) grupos de aproximadamente mil huevos fueron colocados en el extracto diluido a concentraciones de 0.5 y 1.0 mg/mL y luego inoculados por vía oral a ratones; al mismo tiempo, huevos embrionados no tratados con el extracto fueron inoculados a otro grupo de ratones (grupo control). A dicho ensayo se concluye que el extracto hidralcohólico de *C. sativum*, a las concentraciones de 0.5 y 1.0 mg/mL, inhibe la infectividad de los huevos totalmente embrionados (con L2) en una infección experimental en ratones BALB/c (Arrollo *et al.*, 2013).

El presente estudio fue evaluar el efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto metanólico de hojas de *Gliricidia sepium* (EMHGS), a través de la prueba de eclosión de huevos. Se probaron tres concentraciones del extracto: 125, 250 y 500 $\mu\text{g/mL}$; un control negativo (agua destilada) y un control positivo (levamisol 2 mg/mL). El EMHGS mostró efectos significativos $P < 0.05$ comparado con el control positivo; además mostró también un efecto dosis-dependiente de la inhibición de la eclosión de huevos. Los porcentajes de eficacia encontrados fueron: 27.7%, 46.2%, 49.7% de inhibición a 125, 250 y 500 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. La dosis media (DE50) obtenida a través del análisis

Probit para el EMHGS fue de: 394.96 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Estos resultados sugieren que el EMHGS posee actividad antihelmíntica contra huevos de nematodos gastrointestinales (Pérez *et al.*, 2014)

Las hojas de *Ocimum sanctum* se han utilizado tradicionalmente para diversas prácticas etno-veterinaria. En ovicida vitro y el potencial larvicida de extractos acuosos e hidroalcohólicos de crudo de la bombilla de *O. sanctum* se investigó. Alcaloides, hidratos de carbono, esteroides y taninos fueron identificados en los análisis fitoquímicos. El extracto acuoso mostró mejores valores de EC50 y EC99 en comparación con el extracto metanólico en el ensayo de eclosión de los huevos y la prueba de desarrollo de las larvas, respectivamente. Sin embargo, en la prueba de la parálisis de las larvas, ambos extractos acuosos y metanólicos mostraron una eficacia casi similar. Se observó una reducción de 77,64% en la producción fecal de huevos en el día 14 (Kanojiya *et al.*, 2015).

Todas las investigaciones realizadas en rumiantes, comentan que los extractos de diversas plantas que contiene metabolitos bioactivos secundarios, actúan como un potente antihelmíntico de NGI, de la misma manera se pretende evaluar *in vitro* el extracto de *Albizia lophantha* frente a NGI de caballos.

2.2. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

2.2.1. Parasitismo en Equinos

El parasitismo es una de las modalidades de asociación de seres vivos, es decir, de simbiosis, palabra que etimológicamente significa vida en común.

El parasitismo interno es uno de los peligros más comunes que comprometen diariamente la salud y el bienestar de los caballos, si no es controlado, puede acarrear graves consecuencias sobre la salud de los caballos. Todas las categorías de caballos, ponies y asnos están afectados, de cualquier edad, raza y condición de vida (Cordero, 1999).

2.2.1.1. Localización de los nematodos más comunes en equinos

Estómago: *Trichostrongylus axei*.

Intestino delgado: *Parascaris equorum*, *Strongyloides Westeri*, *Trichostrongylus axei*.

Intestino grueso: *Oxyuros equi*, *Strongylus vulgaris*, *Strongylus edentatus*, *Strongylus equinus* y pequeños stróngilos (Cordero, 1999).

2.2.2. NEMATODOS

Los nematodos son gusanos redondos no segmentados constan de especies libres y parásitas, cuya morfología presenta un cuerpo filiforme, con simetría bilateral con excepción de hembras de algunas especies. Su tamaño varía desde pocos milímetros hasta más de 1 metro de longitud. Posee aparato digestivo, sexos separados y ciclos vitales diferentes (Cordero, 1999).

2.2.2.1. Características morfológicas de los nematodos

Los nematodos tienen una cavidad corporal relativamente grande (seudoceloma) que contiene líquido a una presión que varía hasta media atmósfera por encima de la del medio circundante. Los nematodos no tienen capa musculatura circular, sino que toda la musculatura somática está orientada longitudinalmente y dividida en campos dorsal y ventral mediante extinciones laterales de la hipodermis. Una célula muscular de uno u otro campo está conectada por un proceso citoplasmático a su respectivo nervio mediano (dorsal y ventral). Y así la flexión dorsal y ventral del cuerpo es posible mediante la contracción independiente de la correspondiente área muscular, y las ondas longitudinales de contracción generan el patrón sinusoidal de locomoción característico de los nematodos (Bowman, 2004).

2.2.2.2. Sistema digestivo

El tracto o aparato digestivo está formado por un largo tubo, se inicia por la abertura oral, situada en el dominado extremo anterior del nematodo. La boca puede presentar estructuras semejantes a dientes, placas quitinosas, lancetas, conducto dorsal y en

algunas familias, como *Rhabditidae*, estar subdividida en queilostoma, prostoma, mesostoma, metastoma y telostoma. Después de la boca está el esófago, provisto de gruesa pared muscular y un lumen trirradiado. Tanto la boca como el esófago están rodeados por una capa de cutícula. El intestino se abre en el recto o cloaca en los machos, el cual está cubierto con cutícula. Del recto pasa al ano que generalmente está en la cara ventral del extremo posterior (Quiroz, 2005).

2.2.2.3. Sistema Excretor

El sistema excretor también conocido como sistema en H, está compuesto por dos tubos laterales no ramificados. El tubo excretor va desde el canal transversal al poro excretor, que generalmente está situado en la región cefálica o en la cervical del verme. La función del sistema excretor es más bien osmorreguladora o, incluso, secretora, que excreta (Cordero, 1999).

2.2.2.4. Sistema Nervioso

La estructura del sistema nervioso es bastante constante entre las diferentes especies de nematodos. Se compone de un anillo circumesofágico, o circumfaringeo, formado por ganglio dorsal, uno ventral y dos laterales, interconectados por fibrillas. De dicho anillo parten nervios cefálicos, nervios posterolaterales papilares y dos cordones nerviosos longitudinales, dorsales, ventrales y laterales. En la región anal hay otro anillo, o comisura pericloacal. Los órganos sensoriales son papilas situadas en ambos extremos del cuerpo, ánfidos en el extremo anterior o fásmidos en la región posterior (Cordero, 1999).

2.2.2.5. Sistema Reproductor

Los órganos reproductores de machos y hembras están formados por tubos cuyo extremo distal es ciego. Los órganos reproductores del macho son testículo, vesícula seminal, vaso deferente y conducto eyaculador, que termina en la cloaca. Una estructura copuladora comunes en los nematodos son las espículas, órganos alargados, más o menos filiformes, pero de contorno, longitud y grosor muy variables. El aparato genital

de las hembras está constituido por el ovario, oviducto, receptáculo seminal, útero y vagina. El aparato reproductor de las hembras que tienen un solo ovario y útero es monodelfo; los que tienen dos, didelfos; y los de más de dos polidelfos (Cordero, 1999).

