

ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA *IN VITRO* DE TRES ESPECIES VEGETALES UTILIZADAS TRADICIONALMENTE EN TABASCO, MÉXICO

IN VITRO ANTIHELMINTIC ACTIVITY OF THREE PLANT SPECIES TRADITIONALLY USED IN TABASCO, MEXICO

Judith Espinosa-Moreno¹, Dora Centurión-Hidalgo¹, Gerardo Guillermo Vera y Cuspiner¹, Eréndira Pérez-Castañeda¹, Claudia Virginia Zaragoza-Vera¹, Sara Martínez-Martínez¹, Pedro Mendoza-de-Gives², y Manases González-Cortázar³

¹Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Agropecuarias. Av. Universidad s/n, Zona de la Cultura. CP 86108, col. Magisterial, Villahermosa, Centro, Tabasco, México.

²Centro de Investigación Biomédica del Sur, Instituto Mexicano del Seguro Social (CIBIS-IMSS), Xochitepec, Morelos, México.

³Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria (CENID-PAVET), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Jiutepec, Morelos, México. Correo electrónico: juespinosa@hotmail.com

RESUMEN

En la búsqueda de nuevas alternativas para el mejoramiento de la salud animal se evaluó la actividad antihelmíntica de tres plantas de uso tradicional (*Cydista aequinoctialis* L., *Heliotropium indicum* L. y *Momordica charantia* L.) en el área rural del estado de Tabasco contra *Haemonchus contortus*. Los extractos acuosos crudos se obtuvieron del material deshidratado. Cada uno de ellos fue disuelto en agua destilada a una concentración de 20 mg ml⁻¹ y la actividad antihelmíntica se evaluó en placas de ELISA de 96 pozos se colocaron alícuotas de 100 µL de extracto y 50 larvas L3 desvainadas de *H. contortus*. Como control negativo se utilizó agua destilada y como control positivo Febendazol, evaluando a las 24, 48 y 72 h de exposición. Los extractos de las tres plantas estudiadas presentaron diferente actividad antihelmíntica y la mayor mortalidad

se presentó con el fruto de *M. charantia* con 65.5% a las 72 h.

Palabras clave: *Haemonchus contortus*, *Cydista aequinoctialis*, *Heliotropium indicum*, *Momordica charantia*, actividad antihelmíntica.

ABSTRACT

Anthelmintic activity against *Haemonchus contortus* was searched as a new alternative for animal health improvement using three plants (*Cydista aequinoctialis* L., *Heliotropium indicum* L. and *Momordica charantia* L.) of traditional usage in the rural area of Tabasco State, Mexico. Aqueous extracts were obtained of dried material. Each extract was diluted in distilled water to obtain a concentration of 20 mg ml⁻¹. The antihelmintic activity was evaluated at 24, 48 y 72 h of exposition with 100 µL of

each extract and 50 L3 unsheathed larvae of *H. contortus* in a 96 well ELISA plaque. Distilled water was used as negative control and fenbendazole as positive control. All extracts of the three studied plants presented antihelmintic activity and the highest mortality, 65.5% at 72 h, was recorded with the *M. charantia* fruit extract.

Key words: *Haemonchus contortus*, *Cydista aequinoctialis*, *Heliotropium indicum*, *Momordica charantia*, antihelmintic activity.

INTRODUCCIÓN

Las parasitosis gastrointestinales provocan anualmente grandes pérdidas económicas a la ganadería, no sólo por mortalidad directa sino por ser causa de enfermedades debilitantes, agudas y crónicas. La búsqueda de alternativas para el tratamiento de estas enfermedades constituyen una necesidad imperiosa y un reto para la investigación en farmacología (Klokouzas *et al.*, 2003). Se han tratado de controlar las parasitosis usando productos farmacéuticos de tipo sintético lo cual ha causado el creciente desarrollo de resistencia antihelmíntica (RA) (Jackson y Coop, 2000), la cual se presenta cuando se administra un medicamento en la dosis y forma correcta a un animal enfermo sin que actúe eficazmente (Nari *et al.*, 2000; Benavides y Romero, 2001). La resistencia es un problema de todas aquellas áreas de producción ovina donde la quimioterapéutica es el único método de control de los parásitos; de hecho, ha surgido como el problema más importante en varios países que enfrentan el control de las infestaciones por nemátodos gastroentéricos (NGE) de pequeños rumiantes (Kaplan, 2004).

