

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

CARRERA:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIERA EN
BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

TEMA:

**Evaluación de la actividad antihelmíntica *in vitro* de aceites esenciales de tres
plantas presentes en la estación biológica Kutukú: *Eryngium foetidum* L.
(culantrillo), *Psidium guajava* L. (guayaba), *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm.
(Ishpingo)**

AUTORAS:

**TATIANA LIZBETH ARIAS ANCHAPAXI
ANDREA BELÉN FLORES RODRÍGUEZ**

DIRECTOR:

PACO FERNANDO NORIEGA RIVERA

Quito, julio 2019

Cesión de derechos de autor

Yo, Tatiana Lizbeth Arias Anchapaxi con documento de identificación N° 1716859473 y Yo, Andrea Belén Flores Rodríguez con documento de identificación N° 1715840243, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autoras del trabajo de titulación intitulado: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA *IN VITRO* DE ACEITES ESENCIALES DE TRES PLANTAS PRESENTES EN LA ESTACIÓN BIOLÓGICA KUTUKÚ: *Eryngium foetidum* L. (CULANTRILLO), *Psidium guajava* L. (GUAYABA), *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm. (ISHPINGO”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autoras me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, julio de 2019.


.....

Tatiana Lizbeth Arias Anchapaxi

C.I. 1716859473


.....

Andrea Belén Flores Rodríguez

C.I. 1715840243

Declaratoria de coautoría del docente tutor

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación, **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA *IN VITRO* DE ACEITES ESENCIALES DE TRES PLANTAS PRESENTES EN LA ESTACIÓN BIOLÓGICA KUTUKÚ: *Eryngium foetidum* L. (CULANTRILLO), *Psidium guajava* L. (GUAYABA), *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm. (ISHPINGO)**, realizado por Tatiana Lizbeth Arias Anchapaxi y Andrea Belén Flores Rodríguez, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana, para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, julio de 2019.



Paco Fernando Noriega Rivera

C.I. 0602421323

Agradecimientos

A la Universidad Politécnica Salesiana por permitirnos realizar y financiar el presente trabajo de investigación.

A nuestro tutor, Paco Noriega, por su conocimiento, apoyo y consejos durante la ejecución del trabajo de investigación.

A Carina Hidalgo, Byron Fuertes, Edison Osorio y Erika Paredes que son parte del personal de los Laboratorios de Ciencias de la Vida CIVABI, por el apoyo al desarrollar una parte del trabajo experimental.

A los docentes, Janss Beltrán, Cristhian Larenas, Sabino Armenise, Nancy Bonifaz, José Luis Ballesteros, Laura Huachi, María Fernanda Guevara por el apoyo a lo largo de la carrera universitaria. A todos, muchas gracias.

Al Instituto Nacional de Salud Pública - INSPI, a Varsovia Cevallos por permitirnos realizar una parte del trabajo experimental del presente trabajo, y a sus colaboradores Jairo Tobar como nuestro tutor por su conocimiento, apoyo y consejos durante la ejecución del trabajo de investigación y a Daniel Ramos e Hipatia Criollo por colaborarnos en el proceso de la investigación. A todos, muchas gracias.

A la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario - AGROCALIDAD, por la capacitación técnica y colaboración realizada durante el presente trabajo y a sus colaboradores Bedia Banegas, Jorge Espinoza, Euclides de la Torre, Judith Romero,

Natalia Morales, Mercy Falconi, Maite Salinas, Patricio Sandoval y Fernando Paredes por su apoyo incondicional con su conocimiento y consejos. A todos, muchas gracias.

A la Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito, a Christian Navarro por permitirnos la entrada para la recolección de muestras parasitarias necesarias para la investigación del presente trabajo.

Dedicatoria

Tatiana Arias Anchapaxi

A Dios por la familia que me dio y la educación que me da a nivel académico y personal.

A mis padres Sylvia y César, por ser mi ejemplo, mi guía, mi pilar fundamental de vida, por apoyarme, por todo el amor que me dan y ser incondicionales toda la vida, los amo por siempre gracias.

A mis abuelitos Eduardo y Ubaldina, por enseñarme con el ejemplo del amor y la dedicación, por apoyarme y cuidarme desde el cielo.

A mis hermanos, José Luis y Dayanna, por acompañarme en este camino de la vida, por su amor, por su apoyo, por sus locuras, los amo gracias.

A mis fieles compañeras, Perlita y Emma mis hermosas perritas por acompañarme en mis largas noches de estudio y darme su amor incondicional.

A mi gran e incondicional amiga, Andrea, por acompañarme en toda la carrera desde el inicio hasta el final, eres la mejor, gracias.

Dedicatoria

Belén Flores Rodríguez

A mis abuelos Hernán, Marina y Mario que siempre fueron un pilar fundamental en
mi vida y que ahora me cuidan desde el cielo

A mi Rosita querida que es el motor de mi corazón y la razón de querer superarme
cada día, infinitas gracias

A mi madre Jenny que se ha convertido en mi heroína y mi fortaleza en los
momentos más difíciles

A mi padre Mauricio que siempre me ha apoyado y me ha enseñado a ser la mujer
fuerte y decidida que soy

A José Eduardo por brindarme siempre la más sincera de las amistades y por portarse
como el hermano que siempre necesite

A mis niños Thomy, Aslan y Raffaello por acompañarme en cada una de las etapas
de mi vida y por enseñarme el más sincero de los amores

A la vida por haberme dado la oportunidad de conocer a Taty, demostrándome el
verdadero significado de la frase en las buenas y malas, gracias mejor amiga.

Índice

Resumen

Introducción	1
Capítulo 1	3
Marco Teórico	3
1.1 Guayaba (<i>Psidium guajava</i> L)	3
1.2 Ishpingo (<i>Ocotea quixos</i> (Lam) <i>Kosterm</i>).....	4
1.3 Culantrillo (<i>Eryngium foetidum</i> L.)	5
1.4 Aceites esenciales.....	7
1.5 Helmintos	8
1.5.1 <i>Strongyloides</i>	9
1.5.1.1 <i>Strongyloides stercoralis</i>	9
1.5.1.2 Morfología	11
1.5.1.3 Epidemiología	12
1.5.1.4 Características clínicas	12
1.5.1.5 Diagnóstico	13
1.5.1.6 Tratamiento	15
1.5.2 <i>Ascaris</i>	15
1.5.2.1 <i>Ascaris lumbricoides</i>	16
1.5.2.2 Morfología	17
1.5.2.3 Epidemiología	18
1.5.2.4 Características Clínica.....	19

1.5.2.5 Diagnóstico	19
1.5.2.6 Tratamiento	20
1.6 Métodos de evaluación antiparasitaria	20
1.6.1 Biomodelos	20
1.6.2 Bienestar Animal.....	21
1.6.2.1 Ratas Wistar	22
Capítulo 2.....	24
Metodología	24
2.1 Recolección del material vegetal	24
2.2 Extracción del aceite esencial por el método de destilación por arrastre de vapor	24
2.3 Análisis Químico de los aceites esenciales	25
2.4 Análisis Físico de los aceites esenciales	25
2.4.1 Densidad.....	25
2.4.2 Índice de Refracción	26
2.4.3 Porcentaje de Rendimiento del Aceite Esencial.....	26
2.5 Actividad antihelmíntica <i>in vitro</i>	26
2.5.1 Concentración Letal 50 (LC50)	27
2.6 <i>Ascaris</i> spp.	27
2.6.3 Ensayo de Motilidad Larval (LMT).....	29
2.7 <i>Strongyloides venezuelensis</i>	30
2.7.1 Ensayo de Motilidad Larval (LMT).....	30
2.7.2 Ensayo de Desarrollo Larval (LDA).....	31

2.8 Análisis Estadístico	31
Capítulo 3	32
Resultado y Discusión	32
3.1 Obtención de los parámetros físicos de los aceites esenciales	32
3.2 Determinación de la composición química de los aceites esenciales mediante cromatografía de gases acoplada a masas.	33
3.3 Determinación de Concentración Letal 50 (LC50).....	37
3.3.1 <i>Ascaris</i> spp.	37
3.3.2 <i>Strongyloides venezuelensis</i>	38
3.4 Actividad antihelmíntica <i>in vitro</i>	38
3.4.1 <i>Ascaris</i> spp.	39
3.4.1.1 Ensayo de Eclosión de Huevos (EHA)	39
3.4.1.2 Ensayo de Desarrollo Larval (LDA)	42
3.4.1.3 Prueba de Motilidad Larval (LMT).....	44
3.4.2 <i>Strongyloides venezuelensis</i>	45
3.4.2.1 Ensayo de Desarrollo Larval (LDA)	46
3.4.2.2 Prueba de Motilidad Larval (LMT).....	47
Conclusiones	49
Recomendaciones	52
Referencias	54
Anexos	68

Índice de Tablas

Tabla 1. Resultados de parámetros físicos de los aceites esenciales.....	32
Tabla 2. Composición química columna DB1-MS del aceite esencial de las hojas de <i>E. foetidum</i> L.....	33
Tabla 3. Composición química columna DB1-MS del aceite esencial de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L.....	34
Tabla 4. Composición química columna DB1-MS del aceite esencial de las hojas de <i>Ocotea quixos</i> (Lam) Kosterm.....	36
Tabla 5. Concentración Letal (LC50) para <i>Ascaris</i> spp.....	37
Tabla 6. Concentración Letal (LC50) para <i>Strongyloides venezuelensis</i>	38
Tabla 7. Concentración efectiva de cada aceite esencial en todos los ensayos in vitro de <i>Ascaris</i> spp.....	39
Tabla 8. Concentración efectiva de cada aceite esencial en todos los ensayos in vitro de <i>Strongyloides venezuelensis</i>	45

Índice de Figuras

Figura 1. Ensayo de Eclosión de Huevos en <i>Ascaris</i> spp.....	34
Figura 2. Ensayo de Eclosión de Huevos en <i>Ascaris</i> spp.....	34
Figura 3. Ensayo de Desarrollo Larval en <i>Ascaris</i> spp.....	36
Figura 4. Ensayo de Desarrollo Larval en <i>Ascaris</i> spp.....	36
Figura 5. Prueba de Motilidad Larval en <i>Ascaris</i> spp.....	38
Figura 6. Prueba de Desarrollo Larval en <i>Strongyloides venezuelensis</i>	39
Figura 7. Prueba de Motilidad Larval en <i>Strongyloides venezuelensis</i>	40

Índice de Anexos

Anexo 1. Plantas de las que se obtuvo el aceite esencial <i>Eryngium foetidum</i> L. (culantrillo), <i>Psidium guajava</i> L. (guayaba), <i>Ocotea quixos</i> (Lam) <i>Kosterm.</i> (Ishpingo).....	68
Anexo 2. Los destiladores de vapor en los que se obtuvo el aceite esencial y obtención del aceite esencial de Guayaba y medición de la densidad por medio de picnómetro.....	69
Anexo 3. Ciclo biológico de los parásitos <i>S. stercoraris</i> y <i>Ascaris</i> spp.....	70
Anexo 4. Recolección de <i>Ascaris</i> spp en la Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito.....	71
Anexo 5. Disección de hembra, obtención y siembra de Huevos de <i>Ascaris</i> spp.....	72
Anexo 6. Inoculación de larvas L3 en Ratas Wistar y Coprocultivo de <i>Strongyloides venezuelensis</i> y Ciclo Biológico de <i>Strongyloides venezuelensis</i> en <i>Rattus norvegicus</i>	73
Anexo 7. Técnica de Baermann y micro-Baermann para recuperación de Larvas L1 y L3 de <i>Strongyloides venezuelensis</i>	74
Anexo 8. Distribución de alícuotas de aceites esenciales y placas de 96 pocillos con los ensayos antihelmínticos <i>in vitro</i>	75
Anexo 9. Análisis de GC de Culantrillo (<i>Eryngium foetidum</i> L.).....	76
Anexo 10. Análisis de GC de Guayaba (<i>Psidium guajava</i> L.).....	77
Anexo 11. Análisis de GC de Ishpingo (<i>Ocotea quixos</i> (Lam) <i>Kosterm.</i>).....	78
Anexo 12. Gráficas de regresiones de lineales de CL50 de <i>S. venezuelensis</i>	79
Anexo 13. Gráficas de regresiones lineales de CL50 de <i>Ascaris</i> spp.....	80
Anexo 14. Gráficas de CL50 de <i>Strongyloides venezuelensis</i>	81
Anexo 15. Gráficas de CL50 de <i>Ascaris</i> spp.....	82

Anexo 16. Gráficas de Varianza con prueba post hoc Duncan realizadas en Infostat 2018 de <i>Ascaris</i> spp.....	83
Anexo 17. Gráficas de Varianza con prueba post hoc Duncan realizadas en Infostat 2018 de <i>Strongyloides venezuelensis</i>	86
Anexo 18. Análisis de Varianza con prueba post hoc Duncan realizadas en Infostat 2018 de <i>Ascaris</i> spp.....	88
Anexo 19. Análisis de Varianza con prueba post hoc Duncan realizadas en Infostat 2018 de <i>Strongyloides venezuelensis</i>	93
Anexo 20. Gráficas de excel de los ensayos antihelmínticos <i>in vitro</i> de <i>Strongyloides venezuelensis</i>	96
Anexo 21. Gráficas de Excel de los ensayos antihelmínticos <i>in vitro</i> de <i>Ascaris</i> spp.....	97

Resumen

La presente investigación evaluó la actividad antihelmíntica de 3 aceites esenciales provenientes de plantas medicinales, usadas con esta finalidad por el pueblo Shuar: *Eryngium foetidum* L. (Culantrillo), *Psidium guajava* L. (Guayaba), *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm. (Ishpingo); en contra de los parásitos: *Strongyloides venezuelensis* y *Ascaris* spp.

Las concentraciones letales 50 para *S. venezuelensis* fueron: 0.261 mg/mL con *P. guajava*, 0.084 mg/mL con *O. quixos*, e inferior a 0.010 mg/mL para *E. foetidum*. Para *Ascaris* spp fueron: 0.167 mg/mL para *P. guajava*, 0.081 mg/mL para *O. quixos* y de 0.001 mg/mL para *E. foetidum*. La actividad antihelmíntica *in vitro* fue evaluada en los laboratorios del INSPI, para *S. venezuelensis* en las fases de larva L1 y larva L3, y para *Ascaris* spp en fase de huevo, y larva L2. Los resultados en el aceite de *O. quixos*: en *S. venezuelensis* LDA de (5 – 0.08 mg/mL), LMT (5 – 0.16 mg/mL); en *Ascaris* spp EHA (2.5 – 0.08 mg/mL) y LMT (5 – 0.63 mg/mL). El aceite que mostró la mayor actividad antihelmíntica fue *E. foetidum* con los siguientes resultados: en *S. venezuelensis* LDA (5 – 0.01 mg/mL), LMT (5 – 0.01 mg/mL); en *Ascaris* spp EHA (0.16 – 0.01 mg/mL), LDA (5 – 1.25 mg/mL) y LMT (5 – 0.63 mg/mL).

La molécula más abundante en este aceite fue el trans-2-dodecenal con un 53.5 %, mencionado en la literatura científica como antiparasitario. Quedó demostrada una elevada actividad en dos de los tres aceites esenciales estudiados.

Palabras clave: actividad antihelmíntica, trans-2-dodecenal, *Eryngium foetidum* L., *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm.

Abstract

The present investigation evaluated the anthelmintic activity of 3 essential oils from medicinal plants, used for this purpose by the Shuar people: *Eryngium foetidum* L. (Culantrillo), *Psidium guajava* L. (Guayaba), *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm. (Ishpingo); against the parasites: *Strongyloides venezuelensis* and *Ascaris* spp.

The lethal concentrations 50 for *S. venezuelensis* were: 0.261 mg / mL with *P. guajava*, 0.084 mg / mL with *O. quixos*, and less than 0.010 mg / mL for *E. foetidum*. For *Ascaris* spp were: 0.167 mg / mL for *P. guajava*, 0.081 mg / mL for *O. quixos* and 0.001 mg / mL for *E. foetidum*. Anthelmintic activity *in vitro* was evaluated in the INSPI laboratories, for *S. venezuelensis* in the phases of larva L1 and larva L3, and for *Ascaris* spp in the egg phase, and larva L2. The results in the oil of *O. quixos*: in *S. venezuelensis* LDA of (5 - 0.08 mg / mL), LMT (5 - 0.16 mg / mL); in *Ascaris* spp EHA (2.5 - 0.08 mg / mL) and LMT (5 - 0.63 mg / mL). The oil that showed the highest anthelmintic activity was *E. foetidum* with the following results: in *S. venezuelensis* LDA (5 - 0.01 mg / mL), LMT (5 - 0.01 mg / mL); in *Ascaris* spp EHA (0.16 - 0.01 mg / mL), LDA (5 - 1.25 mg / mL) and LMT (5 - 0.63 mg / mL).

The most abundant molecule in this oil was the trans-2-dodecenal with 53.5%, mentioned in the scientific literature as antiparasitic. High activity was demonstrated in two of the three essential oils studied.