2.2.2.6. Ciclo evolutivo

Los huevos de los nematodos son de forma redondeada u oval. Su tamaño varía no solo de unas especies a otras, sino también dentro de las mismas especies, sus medidas están entre 50 y 130 μm . La cubierta está compuesta por tres capas: una interna o capa lipídica, una media también denominada capa quitinosa y otra externa o capa vitelina. El desarrollo embrionario avanza pasando por tres fases: fase de mórula, blástula, y gástrula, cuando el embrión está completamente desarrollado. Los huevos cuando salen del hospedador pueden contener o no una larva desarrollada.

La eclosión de los huevos de los nematodos parásitos puede ocurrir dentro de un hospedador o en el medio ambiente. Normalmente el desarrollo evolutivo de los nematodos incluye cuatro fases larvarias antes de alcanzar el estado adulto, el proceso consiste en que la cutícula de cada fase se desprende y es sustituida por una nueva segregada por la hipodermis de las larvas. El desarrollo del ciclo evolutivo de los nematodos parásitos de los vertebrados puede requerir la presencia de un solo hospedador (ciclos monoxenos), o de dos hospedadores (ciclos eteroxenos), de los cuales uno es el hospedador definitivo y otro intermediario que actúa como vector (Cordero, 1999).

2.2.2.7. Daños que causan los parásitos en el equino

Los daños que los parásitos causan al huésped pueden ser; expoliatriz, traumática, tóxica, irritativa infectante, antigénica, mecánica, bacterífera entre otros. La totalidad de los endoparásitos sustraen al huésped, una gran cantidad de sustancias nutritivas, causándole un grave desequilibrio en la salud del hospedador. Muchos parásitos que se encuentran en los intestinos, conductos biliares, bazo sanguíneos o linfáticos, y ciertas vísceras por su cantidad y por el desarrollo que alcanzan pueden causar obstrucción o compresión. A nivel intestinal los helmintos traumatizan la mucosa con sus órganos de fijación, ventosa, ganchos, dientes, cápsula bucal (Quiroz, 2005).

Se pueden observar signos clínicos muy variados; problemas respiratorios como tos y descarga nasal, señalan el paso de las larvas al pulmón. La presencia de los adultos (áscaris) en el intestino se manifiesta por retraso en el crecimiento, pelo áspero y sin brillo, episodios diarreicos, abdomen hinchado, cólicos de intensidad variable, apatía, anorexia, problemas tendinosos y óseos, y mal estado general. Los áscaris consumen una gran cantidad de calcio, fósforo, oligoelementos (zinc, cobre), vitaminas y glucosa (Castaño, 2005).

2.2.2.8. Diagnóstico parasitológico

El diagnóstico de los parásitos se realiza mediante identificación microscópica para lo cual existen diversos métodos. En los cuales está el método flotación y sedimentación. En general, las técnicas de flotación se utilizan para detectar cualitativamente ooquistes, huevos de nematodos, cestodos, acantocephalos y ocasionalmente larvas de nematodos. El principio de este método es hacer flotar elementos contenidos en las heces. El método Mc Master es utilizado, para detectar y cuantificar ooquistes y huevos por gramo de materia fecal.

Todas las técnicas de cultivo de heces son esencialmente cualitativas porque las distintas especies de nematodos, tienen condiciones óptimas distintas para la eclosión, desarrollo, y supervivencia (Bowman, 2004).

2.2.3. NEMATODOS GASTROINTESTINALES MÁS COMUNES EN EQUINOS

2.2.3.1. *Parascaris equorum*

El *Parascaris equorum* es un nematodo de gran tamaño que se incluye dentro de la familia *Ascarididae*, del orden *Ascaridia*. Se encuentran a nivel del intestino delgado.

El macho mide de 15 a 28 cm de largo por 3 a 6 mm de ancho.

Las hembras miden de 18 a 50 de largo por 8 mm de ancho.

Los huevos tienen forma subsférica, con una capa gruesa y miden de 90 a 100 μm de diámetro (Quiroz, 2005).

2.2.3.1.1. Ciclo Biológico

El ciclo vital del *Parascaris equorum* comienza al momento que los huevos son excretados en las heces. Los embriones eclosionan de los huevos cuando estos son ingeridos por el caballo en el pasto, probablemente la larva 2 perforan el intestino delgado, y por vía sanguínea, e invadiendo los tejidos, llega al hígado y posteriormente a los pulmones donde mudan a larva 3. Después de crecer durante un cierto número de días en los anteriores órganos, las larvas ascienden por la tráquea y faringe, para pasar al esófago y estómago hasta llegar al intestino, que es el hábitat óptimo para la forma adulta. En el intestino se verifica la cópula y la puesta de huevos, que salen al exterior con las heces, e inician un nuevo ciclo (Padilla, 2002).

2.2.3.2. Oxiuros equi

Es un nematodo que se encuentra en el ciego, colon y recto del equino. Es de color blanco y existe gran diferencia de tamaño entre ambos sexos.

Los machos miden de 9 a 12 mm y las hembras 10 cm, o más dependiendo de la longitud de la cola, que puede ser extremadamente larga.

Los huevos son ovoides, asimétricos, ligeramente aplanados de un lado y tienen opérculo en uno de sus extremos; miden de 80 a 90 por 40 a 45 micras (Quiroz, 2005).

2.2.3.2.1. Ciclo Biológico

El ciclo biológico del *Oxiuros equi* empieza cuando los huevos del parásito es depositado en el orificio anal y junto con ellos una substancia irritante que cumple la función de mantener los huevos fijados a la región perianal. Dentro del huevo la larva se desarrolla rápidamente, para llegar a la segunda larva infestante en 3 a 5 días. Este desarrollo puede suceder en la piel del huésped o en el suelo, siendo necesario cierto grado de humedad.

La infestación se realiza por la ingestión de huevos con la segunda larva; la larva eclosiona en el intestino delgado y emigra al ciego y colon; luego la tercera larva se encuentra en las criptas de la mucosa del colon y ciego. A los 10 días postinfestación la

cuarta larva ya está formada y se alimenta de mucosa intestinal o de sangre dado el color rojizo que presenta durante esta etapa (Quiroz, 2005).

2.2.3.3. *Strongyloides Westeri*

El *Strongyloides Westeri* es un pequeño nematodo que se incluye dentro de la familia *Strongyloididae* del orden *Rhabditida*. Se localiza en el intestino delgado.

Los machos miden menos de 1 mm de longitud por 40-50 μm de anchura.

Las hembras miden de 8-9 mm de longitud y 80-90 μm de anchura.

Los huevos al ser puestos, son translucidos, ovals y miden 40 - 52 x 32 - 40 μm y tienen una cubierta muy fina (Quiroz, 2005).

2.2.3.3.1. Ciclo Biológico

El ciclo de biológico del *Strongyloides Westeri* empieza al momento que los huevos son evacuados en las heces, y las larvas de primer (L1) segundo estadio(L2) penetran por la piel inmediatamente las larvas migran por vía sanguínea hacia el corazón y luego de pasar por la luz pulmonar vuelven al tracto digestivo y llegan al intestino delgado donde maduran, eventualmente migran hacia las mamas o las alcanzan por penetración percutánea y allí permanecen para activarse durante el inicio de la lactancia (Cordero, 1999).

2.2.3.4. *Trichostrongylus axei*

Es un pequeño nematodo de la familia *Trichostrongylidae*. Se encuentra en el estómago e intestino delgado del caballo.

El macho mide 2.3 a 6 mm y la hembra 3.2 a 8 mm de largo (Quiroz, 2005).

Los huevos son ovoides y miden 79-92 x 31-41 μm de anchura (Cordero, 1999).