Haemonchus contortus es un nemátodo gastroentérico y uno de los parásitos más virulentos de los pequeños rumiantes que, por sus hábitos hematófagos, provoca una de las infecciones más frecuentes e importantes y de mayor afectación que ocasionan una ineficiencia biológica y económica en los sistemas pecuarios del país (Cuellar, 2003).

El descubrimiento y desarrollo comercial de nuevas moléculas con actividad antiparasitaria es un proceso excesivamente costoso y prolongado, la optimización del uso de compuestos disponibles en medicina veterinaria, parece ser el gran desafío para la terapia antiparasitaria (Lanusse, 2010). Se han propuesto diversos métodos no químicos para el control de las parasitosis, tales como el control biológico, la resistencia genética por parte de los animales así como el desarrollo de vacunas (Lifschitz *et al.*, 2002), entre los que se destaca la fitoterapia (Skrebsky *et al.*, 2008). En este contexto, la herbolaria ha dado origen a más del 30% de los medicamentos que se utilizan en la actualidad, entre ellos los antihelmínticos. Para la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2002) aquella representa una alternativa, ya que tiene el conocimiento, las habilidades y prácticas relacionadas sobre el estudio de la salud, además de presentar un valor económico significativo en la población.

La medicina tradicional es una realidad presente en todo el mundo. Como su nombre lo indica, forma parte del patrimonio cultural de cada país y emplea prácticas que se han transmitido de una generación a otra (Morón y Jardines, 1997). En México ha sido ampliamente documentado el uso de

plantas como remedios para el cuidado de la salud. Numerosas publicaciones etnobotánicas describen el empleo de los recursos herbolarios, lo que hace de las plantas no sólo un recurso natural sino parte de la historia y presente de un país (Romero *et al.*, 2005).

¿Cuál es la forma de uso etnomedicinal de estas especies?

Antihelmíntico cundeamor (*Momordica charantia* L. Cucurbitaceae): completo sin raíz (hoja, guía, tallo, fruto), se macera y lo dan como purgante.

Rabo de mico (*Heliotropium indicum* L. - Boraginaceae): La planta entera se macera y se aplica como purgante en los animales domésticos.

Flor de ajo (*Cydista aequinoctialis* Miers. Bignoniaceae): hojas en infusión para animales

El objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad antihelmíntica *in vitro* de tres especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional de los pobladores rurales de Tabasco, México.

MÉTODOS

Las especies vegetales que se incluyeron en este trabajo fueron seleccionadas con base en el reporte de Espinosa *et al.* (2009) como plantas utilizadas en la medicina tradicional de las comunidades rurales de Tabasco contra los helmintos. Las especies usadas para estudiar *in vitro* la actividad contra *Haemonchus contortus* fueron cundeamor (*Momordica charantia* L. Cucurbitaceae), rabo de mico (*Heliotropium indicum* L. Boraginaceae) y flor de ajo (*Cydista aequinoctialis* Miers. Bignoniaceae). Las muestras de hoja y fruto de *M. charantia*,

hoja de *H. indicum* y hoja de *C. aequinoctialis* se colectaron durante el mes de junio de 2010 en los municipios Centro y Macuspana del estado de Tabasco, México. Un espécimen de cada planta se depositó en el herbario de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (Voucher: *Momordica charantia* – 33543; *Heliotropium indicum* – 33544; *Cydista aequinoctialis* – 33545). La confirmación de la identificación de cada especie la realizó la doctora Nelly del Carmen Jiménez Pérez. Después de eliminar las impurezas de forma manual, las muestras se secaron a temperatura ambiente (promedio de 34°C) por ocho días, protegidas de la luz; se molieron en un molino industrial (marca Estrella® modelo 41B) depositándolas en recipientes herméticos para su conservación.