Key words: anthelmintic activity, trans-2-dodecenal, *Eryngium foetidum* L., *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm.

Introducción

Los seres humanos están acompañados por las infecciones parasitarias a lo largo de toda su historia. Se han hallado huevos de *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichura* en letrinas de campamentos romanos del siglo I a.C. Al igual que en restos de momias de diferentes lugares, como es en la región costera del norte de Chile y sur del Perú, una momia de 7000 años A.C., presentó la enfermedad de Chagas asociada al parásito *Trypanosoma cruzi*. Se han encontrado huevos de *Schistosoma haematobium* en momias egipcias de 1100 años a.C. y en momias chinas de 2000 años a.C. huevos de *Schistosoma japonicum* (Apt Baruch, 2013).

En la actualidad se estima que el 24 % de la población mundial, alrededor de 1500 millones de personas están infectadas por helmintos, siendo una de las parasitosis más comunes en el mundo, afectando principalmente a las comunidades más pobres que se encuentran en las zonas tropicales y subtropicales del mundo (OMS, 2018). La Organización Panamericana de Salud en el Plan Operativo Regional para eliminar las enfermedades tropicales desatendidas en la región, determinó que el Ecuador se encuentra dentro del grupo 1, caracterizado por tener el 66.8 % niños de edad preescolar y el 67.4 % escolar en riesgo de sufrir infecciones por helmintos, junto a Brasil, Bolivia, Guatemala, Guyana, Haití, México, Perú, República Dominicana, Santa Lucía y Surinam (OPS, 2016).

En los últimos años en Ecuador los parásitos figuran entre las primeras causas de morbilidad, especialmente en zonas de escasos recursos y poco o nulo acceso a

servicios básicos (INSPI, 2017b), lo que provoca un déficit de macro y micronutrientes que se ven reflejados en el estado nutricional del paciente generando un serio problema que de ser en etapas de desarrollo retarda su crecimiento físico e intelectual (OMS, 2008). Por lo que el control de estos es principalmente con el uso de fármacos antihelmínticos por parte de las personas, ante reiteradas desparasitaciones con un mismo fármaco, la población mayoritariamente susceptible muere y sobreviven de esta forma los individuos resistentes lo que ha ido desencadenado que estos adquieran resistencia a una gran cantidad de fármacos volviéndose un problema de políticas de salud pública (Botero & Restrepo, 2012).

Por lo que es de suma importancia buscar alternativas para el tratamiento de las enfermedades parasitarias como es el uso de la medicina tradicional, como una vía para sustituir medicamentos sintéticos de elevado costo y potencialmente tóxicos por medicamentos de origen natural (FAO, 2015).

Capítulo 1

Marco Teórico

1.1 Guayaba (*Psidium guajava* L)

La guayaba proviene del árbol del guayabo (Anexo 1), que es originario del Caribe; los encargados de propagar por las zonas tropicales del mundo fueron los portugueses y españoles. Actualmente se lo cultiva en muchos lugares alrededor del mundo como la India, China, Filipinas, África central y América latina (Castaño & Montes, 2014).

Es un árbol o arbusto perennifolio o caducifolio de copa irregular, con una altura de entre 3 a 10 m, con un diámetro de hasta 60 cm. Sus hojas poseen un color verde brillante en forma de elíptica a oblongas con un largo entre 3 a 13.5 cm y con un ancho de 1.5 a 6 cm. Su tronco es generalmente torcido y con múltiples ramificaciones, su corteza externa es escamosa con piezas lisas, delgadas e irregulares de un color rojizo, mientras que su corteza interna posee un color crema rosada, fibrosa con un grosor total de 5 a 8 mm. Sus flores axilares, actinomorfas que pueden encontrarse solitarias o en cimas de hasta 8 cm, posee entre 4 a 5 sépalos y entre 4-5 pétalos de color blanco. Sus frutos son carnosos, con una coloración que va de crema amarillento a rosado, de olor fragante, sabor agrídulce posee una forma globosa u ovoide, sus bayas poseen un diámetro de hasta 8 cm, con el cáliz persistente en el ápice. Sus semillas son redondas con un diámetro de 3 a 5 mm, recubiertas de la pulpa rosada amarillenta (Vázquez, Batis, Alcocer, Gual, & Sánchez, 1999). Este se puede adaptar a temperaturas de entre 16 °C a 34 °C, con precipitaciones anuales de entre 800 a 1000 mm, y con una HR de 36 - 96 % (García, 2010).

La clasificación botánica:

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht
- Superorden: Rosanae Takht.
- Orden: Myrtales Juss. ex Bercht. & J. Presl
- Familia: Myrtaceae Juss.
- Género: *Psidium* L.
- Especie: *Psidium guajava* L. (Trópicos, 2018).

Es una planta medicinal utilizada ampliamente por los indígenas y tribus a lo largo de todo el mundo; en Filipinas se la utiliza para tratar llagas y úlceras por su capacidad astringente, en India se la utiliza para tratar la anorexia, convulsiones, epilepsia y nefritis, en países como Perú, Cuba, Ecuador, Colombia se la utiliza para tratar problemas gastrointestinales como son diarrea, disentería, dolores de estómago y desordenes menstruales (Shruthi, Roshan, Sharma, & Sunita, 2013). En México y Brasil se utiliza las hojas en trastornos gastrointestinales, por medio de la infusión o decocción, preparada con hojas frescas o secas (Trindade, Rodrigues-das-Dores, Souza, & Braga, 2015).

1.2 Ishpingo (*Ocotea quixos* (Lam) Kosterm)

Presenta varios nombres diferentes como: ishpingo, canela del Puyo o amazónica, canela de quijos, canelo de aroma (Sangucho, 2017). Esta planta se registra en Napo, Pichincha y Sucumbíos, también se la encuentre en áreas protegidas como la Cordillera del Cóndor, Jatun Sacha y el Parque Nacional Yasuní, a una altura entre 0 y 1000 m.s.n.m.; su estado es nativa y cultivada (Tropicos, 2018).

Es un árbol perenne de 2 a 5 m de altura, lámina de la hoja de 14.5 a 23.5 cm de longitud por 3.5 a 6 cm de ancho, presenta olor a canela, su flor es de color blanco-verdosa, el cáliz presenta seis sépalos y el fruto ovalado de 4 cm de longitud (Anexo 1); esta especie florece y fructifica cada dos años cuando alcanza mínimo los 20 años de madurez. (Noriega & Dacarro, 2008)

La clasificación botánica:

Clase: Equisetopsida

Subclase: Magnoliidae

Superorden: Magnoliana

Orden: Laurales

Familia: Lauraceae

Género: *Ocotea*

Especie: *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Tropicos, 2018).

Es una planta medicinal utilizada para tratar afecciones gástricas e intestinales, gripes, resfriados, vómito, diarrea, cicatrizar heridas y como anestésico local, entre otros usos se registra como condimento para comida, saborizante en bebidas tradicionales como la colada morada y en aguas aromáticas. En las comunidades de la amazonia ecuatoriana se utiliza las hojas y el cáliz para aliviar dolores de parto y combatir la anemia, la artritis, el catarro crónico y la hidropesía y algunos de sus usos tradicionales como eupéptico y desinfectante (Parra & Flor, 2017).

1.3 Culantrillo (*Eryngium foetidum* L.)

El Culantrillo es nativo de América y el Caribe, se la puede encontrar desde el sur de México hasta Brasil y desde Cuba hasta Trinidad y Tobago. Se la cultiva alrededor del

mundo, en zonas como África tropical, Asia meridional y en las épocas cálidas del sur de Europa. Se la cultiva ampliamente en Costa Rica y Puerto Rico tanto para el consumo local como para la exportación a los Estados Unidos (Paul, Seaforth, & Tikasingh, 2011).

Es una planta que crece naturalmente en suelos de bosques húmedos con sombra con una temperatura entre 25 °C y 28 °C, y a lo largo de caminos húmedos. Tiene una altura que va desde los 10 cm a los 40 cm. Sus hojas son carnosas, cerosas, lanceoladas y con un margen espinoso (Anexo 1). Estas se encuentran dispuestas en espiral alrededor del tallo formando una roseta basal, sus hojas inferiores poseen un pecíolo corto, mientras que las hojas superiores son sésiles. Las flores son sésiles, actinomorfas, bisexuales y pentámeras, agrupadas en espigas que forman la inflorescencia de la umbela compuesta, caracterizada por tener un tallo largo (25–50 cm) que surge del centro de la roseta de la hoja. Los sépalos son verdes, tubulares, agudos y persistentes, más largos que los pétalos; mientras que los pétalos son blancos, estrechos, oblongos y con muescas. Los estambres son libres y alternan con pétalos; Los filamentos son blancos y más largos que los pétalos, junto con las anteras de color amarillo pálido. La fruta tiene forma ovoide globosa y está cubierta con protuberancias redondeadas de 1–2 mm de largo (Chandrika, Sarawasthi, & Shivakameshwari, 2013).

La clasificación botánica:

Clase: Equisetopsida C. Agardh
Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht
Superorden: Asteranae Takht.
Orden: Apiales Nakai
Familia: Apiaceae Lindl.

Género: *Eryngium* L.

Especie: *Eryngium foetidum* L. (Tropicos, 2018).

En lugares como el Caribe, México y América latina posee un amplio uso dentro de la etnomedicina, donde se utiliza en la preparación de diversos remedios para tratar dolores de estómago, diarrea, dolores menstruales, infecciones vaginales, quemaduras, dolor de cabeza, fiebre, gripe, resfriados, escalofríos y vómitos. En Brasil forma parte de su cultura culinaria pues sus hojas son agregadas a guisos, curries y sopas como agente saborizante. Su aceite esencial es utilizado para tratar la malaria y episodios de epilepsia al igual que la hipertensión, asma y artritis. En las Indias Occidentales es utilizado para tratar mordeduras de serpientes y picaduras de escorpión (Singh, Ramakrishna, & Ngachan, 2014).

1.4 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son compuestos naturales obtenidos de diferentes partes de la planta como son flores, semillas, hojas, ramas, cortezas de árboles entre otros; generalmente se extraen por arrastre de vapor debido a que éstos difícilmente se disuelven en agua, poseen una composición variada y compleja pues tienen un carácter lipófilico, altamente volátiles, olorosos y líquidos a temperatura ambiente (Da Silva et al., 2016).

En el aceite esencial de *Eryngium foetidum* L. se encuentra el E-2-dodecenal ("eryngial") que ha demostrado tener actividad antihelmíntica (Paul, Seaforth & Tikasingh, 2011). El aceite esencial de hojas de *Psidium guajava* L. posee compuestos que bloquean la motilidad de nematodos, observando igual efecto en la oviposición, que disminuye en los gusanos adultos (Piña, Mayoral, Gómez, Salazar & Arellano,

2017). En el aceite esencial obtenido de los cálices y de las hojas, de *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* que, en el caso del aceite de cáliz floral, los componentes principales son trans-cinamaldehído y metil-cinamato, mientras que el aceite esencial de las hojas presentó β -cariofileno, acetato de cinamilo, sabineno, geraniol y trans-cinamaldehído, ambos aceites esenciales han demostrado poseer actividad antihelmíntica (Palomo, Badiola, Etxabe, Landa, Mielgo, & Olaizola, 2016).

La obtención del aceite esencial de muestras vegetales se puede realizar por varios métodos físicos y químicos (Noriega & Dacarro, 2008) como: hidrodestilación, destilación de vapor de agua, expresión, extracción con solventes volátiles (acetato, etanol, y cloruro de etileno), enfleurage y fluidos supercríticos. El método más usado para la destilación de aceites esenciales se lo conoce como: destilación por arrastre de vapor, extracción por arrastre o hidrodestilación donde la muestra es encerrada en una cámara con una corriente de vapor de agua sobrecalentado, el aceite arrastrado es recolectado y separado de la fracción acuosa, se la utiliza especialmente para esencias fluidas como las de perfumería, etc (Canella, 2016).

1.5 Helmintos

Son animales invertebrados que poseen un cuerpo alargado con simetría bilateral, estos se caracterizan porque son gusanos parásitos que durante su ciclo de vida tienen uno o varios hospederos, su tamaño puede ir dependiendo la especie de unos centímetros a varios metros. Los helmintos están conformados por platelmintos, nematodos y anélidos, siendo los más importantes los nematodos y platelmintos ya que afectan directamente a la salud humana (Laclette, Bobes, & Carrero, 2017).

Los nematodos son gusanos que en su gran mayoría son redondos, alargados y no poseen segmentos. Su epidermis está conformada por cordones longitudinales que protegen el sistema nervioso. Su sistema digestivo es completo, su sistema excretor consta de dos tubos colectores, presentan ambos sexos teniendo dimorfismo sexual (Castillo & Márquez, 2007).

1.5.1 Strongyloides

Es un género que hasta la actualidad lo conforman alrededor de 50 especies de parásitos gastrointestinales. *Strongyloides* tiene la capacidad de infectar a una o varias especies hospedadoras entre las cuales se encuentran mamíferos, reptiles, aves y anfibios (Viney, 2015).

Son helmintos transmitidos por el suelo, actualmente infectan entre 30 y 370 millones de personas en todo el mundo. La enfermedad es común en muchas áreas cálidas y húmedas donde las condiciones sanitarias son deficientes (Bisoffi et al., 2013). Dependiendo de la especie de *Strongyloides*, en el caso de huevos estos pueden ser ingeridos por el huésped, y en el caso de larvas estas pueden penetrar en la piel del huésped, lo que genera un período de migración larval dentro del huésped hasta que finalmente estos lleguen al intestino donde se establecerán como nuevos adultos (Viney, 2015).

1.5.1.1 Strongyloides stercoralis

Es un parásito que ha infectado al ser humano a lo largo de toda su historia especialmente en regiones tropicales y subtropicales a través del contacto de la piel con el suelo. El resultado es la estrongiloidiasis, una enfermedad parasitaria humana,

con un ciclo único de autoinfección que contribuye a síntomas como: exantema, tos sibilancias, eosinofilia y dolor abdominal con diarrea pudiendo causar la muerte (Miller, Smith, Judd, & Speare, 2014).

La clasificación taxonómica es la siguiente:

Phylum:	Nemata
Clase:	Plasmida
Orden:	Rhabditata
Familia:	Strongyloididae
Género:	<i>Strongyloides</i>
Especie:	<i>Strongyloides stercoralis</i> (Estrella, 2015).

Strongyloides stercoralis es un parásito que tiene un ciclo de vida complejo teniendo tanto fase de vida libre como fases parasitarias (Anexo 3). Su ciclo de vida libre comienza después de que las larvas rabditiformes L1 pasan de las heces al suelo, mudan y emergen como gusanos adultos de vida libre. Los gusanos adultos de vida libre se reproducen sexualmente y generan más larvas rabditiformes L1, que se transforman en larvas filariformes L3. Las larvas filariformes pueden infectar a los humanos o convertirse en gusanos adultos L4 para continuar el ciclo de vida de vida libre. El ciclo de vida del parásito involucra la infección de humanos con larvas filariformes L3 a través de la penetración por la piel con la invasión del sistema circulatorio y través del sistema linfático. En última instancia, las larvas filariformes L3 alcanzan la circulación pulmonar, invadiendo el alveolo, ascendiendo por el árbol traqueobronquial donde son aspiradas hacia el tracto gastrointestinal, donde se transforman en hembras adultas L4. Estas hembras ponen huevos que se excretan en heces como larvas rabditiformes L1. A diferencia de otros helmintos, *S. stercoralis* es

capaz de completar un ciclo de vida completo en el huésped humano en un proceso único denominado autoinfección. En la autoinfección, las larvas rabaditiformes no se excretan en las heces humanas, sino que invaden la pared intestinal o la piel y producen un síndrome de hiperinfección donde se diseminan a través de la circulación venosa llegando a todos los órganos del cuerpo (Hayes & Nellore, 2018).

1.5.1.2 Morfología

Los huevos tienen forma ovalada, cáscara delgada y son transparentes. Poseen un tamaño aproximado de $50 \times 30 \mu\text{m}$. Generalmente se los encuentra en etapa de escisión temprana o con larvas rabaditiformes listas para eclosionar. Las larvas rabaditiformes o L1 de *S. stercoralis* son de tamaño variable llegando a alcanzar hasta $500 \mu\text{m}$ de largo, poseen una cavidad bucal corta y un extremo anterior romo, mientras que la cola es más puntiaguda que el extremo anterior. El esófago rabaditiforme está bien demarcado con una relación de 1:3 en relación con el intestino además posee un primordio genital prominente visible a la vista. Las larvas filariformes o L3 de *S. stercoralis* constituyen la forma infectante del parásito, tienen una longitud mayor que las rabaditiformes, midiendo entre 500 y $700 \mu\text{m}$ de largo y con un diámetro de $25 \mu\text{m}$, estas pueden o no poseer una membrana envolvente, no poseen cavidad bucal, su esófago es alargado y su extremo posterior termina en forma de muesca vista (El-Badry et al., 2018).