2.2.3.4.1. Ciclo Biológico

El ciclo vital del *Trichostrongylus axei* se da al momento que los huevos son eliminados al exterior del equino por medio de las heces. Cuando las condiciones

ambientales son favorables emerge a larva (L1) a la vegetación (pasto, forraje), L1 puede sobrevivir en la vegetación hasta 6 meses. Van mudando su cutícula una vez en cada estado larvario (L1-L2-L3-L4). A la vez que se alimenta en la vegetación, L3 es ingerido por el equino, luego pasa al estómago e intestino delgado del caballo y se aloja en la mucosa para completar su desarrollo a adultos (L4) y volver a depositar huevos que nuevamente serán eliminados al exterior del animal a través de las heces. El periodo de prepatencia es de unas 3 semanas (Junquera, 2007).

2.2.3.5. *Strongylus spp.*

Son los nematodos más frecuentemente encontrados en equinos de todas las edades. Se dividen en grandes estróngilos (subfamilia *Strongylinae*) y pequeños estróngilos (subfamilia *Cyathostominae*). Ambos grupos son morfológicamente muy similares y los adultos de ambos grupos se alojan en colon mayor y ciego.

2.2.3.5.1. Grandes Estróngilos

En los caballos, los grandes estróngilos son parásitos frecuentes del intestino grueso, desde donde las larvas efectúan migraciones complejas a todo el organismo y son responsables de problemas variados y a menudo graves, tales como el cólico tromboembólico el cual puede causar la muerte.

Entre las 3 especies principales de grandes estróngilos del caballo están:

2.2.3.5.1.1. *Strongylus vulgaris*

Es el más patógeno y más frecuente, su larva es la responsable de arteritis parasitarias.

Se localiza a nivel de intestino grueso de equinos.

El macho mide 14-16 mm de longitud, y la hembra de 20-24 mm.

Los huevos son ovals y de cubierta delgada miden 83 a 93 por 48 a 52 μm . (Quiroz, 2005).

2.2.3.5.1.2. *Strongylus equinus*

Se encuentran en el intestino grueso, de los equinos.

En estado fresco es de color gris rojizo, el macho mide de 26 a 35 mm y la hembra de 38 a 47 mm de largo.

Los huevos son ovales, de cascara fina, segmentados en el momento de la puesta y miden 70 a 85 por 41 a 47 μm (Quiroz, 2005).

2.2.3.5.1.3. *Strongylus edentatus*

Se encuentra en el intestino grueso de los equinos.

Es ligeramente más corto el macho mide entre 23 a 28 y las hembras de 33 a 34 mm, siendo su anchura entre 1.5- 2.2 mm y, generalmente, hay un claro estrechamiento a manera de cuello detrás de la cabeza, que es más ancha que el resto.

Los huevos miden 78- 88 x 48-52 μm y su morfología es similar a los de la especie anterior (Cordero, 1999).

2.2.3.5.1.4. Ciclo biológico de los grandes estróngilos del equino

El ciclo biológico es directo y similar para todas las especies del grupo. Inicia cuando los huevos son eliminados junto con las heces. La fase larvaria de (L1, L2, L3) se dan en el suelo en condiciones favorables de temperatura, cuando el equino consume las larvas L3 junto con el pasto, llegan al intestino delgado donde se presenta la ecdisis; luego traspasan la mucosa e inician una migración ascendente por la íntima de las arterias mesentéricas, finalizando ésta en la raíz de la arteria aorta, donde mudan a L4 y luego a L5 causando los aneurismas verminosos. Después de algunas semanas las L5 penetran a la luz arterial y descienden por el torrente sanguíneo hasta el intestino, traspasan la mucosa del colon mayor donde mudan a parásitos adultos.

Su periodo prepatente es de aproximadamente 6 a 9 meses (Johnstone, 1998).

2.2.3.5.2. Pequeños Estróngilos

Los pequeños estróngilos (o ciatostomas) son los parásitos intestinales más frecuentes encontrados en los équidos.

También llamados cyathostominos agrupan 13 géneros y más de 51 especies. Los géneros más importantes son *Cyliscotephanus*, *Cylicocyclus* y *Cyathostomum*, estos se localizan a nivel del intestino grueso.

Son de tamaño mediano o pequeño, con una capsula bucal corta y cilíndrica o anular. Carecen de dientes, en el interior de la cápsula, poseen coronas radiales externa e interna. La bolsa caudal de los machos está bien conformada y la costilla dorsal es doble y ramificada. La vulva en las hembras se abre cerca del ano, en la extremidad caudal (Cordero, 1999).

2.2.3.5.2.1. Ciclo biológico de los pequeños estróngilos del equino

El ciclo biológico es directo y similar para todas las especies del grupo. Empieza cuando los huevos caen al medio ambiente junto con la materia fecal que otorga un hábitat favorable para el desarrollo de los huevos de los pequeños estróngilos, mientras que las larvas infectantes (L3) viven en la tierra o sobre la superficie de las plantas. A una temperatura ambiental de 25°C en 4 a 7 días se desarrolla el 68% de L3. Su desarrollo es óptimo en los meses de verano, y nulo durante los meses de invierno. Las L3 se caracterizan por tener una cola muy larga y por ser muy resistentes a las condiciones ambientales, pudiendo sobrevivir por más de 1 año.

Al ser ingeridas pierden su vaina de protección, en el intestino delgado penetrando en la submucosa cecal y del colon mayor, donde forman nódulos pequeños de color amarillento o grandes nódulos de color rojizo. Allí mudan a L4 y L5 regresando luego al lumen del ciego y colon ventral derecho, con un periodo prepatente de 4 a 6 semanas hasta 3 a 4 meses. Estos parásitos también tienen la capacidad de desarrollar el estado de hipobiosis que consiste en el enquistamiento de larvas L3 de la mucosa intestinal, sobre todo en los meses de invierno o en áreas con cambios climáticos extremos o muy marcados (Prada, 2004).

2.2.3.6. Control y tratamiento

El control depende de medidas higiénicas en las caballerizas, es decir comederos que eviten la contaminación fecal y el tratamiento con larvas y adultos de acuerdo con el periodo prepatente. (Quiroz, 2005).

En la actualidad se dispone de antihelmínticos eficaces, para los parásitos en fase adulta e incluso para algunos de sus fases larvianas y que corresponden a diversos grupos farmacológicos, con mecanismos diferentes de acción sobre los parásitos.

Varios bencimidazoles se utilizan con buen resultado, ente los bencimidazoles simples tenemos; cambendazol se utiliza a razón de 20 mg/kg pv dosis única, tiabendazol se utiliza una dosis de 44 mh/kg pv y se recomienda repetir al as 24 h. Benzimidazoles carbamatos se utiliza; fenbendazol en dosis de 10 mg/kg pv / 3 días vía oral, oxfendazol en dosis de 10 mg/kg pv y el oxibendazol en dosis única de 10-15 mg/kg pv, parbendazol a dosis de 15-30 mg/kg pv. Probencimidazoles están; febantel dosis única de 6 mg/kg pv, netobimina 12.5 mg/kg pv, vía oral (Sumano y Ocampo 2002).

Entre los tetrahidropirimidinas, el pamoato de pirantel en dosis de 13.2 mg/kg de pv. Finalmente, entre las avermectinas se utiliza la ivermectina, con excelente eficacia en dosis de 0.2 mg/kg de pv vía oral (Plumb, 2010).