Preparación de los extractos

Para la extracción se realizó una separación secuencial con polaridad ascendente de solvente usando hexano, acetato de etilo, metanol y agua destilada en una relación 1:2 (v/v, planta:solvente) dejando macerar por 24 horas a temperatura de 25°C durante 24 h. El extracto acuoso de cada planta se filtró en papel filtro Whatman núm. 40 y se concentró en un rotaevaporador Heidolph Laborota 4000 a 90 rpm a una temperatura de 50°C. Una vez concentrado, se liofilizó en un equipo Heto Drywinner, para obtenerlo como extracto seco y pulverizado y se guardó a -20°C para su conservación (Marie-Magdeleine *et al.*, 2010).

Desarrollo de las larvas de *Haemonchus contortus*

Las larvas infectantes de *H. contortus* se obtuvieron de un borrego Pelibuey macho

de 30 kg infectado artificialmente con una cepa de *H. contortus* a una dosis de 350 larvas/kg de peso y mantenido en un corral individual por 20 días. Las heces fueron recolectadas del recto realizando coprocultivos que se dejaron incubar durante seis días a temperatura ambiente para posteriormente obtener las larvas infectantes (L3) utilizando la técnica del embudo de Baermann (Liébano *et al.*, 2004).

Bioensayo

Los ensayos para determinar la actividad antihelmíntica se realizaron con los extractos acuosos de las plantas en estudio, por ser la infusión y decocción las formas tradicionales de uso de las mismas. La bioactividad de los extractos acuosos de hoja y fruto de *M. charantia*, hoja de *H. indicum* y hoja de *C. equinoctialis* se evaluaron por triplicado colocando 50 larvas L3 en cada pozo de una placa de Elisa de 96 pozos de acuerdo a los tratamientos mostrados en la tabla 1 y cuantificando las larvas vivas y muertas a las 0, 24, 48 y 72 h de exposición, siguiendo el protocolo citado por López *et al.* (2006).

Diseño experimental

Se realizó un diseño completamente al azar considerando como un tratamiento a cada uno de los extractos estudiados (flor de ajo, rabo de mico, cundeamor hoja, cundeamor fruto) y dos controles (negativo = agua y positivo = febendazol) con un total de seis tratamientos que se realizaron por triplicado. Se determinaron las diferencias significativas entre los tratamientos mediante un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ usando el paquete estadístico SPSS para Windows.

RESULTADOS

Se observó que las larvas infectantes mostraron una mortalidad de 0% en el extracto de hoja de *C. equinoctialis* a las cero horas y conforme transcurrió el tiempo de exposición, la mortalidad aumentó hasta alcanzar el 39.57% a las 72 h presentando este extracto un efecto antihelmíntico *in vitro* reduciendo la sobrevivencia de las larvas de *H. contortus* hasta 60.43% (tabla 2). Con respecto al extracto de hoja de *H.*

Tabla 1. Tratamientos establecidos para la evaluación de la actividad antihelmíntica de *H. contortus*.

Tratamiento	Extracto acuoso (20 mg/ml)	Control
1	-----	agua (-)
2	-----	Febendazol 1 mg/mL (+)
3	<i>C. equinoctialis</i>	-----
4	<i>H. indicum</i>	-----
5	hoja de <i>M. charantia</i>	-----
6	fruto de <i>M. charantia</i>	-----

Tabla 2. Efecto *in vitro* de cuatro extractos acuosos sobre la efectividad antihelmíntica (porcentaje de mortalidad) de *H. contortus*.