Las hembras parasitarias tienen una longitud aproximada de 2 mm hasta 5 mm , con colas de extremos romos y un esófago alargado, de lados rectos (filariformes), que ocupa alrededor de un tercio de la longitud del cuerpo, el ovario es didélico y se abre en la vulva, que se coloca aproximadamente dos tercios a lo largo de la longitud del cuerpo. La estructura general, la organización y la apariencia de las hembras de vida

libre en comparación a las hembras parasitarias de *Strongyloides stercoralis* no varía, pues estas poseen una longitud menor, llegando aproximadamente a medir 1 mm. El macho solo desarrolla la etapa adulta de vida libre, donde no llega a ser infectante, es fusiforme, posee un tamaño menor al de la hembra llegando a alcanzar 0.7 mm de largo, su esófago es rabadiforme (Viney, 2015).

1.5.1.3 Epidemiología

Las tasas de prevalencia mundial de *S. stercoralis* se han estimado en valores que varían de treinta millones a trescientos millones de personas infectadas. En África, el rango de tasas de infección en las comunidades varía desde 0.1 % en la República Centroafricana hasta 91.8 % en Gabón. En Sudamérica y América Central, reporta una prevalencia de 1.0 %, mientras que en Perú la tasa de infección es de 75.3 %. Curiosamente, en el sudeste asiático, otra parte altamente endémica del mundo, varios países informan tasas de infección dentro de un rango comparativamente pequeño. *S. stercoralis* tiene una prevalencia muy baja en sociedades donde la contaminación fecal del suelo es rara. Por lo tanto, es una infección muy rara en los países desarrollados y es menos frecuente en las zonas urbanas que en las rurales de los países de escasos recursos. En Europa y en los Estados Unidos, la estrongiloidiasis sigue siendo un problema para los inmigrantes, los turistas y los militares que regresan del despliegue en áreas endémicas (Schär et al., 2013).

1.5.1.4 Características clínicas

Las manifestaciones clínicas de la estrongiloidiasis aguda están asociadas con la ruta de la migración larvaria al intestino delgado. Los individuos infectados pueden experimentar irritación en el sitio de la penetración de la piel por las larvas seguidas

ocasionalmente por edema localizado o urticaria. Dentro de una semana después de la infección, puede ocurrir una tos seca y/o irritación traqueal. Los síntomas gastrointestinales, como diarrea, estreñimiento, dolor abdominal o anorexia, pueden ocurrir después del establecimiento de la infección en el intestino delgado (Nutman, 2017).

La infección crónica por *S. stercoralis* suele ser clínicamente asintomática, dado que hasta el 75 % de las personas pueden tener eosinofilia periférica o niveles elevados de IgE. Las personas sintomáticas pueden presentar manifestaciones dermatológicas como urticaria recurrente, así como larva currens como resultado de larvas migratorias. Las manifestaciones inusuales de la estrongiloidiasis crónica incluyen la artritis; síndrome nefrótico, obstrucción duodenal, lesiones focales hepáticas y asma recurrente (O'Connell & Nutman, 2015).

El síndrome de hiperinfección implica la presencia de signos y síntomas atribuibles al aumento de la migración larvaria. Se observa un desarrollo o exacerbación de los síntomas gastrointestinales y pulmonares, y la detección de un aumento en el número de larvas en las heces y / o esputo es el sello distintivo de la hiperinfección. Las larvas en la hiperinfección no diseminada aumentan en número, pero se limitan a los órganos que normalmente participan en el ciclo autoinfeccioso pulmonar (Dogan et al., 2014).

1.5.1.5 Diagnóstico

Mediante métodos parasitológicos el diagnóstico definitivo se basa en la detección de larvas en las heces. Se utiliza técnicas tales como el frotis directo de heces en solución salina / tinción de yodo de Lugol, la concentración de Baermann, el cultivo de papel

de filtro Harada-Mori, la técnica de concentración de acetato de etilo con formalina cuantitativa y los cultivos de placa de agar nutritivo. La biopsia duodenal, cuando se realiza, puede demostrar parásitos anidados en las criptas gástricas o glándulas duodenales, así como la infiltración de eosinófilos de la lámina propia (Rivasi, Pampiglione, Boldorini, & Cardinale, 2006).

Los métodos inmunológicos de detección de anticuerpos en particular, los ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA) se han utilizado cada vez más junto con estudios de heces para aumentar la sensibilidad diagnóstica. El alto valor predictivo negativo de estos inmunoensayos es útil para excluir la infección por *S. stercoralis* como parte del diagnóstico diferencial. A pesar de su utilidad, los inmunoensayos basados en anticuerpos tienen varias limitaciones, que incluyen: (1) reactividad cruzada en pacientes con infecciones filariales activas; (2) sensibilidad más baja en pacientes con neoplasias malignas hematológicas o infección por HTLV-1; y (3) la incapacidad de distinguir entre una infección actual y una infección pasada. Además, los inmunoensayos disponibles actualmente se basan en la preparación del antígeno larvario de *S. stercoralis* a partir de muestras de heces de personas muy infectadas (Toledo, Muñoz-Antoli, & Esteban, 2015)

Los diagnósticos moleculares utilizando PCR estándar, qPCR o ensayos de amplificación isotérmica mediada por bucle han ido ganando terreno para los ensayos basados en heces debido a su alto grado de especificidad y sensibilidad (Llewellyn et al., 2016). De hecho, la especificidad mejorada se basa en las dianas de ADN específicas utilizadas [18S rRNA, IST1, citocromo c oxidasa subunidad 1 o la secuencia repetitiva intercalada altamente repetitiva y la sensibilidad mejorada ha

resultado de mejores métodos para la extracción de ADN en heces (Easton et al., 2016).

1.5.1.6 Tratamiento

Los objetivos de la terapia para la infección por *S. stercoralis* son: (1) eliminar completamente el organismo, eliminando así la posibilidad de autoinfección; (2) tratar la infección sintomática; y (3) prevenir las complicaciones asociadas con la infección asintomática. La ivermectina oral (200 µg kg⁻¹ durante 2 días) sigue siendo el tratamiento de elección para las infecciones no complicadas por *S. stercoralis* (Henriquez et al., 2016).

En el síndrome de hiperinfección debe considerarse una emergencia médica potencial. Por lo tanto, el tratamiento debe iniciarse inmediatamente si se considera este diagnóstico. La ivermectina diaria ha sido el tratamiento de facto con la duración del tratamiento por un mínimo de 2 semanas (y con frecuencia hasta que hubo evidencia de dos semanas completas de heces negativas en examen. La reducción de la terapia inmunosupresora también debe ser una parte importante del tratamiento (Pornsuriyasak, Niticharoenpong, & Sakapibunnan, 2004).

1.5.2 Ascaris

Este género se encuentra prácticamente en todas las latitudes, posee una gran incidencia en la producción porcina, se estima que aproximadamente 1.470 millones de personas están infectadas en todo el mundo por *A. lumbricoides* y la morbilidad con sintomatología evidente, es observada en 122 millones de casos (Frontera, Perez & Reina, 2009)

1.5.2.1 *Ascaris lumbricoides*

Es el gusano intestinal más grande que parasita al hombre. Su ciclo comienza. En el exterior los huevos continúan su desarrollo y después de unas semanas en su interior se desarrolla la larva L2, huevo embrionado (DATABIO, 2013).

La clasificación taxonómica es la siguiente

Filo: Nematoda

Clase: Aphasmidea

Orden: Ascaridata

Familia: Ascaridae

Género: *Ascaris*

Especie: *Lumbricoides* (Mite, 2001).

Ascaris lumbricoides comienza su ciclo biológico cuando los anfitriones contraen la infección por *Ascaris* spp, por vía fecal-oral (Anexo 3). La infección es por la ingestión de huevos infecciosos embrionados. Las larvas eclosionan en el intestino delgado y migran hacia el ciego y el colon proximal, donde penetran en la mucosa. Los parásitos migran al hígado a través de la sangre portal y luego avanzan a los pulmones, donde penetran en el espacio alveolar y ascienden del árbol bronquial a la garganta. En este punto, los helmintos se tragan y regresan al intestino delgado. Las larvas maduran y alcanzan la madurez sexual en el intestino delgado, *A. suum* en cerdos tiende a tener una afinidad para los primeros tres cuartos del intestino delgado, pero particularmente la última parte de la primera mitad. Los gusanos adultos pueden residir en los intestinos durante aproximadamente 1 a 2 años. La cópula de los gusanos tiene lugar en el intestino delgado del huésped y se estima que los gusanos hembras producen aproximadamente 200 000 huevos al día. Los óvulos se eliminan a través de las heces

del huésped en el medio ambiente. El tiempo desde la infección hasta la presencia de óvulos en las heces es de aproximadamente 67 a 76 días y de 6 a 8 semanas en humanos y cerdos, respectivamente (Dold & Holland, 2014).

1.5.2.2 Morfología

El huevo fértil es redondo u ovalado y mide entre 45 y 75 μm de longitud por 35 a 50 μm de diámetro. Tiene tres membranas: una externa, gruesa, de naturaleza proteica, llamada capa mamelonada, una membrana hialina intermedia y una membrana lipoproteica interna que envuelve la célula germinativa. El huevo infértil presenta formas atípicas y bizarras, mide 90 μm de longitud por 50 μm de diámetro, tiene una capa media relativamente delgada y a menudo la capa mamelonada externa es escasa o no existe (Lopez & Cooredor, 2012).

La larva infectante presente en el huevo se caracteriza por poseer tres labios, los cuales forman una protuberancia oral definida. Estas larvas presentan distintos orgánulos, tales como aparato bucal, esófago, anillo nervioso, glándulas esofágicas, célula excretora, intestino y primordio genital. Las alas laterales son muy pequeñas y se extienden unos 15 μm en los extremos anterior y posterior. La cutícula carece de estriaciones. Los núcleos ganglionares ocupan toda la cavidad corporal ocultando la mayor parte del esófago, excepto la porción terminal. El intestino carece de lumen y se estructura en siete células poseedoras de gránulos refringentes. El núcleo de la célula excretora es una estructura oval de unos 6 μm de longitud. En estas larvas también pueden observarse unas pequeñas columnas secretoras. La cutícula de las larvas carece de estriaciones. Son de tercer estadio, ya que se observan dos frágiles cutículas rodeando a la larva en el interior del huevo. Las larvas que emergen de los

huevos son L3, las cuales penetran la pared del ciego y la parte superior del intestino grueso (Frontera, Perez & Reina, 2009).

Los adultos son largos, cilíndricos, de cutícula rosada. La boca tiene tres labios: uno dorsal y dos latero-ventrales. El macho mide entre 15 y 30 cm de largo por 2 a 4 mm de diámetro y la hembra entre 20 y 40 cm de longitud por 3 a 6 mm de diámetro. El extremo posterior del cuerpo de la hembra es recto, mientras que en el macho es curvo y presenta dos espículas copulatrices subterminales de naturaleza quitinosa (Lopez, & Cooredor, 2012).

1.5.2.3. Epidemiología

Se estima que 807 millones de personas en todo el mundo están infectadas con *A. lumbricoides*, esta se documenta con mayor frecuencia en los países en desarrollo, pero se informan casos esporádicos en países desarrollados como resultado de los viajes, el consumo de cultivos importados contaminados o la transmisión zoonótica de los cerdos (Dold & Holland, 2014).

La prevalencia en los países endémicos varía y generalmente es baja en países con climas áridos y alta en aquellos con clima húmedo y calor constantes. Además, el gusano intestinal coexiste con la superpoblación, el saneamiento deficiente y un alto nivel de contaminación fecal, así como la eliminación inadecuada de aguas residuales, que desempeña un papel integral en el aumento de la transmisión. La mayoría de los huéspedes infectados son asintomáticos, ya que la morbilidad tiende a asociarse con la carga de lombrices. Tanto los huéspedes humanos como los porcinos experimentan

inflamación pulmonar aguda y dificultad para respirar como resultado de la migración de las larvas a través del tejido pulmonar (Dold & Holland, 2014).

1.5.2.4 Características Clínica

Los síntomas característicos de la ascariasis humana crónica incluye distensión abdominal y dolor, náuseas y diarrea, los gusanos adultos enredados conducen a una obstrucción intestinal mecánica en 0.005–2 por 1000 infecciones por año, que es la complicación más común en las infecciones humanas, con una tasa de letalidad media asociada de 5.7 % (Dold & Holland, 2014).

1.5.2.5 Diagnóstico

Huevos en las heces: se realiza la técnica de Kato Katz (Goodman et al., 2007) en esta técnica se omiten huevos no fertilizados, por lo que una técnica de concentración puede ser más apropiada en lactantes capaces de presentar infecciones sexuales únicas o para monitorizar la reinfección. Asimismo, en regiones con presencia de uncinaria, para que los resultados sean confiables, las muestras deben examinarse en el curso de unas pocas horas después de su preparación, también se puede usar la técnica con el verde de malaquita por una solución de nigrosina/eosina, dado que este procedimiento permite que los huevos de un cinaria permanezcan visibles en las laminillas de Kato Katz (Scott, 2008).

Inmunodiagnóstico: esta técnica se utiliza cuando la información sobre los antecedentes de exposición a *Ascaris* spp es más significativa que la presencia de una infección actual, la IgE específica de *Ascaris* spp puede ser un marcador útil de exposición previa y más significativa que las muestras de huevos en las heces en

estudios relacionados con el efecto de *Ascaris* spp sobre la inmunocompetencia (Scott, 2008).

1.5.2.6 Tratamiento

Los antiparasitarios recomendados para el tratamiento de la infección son benzimidazoles y derivados (mebendazol, albendazol y tiabendazol). Actúan bloqueando la capacidad de captación de glucosa e interaccionan con la tubulina determinando la muerte del parásito. En los casos de suboclusión intestinal la administración de mebendazol reporta un 80 % de éxito con el uso de este fármaco (Orso, Cantou, Rosano & Giachetto, 2014).

1.6 Métodos de evaluación antiparasitaria

1.6.1 Biomodelos

A lo largo de la historia de la humanidad, este ha empleado el uso de animales para resolver hipótesis dentro de campos biomédicos como la anatomía, la fisiología, la microbiología, la patología, el análisis experimental de la conducta, entre otros. En la antigua Grecia personajes como Alcmaeon y Aristóteles realizaban las primeras disecciones sobre el posible funcionamiento y estructura anatómica. Erasístratos considerado como el padre de la anatomía realizaba experimentales en humanos y animales de los sistemas cardiovascular y nervioso (Gómez, Ramírez, & Cortes, 2011).

Los modelos animales tienen como objetivo imitar casi en su totalidad la fisiología, bioquímica o genes presenten en el humano, ya sea en un estado de salud óptima o cuando éste desarrolle una enfermedad. Los biomodelos que se originaron del apareamiento de animales genéticamente no relacionados o lejanamente relacionados, favoreciendo la variabilidad genética con una baja consanguinidad, con la expresión

de características reproductivas y productivas relacionadas con el vigor híbrido se los denomina exocriados, dentro de este grupo se encuentran las líneas en ratones Swiss, CD-1, NIH, ICR y CF-1, y en ratas la línea Wistar, Sprague-Dawley y Long-Evans (Gómez & Lopez, 2009).

1.6.2 Bienestar Animal

La decisión de usar animales en la investigación requiere pensamiento crítico, juicio y análisis. El uso de animales en la investigación es un privilegio otorgado por la sociedad a la comunidad de investigación con la expectativa de que dicho uso proporcionará nuevos conocimientos significativos o conducirá a una mejora en el bienestar humano y/o animal (National Research Council, 2011).

En 1959, W.M.S. Russell y R.L. Burch publicaron una estrategia práctica de reemplazo, refinamiento y reducción, conocida como las Tres R, para que los investigadores la apliquen al considerar el diseño experimental en la investigación con animales de laboratorio. A lo largo de los años, las Tres R se han convertido en un enfoque aceptado internacionalmente para que los investigadores lo soliciten cuando deciden utilizar animales en la investigación y en el diseño de estudios de investigación en animales. Reemplazo se refiere a métodos que evitan el uso de animales. El término incluye reemplazos absolutos (es decir, reemplazo de animales con sistemas inanimados como programas informáticos), así como reemplazos relativos (es decir, reemplazo de animales como vertebrados con animales que son más bajos en la escala filogenética). El refinamiento se refiere a modificaciones de la cría o procedimientos experimentales para mejorar el bienestar de los animales y minimizar o eliminar el dolor y la angustia. La reducción implica estrategias para obtener niveles comparables

de información mediante el uso de menos animales o para maximizar la información obtenida de un número determinado de animales (sin aumentar el dolor o la angustia), de modo que a la larga se necesitan menos animales para adquirir la misma información científica (National Research Council, 2011).