2.2.4. *Albizia lophantha*

Es una planta leguminosa de la familia *Mimosaceae* conocida también con el nombre de: Albizia, Acacia nigra, Acacia bracinga (Willd y Benth 1844) citado por Llambrich, 2012).

2.2.4.1. Descripción

Originaria de Australia, árbol de crecimiento muy rápido que puede alcanzar hasta 7 m de altura, con un tronco que no suele superar los 50 cm de ancho. Sus hojas son bipinnadas, de color verde. Las inflorescencias son de color amarillo. Las hojas es

ramoneadas por el ganado y el árbol se pueden utilizar como ornamental. Se dice que contiene un nivel alto en taninos (Willd Benth) citado por Llambrich, 2012).

2.2.5. TANINOS

Los taninos se encuentran ampliamente distribuidos en tallos, hojas e inflorescencias de diversas especies forrajeras y plantas dicotiledóneas. Son compuestos químicos formados por fenoles solubles en agua con un peso molecular que varía entre los 500 y los 3 000, además de poseer la propiedad de precipitar ciertos componentes de las plantas tales como alcaloides, carbohidratos y principalmente proteínas, formando con estas últimas un complejo estable (Leinmuller *et al.*, 1991; Vaithiyanathan y Kumar, 1993) citado por Márquez y Suárez 2008).

2.2.5.1. Taninos hidrosolubles (TH)

Los TH son derivados de los ácidos gálico y elágico; son de bajos pesos moleculares y son solubles en agua estos tanino pueden ser absorbidos en el intestino delgado y a la vez pueden ser tóxicos cuando son suministrados en altas cantidades. Los TH son potencialmente tóxicos para los rumiantes ya que son degradados por los microorganismos del rumen y absorbidos en forma de pyrogallol, una toxina con efecto tanto hepatotóxico como nefrotóxico (Reed, 1995; Hagerman *et al.*, 1992) citado por Márquez y Suárez 2008).

2.2.5.2. Taninos condensados (TC)

Los TC o proantocianidinas, son más comunes y se encuentran difundidos en leguminosas, árboles y arbustos. Son estructuralmente complejos de oligómeros y polímeros de unidades flavonoides (flavan-3-ol, flavan-3,4-diol y biflavanes) unidos mediante enlace carbono-carbono, y no son susceptibles de degradación enzimática anaeróbica. Normalmente se encuentran en las vacuolas de las células y en las paredes celulares de las plantas (Andrabi *et al.*, 2005; Stürn *et ál.*, 2007) citado por Márquez y Suárez 2008).

2.2.5.3. Efectos antihelmínticos de los (TC)

Un mecanismo de acción directa de los TC sobre el control de nematodos es la unión de estos a la cutícula de la larva, la cual está compuesta por una alta cantidad de glicoproteínas que al ser destruidas y disminuidas producen la muerte del parásito (Iqbal *et al.* 2007)

2.2.6. HIPÓTESIS

El extracto de *Albizia lophantha* tiene propiedades antihelmínticas sobre los nematodos gastrointestinales de equinos.

2.2.7. VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

2.2.7.1. Variable Independiente:

Extracto de *Albizia lophantha*

2.2.7.2. Variable Dependiente:

Inhibición en la eclosión de huevos de NGI.

Dosis letal en larvas de primer (L1) y segundo estadio (L2).

2.2.8. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 1. Tipos de variables con conceptualización, características, indicadores e índices.

Tipo de Variable	Conceptualización	Características	Indicadores	Índice
Independiente	Extracto de <i>Albizia lophantha</i>	Sustancia extraída de una planta leguminosa con actividades antihelmínticas.	Antihelmíntico	%
Dependiente	Inhibición de la eclosión de huevos de NGI	Inhibe el estado en donde un ser vivo alcanza su máximo nivel de desarrollo y está listo para nacer.	Huevos de parásitos	%
	Dosis letal en larvas de primer (L1) y segundo estadio (L2).	Dosis de una sustancia o radiación que resulta mortal para un conjunto de animales de prueba.	Sustancia eficaz aplicada en un tratamiento.	mg/mL

Fuente: Edison Chicaiza, 2015.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Enfoque, Modalidad y Tipo de Investigación

3.1.1. Enfoque

El enfoque de la investigación fue cuantitativo, puesto que se realizaron estudios estadísticos para tabular los diferentes resultados obtenidos, que necesitaron de sus elementos más prácticos, datos que se puede contar, procesar y ordenar en el transcurso de la investigación.

3.1.2. Modalidad

La investigación presentó una modalidad mixta debido a que se realizó la ejecución del proyecto, a nivel de campo, laboratorio y a la vez un previo sustento en la investigación bibliográfica y documental.

3.1.3. Tipo de investigación

Exploratorio, descriptivo, y explicativo, por lo que se evaluó el efecto *in vitro* del extracto de *Albizia lophantha* sobre nematodos gastrointestinales de caballos.

3.2. UBICACIÓN DEL ENSAYO.

La investigación se realizó en la Universidad Técnica de Ambato en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias la misma que se encuentra ubicada en el sector de Querochaca, Cantón Cevallos Provincia de Tungurahua.

Sus coordenadas geográficas son; 1°22'07.5'' de latitud Sur, 78°36'23.4'' de longitud Oeste, a una altitud de 2900 msnm (Sistema de posicionamiento global GPS).

3.3. FACTORES DE ESTUDIO

Para la presente investigación se aplicó *in vitro* tres dosis del extracto de *Albizia lophantha* (Tabla 2).

Tabla 2. Tratamientos y dosis a aplicarse en la investigación.

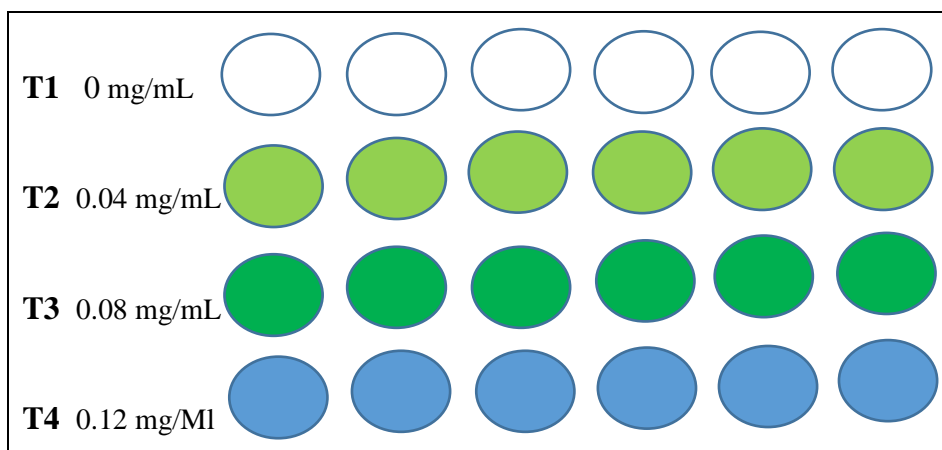
Símbolo	Descripción
T.1	0 mg/mL
T.2	0.04 mg/mL
T.3	0.08 mg/mL
T.4	0.12 mg/mL

3.4. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos y 6 repeticiones, (cajas de cultivo con huevos y larvas de nematodos gastrointestinales de equinos).

Para los 4 tratamientos (T1, T2, T3, T4), cada uno de ellos estaba formado por 6 cajas Petri de 6 cm de diámetro (Tabla 3).

Tabla 3. Esquema de la distribución de los tratamientos en las placas.