Tiempo de exposición (h)	Tipo de extracto				Agua	Febendazol
	<i>C. aequinoctialis</i>	<i>H. indicum</i>	Hoja de <i>M. charantia</i>	Fruto de <i>M. charantia</i>		
0	0.00±0.00 ^{ab}	0.00±0.00 ^{ab}	0.00±0.00 ^{ab}	0.00±0.00 ^{ab}	0.0±0.00	0.0±0.00
24	9.67±7.740 ^{ab}	21.44±16.937 ^{abcd}	15.43±7.541 ^{abc}	23.00±4.543 ^{abcd}	0.0±0.00	99.10±.781
48	29.30±7.709 ^{abcde}	34.59±8.826 ^{bcd}	46.87±11.600 ^{def}	43.37±8.764 ^{def}	0.0±0.00	100.00±0.00
72	39.57±6.740 ^{bcdef}	19.75±5.882 ^{abcd}	53.83±11.600 ^{ef}	68.13±28.678 ^f	0.0±0.00	100.00±0.00

* Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, $\alpha = 0.05$). Los valores después del signo \pm corresponde a la desviación estándar de la media.

indicum, se observó que el mayor porcentaje de mortalidad ocurrió a las 48 h con 34.59%. Sin embargo, su efectividad a las 72 h disminuyó a 19.75%. El extracto de hoja de *M. charantia* presentó un efecto antihelmíntico del 15.43% a las 24 h de exposición aumentando su efectividad hasta alcanzar el 53.83% de mortalidad a las 72 h presentando en este tiempo el mayor efecto antihelmíntico. El extracto del fruto de *M. charantia* presentó un efecto antihelmíntico del 23% de mortalidad a las 24 h, el cual se incrementó a 68% a las 72 h, observando así que el extracto con mayor actividad antihelmíntica fue el del fruto de *M. charantia*.

Con respecto al comportamiento de las larvas L3, a las 24 h frente a los extractos de cada uno de los cuatro extractos, se observó que la mayor efectividad antihelmíntica se presentó con el fruto de *M. charantia* produciendo una mortalidad de 23% y que la de menor efectividad fue el de *C. aequinoctialis* con 9.6 % de mortalidad (tabla 2). La efectividad de los extractos a las 72 h de incubación demuestra el aumento de mortalidad con el extracto de fruto de *M. charantia* que presentó mayor

índice de eficiencia (65.4%) contra los helmintos, el extracto de hoja de *H. indicum* un 46.7% y los extractos de hoja y fruto de *M. charantia* presentaron 40.1% y 19.6 % de mortalidad, respectivamente. Estos resultados de mortalidad presentaron diferencias significativas a las 24 y 72 h de exposición.

DISCUSIÓN

Los extractos de hoja de *H. indicum* y de *M. charantia* presentaron un efecto antihelmíntico medio, mientras que el de *C. aequinoctialis* produjo una baja actividad antihelmíntica. Estudios realizados por Lamberti et al. (2009), con larvas de *H. contortus* y extracto etanólico de *Heliotropium curassavicum* (de la misma familia, Boraginaceae), reportaron que no presentó alteración en la motilidad del parásito, mientras que en esta investigación el extracto de *H. indicum* presentó actividad antihelmíntica en el extracto acuoso logrando una mortalidad que varió dependiendo del tiempo de exposición de 21 a 34.5%. Se ha reportado que el extracto acuoso de la parte aérea de otro miembro de la familia Boraginaceae (*Coldenia procumbens*) presentó actividad antihelmíntica

provocando parálisis y muerte de la lombriz de tierra de la India (*Pheretima posthuma*) debido probablemente a la presencia de alcaloides, flavonoides, carbohidratos, y compuestos fenólicos en los extractos acuoso y etanólico utilizados (Aleemuddin *et al.*, 2012). Por otro lado, Mahato *et al.* (2014) reportaron que el extracto acuoso de *H. indicum* produjo parálisis y muerte de *P. posthuma* a los 75 minutos de exposición mencionando que los compuestos polifenólicos (taninos) presentes en el extracto pueden unirse a las proteínas en el tracto intestinal del animal huésped o una glucoproteína en la cutícula del parásito causando la muerte; también pueden tener efecto directo sobre la viabilidad de los estados preparasíticos de helmintos. Otros compuestos que pueden tener efecto antihelmíntico son los aceites esenciales, flavonoides y terpenoides también presentes en el extracto.