1.6.2.1 Ratas Wistar

Su nombre científico es *Rattus norvegicus* son originarias de los Estados Unidos, pero en los últimos 50 años se ha difundido en todo el mundo dando lugar a numerosas líneas secundarias. Estas ratas están libres de gérmenes, xenobióticos y con cargas microbianas más o menos definidas. Se utiliza ampliamente en el estudio de ciclos biológicos de parásitos puesto que estas pueden ser criados y mantenidos en condiciones ambientales denominadas abiertas, donde eventualmente pueden ser portadores de infecciones, latentes o no, pero de ninguna manera zoonosis (CCAC, 2011).

Rattus norvegicus alcanza la madurez sexual en promedio, a la edad de 2 - 3 meses, las hembras son poliéstricas continuas, con un estro de 4 - 5 días, un período de gestación de 20 - 21 días y el tamaño de la camada varía dependiendo de si las ratas son endogámicas (< 6 crías) o exogámicas (promedio 6-10 crías). La cría de rata al nacer pesa aproximadamente 5 g y es ciega, pero muy activa, y crece rápidamente de 35 a 50 g por tres semanas. El macho adulto pesará de 400-500 g, mientras que la hembra será aproximadamente 100 g menos. Los adultos continuarán aumentando gradualmente en el tamaño del esqueleto a lo largo de la vida ya que las epífisis óseas largas de la rata no se vuelven completamente inactivas. Las ratas sanas vivirán de dos años y medio a tres años según la tensión, el sexo, las condiciones ambientales, entre

otros (CCAC, 2011).

Ratas Wistar se ha establecido como un modelo idóneo para estudiar patologías parasitarias en el hombre, especialmente con el helminto homónimo en el hombre que es *S. stercoralis* por la cepa *S. venezuelensis* ya que su trayectoria inicial como los órganos intermedios antes de la llegada al intestino son sumamente similares (Tayupanta, Cadena, Delgado & Ruano, 2012).

Strongyloides venezuelensis es una especie homóloga del helminto *Strongyloides stercoralis*, infecta naturalmente a los roedores y es usado con frecuencia como modelo experimental de parásitos intestinales para estudiar las relaciones huésped-parásito en infecciones humanas y / o animales, aspectos moleculares durante la infección, la eficacia de las nuevas terapias y muchos eventos inmunológicos relacionados a la estrogiloidiasis (Paula et al., 2013).

En el ciclo de vida de *S. venezuelensis*, las larvas filariformes alcanzan los pulmones y migran hacia el intestino delgado, donde se convierten en hembras partenogénicas. Los humanos infectados con *S. stercoralis* generalmente eliminan las larvas en las heces, mientras que los roedores infectados con *S. venezuelensis* típicamente eliminan los huevos en las heces. Los huevos arrojados en heces de roedores infectados experimentalmente pueden recuperarse fácilmente volviéndolo un modelo de estudio idóneo (Gonçalves, De Araújo, Carvalho, Ueta, & Costa-Cruz, 2016).

Capítulo 2

Metodología

2.1 Recolección del material vegetal

Las hojas de Guayaba y Culantrillo se obtuvieron de la Estación Biológica Kutukú que pertenece a la Universidad Politécnica Salesiana, ubicada en la Parroquia Sevilla Don Bosco, Cantón Macas, Provincia de Morona Santiago, que cubre un área de 250 ha, en esta zona se encuentra la nacionalidad shuar, y además posee una gran biodiversidad de flora y fauna por ser atravesada por los ríos Upano y Yuquipa (Salesiana, 2015).

La corteza de Ishpingo se obtuvo en la Fundación Chankuap, quienes se encargan de comercializar la corteza, ubicada en la ciudad de Macas en la provincia de Morona Santiago (Herrera & Villegas, 2017).

2.2 Extracción del aceite esencial por el método de destilación por arrastre de vapor

Se realizó en un destilador de acero inoxidable de 64 L de capacidad, perteneciente a los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana. Por 3h para las hojas de *Eryngium foetidum* L y *Psidium guajava* L y por 6h la corteza de *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* (Anexo 2).

El destilado resultado del proceso, se colocó en un embudo de decantación por 24h (Siddique, Rahman, & Hossain, 2016). El aceite recolectado se colocó en un frasco ámbar añadiendo aproximadamente 1 g de sulfato de sodio anhidro para retirar los restos de agua. El rendimiento del aceite se calculó en base al porcentaje ($\% = (\text{g de aceite esencial} / \text{g de material vegetal}) * 100$) (Conde, Espinosa, Trejo & Guerrero,

2017).

2.3 Análisis Químico de los aceites esenciales

Los aceites esenciales fueron analizados en un equipo de Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas GC-MS, modelo EVOQ 436 GC - TQ marca Bruker. Se empleó una columna marca BRUKER BR-5ms de diámetro 0.25 mm, con una longitud de 30 m y un espesor de la película de 0.25 μm . Como gas portador se empleó helio ultra puro (1 mL/min) con una relación de división de 1:50. La temperatura del horno fue inicialmente 45 °C y luego elevada a 100 °C a una velocidad de 1 °C/min, posteriormente se llegó a una temperatura 250 °C a una velocidad de 5 °C/min, y finalmente se mantuvo a esa temperatura durante 15 min, El tiempo total de análisis fue de 90 min. Las condiciones del espectrómetro de masas fueron las siguientes: energía de ionización 70 eV; corriente de emisión 10 μ Amp; velocidad de barrido 1 scan/min; rango de masas, 40 a 400 Da; temperatura trampa 220 °C y la temperatura de la línea de transferencia 260 °C. Los aceites se prepararon disolviendo 10 μL a 1000 μL con diclorometano. La detección de los compuestos se realizó por comparación del espectro de masas con los reportados en la base de datos EI- MS librería comercial NIST y la comparación de los índices de retención teóricos con la base de datos de aceites esenciales (Adams, 2007).

2.4 Análisis Físico de los aceites esenciales

2.4.1 Densidad

Se analizó por el método del picnómetro (1 mL) para lo cual se pesa el picnómetro vacío, el picnómetro con agua destilada y el picnómetro con el aceite esencial (Anexo

2), en una balanza analítica, este proceso se lo realiza por triplicado, y los cálculos con los datos que se obtiene se interpretan, mediante la siguiente fórmula:

$$\rho_{r_{aceite}} = \frac{W_m}{W_a}$$

Donde W_m es la masa del aceite (muestra) y W_a la masa de agua en el picnómetro (Paucar, Guillén, Salvador, & Moreno-Rojo, 2015).

2.4.2 Índice de Refracción

Se realizó utilizando un refractómetro, con la ayuda de un gotero se depositó dos gotas de AE sobre el prisma del refractómetro y se procedió con la lectura por triplicado a 20 °C, y con los datos se analizó mediante la siguiente fórmula:

$$IR = (IR_{obs} + fact. correc) \times (T_{obs} - 20^{\circ}C)$$

Donde IR_{obs} es el índice de refracción observado, *fact. correc* es el factor de corrección y T_{obs} es la temperatura en la cual se observó (Veloz & Noriega, 2018).

2.4.3 Porcentaje de Rendimiento del Aceite Esencial

Este porcentaje se obtuvo multiplicando el peso del aceite obtenido por 100 y dividiéndolo entre el peso del material vegetal inicial (Rasgado et.al, 2016).

2.5 Actividad antihelmíntica *in vitro*

Para los ensayos *in vitro* se realizó siete concentraciones en serie (5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.32, 0.16 y 0.08 mg/mL) de los aceites *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* y *Psidium guajava* L., y para el aceite esencial de *Eryngium foetidum* L. se probaron diez concentraciones en serie (5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02 y 0.01 mg/mL).

Para la preparación de las emulsiones de los aceites se utilizó tween 80 al 2 %, y las soluciones se mezclaron en un agitador hasta que el aceite, el disolvente y el agua se convirtieron en una emulsión estable (Zhu, Dai, Yang, & Qiu, 2013).

2.5.1 Concentración Letal 50 (LC50)

La Concentración letal 50 se determinó a partir de la curva sigmoidea de concentración- respuesta, utilizando el modelo global de regresión no lineal de ajuste de la curva de análisis. La siguiente relación da el parámetro de tasa de supervivencia larvaria:

- Número de Larvas vivos / número total de larvas en los pozos (concentraciones de aceite esencial).
- Número de Larvas vivos / número total de larvas en el pocillo del blanco (Ademola, Fagbemi, & Idowu, 2007).

2.6 *Ascaris* spp.

Las hembras adultas de *Ascaris* spp se recolectaron de los intestinos de cerdos, en cinco visitas realizadas a la Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito (Anexo 4), para posteriormente ser llevadas a los laboratorios del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública-INSPI Dr. Leopoldo Izquieta Pérez.

2.6.1 Ensayos de Desarrollo Larval (LDA)

Los huevos estériles se obtuvieron por disección del útero de hembras adultas (Anexo 5) y se suspendieron en una solución de ácido sulfúrico al 0.1 N en placas de cultivo celular de 6 pocillos en un volumen total de 5 mL (Amoah, Reddy, Seidu, & Stenstrom, 2018).

Los huevos se incubaron a una temperatura de 27 °C por alrededor de 12 días para obtener larvas de la primera etapa L1, los huevos se lavaron tres veces con agua destilada y finalmente puestos en una solución de H₂SO₄ al 0.1 N, la suspensión de huevos se dispuso en placas de 96 pocillos (100 µL por pocillo) con una concentración de 1 huevo/µL y mezclando con el mismo volumen de solución de muestra (concentración de aceite, blanco o control positivo). Se usó albendazol (Sigma-Aldrich) como control positivo a una concentración de 1.6 mg/mL (Kanojiya, Shanker, & Jaiswal, 2015), mientras que los huevos no tratados en solución de H₂SO₄ al 0.1 N sirviendo como blanco. La placa se incubó por nueve días a 27 °C, al final del noveno día se colocó una gota de solución de yodo de Lugol al 5 % y se contaron todos los huevos que desarrollaron larvas de la segunda etapa L2 (Kozan, Küpeli Akkol, & Süntar, 2016).

2.6.2 Ensayo de Eclosión de Huevos (EHA).

Una vez obtenidos los huevos estériles se suspendieron en una solución de ácido sulfúrico al 0.1 N y se incubaron por alrededor de 21 días, hasta la observación microscópica de larvas L2 en un 95 % de los huevos. Se centrifugó y el sedimento de los huevos larvados se lavó con agua destilada y se removió la cubierta de los huevos con NaClO al 1 % a 37 °C y una atmósfera de CO₂ del 5 % por treinta minutos, los huevos larvados se colocaron en medio de eclosión por 3h a 37 °C y una atmósfera de CO₂ del 5 % (Delgado & Jara, 2018).

Los huevos fueron concentrados por centrifugación, desechando el sobrenadante y colocando en medio de cultivo DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)

adicionado con L-Glutamina, 4.5 g/L Glucosa sin rojo fenol, la suspensión de huevos se dispensó en placas de 96 pocillos (100 μ L por pocillo) con una concentración de 1 huevos/ μ L y mezclando con el mismo volumen de solución de muestra (concentración de aceite, blanco o control positivo). Se usó albendazol (Sigma-Aldrich) como control positivo a una concentración de 1.6 mg/mL (Kanojiya et al., 2015), mientras que los huevos no tratados, en medio DMEM sirvieron como blanco. La placa se incubó por 2 días a 37 °C con una atm CO₂ 5 %. Después de 48 horas se colocó una gota de solución de yodo de lugol al 5 % y se contaron las larvas (muertas o vivas) y los huevos no eclosionados bajo un microscopio invertido (Kozan et al., 2016).

2.6.3 Ensayo de Motilidad Larval (LMT)

Para la obtención de larvas de la segunda etapa L2 se realizó según lo descrito por Delgado y Jara (2018) en el Ensayo de Eclosión de Huevos (EHA). Pasado las tres horas se procede a colocar la suspensión de huevos en placas de cultivo celular de 6 pocillos adicionando perlas estériles, y colocando en un agitador de placa a 150 rpm por 45 min. Se recoge el líquido de los pocillos y se procede a realizar un micro-Baermann por 30 min a 37 °C con una atm CO₂ 5 %, las larvas obtenidas del precipitado son colocadas en medio de cultivo DMEM (INSPI, 2017a)

Se distribuyeron alícuotas (100 μ L) que contenían aproximadamente 100 larvas L2 en las placas de 96 pocillos, que contenían las diferentes concentraciones (aceite, blanco o control positivo). Se usó albendazol como control positivo a 1.6 mg/mL (Kanojiya et al., 2015), mientras que los huevos no tratados, en medio DMEM sirvieron como blanco. Los resultados se evaluaron mediante microscopía óptica después de 24h de incubación a 37 °C con una atm CO₂ 5 %, se contó el número de larvas móviles y no

móviles observando ausencia o presencia respectivamente de un movimiento sinusoidal estimulado por la luz (Kozan et al., 2016).

2.7 Strongyloides venezuelensis

En los laboratorios del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública-INSPI Dr. Leopoldo Izquieta Pérez, se tiene establecido el ciclo biológico del parásito *Strongyloides venezuelensis* en ratas Wistar (*Rattus norvegicus*), por medio de inoculaciones subcutáneas con larvas infecciosas (L3) (Anexo 6) (Moraes, Levenhagen, Costa, Costa, & Rodriguez, 2016).

2.7.1 Ensayo de Motilidad Larval (LMT)

Para la obtención de larvas de la tercera etapa L3, se recolectó heces de animales infectados con el parásito, estas se pesaron y mezclaron con vermiculita al 0.35 % y agua al 0.28 %, el coprocultivo fue mantenido por 72h a 28 °C sin luz. Después de las 72h se procedió a realizar la técnica de Baermann modificada para la recuperación de las larvas (L3) (Anexo 7), para el posterior lavado y cuantificación de las larvas (Tayupanta, Hidalgo, Díaz, Cadena & Ruano, 2015).

En una placa de 96 pocillos (Anexo 8), se agregará 10 µL de una solución que contenía aproximadamente 100 larvas infecciosas (L3) y 90 µL de PBS 1x, a 100 µL de cada concentración del aceite esencial, blanco (PBS 1x) o control positivo (Ivermectina 316 ppm) respectivamente (Moraes, Levenhagen, Costa, Costa, & Rodriguez, 2016). La placa se incubó a 37 °C y la motilidad larvaria se analizó y cuantificó después de 24h, 48h y 72h utilizando un microscopio invertido. Este ensayo se realizó de acuerdo al Ensayo de LMT de Cordeiro con algunas modificaciones. (Cordeiro et.al, 2010).

2.7.2 Ensayo de Desarrollo Larval (LDA)

Para la obtención de larvas de la primera etapa L1, se realizó el mismo procedimiento que para el Ensayo de Motilidad Larval (LMT) con la diferencia que el coprocultivo se mantuvo 24h a 28 °C sin luz, se las recupero por la técnica de Baermann, para el posterior lavado y cuantificación de las larvas.

En una placa de 96 pocillos, se agregó 5 µL de solución que contenían un aproximado de 100 larvas L1, y 95 µL de PBS 1x, a 100 µL de cada concentración del aceite esencial, blanco (PBS 1x) o control positivo (Ivermectina 316 ppm) respectivamente (Moraes, Levenhagen, Costa, Costa, & Rodriguez, 2016). Se analizó y cuantificó después de 24h, 48h y 72h utilizando un microscopio invertido, en el cual se observaba las larvas que se desarrollaron de L1 a L3 (mudaron) (Magdaleine, 2009).

2.8 Análisis Estadístico

Se calculó la concentración letal 50 (LC50) para los aceites esenciales *in vitro* por medio de un análisis probit con un intervalo de confianza del 95 % (Kozan et al., 2016). Para el análisis de datos del Ensayo de Eclosión de Huevos (EHA), Ensayo de Desarrollo Larval (LDA) y Prueba de Motilidad Larval (LMT) se realizó mediante un ANOVA, con un valor de significancia de $p < 0.05$ y una prueba post hoc Test de Duncan (Beleboni, 2016). El programa estadístico utilizado fue (InfoStat/L) 2018.

Capítulo 3

Resultado y Discusión

3.1 Obtención de los parámetros físicos de los aceites esenciales

Tabla 1.

Resultados de parámetros físicos de los aceites esenciales

PLANTA	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO (%)	DENSIDAD (mg/mL)	ÍNDICE DE REFRACCIÓN
<i>Ocotea quixos</i> (Lam) <i>Kosterm</i>	0.789 ± 0.002	0.936 ± 0.001	1.588 ± 0.019
<i>Eryngium foetidum</i> L	0.024 ± 0.001	1.089 ± 0.001	1.467 ± 0.001
<i>Psidium guajava</i> L	0.913 ± 0.003	0.819 ± 0.001	1.489 ± 0.001

Elaborado por: Las autoras, 2019

En la tabla 1, se establecieron los parámetros físicos de los aceites esenciales de las tres plantas estudiadas, destacando el porcentaje de rendimiento de *Psidium guajava* L con 0.913 %, se obtuvo 30 mL de 7500 g de muestra fresca, seguido de *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* con 0.789 %, se obtuvo 30 mL de 3900 g de muestra fresca. La densidad de *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* y de *Psidium guajava* L presentan una menor densidad que *Eryngium foetidum* L, esta diferencia en las densidades es lo que permitió que los aceites esenciales se separen del agua después de la destilación por arrastre de vapor (Leal-Torres, López & Sosa, 2013). Los índices de refracción están dentro de los parámetros adecuados para cada aceite esencial, ya que el IR es un promedio ponderado del IR de cada uno de sus componentes, que tiene en cuenta las fracciones molares de los componentes en el aceite, además se los midió como una medida de calidad de cada aceite esencial (Ospina, Grande, Menjivar & Sanchez, 2016).