3.5. DATOS TOMADOS O RECOLECTADOS

Para realizar la investigación se tomaron muestras de heces directamente del recto de equinos parasitados. Luego se hizo una coproscopía inicial para conocer la cantidad de huevecillos por gramo de heces (HPG) mediante la técnica de Mc Master.

Se hizo una siembra y cultivo de huevos de nematodos gastrointestinales de equinos en cajas Petri de cultivo celular, para cultivar larvas de primer (L₁) y segundo estadio (L₂) para la aplicación *in vitro* del extracto de *Albizia lphantha*.

3.6. MATERIALES

3.6.1. Materiales de campo

- Overol
- Botas
- Sogas
- Guantes de látex desechables
- Fundas plásticas
- Termo de polietileno

3.6.2. Material biológico

- Equinos
- Heces de equinos

3.6.3. Materiales de laboratorio

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Microscopio
- Incubadora
- Cámara de Mc Master

- Balanza
- Pinzas
- Coladores
- Micropipeta Pasteur
- Vasos de plástico desechables
- Cajas Petri

3.6.4. Sustancias

- Solución azucarada
- Solución fisiológica

3.6.5. Otros

- Computadora e impresora
- Cámara fotográfica

3.7. MÉTODOS Y TÉCNICAS UTILIZADAS

3.7.1. Recoleta de las hojas

Las hojas de *Albizia lophantha* fueron colectadas de árboles de aproximadamente 5 metros de altura encontrados en los predios de la facultad de Ciencias Agropecuarias.

3.7.2. Obtención del extracto

El material vegetal fue secado a 60 °C en estufa durante 24 horas. Una vez seco el material se procedió a triturarlo y posteriormente se pesó 100 gr. Luego se introdujo en un balón aforado de fondo redondo con una capacidad de 1 litro, inmediatamente se agregó el disolvente (300mL de Alcohol etílico al 50%) y se sometió a baño maría a una temperatura de 70 °C durante una hora. Se dejó en reposo a temperatura ambiente y se filtró a través de un papel filtro. Al extracto se le realizó un Screening fitoquímico para determinar la presencia de taninos y fenoles totales. Lo cual consistió en evaporar 5 ml

de extracto de *Albizia lophantha* a ello se agregó 25 ml de agua destilada calentando el residuo se mesclo bien; luego se dejó que se enfríe al ambiente. Posteriormente se adiciono 4 gotas de NaCl al 10% con el objetivo de salificar cualquier compuesto no tánico y por consiguiente eliminar la posibilidad de un test falso – positivo.

Para la interpretación de resultados (taninos y compuestos fenólicos totales) se filtró en papel filtro la solución resultante y se colocó en 4 tubos de ensayo 3 mL/tubo.

Test:

El tubo 1, sirve como control

Al tubo 2, se agregó 5 gotas de gelatina al 1%: y se observó la posible formación de precipitado.

Al tubo 3, se añadió 5 gotas de reactivo gelatina – cloruro (gelatina al 1% + NaCl al 10%); y observar si hay precipitación.

Al tubo 4, se agregó 4 gotas de FeCl_3 : y se observó el color o precipitado producido en la solución.

Interpretación de los resultados:

- A. Si no hay reacción con FeCl_3 , los compuestos fenólicos y taninos están ausentes.
- B. Si no hay precipitación (test de gelatina – cloruro, negativo) pero se producen coloraciones después de la adición de FeCl_3 , se concluye que no hay taninos presentes y que los cambios de color se deben a la presencia de otros tipos de constituyentes de naturaleza fenólica.
- C. Si después de añadido FeCl_3 , se producen coloraciones verde azulada o verde negruzco (asumiendo que no se notó precipitación después de hacerse el test; de la gelatina – cloruro), indica la presencia de taninos.
- D. Si después de la adición de FeCl_3 , (asumiendo que se presentó precipitación posteriormente al test de la gelatina – cloruro), aparece un color azul oscuro denota la presencia de taninos (Castillo *et al.*, 2014).

3.7.3. Obtención de huevos de NGI de equinos

La colecta de las muestras de huevecillos se realizó a partir de 10 animales infestados. Se hizo una coproscopía inicial para estimar la cantidad de huevecillos g/heces mediante la técnica de Mc Master con solución azucarada. Las muestras fecales se colectaron vía rectal y puestas en fundas plásticas dentro de un termo de polietileno a una temperatura de 4°C para trasladarlas al laboratorio y posteriormente ser analizadas. En las muestras analizadas se encontraron huevecillos que corresponden a los siguientes parásitos: *Strongylus spp.*, *Parascaris equorum*, *Trichostrongylus axei*, y *Strongyloides westeri*.

3.7.4. Variables de respuesta

Inhibición de la eclosión de huevos *in vitro*: para estimar la inhibición se sembró los huevecillos de NGI de equinos, mediante la técnica de Willis (flotación). Con una micropipeta se cogió 10 µl de la superficie del contenido y se depositó en un porta objetos y se observó al microscopio. Se escogió 50 huevecillos y se depositó en cajas Petri de cada tratamiento ($n=6$) que contenían 3 mL de un cultivo nutritivo y se incubó a 24°C. 16 h después (hora 0) de la siembra se aplicó las dosis del extracto de acuerdo a cada tratamiento y se volvió a incubar por 24 horas. Posteriormente se procedió al conteo de huevos no eclosionados y larvas L₁ (hora 24) según la metodología descrita por Marie-Magdeleine *et al.*, (2009)

Mortalidad larval *in vitro*: se sembraron 50 huevos en cajas Petri de cada tratamiento ($n=6$) según el método arriba descrito. Luego de eclosionar los huevos a estado larval L₁ y L₂, se procedió a aplicar las dosis del extracto según corresponda a cada tratamiento (hora 0) y se incubó a 24 °C. Posteriormente se observó al microscopio cada 12 h, hasta las 72 h, para contabilizar las larvas muestras por cada tratamiento (Marie-Magdeleine *et al.*, 2009).

3.7.5. Análisis estadístico

Las variables fueron analizadas según el diseño empleado mediante el PROC GLM del SAS. La comparación de medias se la realizó mediante la prueba de Tukey en el paquete estadístico SAS 2009.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS

El Screening fitoquímico del extracto de *Albizia lophantha* demostró alta concentración de taninos y fenoles totales (Tabla 4). Los huevos de parásito que más prevalencia tuvo en el estudio fue *Strongylus spp.*, seguido por *Trichostrongylus axei*, *Strongyloides westeri*, y *Parascaris equorum* (Tabla 4).

Tabla 4. Concentración de taninos y fenoles totales de la *Albizia lophantha* y porcentaje de huevos de NGI.

Forraje	Compuestos secundarios	
	Taninos Totales	Fenoles Totales
<i>Albizia lophantha</i>	+++	+++

Tipo de parásitos	% de huevos de NGI de caballos
<i>Strongylus spp.</i>	50%
<i>Trichostrongylus axei</i>	25%
<i>Strongyloides westeri</i>	20.83%
<i>Parascaris equorum</i>	4.16%

(+++)= abundante presencia de taninos y fenoles totales

La inhibición en la eclosión de huevos mostró diferencias ($P=0.0001$) entre los tratamientos con las dosis más altas (T4 y T3) del extracto *Albizia lophantha* con respecto a los demás tratamientos, mostrando 43 y 11% de inhibición respectivamente (Tabla 5).