Los frutos de *M. charantia* presentaron la mayor mortalidad parasitaria. Esto concuerda con lo reportado por varios autores que han reportado la actividad antihelmíntica de extractos acuosos y etanólicos de esta especie en diferentes especies parásitas. Beloin *et al.* (2005) confirmaron el uso etnomedicinal de *M. charantia* sobre problemas gastrointestinales causados por *Caenorhabditis elegans* en África y sugieren que la actividad antihelmíntica se deba a glucósidos triterpenos como momordicinas I y II. Grove y Yadav (2008), también mencionaron que el extracto acuoso del fruto entero de *M. charantia* sobre adultos de *Ascaridia galli* presentó actividad antihelmíntica en pruebas *in vitro* e *in vivo*. Shah Alam *et al.* (2014) probaron extractos acuosos de *M. charantia* sobre larvas L3 y adultos de *Ascaridia galli*, *Heterakis gallinae* y *Capillaria* spp reportando actividad antihelmíntica potencial en

los adultos de estas especies. Chen *et al.* (2008) encontraron 14 nuevas cucurbitacinas con actividad antimicrobiana en los extractos acuoso y etanólico de frutos y hojas de *M. charantia*.

Andrade *et al.* (2012) realizaron el estudio fitoquímico de *M. charantia* a partir del extracto etanólico de la planta y demostraron la presencia de alcaloides, triterpenos y glucósidos cardiogénicos usando cromatografía en capa fina y pruebas colorimétricas. Refieren que algunos de estos compuestos pueden explicar la larga historia de uso como planta medicinal tradicional en diversos países en desarrollo para tratar enfermedades como infecciones, parasitosis, y diabetes, entre otras. Por otro lado, Avello *et al.* (2006) reportan que los extractos acuosos (10, 15 y 20%) de *M. charantia* mostraron una actividad antihelmíntica contra la lombriz de la tierra africana *Eudrilus eugeniae*. En la comparación cualitativa, observaron un mejor comportamiento antihelmíntico con el extracto acuoso de *M. charantia* al 20%. Sin embargo, con el jugo de *M. charantia* obtuvieron resultados superiores en comparación con fármacos como piperazina al 1% y levamisol al 10%. Por otro lado, Díaz *et al.* (2004) mostraron que la concentración mínima inhibitoria de semillas de *Cucurbita maxima* (Cucurbitaceae) fue de 23 g en agua destilada contra tenias caninas y que es capaz de producir efectos antihelmínticos provocando alteraciones en la motilidad del helminto, así como que a concentraciones más altas (30 g y 32 g) se observó la destrucción de huevos. Flores *et al.* (2001) confirmaron que el consumo de frutos maduros de *M. charantia* (pepino de monte) se usa para combatir parásitos intestinales. También se ha reportado que los extractos de las partes aéreas presentan fuerte actividad

antihelmíntica frente a nemátodos (Beloin *et al.*, 2005). Se utilizaron sus hojas y tallo en cocción para las helmintiasis en general.