3.2 Determinación de la composición química de los aceites esenciales mediante cromatografía de gases acoplada a masas.

En el aceite esencial de *Eryngium foetidum* L se encontraron 11 compuestos (Anexo 9) de los cuales se identificó el 90.90 % de estos, siendo 10 los compuestos identificados, de los cuales los más importantes fueron: dodecenal <2E-> 53.51 %, E-cariofileno 13.90 %, selinene <β-> 12.19 %, limonene 6.45 % y cineol <1,8> 5.06 %. La información detallada se presenta en la tabla 2.

Tabla 2.

Composición química del aceite esencial de las hojas de *E. foetidum* L

COMPUESTO	AI TEÓRICO	(%) RDA
tricyclene	921	0.79
pinene <α->	932	0.47
limonene	1024	6.45
cineol <1,8>	1026	5.06
copaene <α->	1374	0.30
caryophyllene (E-)	1417	13.90
carvyl propanoato <cis->	1420	4.46
bergamotene <α-trans->	1434	1.58
dodecenal <2E->	1464	53.51
selinene <β->	1489	12.19

Elaborado por: Las autoras, 2019.

En el presente estudio se encontró que el componente principal del aceite esencial es el dodecenal <2E-> (53.51 %), teniendo concordancia con estudios previos donde se observa que dodecenal <2E-> es el componente principal, pero la concentración de éste varía de región a región como se puede observar en aceites de recolectados de

Nigeria con un 28.43 %, Vietnam con un 45.5 %, Malasia con un 59.7 %, Bangladesh con un 37.4 % y Cuba con un 5.7 % (Thomas, Essien, Ntuk, & Choudhary, 2017). Los porcentajes de los compuestos químicos presentes en el aceite esencial de *Eryngium foetidum* L presentan algunas similitudes y diferencias que pueden atribuirse a varios factores como el clima, la madurez y la variedad de las plantas, el procesamiento y los métodos de análisis (Chandrika, Thara-Saraswathi, & Mallavarapu, 2015).

En el aceite esencial de *Psidium guajava* L se encontraron 23 compuestos (Anexo 10) de los cuales se identificó el 56.52 % de estos, siendo 13 los compuestos identificados, de los cuales los más importantes tenemos: E-cariofileno 26.43 %, β -selineno 17.22 %, α -selineno 16.31 %, D-limoneno 9.79 %, y 1-8 cineol 9.14 % y α -pinene 4.71 %. La información detallada se presenta en la tabla 3.

Tabla 3.

Composición química del aceite esencial de las hojas de *Psidium guajava* L.

COMPUESTO	AI TEÓRICO	(%) RDA
α -pinene	932	4.71
D-limoneno	1024	9.79
1-8 cineol	1026	9.14
α -copaeno	1374	0.19
E-cariofileno	1417	26.48
β -humuleno	1436	1.76
γ -muuroleno	1478	0.66
β -selineno	1489	17.22
α -selineno	1498	16.31
α -muuroleno	1500	0.49
γ -cadineno	1513	0.26
cis-calameneno	1528	3.23
trans-14 hidrox-9epi cariofileno	1668	0.43

Elaborado por: Las autoras, 2019.

Al relacionar la presente investigación, con la realizada por (Wang, Wua, Huang, Kan Shia, & Wua, 2017) se observó que existe similitud al identificar al E-cariofileno como componente principal del aceite esencial, sin embargo, también se menciona compuestos diferentes como γ -gurjuneno, τ -cadinol y calameneno como componentes principales, presentando una gran cantidad de hidrocarburos sesquiterpenos. Como se sabe la composición del aceite esencial está relacionado con el mecanismo de producción del aceite esencial, que se produce a través del metabolismo secundario y sufre variaciones de acuerdo con la constitución genética de la planta, así como en respuesta a los factores del entorno donde se produce, debido a que *Psidium guajava* L posee una gran variación quimiotípica, generando diferentes genotipos que poseen mayor o menor presencia de compuestos según el genotipo expresado (Souza et al., 2017).

En el aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm se encontraron 45 compuestos (Anexo 11) de los cuales se identificó el 68.89 % de estos, siendo 31 los compuestos identificados, de los cuales los más importantes tenemos: trans-Cinamaldehído 19.35 %, metoxi cinamaldehído (E-o) 16.14 %, trans-cinamato de metilo 8.57 % y fenilpropenal 8.54 %, la información detallada se presenta en la tabla 4.

Tabla 4.**Composición química columna DB1-MS del aceite esencial de las hojas de***Ocotea quixos* (Lam) Kosterm

COMPUESTO	AI TEÓRICO	(%) RDA
α -Pino	939	0.91
benzaldehído	952	0.39
Sabineno	969	0.19
β -Pino	974	0.47
p-cimeno	1024	2.55
D-limoneno	1029	1.00
1,8-cineol	1031	6.15
Gamma-terpino	1059	0.29
4-terpineol	1177	5.53
trans-Cinamaldehído	1270	19.35
Fenil propenal	1351	8.54
α -copaeno	1376	2.94
Trans-cinamato de metilo	1378	8.57
Metil eugenol	1403	0.13
α -guaiene	1437	0.35
trans-Muurolo-3,5-dieno	1451	0.16
α -humuleno	1454	0.56
trans-acetato de cinamilo	1446	3.09
Cadina-1(6),4-diene <trans>	1475	0.14
α -selineno	1498	0.37
Cubebol	1514	0.19
α -muurolo	1500	0.1
δ -amorfo	1511	2.25
Calameneno <trans>	1522	1.23
Metoxi cinamaldehído (E-o)	1528	16.14
β -calcoreno	1544	0.14
β -vetiveneno	1554	0.13
Humuleno epóxido II	1608	0.14
Cubenol 1-epi	1627	1.18
Cubenol 1-10 epi	1618	0.60
α -muurool	1644	0.24
α -cadinol	1652	0.17

Elaborado por: Las autoras, 2019.

En el presente estudio se encontró que el componente principal del aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm, es el trans-Cinamaldehído con un 19.35 %, metoxi cinamaldehído (E-o) 16.14 %, teniendo concordancia con los resultados obtenidos por

Noriega y otros (2018), donde también detallan la presencia de acetato de cinamilo y metilcinamato <(E)->. Se sabe que los aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* suelen mostrar un alto grado de quimio diversidad (Scalvenzi et al., 2019) y esto podría explicar la variación en los compuestos químicos de este aceite.

3.3 Determinación de Concentración Letal 50 (LC50)

Se determinó la Concentración Letal 50 de los aceites de *Eryngium foetidum* L (Culantrillo), *Psidium guajava* L (Guayaba) y *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* (Ishpingo) por medio del método análisis probit con un intervalo de confianza del 95 % según (Sharififar, Assadipour, Moshafi, Alishahi, & Mahmoudvand, 2017).

3.3.1 *Ascaris* spp.

El análisis Probit permitió obtener el LC50 en la cual se identificó la concentración en la que el 50 % de las larvas L2 de *Ascaris* spp murieron a las 24h para *Eryngium foetidum* L fue de 0.01 mg/mL, para *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* fue de 0.081 mg/mL y para *Psidium guajava* L fue de 0.167 mg/mL como se presenta en la tabla 5 (Anexo 13 y 15).

Tabla 5.

Concentración Letal (LC50) para *Ascaris* spp.

Aceite esencial	LC50 (mg/mL)
<i>Eryngium foetidum</i> L	0.010
<i>Ocotea quixos</i> (Lam) <i>Kosterm</i>	0.081
<i>Psidium guajava</i> L	0.167

Elaborado por: Las autoras, 2019

3.3.2 *Strongyloides venezuelensis*

El análisis Probit permitió obtener la LC50 en la cual se identificó la concentración en la que el 50 % de las larvas L3 de *Strongyloides venezuelensis*, murieron a las 24h, para *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* fue de 0.084 mg/mL y para *Psidium guajava* L fue de 0.261 mg/mL como se presenta en la tabla 6, para el caso del aceite esencial de *Eryngium foetidum* L se llegó a establecer que la LC50 es menor a una concentración de 0.010 mg/mL (Anexo 12 y 14).

Tabla 6.

Concentración Letal (LC50) para *Strongyloides venezuelensis*

ACEITE ESENCIAL	LC50 (mg/mL)
<i>Psidium guajava</i> L	0.261
<i>Ocotea quixos</i> (Lam) <i>Kosterm</i>	0.084
<i>Eryngium foetidum</i> L	< 0.010

Elaborado por: Las autoras, 2019

3.4 Actividad antihelmíntica *in vitro*

Los aceites esenciales y muchos de sus compuestos químicos presentan insolubilidad en medios acuosos perjudicando su efecto en pruebas de susceptibilidad o pruebas de actividad antihelmíntica *in vitro*, por lo que es necesario el uso de tenso activos como son el tween 20 y tween 80 (Joven, Kanner, Schved, & Weisslowicz, 1994), para el presente estudio se utilizó tween 80 al 2 % ya que en pre-ensayos realizados presentó nula toxicidad tanto en huevos y larvas de *Ascaris* spp como en larvas de *Strongyloides venezuelensis* ratificando lo estudiado por (Katiki, Chagas, Bizzo, Ferreira, & Amarante, 2011) donde establece que tween 80 presenta un efecto tóxico a partir de concentraciones mayores a 4.79 %.

3.4.1 *Ascaris* spp.

Los resultados obtenidos de los diferentes ensayos antihelmínticos se reflejan en la tabla 7.

Tabla 7.

Concentración efectiva de cada aceite esencial en todos los ensayos *in vitro* de *Ascaris* spp.

ENSAYO IN VITRO	<i>Ocotea quixos</i> (mg/mL)	<i>Psidium guajava</i> L (mg/mL)	<i>Eryngium foetidum</i> L (mg/mL)
EHA	2.5 – 0.08	0.32 – 0.08	0.16 – 0.01
LDA	-----	-----	5 – 1.25
LMT	5 – 0.63	-----	5 – 0.63

Elaborado por: Las autoras, 2019.

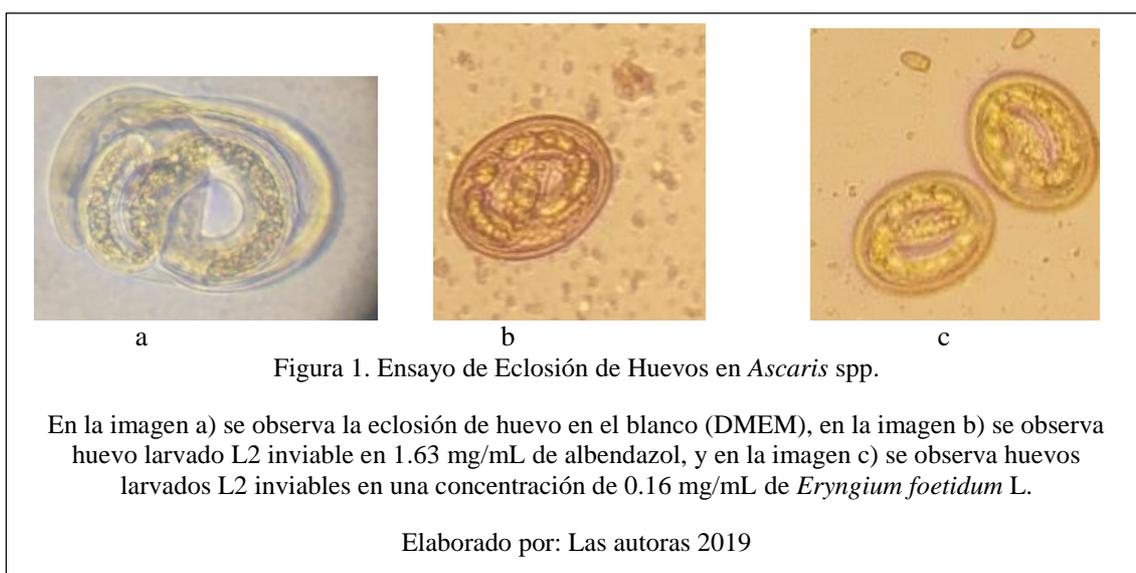
3.4.1.1 Ensayo de Eclosión de Huevos (EHA)

El ensayo mostró el efecto entre las diferentes concentraciones de los aceites esenciales junto al control (1.63 mg/mL albendazol) y el blanco (DMEM), versus el número de larvas que eclosionan de *Ascaris* spp.

El aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* en las concentraciones que van de 2.5 a 0.08 mg/mL demostraron ser igual de efectivas que el albendazol a 1.63 mg/mL; el aceite esencial de *Psidium guajava* L en las concentraciones de 0.32 a 0.08 mg/mL demostraron ser igual de efectivas que el albendazol a 1.63 mg/mL; y el aceite esencial de *Eryngium foetidum* L en las de 0.16 a 0.01 mg/mL demostraron ser igual de efectivas que el albendazol a 1.63 mg/mL (figura 1).

Como se observa en los Anexos (16 c, 18 c y 21 e) a menores concentraciones del aceite esencial este presenta la misma actividad ovicida que el albendazol. El

albendazol presenta un porcentaje de 96.1 a 97.5 % de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris* spp. (Okoli, Ndukwe, Ayo, & Habila, 2016), esto debido a que el mecanismo de acción en huevos actúa inhibiendo la enzima fumarato–reductasa, haciendo que la mitocondria quede bloqueada para la producción de ATP (Invesa, 2015), generando inviabilidad en los huevos de *Ascaris* spp.



Las concentraciones de 5 mg/mL del aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm, y 5 mg/mL a 1.25 mg/mL de *Psidium guajava* L. presentaron un mayor porcentaje de eclosión de huevos con larvas viables que el blanco, a pesar de que en las concentraciones de 5 mg/mL a 2.5 mg/mL de *Eryngium foetidum* L existió eclosión de huevos, las larvas no eran viables como se muestra en la figura 2.



Figura 2. Ensayo de Eclosión de Huevos en *Ascaris* spp.

En la imagen a) se observa la eclosión de larva en el blanco (DMEM), en la imagen b) se observa la eclosión de L2 en 5 mg/mL de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm, y en la imagen c) se observa la eclosión L2 inviable en 5 mg/mL *Eryngium foetidum* L.

Elaborado por: Las autoras 2019

La cáscara del huevo de *Ascaris* spp. posee cuatro capas, la capa uterina más externa (una glicoproteína), seguida de una capa vitelina delgada, una capa quitinosa y luego la capa lipídica más interna (denominada membrana de ascarósido) (Quilés, Balandier, & Capizzi-Banas, 2006), para emular las condiciones necesarias para la eclosión *in vitro* de huevos es necesario permeabilizar la membrana para la eclosión (Delgado & Jara, 2018). Al exponer los huevos de *Ascaris* spp en NaClO por 30 min este vuelve permeable la membrana, la permeabilización de la membrana facilitará la penetración de los productos químicos (Amoah, Reddy, & Stenström, 2017), en este caso los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales como es el trans-cinamaldehído, en el aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm, el 2-Dodecenal E, en el aceite esencial de *Eryngium foetidum* L y el E-cariofileno en el caso de *Psidium guajava* L, hacen que a mayor concentración de aceite esencial mayor porcentaje de eclosión de huevos exista.

Esto debido a que los aceites esenciales poseen fenoles, aldehídos o alcoholes con naturaleza lipofílica, que estando presentes en la célula pueden alterar la estructura de la bicapa lipídica, haciendo que éste aumente su permeabilidad, aumentando la pérdida

de iones, con la reducción del potencial de membrana y el posterior colapso de la bomba de protones acompañado de la pérdida de ATP (Neira, Mantilla, & Stashenko, 2018).

3.4.1.2 Ensayo de Desarrollo Larval (LDA)

El ensayo mostró el efecto entre las diferentes concentraciones de los aceites esenciales junto al control (1.63 mg/mL albendazol) y el blanco (H_2SO_4), versus el número de huevos larvados L1 que pasaron a huevos larvados L2 en el día 9 del ensayo de *Ascaris* spp.

El aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm y el aceite esencial de *Psidium guajava* L en las diferentes concentraciones demostró no ser efectivo para evitar que los huevos larvados L1 pasen a Huevos Larvados L2 (figura 3), puesto que el control (albendazol 1.63 mg/mL) demostró ser mejor que todas las concentraciones de los dos aceites esenciales como muestra en los Anexos (16 d y e, 18 a y b, 21 d).