Tabla 5. Inhibición de la eclosión de huevos *in vitro* de nematodos gastrointestinales de caballos a diferentes niveles de extracto de *Albizia lophantha*

Horas	Tratamientos				ESM	Valor <i>P</i>
	T1	T2	T3	T4		
0	50 A	50 A	50 A	50 A	0	>0.05
24	50 A	50 A	44.00 B	28.00 C	0.529	0.0001
% inhibición de huevos	0.0 C	0.0 C	11.00 B	43.00 A	1.059	0.0001

^{abc} Medias con letras diferentes entre filas difieren significativamente ($P<0.05$). ESM: Error Estándar de la Media. T1: 0 mg de extracto/mL de cultivo (mg/mL), T2: 0.04 mg/mL, T3: 0.08 mg/mL, T4: 0.12 mg/mL.

Con respecto a la mortalidad larval, se observa en la Tabla 6 que a partir de las 12 horas mostraron diferencias ($P= 0.0001$) los tratamientos con dosis ascendentes del extracto de *Albizia lophantha* frente al control (T1). A partir de la hora 36 h en el tratamiento T4 se observó 0% de supervivencia larval, seguido inmediatamente por el T3, con un 44% y el T2 con el 64% de supervivencia larval, observando diferencias ($P=0.0001$) con los demás tratamientos. En los tratamientos T3 y T2 la menor ($P=0.0001$) supervivencia larval se observó a las 48h: (T3 14%), 60h: (T3 0%) y 48h: (T2 36%), 60h: (T2 22%) respectivamente. Al final del experimento (72h) se observó que el tratamiento T2 mantuvo el 22% y el T1 el 100% de supervivencia larval (Tabla 6).

Tabla 6. Supervivencia y mortalidad larval *in vitro* (por horas) de nematodos gastrointestinales de caballos a diferentes niveles de extracto de *Albizia lophantha*

Horas	Tratamientos				ESM	Valor <i>P</i>
	T1	T2	T3	T4		
0	50 A	50 A	50 A	50 A	0	>0.05
12	50 A	47.00 B	47.00 B	44.00 C	0.411	0.0001
24	50 A	38.00 B	32.00 C	21.00 D	0.841	0.0001
36	50 A	32.00 B	22.00 C	0.00 D	0.746	0.0001
48	50 A	18.00 B	7.00 C	0.00 D	0.578	0.0001
60	50 A	11.00 B	0.00 C	0.00 D	0.396	0.0001
72	50 A	11.00 B	0.00 C	0.00 C	0.403	0.0001

^{abcd} Medias con letras diferentes entre filas difieren significativamente ($P<0.05$). ESM: Error Estándar de la Media. T1: 0 mg de extracto/mL de cultivo (mg/mL), T2: 0.04 mg/mL, T3: 0.08 mg/mL, T4: 0.12 mg/mL.

DISCUSIÓN

El efecto encontrado del extracto de *Albizia lophantha* sobre la inhibición en la eclosión de huevos y la supervivencia larval de los NGI de caballos se dio posiblemente a la presencia de metabolitos secundarios bioactivos (taninos y fenoles totales) en el extracto (Tabla 4). Estos metabolitos tienen capacidad para formar complejos con las proteínas de los parásitos (Alonzo-Díaz *et al.*, 2010) esto afecta la biología de los nematodos interfiriendo en la tensión superficial del huevo y por lo tanto inhibiendo la eclosión, proceso de desenvaine y desarrollo larval (Iqbal *et al.*, 2007). Ello parece suceder por la capacidad de unirse a las glicoproteínas de las cutículas de los parásitos adultos o de las vainas de las larvas infestantes (dos estructuras ricas en prolina e hidroxiprolina) o las enzimas secretadas que participan en diversas funciones esenciales y el metabolismo

(Min *et al.*, 2003; Molan *et al.*, 2003; Hoste *et al.*, 2006). Pérez *et al.*, 2014 demostró que el extracto de hojas de *Gliricidia sepium* también interfiere en la inhibición sobre la eclosión de huevos y fase larvaria de NGI de ovinos obteniendo resultados significativos $P < 0.05$ comparado con el control en el ensayo. Estos resultados son consistentes con los reportados por Marie-Magdeleine *et al.*, (2009) y Hernandez-Villegas *et al.*, (2014) quienes observaron un efecto antihelmíntico en nematodos gastrointestinales en rumiantes.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de este estudio, podemos concluir que el extracto de *Albizia lophantha* mostró efectividad sobre la eclosión de huevos y la fase larvaria de NGI de caballos.

Al evaluar *in vitro* los efectos del extracto de *Albizia lophantha* en la investigación, se pudo determinar la dosis más eficaz sobre la eclosión y la mortalidad larvaria de NGI de caballos.

Se comprobó que el extracto de *Albizia lophantha* tiene propiedades antihelmínticas debido a los compuesto bioactivos (taninos y fenoles totales) que contienen dicha planta.

5.2. RECOMENDACIONES

A partir de los resultados encontrados en la presente investigación se recomienda:

Diseñar y ejecutar investigaciones en otros estadios del ciclo de vida de los nematodos gastrointestinales de caballos que permita evaluar los posibles efectos antihelmínticos *in vitro* de esta planta.

Realizar estudios *in vitro* similares con otro tipo de plantas que contengan propiedades antihelmínticas, con la finalidad de ser evaluados en otra fase *in vivo* y minimizar el uso de productos químicos.

Comentar las técnicas y los resultados obtenidos en la presente investigación mediante congresos y publicaciones.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1. TÍTULO

Aplicación del extracto de *Albizia lophantha* como un método de control de NGI de caballos.

6.2. FUNDAMENTACIÓN

La búsqueda de alternativas a minimizar el uso de desparasitantes, ha hecho que nos encaminemos al estudio y uso de plantas forrajeras con propiedades antihelmínticas para minimizar la presencia de nematodos gastrointestinales en los animales.

El uso de plantas bioactivas ricas en metabolitos secundarios (taninos), puede ser una alternativa de control de estos NGI, debido a que han mostrado ser un potente antihelmíntico natural contra NGI en rumiantes (Hernandez-Villegas *et al.* 2014). El efecto antihelmíntico de los taninos ha sido asociado con su capacidad para formar complejos con la proteína de los parásitos (Alonso-Díaz *et al.*, 2010) de esta manera, los taninos podrían afectar la biología de los nematodos (Alonso-Díaz *et al.*, 2008, Brunet *et al.*, 2011).

Otro mecanismo de acción directa de los taninos en los parásitos es la unión de estos a la cutícula de la larva, la cual está compuesta de glicoproteínas que al ser destruidas o disminuidas producen la muerte del parásito (Iqbal *et al.*, 2007).

6.3. OBJETIVO

Evaluar *in vivo* el efecto del extracto de *Albizia lophantha* sobre los NGI en caballos.

6.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

La parasitosis se ha convertido en uno de los casos más graves e importantes a tratarse en la producción equina, y ha impulsado al uso y abuso de fármacos existentes para prevenir o tratar la sintomatología que es presentada por parásitos gastrointestinales. Incluso se ha demostrado la aparición de resistencia a los fármacos por el uso excesivo de los mismos (Sangster, 1999).

Tratando de reducir el uso de fármacos Antihelmínticos, se propone el uso de extractos, de plantas con efectos nematocidas por su composición de metabolitos secundarios, es muy importante recalcar que el extracto de *Albizia lophantha* también contiene propiedades antihelmínticas debido al alto contenido de metabolitos secundarios (taninos y fenoles totales), con la aplicación de este extracto se pretende contrarrestar la presencia de NGI en los caballos, así poder brindarles una mejor calidad de vida y lograr un mayor desempeño en las actividades que son sometidos.