Finalmente, no se encontraron reportes en la bibliografía consultada sobre la actividad antihelmíntica de *Cydista aequinoctialis*. Sin embargo, en varios estudios realizados con extractos acuosos de las hojas de plantas usadas en la medicina tradicional del norte de Perú, entre *Cydista aequinoctialis*, se ha demostrado la presencia de antocianinas, saponinas y taninos con actividad antibacteriana (Bussmann 2014; Bussmann *et al.*, 2011; Bussmann *et al.*, 2009). Por otro lado, se encontraron algunos estudios realizados con extractos a otras especies de la familia Bignoniaceae. Por ejemplo, Moreira *et al.* (2015) reportan actividad antihelmíntica del extracto etanólico de *Zeyheria tuberculosa* contra larvas del mosquito *Aedes aegypti* con una baja mortalidad (menor al 25%). Nagaraja, y Paarakh, (2011) y Asha *et al.* (2013) probaron diferentes extractos de *Milingtonia hortensis* y *Pajanelia longifolia*, respectivamente, sobre la lombriz de tierra de la India *Pheretima posthum* encontrando que causaron la muerte a dosis bajas (40 y 6 mg/mL, respectivamente) por la presencia de compuestos como taninos y esteroides.

CONCLUSIONES

En nuestra investigación rescatamos la medicina tradicional como posible fuente de futuros medicamentos para tratar algunas helmintiasis presentes en los ovinos para apoyar a los habitantes de las comunidades de la Sierra de Tabasco. Todos los extractos evaluados presentaron actividad antihelmíntica en diferente porcentaje contra *Haemonchus contortus* siendo el extracto acuoso del fruto de *Mormodica charantia*

el que causó la mayor mortalidad en los tres tiempos evaluados. El tiempo de exposición de las larvas al extracto fue factor determinante pues cabe resaltar que *H. indicum* mostró mayor actividad a las 48 horas con 46.87% de mortalidad, 24 horas antes que las otras especies evaluadas. Se sugiere se realicen futuros estudios para evaluar la actividad antihelmíntica *in vivo* de estas especies vegetales, determinar la dosis más efectiva (probando otras concentraciones) y la citotoxicidad de los extractos; así como realizar un tamizaje químico para encontrar las sustancias con mayor actividad. Con una investigación obtenida exhaustivamente, los extractos vegetales con actividad nematocida podrían ser un prospecto para obtener un antihelmíntico natural.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México, por el apoyo al proyecto “Evaluación *in vitro* de la actividad antihelmíntica de extractos crudos de plantas nativas” a través del Programa de Fomento a la Investigación y Consolidación de los Cuerpos Académicos (PFICA) con clave UJAT-2009-C05-41.

LITERATURA CITADA

- Aleemuddin, M.A.; M. Karthikeyan, y P.P. Krishna, 2012. “*In vitro* anthelmintic activity of different extracts of *Coldeinia procumbens*”. *J. Nat. Prod. Plant. Resour.*, **2**(2): 267-271.
- Andrade, K.S.; S.D. Duque, y H.D.A. Jaramillo, 2012. “*Momordica charantia* como alternativa terapéutica en la medicina veterinaria”. *Rev. Sist. Prod. Agroecol.*, **3**(2): 15-35.