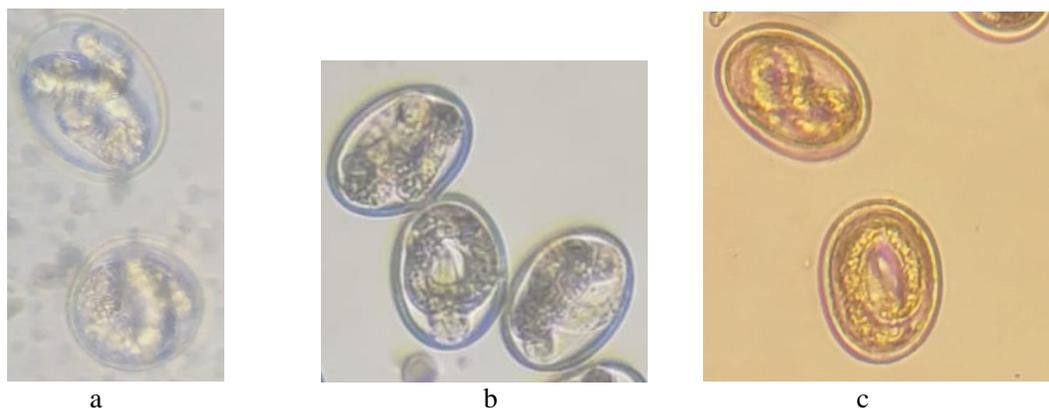


Figura 3. Ensayo de Desarrollo Larval en *Ascaris* spp.

En la imagen a) se observa huevos larvados L1 en el blanco (H_2SO_4), en la imagen b) se observa huevos larvados L2 en el blanco (H_2SO_4) después de 9 días de incubación y en la imagen c) se observa huevos larvados L2 en la concentración de 5 mg/mL de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm después de 9 días incubación.

Elaborado por: Las autoras 2019

El aceite esencial de *Eryngium foetidum* L en las concentraciones de 5 a 1.25 mg/mL fueron las únicas concentraciones que demostraron ser más efectivas que el control positivo (albendazol 1.63 mg/mL) como se observa en los Anexos (16 f, 18 c y 21 d), puesto que no solo evitó el desarrollo de huevos larvados L2, sino su evidente deformación de las larvas dentro de los huevos (figura 4).

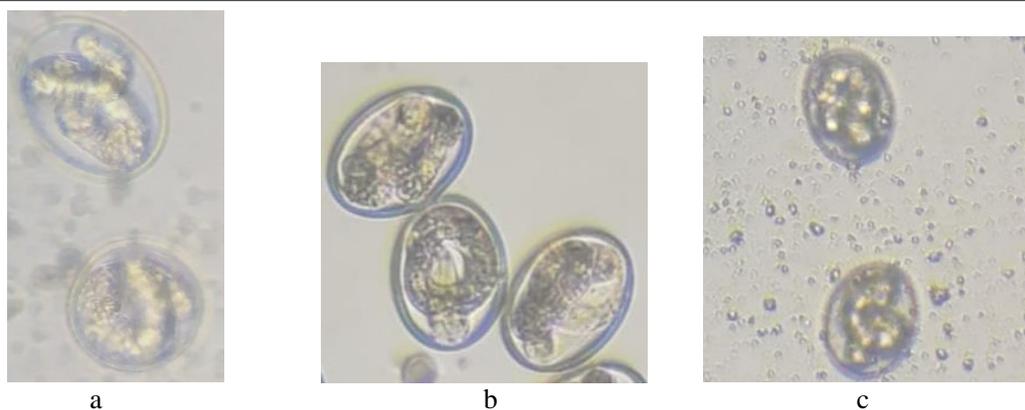


Figura 4. Ensayo de Desarrollo Larval en *Ascaris* spp.

En la imagen a) se observa huevos larvados L1 en el blanco (H_2SO_4), en la imagen b) se observa huevos larvados L2 en el blanco (H_2SO_4) después de 9 días de y en la imagen c) se observa huevos larvados L1 inviables en la concentración de 5 mg/mL de *Eryngium foetidum* L después de 24h de incubación.

Elaborado por: Las autoras 2019

Según lo expuesto por Amoah, Reddy & Stenström (2017), la inactivación de los huevos de *Ascaris suum* es el resultado prolongado a concentraciones de reactivos teniendo un efecto destructivo sobre la viabilidad de huevos de *Ascaris suum*, se demostró que la exposición por periodos cortos (5 min) puede no afectar la viabilidad de los huevos expuestos, pero la exposición prolongada (30 min) puede resultar en la pérdida de viabilidad. La pérdida de viabilidad podría deberse al aumento de la permeabilidad durante la incubación de los huevos. La permeabilidad de las cáscaras de huevo aumenta durante la incubación, lo que podría ser la razón del aumento del efecto de inactivación con las concentraciones de concentraciones 5 a 1.25 mg/mL

aceite esencial de *Eryngium foetidum* L con una duración prolongada que en el caso del ensayo fue de 24h.

Como menciona anteriormente Neira, Mantilla & Stashenko (2018) los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales gracias a su naturaleza lipofílica permeabilizan la membrana celular, permitiendo el paso de sustancias, en el caso del aceite esencial de *Eryngium foetidum* L se demostró en el presente estudio que el componente mayoritario es el (E) -2-Dodecenal el cual es conocido por su capacidad antihelmíntica (Forbes, Gallimore, Mansingh, Reese, & Robinson, 2014).

3.4.1.3 Prueba de Motilidad Larval (LMT).

El ensayo mostró el efecto entre las diferentes concentraciones de los aceites esenciales junto al control (1.63 mg/mL albendazol) y el blanco (DMEM), versus la presencia /ausencia de motilidad larval en larvas L2 de *Ascaris* spp. a las 24h.

El aceite esencial de *Psidium guajava* L en las diferentes concentraciones probadas demostró no ser efectivo para disminuir la motilidad de las larvas L2, puesto que el control (albendazol 1.63 mg/mL) fue mejor, tal como se observa en los Anexos (16 h, 18 e y 21 c). Los aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm y de *Eryngium foetidum* L en las concentraciones que van de 5 a 0.63 mg/mL demostraron ser igual de efectivas que el albendazol a 1.63 mg/mL para inhibir la motilidad (figura 5), como se muestra en los anexos (16 g e i, 18 d y 21 f). El albendazol en larvas presenta un mecanismo de acción diferente que en el de huevos puesto que en larvas este inhibe la producción de alfa tubulina y la beta tubulina evitando así la formación de los microtúbulos, haciendo que se realice una deficiente captación de glucosa,

3.4.2.1 Ensayo de Desarrollo Larval (LDA)

El ensayo mostró el efecto entre las diferentes concentraciones de los aceites esenciales junto al control (ivermectina 0.316 mg/mL) y el blanco (PBS), versus el número de larvas L1, que pasaron a larvas L3 a las 72h del ensayo.

Los aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm, *Psidium guajava* L y de *Eryngium foetidum* L en todas sus concentraciones demostraron ser igual de efectivas que el control (ivermectina 0.316 mg/mL) para evitar el desarrollo de larvas L3 (figura 6), como se muestra en los anexos (17 a, b y c, 19 a, b y c y 20 a). La ivermectina en su mecanismo de acción se une selectivamente a los canales regulados por glutamato del ion cloro en las células nerviosas y musculares de los invertebrados, generando un aumento en la permeabilidad de la membrana celular a los iones cloruro con hiperpolarización de la célula, causando parálisis muscular y de la faringe, los parásitos mueren por asfixia e inanición (Ch, 2010).

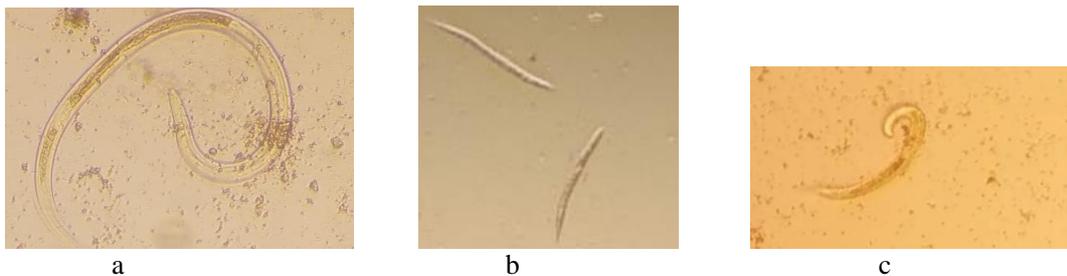


Figura 6. Prueba de Desarrollo Larval en *Strongyloides venezuelensis*.

En la imagen a) se observa la larva L3 en el blanco (PBS 1x) después de incubar 72h, en la imagen b) se observa la larva L3 en el control (ivermectina 0.316 mg/mL) después de incubar 72h, c) se observa la larva L1 en la concentración de 0.63 mg/mL de *Eryngium foetidum* L después de incubar 72h.

Elaborado por: Las autoras 2019

Como se discutió anteriormente el aceite esencial de *Eryngium foetidum* L en su composición posee el dodecenal <2E-> un componente con actividad antihelmíntica registrada en *Strongyloides stercoralis*. En el caso del aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm el efecto inhibitorio en la muda de larvas L1 a larvas L2 puede estar relacionado al compuesto trans-Cinamaldehído que posee actividad estudiada hasta la fecha antimicrobiana y antifúngica (Scalvenzi, Yaguache-Camacho, Cabrera, & Guerrin, 2016).

3.4.2.2 Prueba de Motilidad Larval (LMT)

El ensayo mostró el efecto entre las diferentes concentraciones de los aceites esenciales junto al control (ivermectina 0.316 mg/mL) y el blanco (PBS), versus la presencia /ausencia de motilidad larval en larvas L2 de *Ascaris* spp. a las 24h.

El aceite esencial de *Psidium guajava* L en las concentraciones de 5 a 2.5 mg/mL demostraron ser igual de efectivas que la ivermectina a 0.315 mg/mL para inhibir la motilidad larval. El aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm en las concentraciones de 5 a 0.16 mg/mL demostraron ser igual de efectivas que la ivermectina a 0.315 mg/mL para inhibir la motilidad larval, esto puede estar asociado a los componentes del aceite como el trans-Cinamaldehído y el Metoxi cinamaldehído (E-o) que si bien no existen estudios que validen su capacidad antihelmíntica, si existen estudios que validen su capacidad antimicrobiana (Gómez & López, 2009).

El aceite esencial de *Eryngium foetidum* L en todas las concentraciones probadas es decir de 5 a 0.01 mg/mL demostraron ser igual de efectivas que el control (ivermectina a 0.315 mg/mL) (figura 7) como se observa en el anexo (17 f, 19 f, 20 b). Esto se puede

deber al compuesto (E) -2-Dodecenal ya que como se mencionó con anterioridad este se encuentra como compuesto mayoritario en el aceite, si bien no se conoce el mecanismo de acción del (E) -2-Dodecenal contra *S. stercoralis* este podría estar relacionado con la parálisis en nematodos siendo así el mecanismo de acción de las drogas químicas ya que principalmente producen un bloqueo de los transmisores neuromusculares (Holden-dye & Walker, 2014).

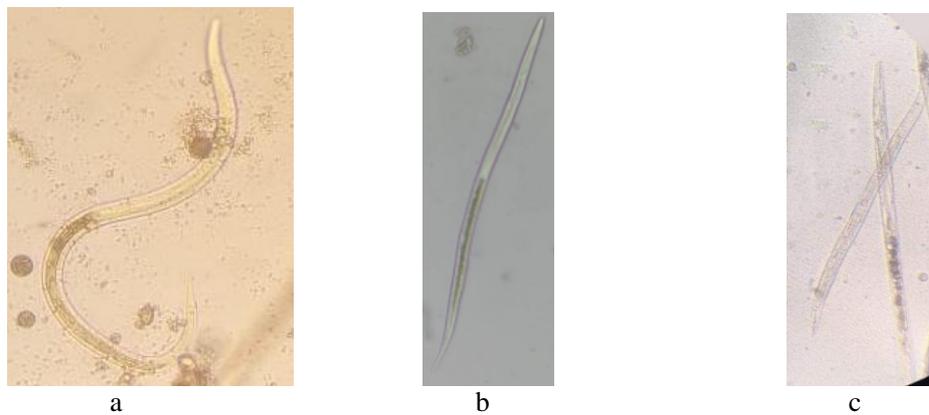


Figura 7. Prueba de Motilidad Larval en *Strongyloides venezuelensis*.

En la imagen a) se observa la larva L3 en el blanco (PBS 1x) después de incubar 24h, en la imagen b) se observa la larva L3 en el control (ivermectina 0.316 mg/mL) después de incubar 24h, c) se observan larvas L3 en la concentración de 0.01 mg/mL de *Eryngium foetidum* L después de incubar 24h.

Elaborado por: Las autoras 2019

Conclusiones

En el análisis de la composición química realizada en la cromatografía de gases del aceite esencial de las hojas y tallo de *Eryngium foetidum* L se encontró que el componente principal el dodecenal <2E-> se encuentra en un 53.51 %, asemejándose a las cantidades de este encontrados en Malasia con un 59.7 %.

En el aceite esencial de las hojas de *Psidium guajava* L se encontraron 23 compuestos (Anexo 10) de los cuales se identificó el 56.52 % de estos, siendo 13 los compuestos identificados, de los cuales los más importantes tenemos: E-cariofileno 26.43 %, β -selineno 17.22 %, α -selineno 16.31 %, D-limoneno 9.79 %, y 1-8 cineol 9.14 % y α -pinene 4.71 %.

En el aceite esencial de corteza de *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* se encontró que existía una ligera variación de los componentes del aceite esencial esto debido a la quimiodiversidad que presenta la planta, sin embargo, el componente principal sigue siendo el mismo trans-Cinamaldehído con un 19.35 %.

El aceite esencial de *O. quixos* (Ishpingo) presentó resultados significativos ya que sus compuestos como: trans-cinamaldehído, acetato de cinamilo y trans-metoxicinamato que poseen actividad antimicrobiana y antifúngica demostrada hasta la fecha (Scalvenzi, Yaguache-Camacho, Cabrera, & Guerrin, 2016). Y con la presente investigación se demostró que también tiene posee actividad antihelmíntica sobre *Ascaris* spp. y *Strongyloides venezuelensis*.

Se identificó que la concentración letal LC50 de los aceites para *Ascaris* spp es de 0.01 mg/mL para *Eryngium foetidum* L, 0.081 mg/mL para *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm* y de 0.167 mg/mL para *Psidium guajava* L; mientras que la LC50 para *Strongyloides venezuelensis* fue de 0.084 mg/mL para *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm*, 0.261 mg/mL para *Psidium guajava* L, para el caso del aceite esencial de *Eryngium foetidum* L no se llegó a establecer la concentración exacta LC50, por lo que se planteó que esta sería en una concentración menor a 0.01 mg/mL lo que daría paso a que la investigación continué a futuro.

En el Ensayo de Eclosión de Huevos para *Ascaris* spp se logró identificar que las concentraciones de 2.5 a 0.08 mg/mL *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm*, de 0.32 a 0.08 mg/mL de *Psidium guajava* L y 0.16 a 0.01 mg/mL de *Eryngium foetidum* L presentaron igual eficacia que el control positivo (albendazol 1.63mg/mL). Mientras que las concentraciones de 5 mg/mL del aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm*, de 5 mg/mL a 1.25 mg/mL de *Psidium guajava* L. y de 5 mg/mL a 2.5 mg/mL de *Eryngium foetidum* L presentaron una media mayor que el blanco esto debido a la permeabilización de la membrana que facilitó la ruptura de los huevos de *Ascaris* spp (Amoah, Reddy, & Stenström, 2017).

En el Ensayo de Desarrollo Larval (LDA) para *Ascaris* spp el aceite esencial de *Eryngium foetidum* L en las concentraciones de 5 a 1.25 mg/mL demostró ser más efectivo que el control (albendazol 1.63mg/mL), mientras que para *Strongyloides venezuelensis* los aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm*, *Psidium guajava* L y de *Eryngium foetidum* L en todas sus concentraciones demostraron ser igual de

efectivas que el control (ivermectina 0.316 mg/mL) para evitar el desarrollo de larvas L3.

En la Prueba de Motilidad Larval para *Ascaris* spp. las concentraciones de los aceites esenciales de 5 a 0.32 mg/mL tanto de *Ocotea quixos (Lam) Kosterm* como de *Eryngium foetidum* L demostraron tener una mayor eficacia a comparación del control (Albendazol 1,63mg/mL), mientras que para *Strongyloides venezuelensis* el aceite esencial de *Eryngium foetidum* L en todas las concentraciones probadas es decir de 5 a 0.01 mg/mL demostraron ser igual de efectivas que el control (ivermectina 0.316 mg/mL).

Los resultados demuestran que el mejor aceite esencial es el de hojas y tallo de *Eryngium foetidum* L es muy eficaz, como se mencionó antes, es de gran importancia puesto que las recientes investigaciones que evalúan el aceite establecen que el compuesto químico 2-Dodecenal posee actividad antihelmíntica poco estudiada en cuanto a su mecanismo de acción.