6.5. MANEJO TÉCNICO

6.5.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO

Recolectar hojas de *Albizia lophantha*, proceder a secarlas en una estufa a una temperatura de 60°C durante 24 horas, luego triturarlas en un mortero. Pesar 100 gr de hoja molida y ponerlo en un balón aforado de fondo redondo de capacidad de un litro, luego en un envase medir un volumen de 300ml de alcohol etílico al 50% posteriormente agregarlo a la hoja molida, inmediatamente ponerlo a baño maría a 70 °C por una hora. Luego dejarlo enfriar a temperatura ambiente y proceder al filtrado sobre un papel filtro. Pasado el filtrado se observa un color verde oscuro.

6.6. ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO DE *Albizia lophantha*

Se recomienda utilizar la dosis eficaz evaluada en la investigación 0.12 mg/kg VO.

BIBLIOGRAFÍA:

Alemán et al., 2011. Actividad larvicida de extractos de *Rhizophora mangle* L. Contra estronglidos gastrointestinales de ovinos. (en línea). Revista Salud Animal. 33(2):111-115. Consultado 14 Jul. 2015. Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v33n2/rsa07211.pdf>

Alonso-Díaz, M. A., Torres-Acosta, J. F. J., Sandoval-Castro, C. A., and Hoste, H. (2010). Tannins in tropical tree fodders fed to small ruminants: A friendly foe? Small Ruminant Research 89, 164-173. Consultado 20 ago. 2015. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448809003125>

Alonso-Díaz M A, Torres-Acosta J F J, Sandoval-Castro C A, Capetillo-Leal C, Brunet S, and Hoste H. 2008. Effects of four tropical tanniferous plant extracts on the inhibition of larval migration and the exsheathment process of *Trichostrongylus colubriformis* infective stage. (en línea). Veterinary Parasitology 153(1-2): 187-192. Consultado 20 ago. 2015. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401708000320>

Arrollo V, et al., 2013. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Coriandrum sativum* (Apiaceae) sobre la infectividad de huevos embrionados de *Toxocara canis* en *Mus musculus* BALB/c. (en línea). REBIOLEST. 1(1): 37-42. Consultado 14 Jul. 2015. Disponible en <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/179/185>

Barrabí y Arece 2013, Actividad antihelmíntica *in vitro* de extracto acuoso de hojas y semillas de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss). I. Inhibición de la eclosión de huevos y del desarrollo larvario. (en línea). Revista Salud Animal. 35(2):103-108. Consultado 13 Jul 2015. Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v35n2/rsa05213.pdf>

Boren y Romero, J. 2012, Parasitología y Enfermedades Parasitarias. (en línea). Facultad de Cs. Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. p., 1...7. Consultado 21 Jul. 2015. Disponible en

http://cedivechascomus.com.ar/wp-content/uploads/2014/03/Nematodes_gastrointestinales-de-los-equidos2012.pdf

Bowman, D. MS, PhD, 2004. Parasitología para Veterinarios, Ed. 8va Edit. Elsevier España S.A., Madrid – Barcelona –Ámsterdam – Boston – Filadelfia – Londres – Orlando – Tokio - Toronto. 164 p.

Castillo M. et al., 2014. Preliminary Phytochemical Screening of Some Andean Plants, Ecuador. (en línea). Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. (7):35-37. Consultado 21 Jul. 2015. Disponible en <http://globalresearchonline.net/journalcontents/v28-2/07.pdf>

Brunet, S. 2011. Ultrastructural changes in the third-stage, infective larvae of ruminant nematodes treated with sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) extract. (en línea). Parasitology International. 60, 419–424. Consultado 20 Ago. 2015. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383576911000936>

Cordero del Campillo M, Rojo Vázquez F.A.1999. Parasitología Veterinaria, Mac Graw Hill. Interamericana. Capítulo 10, Nematodos, Parasitosis de los equinos. Ed. Primera, Madrid: Impreso en Edigraafos, S.A. 533 p.

Donald C. Plumb, Pharm.D. 2010, Manual de Farmacología Veterinaria. Sexta Edición. Editorial Inter-medica Buenos Aires- República de Argentina. S.A.I.C.I. 622-867 p.

Héctor S. Sumano Lopez, Ocampo, L. 2006. Farmacología Veterinaria. Tercera edición. Interamericana. México. 452-462 p.

Egualé, T et al, 2011. *In vitro* anthelmintic activity of crude extracts of five medicinal plants against egg-hatching and larval development of *Haemonchus contortus*. (en línea). Journal of Ethnopharmacology. 137, 108-113. Consultado 20 ago. 2015. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874111003151>

Hernandez-Villegas, M., Pérez-Pérez, C., de la Cruz-Burelo, P., Hernández-Bolio, G., & Bolio-López, G. (2014). *In vitro* anthelmintic effect of methanolic leaf extract of

Gliricidia sepium against gastrointestinal nematodes of sheep. (en línea). Tropical And Subtropical Agroecosystems, 17(1): 105-111. Consultado 20 ago. 2015. Disponible en <http://www.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/1931>

Iqbal, Z., Sarwar, M., Jabbar, A., Ahmed, S., Nisa, M., Sajid, M. S., Khan, M. N., Mufti, K. A., and Yaseen, M. (2007). Direct and indirect anthelmintic effects of condensed tannins in sheep. (en línea). Veterinary Parasitology 144, 125-131. Consultado 20 ago. 2015. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401706005504>

INIA, 2004. Seminario de Actualización; “parasitosis gastrointestinales en ovinos y bovinos”. (en línea). Consultado 2 mar. 2015. Disponible en <http://www.crilu.org.uy/revistas/SAD%20369.pdf>

Johnstone, C. 2005. Parásitos y enfermedades parasíticas de los animales domésticos. Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad de Pennsylvania. (en línea). Consultado 2 mar. 2015. Disponible en <http://cal.vet.upenn.edu/projects/merialsp/index.html>

Junquera, P. 2007. Parásitos del Ganado, Perros y Gatos, Biología y ciclo vital de *Trichostrongylus*. (en línea). Consultado 12 ene. 2015. Disponible en http://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=166&Itemid=246

Llambrich, E. 2012. Fitocromo y cierre nictinástico foliar intermediarios y sistemas efectores implicados, Tesis doctoral, Universidad de Barcelona. (en línea). Consultado 16 abr. 2015. Disponible en http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/98248/ELLM_TESIS.pdf?sequence=1

Márquez y Suárez, 2008; Uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. (en línea). Revista de Medicina Veterinaria. 87-109. Consultado 16 abr. 2015. Disponible en <http://revistas.lasalle.edu.co/index.php/mv/article/view/1449/1325>

Marie-Magdeleine C, Hoste H, Mahieu M, Varo H and Archimede H. 2009. *In vitro* effects of Cucurbita moschata seed extracts on *Haemonchus contortus*. (en línea). *Veterinary parasitology*, 161(1): 99-105. Consultado 20 ago. 2015. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401708007061>

Mehlhorn, Duwel, y Raether, W. 1993. Parasitología Veterinaria. Parásitos de caballos y burros, Edit Española: 122-133 p.