- Asha, K.; K.P. Latha, H.M. Vagdevi, C. Shwetha, B. Pushpa, y A. Shruthi, 2013. "In vitro anthelmintic activity of bark extracts of *Pajanelia longifolia* K. Schum". *Int. Res. J. Pharm. Plant. Sci.*, **1**(2): 1-5.
- Avello, E.; E.A. Silveira, F.I. Peña, M.C. Camacho, y M.A. Arce, 2006. "Actividad antihelmíntica in vitro de extractos de *Azadirachta indica* A. Juss, *Momordica charantia* L. y *Chenopodium (Teloxys) ambrosioides* L. Weber". *REDVET Revista Electrónica de Veterinaria*, **07** (11): 1-10. URL: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111106.html>
- Beloin, N.; M. Gbeassor, K. Akpagana, J. Hudson, K. de Soussa, K. Koumaglo, y J.T. Arnason, 2005. "Ethnomedicinal uses of *Momordica charantia* (Cucurbitaceae) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity". *Journal of Ethnopharmacology*, **96**: 49-55.
- Benavides, OE., y N.A. Romero, 2001. "Consideraciones para el control integral de parásitos externos del ganado". *Carta FEDEGAN*, **70**: 74-85.
- Bussmann, R.W., 2014. "The Globalization of Traditional Medicine in Northern Peru: From Shamanism to Molecules". Review Article, vol. 2013, Article ID 291903, 46 pp. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/291903>. Bussmann, R.W.; W. Applequist, N. Paniagua-Zambrana (Eds.), 2014. *Traditional Medicine in a Global Environment*. Hindawi Publishing Corporation.
- Bussman, R.W.; A. Glenn, D. Shanon, G. Chait, D. Díaz, K. Pourmand, B. Jonat, S. Somogy, G. Guardado, C. Aguirre, R. Chan, K. Meyer, A. Rothrock, y A. Townesmith, 2011. "Providing that traditional knowledge work; the antibacterial activity of Northern Peruvian medicinal plants". *Ethnobotany Research And Applications*, **9**: 067-096. Doi: <http://dx.doi.org/10.17348/era.9.0.67-96>.
- Bussmann, R.W.; A. Glenn, K. Meyer, A. Rothrock, y A. Townesmith, 2009. "Antibacterial Activity of Medicinal Plants of Northern Peru", Part II. *Arnaldoa*, **16**(1): 93-103.
- Chen, J.C.; W.Q. Liu, L. Lu, M.H. Qiu, Y.T. Zheng, L.M. Yang, X.M. Zhang, L. Zhou, y Z.R. Li. 2009. "Kuguacins F-S, cucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia*". *Phytochemistry*, **70**: 133-140.
- Cuellar, O.J.A., 2003. *La nematodosis gastrointestinal ovina. Una enfermedad que causa retraso en el crecimiento y mortandad. Fortalecimiento del sistema de ovinos*. Sistema Producto Ovinos. México. pp: 245-249.
- Díaz, D., L. Lloja, y V. Carbajal, 2004. "Estudios preclínicos de *Cucurbita maxima* (semilla de zapallo) un antiparasitario intestinal tradicional en zonas urbano rurales". *Rev Gastroenterol Peru*, **24**(4): 323-327.
- Espinosa, M.J.; H.D. Centurión, A.M. Mayo, y C.J.G. Cázares, 2009. Informe final del proyecto "Estudio de la

- actividad antimicrobiana de recursos fitogenéticos subexplotados en el estado de Tabasco, sobre microorganismos patógenos de incidencia alimentaria”. PFICA UJAT-2007-C03-23.
- Flores, J.S.; C. Gladiz, O. Canto-Avilés, y A.G. Flores-Serrano, 2001. Plantas de la flora yucatenense que provocan alguna toxicidad en el humano. *Rev. Biomed.*, **12**: 86-96.
- Grove, J.K., y S.P. Yadav, 2004. “Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review”. *Journal of Ethnopharmacology*, **93**: 123-132.
- Jackson, F., y R.L. Coop, 2000. “The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes”. *Parasitology*, **120**: 95-107.
- Kaplan, R., 2004. “Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report”. *Trends Parasitol.*, **20**(10): 477-481.
- Klokouzas, A.; S. Shahi, S.B. Hladky, M.A. Barrand, y H.W. van Veen, 2003. “ABC transporters and drug resistance in parasitic protozoa”. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **22**(3): 301-17.
- Lamberti, R.O.; H.O. Troiani, P.E. Steibel, R.E. Toso, M.A. Boeris, L.M. Gino, C.D. Calvo, M.G. Bertorello, M. Giraud, y G. Genero, 2009. “Cribado antihelmíntico de plantas recolectadas en la provincia de La Pampa”. *Ciencia Veterinaria*, **11**(1): 26-31.
- Lanusse, C., 2010. *Contribución fármaco-parasitológica integrada a la comprensión del fenómeno de resistencia antihelmíntica*. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, Tomo LXIII, pp. 349-383. Publicación completa Disertación Acto incorporación como Académico Correspondiente (14/12/2009). http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/27668/Documento_completo.pdf?sequence=1 [Consultado septiembre 16, 2013].
- Liébano, H.E.; V. Vázquez-Prats, y R.A. Cid, 2004. “Identificación de larvas infectantes de nemátodos gastroentéricos y pulmonares en rumiantes domésticos de México”. INIFAP. *Diagnóstico y Control de los Nemátodos Gastrointestinales de los Rumiantes en México*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria (CENID-PAVET). Jiutepec, Morelos, México. pp: 26-67.
- Lifschitz, A.; G. Virkel, A. Pis, y C. Lanusse, 2002. “Loperamide-induced enhancement of moxidectin availability in cattle”. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, **25**: 111-120.
- López, A.M.E.; J. Flores, P. Mendoza de Gives, V.V. Víctor, E. Liébano, A. Bravo, D. Herrera, E. Godínez, P. Vargas, y F. Zamudio, 2006. “Use of *Bacillus thuringiensis* toxin as an alternative method of control against *Haemonchus contortus*”. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1081**: 347-354.