Es importante buscar una alternativa a los fármacos antihelmínticos ya que causan daños en el organismo como: cefalea, elevación leve a moderada de enzimas hepáticas, vértigo, alopecia reversible, fiebre y es teratogénicos; además se ha demostrado que por el mal uso de estos medicamentos en el tratamiento generan resistencia en los helmintos, por lo cual la investigación realizada da paso a medicamentos de origen natural con futuras pruebas.

Recomendaciones

Mantener el almacenamiento en frío del material vegetal a ser destilado por máximo de 4 días para no afectar el rendimiento del aceite.

Poner sulfato de sodio anhidro en el aceite esencial después de la destilación, para retirar restos de agua que pudieron haber quedado, para el correcto cálculo de la densidad por medio del Picnómetro.

Observar que la cantidad de larvas de parásitos a inocula en Ratas Wistar sea la adecuada, controlando su peso evitando así su decaimiento y muerte.

Vigilar y controlar en el coprocultivo que exista la cantidad necesaria de agua y vermiculita para el desarrollo de los huevos del parásito *Strongyloides venezuelensis*.

Colocar por lo menos una hora en agua a 37 °C las gasas sumergidas en el agua para realizar correctamente la técnica de Baermann, para facilitar el termo hidrotropismo de las larvas desde la gasa hasta el agua.

Evitar dejar residuos al cortar el útero en el momento de la disección y obtención de los huevos de *Ascaris* spp, para evitar la contaminación del medio.

Mantener las larvas de *Strongyloides venezuelensis* en una temperatura constante de 37 °C y con exposición a Luz por 1 min para su lectura, y repetir esto siempre que la placa se enfríe.

Verificar que las larvas y los huevos de *Ascaris* spp estén a una temperatura constante de 37 °C con una atmosfera de CO₂ al 5 % y con exposición a la luz por 1 min aproximadamente para su lectura, repetir este proceso siempre que la placa se enfríe.

Referencias

- Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (Vol. 456). Carol Stream, IL: Allured publishing corporation.
- Ademola, I., Fagbemi, B., & Idowu, S. (2007). Anthelmintic activity of *Spigelia anthelmia* extract against gastrointestinal nematodes of sheep, 63–69. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0444-0>
- Amoah, I, Reddy, P., & Stenström, T. (2017). Uncorrected Proof Uncorrected Proof. *Water Science y Technology*, 1–12. <https://doi.org/10.2166/wst.2017.324>
- Amoah, I., Reddy, P., Seidu, R., & Stenstrom, T. (2018). Concentration of soil-transmitted helminth eggs in sludge from South Africa and Senegal: A probabilistic estimation of infection risks associated with agricultural application. *Journal of Environmental Management*, 206, 1020–1027. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.12.003>
- Apt Baruch, W. L. (2013). *Parasitología Humana*. (J. Leon, E. Salas, & M. Bernal, Eds.) (1st ed.). Mexico: Mc Graw Hill Education.
- Beleboni, O. (2016). *Thymus vulgaris* L. essential oil and its main component thymol: Anthelmintic effects against *Haemonchus contortus* from sheep. *Veterinary Parasitology*. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.08.011>
- Bisoffi, Z., Buonfrate, D., Montresor, A., Requena-Méndez, A., Muñoz, J., Krolewiecki, A. J., ... Albonico, M. (2013). *Strongyloides stercoralis*: A Plea for Action. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(5), 1–5. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002214>
- Botero, D., & Restrepo, M. (2012). *Parasitosis Humana*, Quinta Edición.

- Canella, E. (2016). Aceites, aromas, esencias, sales de baño. Técnicas, Materiales y Fragancias.
- Castaño, J., & Montes, J. (2014). ESTUDIO INTEGRAL DE Psidium guajava EN UN SISTEMA SILVOPASTORIL EN EL MUNICIPIO DE TURBO ANTIOQUÍA. Colombia.
<https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/8569/1/71948313.pdf>
- Castillo, J., & Márquez, J. (2007). Colecciones del Centro de Investigaciones Biológicas. (A. Roque & E. Rivass, Eds.) (1st ed.). México: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO.
<https://books.google.com.ec/books?id=qAL4sEtjOG0C&pg=PA23&dq=helminos+son&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwjHkP2UscnfAhXnmOAKHU2HAgQQ6AEIPjAE#v=onepage&q=helminos son&f=false>
- CCAC. (2011). Xxi. Laboratory Rats. Canadian Council on Animal Care, 2, 3–8. Retrieved from
<https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Vol2/rats.pdf>
- Ch, J. V. (2010). Ivermectina: Sus Múltiples Usos, Seguridad y Toxicidad, 26(4), 358–368.
- Chandrika, R., Sarawasthi, K., & Shivakameshwari, M. (2013). Phonological events of *Eryngium foetidum* L. from Kar- nataka, India. *Int J Plant Reprod Biol*, 5(1), 89–91.
- Chandrika, R., Thara Saraswathi, J., & Mallavarapu, R. (2015). Constituents of the essential oils of the leaf and root of *Eryngium foetidum* L. from two locations in India. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 18(2), 349–358.
<https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.960277>

- Conde, A., Espinosa, R., Trejo, A & Guerrero, J. (2017). CO₂-supercritical extraction, hydrodistillation and steam distillation of essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) *Journal of Food Engineering*, 200, 2–7. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.12.022>
- Cordeiro, L., Athayde, A., Vilela, V., Costa, J., Silva, W. & Araujo, M. (2010). Efeito in vitro do extracto etanólico das folhas do melao-de-Sao-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematoides gastrintestinais de caprinos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinales*, 12.
- Da Silva, E. A. J., Da Silva, V. P., Alves, C. C. F., Alves, J. M., Souchie, E. L., & Barbosa, L. C. A. (2016). Effect of natural and artificial drying of leaf biomass of *Psidium guajava* on the content and chemical composition of essential oil. *Semina: Ciências Agrárias*, 37(5), 3059–3068. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n5p3059>
- DATABIO. (2013). *Ascaris lumbricoides*. Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo. Fichas de agentes biológicos. <https://www.studocu.com/es/document/universidad-mariano-galvez-de-guatemala/micromiologia/otros/ascaris-lumbricoides/2852001/view>.
- Delgado, G., & Jara, C. A. (2018). Actividad antihelmíntica del extracto de *Peumus boldus* comparada con la piperazina citrato sobre el huevo y larva de *Ascaris suum*. 38(1), 64–72.
- Dogan, C., Gayaf, M., Ozsoz, A., Sahin, B., Aksel, N., Karasu, I., ... Turgay, N. (2014). Pulmonary *Strongyloides stercoralis* infection. *Respiratory Medicine Case Reports*, 11, 12–15. <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2013.10.004>
- Dold, C. & Holland, C. (2014). Helminth - Nematode. *Food Science*, 2, 83–89.

- Easton, A. V., Oliveira, R. G., O'Connell, E. M., Kepha, S., Mwandawiro, C. S., Njenga, S. M., ... Nutman, T. B. (2016). Multi-parallel qPCR provides increased sensitivity and diagnostic breadth for gastrointestinal parasites of humans: field-based inferences on the impact of mass deworming. *Parasites & Vectors*, 9, 38. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1314-y>
- El-Badry, A. A., Hamdy, D. A., & Abd El Wahab, W. M. (2018). *Strongyloides stercoralis* larvae found for the first time in tap water using a novel culture method. *Parasitology Research*, 117(12), 3775–3780. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6078-1>
- Estrella, M. (2015). *Strongyloides stercoralis* en caninos de la comuna Limoncito de la parroquia Chongón-Guayas y el riesgo en salud pública 2014. Guayaquil: Universidad de Guayaquil. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Retrieved from <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/6945>
- FAO. (2015). FAO - Noticias: Identifican los diez principales parásitos transmitidos por los alimentos. <http://www.fao.org/news/story/es/item/237578/icode/>
- Forbes, M., Gallimore, A., Mansingh, A., Reese, B., & Robinson, D. (2014). Eryngial (trans-2-dodecenal), a bioactive compound from *Eryngium foetidum*: Its identification, chemical isolation, characterization and comparison with ivermectin in vitro. *Parasitology*, 141(2), 269–278. <https://doi.org/10.1017/S003118201300156X>
- Frontera, E., Perez, J. & Reina, D. (2009). Ascariosis. In *Patología parasitaria porcina* (pp. 117–129). Zaragoza: Grupo Asís Biomedica S.L.
- García, M. (2010). *Guía técnica del cultivo de la guayaba*. Tecnología, Centro Nacional de Córdoba., Agropecuaria Y Forestal Enrique Alvarez. Retrieved

from [http://www.centa.gob.sv/docs/guias/frutales/GUIA CULTIVO GUAYABA.pdf](http://www.centa.gob.sv/docs/guias/frutales/GUIA_CULTIVO_GUAYABA.pdf)

- Goodman, D., Haji, H., Bickle, Q., Stoltzfus, R., Tielsch, J., Ramsan, M., Savioli, L. & Albonico, M. (2007) A comparison of methods for detecting the eggs of *Ascaris*, *Trichuris*, and hookworm in infant stool, and the epidemiology of infection in Zanzibari infants. *Am J Trop Med Hyg*, 76:725–731.
- Gómez, A., Ramirez, A., & Cortes, J. (2011). Biomodelos animales y enfermedades infecciosas de importancia en salud pública veterinaria. *Revista Sapuvet de Salud Pública*, N°2(January), 69–94.
- Gómez, A., & López, A. (2009). Potencial antimicrobiano de los aceites esenciales de orégano (*origanum vulgare*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*) (Doctoral). Universidad de las Americas Puebla.
- Gonçalves, A. L. R., De Araújo, K. C. L., Carvalho, E. F. G., Ueta, M. T., & Costa-Cruz, J. M. (2016). Specific IgG and immune complex responses to parthenogenetic females and eggs of nematode *Strongyloides venezuelensis* for the diagnosis of immunosuppression in infected rats. *Journal of Helminthology*, 90(3), 342–346. <https://doi.org/10.1017/S0022149X15000346>
- Hayes, J., & Nellore, A. (2018). Management of *Strongyloides* in Solid Organ Transplant Recipients. *Infectious Disease Clinics of North America*, 32(3), 749–763. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2018.04.012>
- Henriquez, C., Gotuzzo, E., Echevarria, J., White, A., Terashima, A., Samalvides, F., Plana, M. N. (2016). Ivermectin versus albendazole or thiabendazole for *Strongyloides stercoralis* infection. *Cochrane Database of Systematic*. doi: 10.1002/14651858.cd007745.pub3

- Herrera, M. & Villegas, A. (2017). Estudio de la composición química, actividad antimicrobiana y actividad antioxidante del aceite esencial proveniente de la corteza de la *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. Universidad Politécnica Salesiana.
- Holden-dye, L., & Walker, J. (2014). Anthelmintic drugs and nematicides: studies in *Caenorhabditis elegans*. *Worm Book*, 143(2), 1–29. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.1>
- INSPI. (2017a). Bitacora de Trabajo con *Ascaris* spp.
- INSPI. (2017b). Enteroparasitosis en niños escolares del Ecuador: Intervención y resultados preliminares.
- Invesa. (2015). Albendazol 10% Ganadexil. España.
- Juven, J., Kanner, J., Schved, F., & Weisslowicz, H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *The Journal of Applied Bacteriology*, 76(6), 626–631.
- Kanojiya, D., Shanker, D., & Jaiswal, A. K. (2015). potential of extracts of *Allium sativum* bulb against naturally occurring ovine gastrointestinal nematodiosis. *Veterinary Quarterly*, 35(4), 200–206. <https://doi.org/10.1080/01652176.2015.1099080>
- Katiki, M., Chagas, S., Bizzo, R., Ferreira, S., & Amarante, T. (2011). Anthelmintic activity of *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon schoenanthus* and *Mentha piperita* essential oils evaluated in four different in vitro tests. *Veterinary Parasitology*, 183(1–2), 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.001>
- Kozan, E., Küpeli Akkol, E., & Süntar, I. (2016). Potential anthelmintic activity of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl. *Journal of Ethnopharmacology*, 187, 183–186. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.044>

- Laclette, J. P., Bobes, R., & Carrero, J. C. (2017). La era posgenómica en el estudio de los helmintos. *Ciencia*, 68(1), 62–65. Retrieved from http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/68_1/PDF/helmintos.pdf
- Leal-Torres, E., Lopez, A. & Sosa, M. (2013). Extracción, composición y caracterización de los aceites esenciales de hoja y semilla de cilantro (*Coriandrum sativum*). *Temas Selectos de Ingenieria de Alimentos*, 7, 97–103.
- Llewellyn, S., Inpankaew, T., Nery, S. V., Gray, D. J., Verweij, J. J., Clements, A. C. A., ... McCarthy, J. S. (2016). Application of a Multiplex Quantitative PCR to Assess Prevalence and Intensity Of Intestinal Parasite Infections in a Controlled Clinical Trial. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(1), e0004380. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004380>
- Lopez, M. & Cooredor, A. (2012). *Atlas de Parasitología (El Manual)*. Bogotá.
- Magdaleine, M. (2009). *Etude de ressources végétales tropicales pour un usage anthelminthique en élevage de ruminants*. Universidad de las Antillas.
- Merino, G., Álvarez, I., Prieto, G., & Kim, B. (2002). The anthelmintic agent albendazole does not interact with p-glycoprotein. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 30(4), 365–369.
- Miller, A., Smith, M. L., Judd, J. A., & Speare, R. (2014). *Strongyloides stercoralis*: Systematic Review of Barriers to Controlling Strongyloidiasis for Australian Indigenous Communities. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003141>
- Mite, A. (2001). *Incidencia de Parasitismo por Ascaris Lumbricoides en la parroquia de Manuel J. Calle*. Universidad de Guayaquil.

- Moraes, D.; Levenhagen, M.; Costa, J.; Costa, A. & Rodriguez, R. (2016). In vitro efficacy of latex and purified papain from *Carica papaya* against *Strongyloides venezuelensis* eggs and larvae. Instituto Tropical de Medicina de Sao Paulo.
- National Research Council. (2011). Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition. Washington, DC: The National Academies Press.
<https://doi.org/10.17226/12910>
- Neira, L., Mantilla, J., & Stashenko, E. (2018). Toxicidad, genotoxicidad y actividad anti-*Leishmania* de aceites esenciales obtenidos de cuatro (4) quimiotipos del género *Lippia*. Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 17(1), 68–83. Retrieved from http://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/articulo_7_-_1414_-_68_-_83.pdf <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emexb&NEWS=N&AN=620151548>
- Noriega, P., Mosquera, T., Paredes, E., Parra, M., Zappia, M., Herrera, M., Villegas, a., & Osorio, E. (2018). Antimicrobial and antioxidant bioautography activity of bark essential oil from *Ocotea quixos* (Lam.) kosterm. JPC - Journal of Planar Chromatography - Modern TLC, 31(2), 163–168.
doi:10.1556/1006.2018.31.2.11
- Noriega, P. & Dacarro, C. (2008). Aceite foliar de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.: actividad antimicrobiana y antifúngica. La Granja, 7, 3–6.
- Nutman, T. B. (2017). Human infection with *Strongyloides stercoralis* and other related *Strongyloides* species. Parasitology, 144(3), 263–273.
<https://doi.org/10.1017/S0031182016000834>

- O'Connell, E. M., & Nutman, T. B. (2015). Eosinophilia in Infectious Diseases. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 35(3), 493–522. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.iac.2015.05.003>
- Okoli, B., Ndukwe, G., Ayo, R., & Habila, J. (2016). Inhibition of the Developmental Stages of *Ascaris suum* and Antimicrobial Activity of 3 β - Hydroxylolean-12, 18-diene Isolated from the Aerial Parts of Inhibition of the Developmental Stages of *Ascaris suum* and Antimicrobial Activity of 3 β - Hydroxylole. *ACSJ*, 11(3), 1–11. <https://doi.org/10.9734/ACSJ/2016/21377>
- OMS. (2008). OMS alerta sobre infección de parásitos intestinales en países en desarrollo. <https://news.un.org/es/story/2008/08/1140951>
- OMS. (2018). Helmintiasis transmitidas por el suelo. Retrieved from <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>
- OPS. (2016). PLAN DE ACCIÓN PARA LA ELIMINACIÓN DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS DESATENDIDAS Y LAS MEDIDAS POSTERIORES A LA ELIMINACIÓN 2016-2022. Washington.
- Orso, P., Cantou, V., Rosano, K., & Giachetto, G. (2014). *Ascaris lumbricoides*. Serious complications in children hospitalized in the CHPR. *Archivos de Pediatría del Uruguay*.
- Ospina, J., Grande, C., Menjivar, J. & Sanchez, M. (2016). RELACIÓN ENTRE EL ÍNDICE REFRACTIVO Y LA CONCENTRACIÓN DE TIEMPO EN ACEITES ESENCIALES DE *Lippia origanoides* Kunth. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 32.
- Palomo, C., Badiola, E., Etxabe, J., Landa, A., Mielgo, A., & Olaizola, I. (2016). Oxy Enones for Construction of All-Carbon Quaternary Stereogenic Centers:

Azlactones as Pronucleophiles. In International Conference On Multidisciplinary Sciences.