Molan, A.L., Warghorn, G.C., McNabb, W.C., 2002. Effect of condensed tannins on egg hatching and larval development of *Trichostrongylus colubriformis in vitro*. (en línea). *Veterinary Record*. 150, 65–69. Consultado 20 ago. 2015. Disponible en <http://europepmc.org/abstract/med/11837588>

Prada G, 2008 Determinación de las características morfológicas de larvas L1, L2 y L3 en parásitos gastrointestinales del equino en la región de los Lagos, Chile. (en línea). *Revista de Medicina Veterinaria*. 15, 39-48. Consultado 21 jul. 2015. Disponible en <http://revistas.lasalle.edu.co/index.php/mv/article/view/1453/1329>

Pérez C, et al., 2014. Efecto Antihelmíntico in vitro del extracto metanólico de hojas de *Gliricida sepium* contra nematodos gastrointestinales de ovinos. (en línea). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 17(1): 105-111. Consultado 21 jul. 2015. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93930735013>

Pérez R. 2013. Manual de prácticas de laboratorio de parasitología. (en línea). Universidad Autónoma De Nuevo León (26):25-36. Consultado 14 jul. 2015. Disponible en <http://es.slideshare.net/raypertam/manual-de-practicas-del-laboratorio-de-parasitologa-2013>

Puerto M, et al., 2014. Efecto in vitro de extractos acuosos de *Moringa oleifera* y *Gliricida sepium* en el desarrollo de las fases exógenas de estrostrongídeos gastrointestinales de ovinos. (en línea). *Rev. Salud Animal*. 36(1): 28-34. Consultado 21 jul. 2015. Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v36n1/rsa05114.pdf>

Quesada, Castaño y Bilbao 2009, Efecto antiparasitario de los extractos etanólicos y etéreos de *Ficus obtusifolia Kunth* (Moraceae), frente a parásitos de clase nematodos (*Toxocara catis* y *Toxocara canis*). (en línea). Facultad Ciencias de la Salud, Universidad del Quindí. Colombia. 13(4): 259-267 Consultado 6 abr. 2015. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v13n4/v13n4a04.pdf>

Quiroz, H. 2005. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. (en línea). Edit Limusa, Capítulo 19. Estomilosis Gastroentericas. 460-502 p. Consultado 6 abr. 2015. Disponible en https://books.google.com.ec/books?id=xRkXaI1Y6EC&pg=PA9&lpg=PA9&dq=Parasitolog%C3%ADa+y+enfermedades+parasitarias+de+animales+dom%C3%A9sticos.&source=bl&ots=k_hQenZurH&sig=p_gri64MnCbFWUHVIQN019pIglE&hl=es-419&sa=X&ei=BDFeVeLfE8eWNtXFgLgK&ved=0CCcQ6AEwAQ#v=onepage&q=Parasitolog%C3%ADa%20y%20enfermedades%20parasitarias%20de%20animales%20dom%C3%A9sticos.&f=false.

Sangster, N.C. 1999. Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathostomes: will it occur with the avermectine/milbemycins. (en línea). *Vet. Parasitol.* 85: 189-204. Consultado 20 ago. 2015. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401799000990>

Torres, J et al., 2015. Diagnóstico de resistencia a los antiparasitarios en rumiantes. En: Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria. (en línea). México: (12):355-403. Consultado 20 ago. 2015. Disponible en <http://www.researchgate.net/publication/278406583> CHAPTER 12 Diagnstico de resistencia a los antiparasitarios en rumiantes. En Tecnicas para el diagnostico de parsitos con importancia en salud publica y veterinaria. AMPAVE CONASA Mxico D.F

Torres et al., 2008. Efectos negativos y positivos del consumo de forrajes Ricos en taninos en la producción de caprinos. Universidad Autónoma de Yucatán México. (en línea). *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* 9(1): 83-90. Consultado 6 abr. 2015. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93911227008>

Vignau M. 2005. Parasitología práctica y modelos de enfermedades parasitarias en los animales domésticos. (en línea). 1. Consultado 22 jul. 2015. Disponible en http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc_libros/595%202675%20Parasitologia%20practica%20y%20modelos%20de%20enfermedades%20parasitaria-20110729-142830.pdf

Zapata R, Gonzalez C, Mosquera LN, Usuga IY, Polanco D, Araque P. 2013 Actividad antihelmintica *in vitro* de extractos oleosos de *Azadirachta indica* y extractos acuosos de *Nicotiana tabacum* sobre nematodos gastrointestinales de cabras. (en línea). Revista Medicina Veterinaria. (26):25-36. Consultado 14 jul. 2015. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n26/n26a03.pdf>

ANEXOS:

ANEXO 1. Inhibición de huevos de parásitos 0 mg de extracto/mL de cultivo (mg/mL).

Tratamiento 1 Testigo						
Horas	Repeticiones					
	I	II	III	III	IIII	IIIII
0	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H
24	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H

ANEXO 2. Inhibición de huevos de parásitos a dosis de 0.04 mg/mL de extracto de *Albizia lophantha*.

Tratamiento 2						
Horas	Repeticiones					
	I	II	III	III	IIII	IIIII
0	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H
24	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H

ANEXO 3. Inhibición de huevos de parásitos a dosis de 0.08 mg/mL de extracto de *Albizia lophantha*.

Tratamiento 3						
Horas	Repeticiones					
	I	II	III	III	IIII	IIIII
0	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H
24	45 L	42 L	44 L	43 L	45 L	46 L
24	5 H	8 H	6 H	7 H	5 H	4 H

ANEXO 4. Inhibición de huevos de parásitos a dosis de 0.12 mg/mL de extracto de *Albizia lophantha*.

Tratamiento 4						
Horas	Repeticiones					
	I	II	III	III	IIII	IIIII
0	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H	50 H
24	30 L	28 L	28 L	31 L	25 L	27 L
24	20 H	22 H	22 H	19 H	25 H	23 H

ANEXO 5. Mortalidad larval 0 mg de extracto/mL de cultivo (mg/mL).

Tratamiento 1 Testigo						
Horas	Repeticiones					
	I	II	III	III	IIII	IIIII
0	50 L	50 L	50 L	50 L	50 L	50 L
12	50	50	50	50	50	50
24	50	50	50	50	50	50
36	50	50	50	50	50	50
48	50	50	50	50	50	50
60	50	50	50	50	50	50
72	50	50	50	50	50	50

ANEXO 6. Mortalidad larval a dosis de 0.04 mg/mL de extracto de *Albizia lophantha*.

Tratamiento 2						
Horas	Repeticiones					
	I	II	III	III	IIII	IIIII
0	50 L	50 L	50 L	50 L	50 L	50 L
12	49	48	46	48	49	47
24	41	39	38	40	37	35
36	35	34	33	34	31	28
48	20	18	16	21	19	16
60	15	13	10	11	12	10
72	15	12	10	10	12	10

ANEXO 7. Mortalidad larval a dosis de 0.08 mg/mL de extracto de *Albizia lophantha*.

Tratamiento 3						
Horas	Repeticiones					
	I	II	III	III	IIII	IIIII
0	50 L	50 L	50 L	50 L	50 L	50 L
12	48	47	48	48	45	46
24	35	32	37	33	30	30
36	25	20	26	22	21	20
48	10	9	9	8	6	5
60	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0

ANEXO 8. Mortalidad larval a dosis de 0.12 mg/mL de extracto de *Albizia lophantha*.

Tratamiento 4						
Horas	Repeticiones					
	I	II	III	III	III	IIII
0	50 L	50 L	50 L	50 L	50 L	50 L
12	45	44	46	44	43	45
24	21	24	20	25	21	20
36	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0