- Mahato, K., B.B. Kakoti, S. Borah, y M. Kumar, 2014. "Evaluation of in vitro anthelmintic activity of *Heliotropium indicum* Linn. leaves in Indian adult earthworm". *Asian Pac J Trop Dis*, 4(Suppl 1): S259-S262.
- Marie-Magdeleine, C.; S.M. Mahieu, S. D'Alexis, L. Philibert, y H. Archimede, 2010. "In vitro effects of *Tabernaemontana citrifolia* extracts on *Haemonchus contortus*". *Research in Veterinary Science*, 89(1): 88-92.
- Moreira, B.S.N.M.; M.S.I. Souza de, dos S.R.F.E. Pires, V.T.L. Chaves, V.M.D. Maurício, E.A. Campesatto, L.M. Conserva, R.E.M. Maurício da, E.C. de Araújo, J.X. de Araújo-Jr, y B.M.L. de Assis, 2015. "In vitro evaluation of antimicrobial, antioxidant and larvicidal activities from extracts of *Zeyheria tuberculosa* (Vell) Bur. (Bignoniaceae)". *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(1): 319-328.
- Morón, R.F.J., y M.J.B. Jardines, 1997. La medicina tradicional en las universidades médicas. *Rev Cubana Plant Med*, 2(1): 35-41.
- Nagaraja, M.S., y P.M. Paarakh, 2011. "In vitro anthelmintic activity of stem bark of *Millingtonia hortensis* Linn". *Int J Pharm Biol Sci*, 2(2): 15-19.
- Nari, A.; J. Hansen, C. Eddi, F. Echevarria, E. Maciel, C. Caracostangolo, J. Salles, y C.H. Cutulle, 2000. *Protocolo de trabajo para la evaluación a campo de cepas potencialmente resistentes a los antihelmínticos. Prueba de reducción del recuento de huevos en materia fecal (FECRT)*. Disponible en: <http://www.inia.gov.ar/producto/helmintho/protdiag.htm>.
- OMS, 2002. *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005*. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza. 78 pp.
- Romero, C.O.; M.H. Reyes, B.I.T. Torija, H.A. Arellano, y J. Tortoriello, 2005. "Conocimiento sobre fitofármacos en médicos de atención primaria del estado de Morelos". *Rev Med del Inst Mex Seguro Soc*, 43(4): 281-286.
- Shah Alam, M.; K.J. Alam, N. Begum, y M.R. Amin, 2014. "Comparative efficacy of different herbal and modern anthelmintics against gastrointestinal nematodiasis in fowl". *International Journal of Biological Research*, 2(2): 145-148.
- Skrebsky, A.C.; J.B. Catto, e I. Biachini, 2008. "Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas". *Ciência Rural*, 38(7): 2083-2091.

Recibido: 22 abril 2015. Aceptado: 11 diciembre 2015.