- Parra, M. & Flor, H. (2017). Estandarización fitoquímica de extractos hidroalcohólicos de Ishpink, *Ocotea quixos* (Lam.) Kostern. Universidad Politécnica Salesiana.
- Paucar-Menacho, L. M., Guillén-Sánchez, R., Salvador-Reyes, J., & Moreno-Rojo, C. & J. C.-R. (2015). Estudio comparativo de las características físico-químicas del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), aceite de oliva (*Olea europaea*) y aceite crudo de pescado. *Scientia Agropecuaria*, 6, 279–290.
- Paul, J., Seaforth, C., & Tikasingh, T. (2011). *Eryngium foetidum* L. *Fitoterapia*, 82, 302–308.
- Paula, F. M., Sitta, R. B., Malta, F. M., Gottardi, M., Corral, M. A., Gryscek, R. C. B., & Chieffi, P. P. (2013). PARASITOLOGICAL AND MOLECULAR DIAGNOSIS IN EXPERIMENTAL *Strongyloides venezuelensis* INFECTION. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 55(2), 141–143. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652013000200015>
- Piña, D., Mayoral, Z., Gómez, M., Salazar, L., & Arellano, F. (2017). Anthelmintic effect of *Psidium guajava* and *Tagetes erecta* on wild-type and Levamisole-resistant *Caenorhabditis elegans* strains. *Ethnopharmacology*, 202, 92–96.
- Pornsuriyasak, P., Nitichaoenpong, K., & Sakapibunnan, A. (2004). Disseminated strongyloidiasis successfully treated with extended duration ivermectin combined with albendazole: a case report of intractable strongyloidiasis. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 35(3), 531–534.
- Quilés, F., Balandier, J.-Y., & Capizzi-Banas, S. (2006). In situ characterisation of a microorganism surface by Raman microspectroscopy: the shell of *Ascaris*

- eggs. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386(2), 249–255.
<https://doi.org/10.1007/s00216-006-0638-4>
- Rasgado, F., Soto, R., Conde, V., Heike, V. & Cibrián, D. (2016). Variación estacional en la composición química de resinas y aceites esenciales de *Liquidambar styraciflua* de Hidalgo, México. *Botanical Sciences*, 94, 331–344.
- Rivasi, F., Pampiglione, S., Boldorini, R., & Cardinale, L. (2006). Histopathology of gastric and duodenal *Strongyloides stercoralis* locations in fifteen immunocompromised subjects. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 130(12), 1792–1798. [https://doi.org/10.1043/1543-2165\(2006\)130\[1792:HOGADS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1043/1543-2165(2006)130[1792:HOGADS]2.0.CO;2)
- Salesiana, U. P. (2015). UPS Inaugura Estación Biológica Kutukú.
- Sangucho, A. (2017). Identificación y caracterización de los metabolitos secundarios específicos de *Ocotea quixos*, con acción antifúngica. ESPE.
- Scalvenzi, L., Yaguache-Camacho, B., Cabrera, P., & Guerrin, A. (2016). ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DE ACEITES, 28(1), 39–46.
- Scalvenzi, L., Radice, M., Toma, L., Severini, F., Boccolini, D., & Bella, A. (2019). Larvicidal activity of *Ocimum campechianum*, *Ocotea quixos* and *Piper aduncum* essential oils against *Aedes aegypti*. *Parasite*, 26, 23. doi: 10.1051/parasite/2019024.
- Schär, F., Trostorf, U., Giardina, F., Khieu, V., Muth, S., Marti, H., ... Odermatt, P. (2013). *Strongyloides stercoralis*: Global Distribution and Risk Factors. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(7), 1–18.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002288>

- Scott, M. (2008). *Ascaris lumbricoides*: Una revisión de su epidemiología y su relación con otras infecciones. *Annales Nestlé*, 66, 7–22.
<https://doi.org/10.1159/000151269>
- Sharififar, F., Assadipour, A., Moshafi, M., Alishahi, F., & Mahmoudvand, H. (2017). Bioassay Screening of the Essential Oil and Various Extracts of *Nigella sativa* L. Seeds Using Brine Shrimp Toxicity Assay, 2(1), 26–31.
<https://doi.org/10.22087/HMJ.V1I2.578>
- Siddique, A. B., Rahman, S. M. M., & Hossain, M. A. (2016). Chemical composition of essential oil by different extraction methods and fatty acid analysis of the leaves of *Stevia Rebaudiana* Bertoni. *Arabian Journal of Chemistry*, 9, S1185–S1189. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.01.004>
- Singh, B. K., Ramakrishna, Y., & Ngachan, S. V. (2014). Spiny coriander (*Eryngium foetidum* L.): A commonly used, neglected spicing-culinary herb of Mizoram, India. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61(6), 1085–1090.
<https://doi.org/10.1007/s10722-014-0130-5>
- Souza, S., Flores, M., Menini, L., Rodrigues, J., Lima, C. De, Alves, L., ... Ferreira, A. (2017). *Scientia Horticulturae* Essential oil of *Psidium guajava* : Influence of genotypes and environment. *Scientia Horticulturae*, 216, 38–44.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.12.026>
- Shruthi, S. D., Roshan, A., Sharma, S., & Sunita, S. (2013). A REVIEW ON THE MEDICINAL PLANT *PSIDIUM GUAJAVA* LINN. (MYRTACEAE), 3(2), 162–168.
- Tayupanta, D., Cadena, E., Delgado, P., & Ruano, A. (2012). Establecimiento del ciclo biológico de *Strongyloides venezuelensis* en ratas Wistar.
<http://www.investigacionsalud.gob.ec/webs/propad/wpcontent/uploads/2017/>

02/ESTANDARIZACION-Y-MANTENIMIENTO-DEL-CICLO-BIOLÓGICO-DE-Strongyloides-venezuelensis-EN-LA-CIUDAD-DE-QUITO-%E2%80%93-ECUADOR.pdf

Tayupanta, D., Hidalgo, L.: Díaz, L.; Cadena, E. & Ruano, A. (2015). MANTENIMIENTO DEL CICLO BIOLÓGICO DE Strongyloides venezuelensis EN RATAS WISTAR EN QUITO ECUADOR.

Thomas, S., Essien, E., Ntuk, J., & Choudhary, I. (2017). Eryngium foetidum L . Essential Oils: Chemical Composition and Antioxidant Capacity, 7–10. <https://doi.org/10.3390/medicines4020024>

Toledo, R., Munoz-Antoli, C., & Esteban, J.-G. (2015). Strongyloidiasis with emphasis on human infections and its different clinical forms. *Advances in Parasitology*, 88, 165–241. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2015.02.005>

Trindade, R., Rodrigues-das-Dores, R., Souza, C., & Braga, T. (2015). EFFECTIVENESS OF PROCESSES OF DRYING OF LEAVES OF PSIDIUM GUAJAVA L. IN FUNCTION OF LEVELS OF FLAVANOLS, PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY. *PharmacologyOnLine*, 1(1), 1–7. Retrieved from https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2015/vol1/PhOL_2015_1_A001_Trindade_2_1_7.pdf

Tropicos. (2018). Eryngium foetidum L. <https://www.tropicos.org/Name/1700080>

Tropicos. (2018). Ocotea quixos (Lam) Kosterm. <http://www.tropicos.org/Name/17805788>

Tropicos. (2018). Psidium guajava L. In Tropicos (1st ed.). Tropicos. Retrieved from <https://www.tropicos.org/NamePage.aspx?nameid=22101794>

- Vázquez, C., Batis, M., Alcocer, M., Gual, M., & Sánchez, C. (1999). Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Reporte Técnico Del Proyecto J084, pp. 201–204. Retrieved from http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/52-myrt3m.pdf
- Veloz, T. & Noriega, P. (2018). Evaluación de la composición química y actividad biológica del aceite esencial proveniente de las hojas de *Piper barbatum* Kunth (cordoncillo). Universidad Politécnica Salesiana.
- Viney, M. E. (2015). The biology of *Strongyloides* spp. *WormBook*, 1–17. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.141.2>
- Wang, L., Wua, Y., Huanga, T., Kan Shia, B., & Wua, Z. (2017). Article Type: Full Paper Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Psidium guajava* L. leaves from different geographic regions in China. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>
- Zhu, L., Dai, J., Yang, L., & Qiu, J. (2013). Anthelmintic activity of *Arisaema franchetianum* and *Arisaema lobatum* essential oils against *Haemonchus contortus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 148(1), 311–316. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.04.034>

Anexos

Anexo 1. Plantas de las que se obtuvo el aceite esencial *Eryngium foetidum* L. (culantrillo), *Psidium guajava* L. (guayaba), *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm. (Ishpingo).



Fuente: Natural medicine facts (2015). Hojas de Culantrillo
Recuperado de: www.naturalmedicinefacts.info/plant/eryngium-foetidum.html



Fuente: El aprovechamiento del Ishpink - *Ocotea quixos* (2013). Árbol y Corteza de Ishpingo.
Recuperado de: chankuap.org/wp-content/uploads/2014/03/Manual-de-buenas-practicas-de-la-Ishpink.pdf



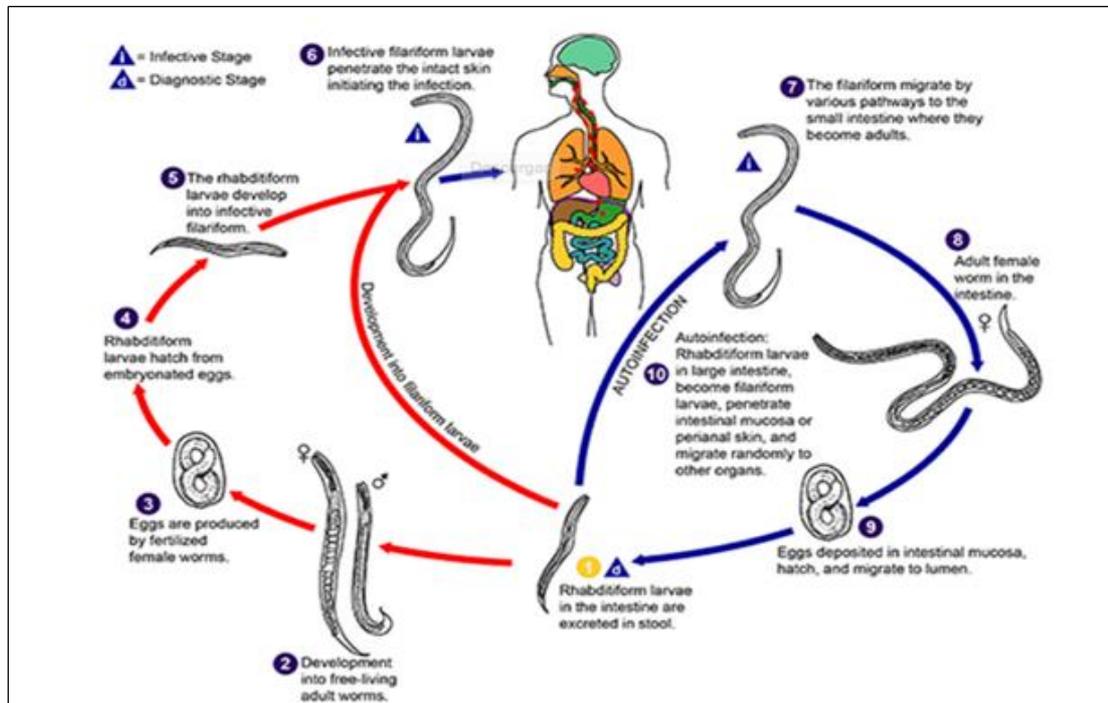
Fuente: econsejos (2017). Hojas de Guayaba.
Recuperado de: www.econsejos.com/uso-hoja-guayaba/

Elaborado por: Las autoras, 2019.

Anexo 2. Los destiladores de vapor en los que se obtuvo el aceite esencial y obtención del aceite esencial de Guayaba y medición de la densidad por medio de picnómetro.

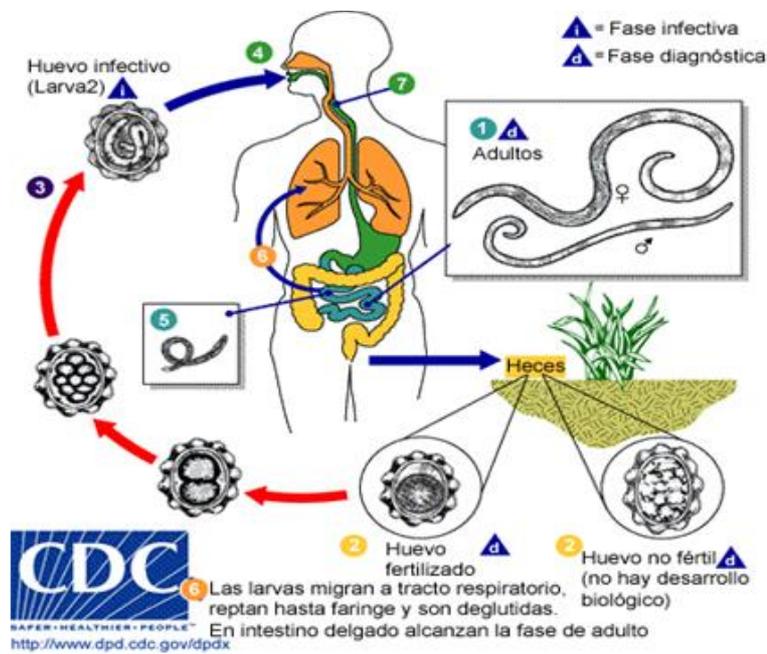


Anexo 3. Ciclo biológico de los parásitos *S. stercoralis* y *Ascaris* spp.



Ciclo biológico de *Strongyloides stercoralis*

Fuente: CDC (2004). Ciclo biológico de *Strongyloides stercoralis*, Recuperado: <https://www.cdc.gov/parasites/strongyloides/biology.html>.



Ciclo biológico de *Ascaris lumbricoides*

Fuente: CDC (2004). Ciclo biológico de *Ascaris lumbricoides*. Recuperado: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/ascariosis.html>

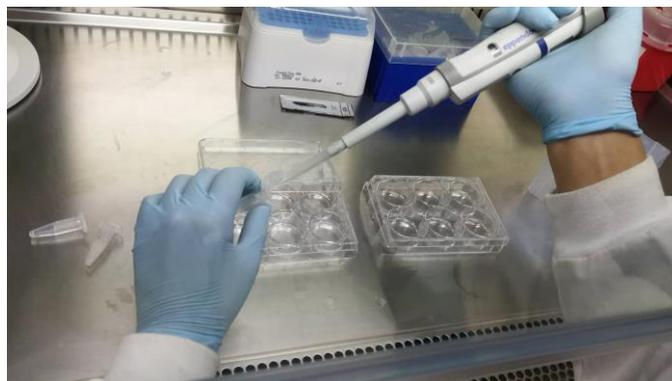
Elaborado por: Las autoras, 2019.

Anexo 4. Recolección de *Ascaris* spp en la Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito



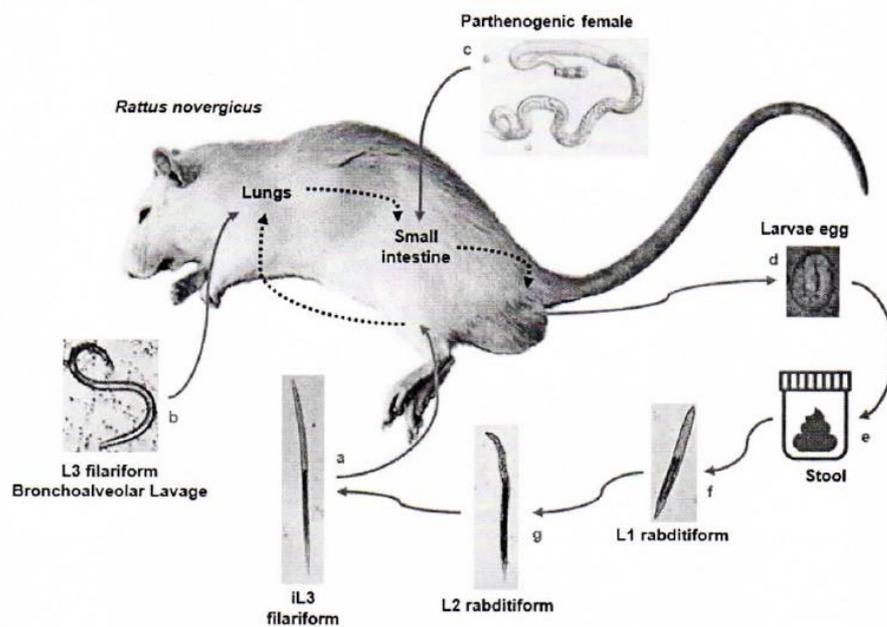
Elaborado por: Las autoras, 2019.

Anexo 5. Disección de hembra, obtención y siembra de Huevos de *Ascaris* spp.



Elaborado por: Las autoras, 2019.

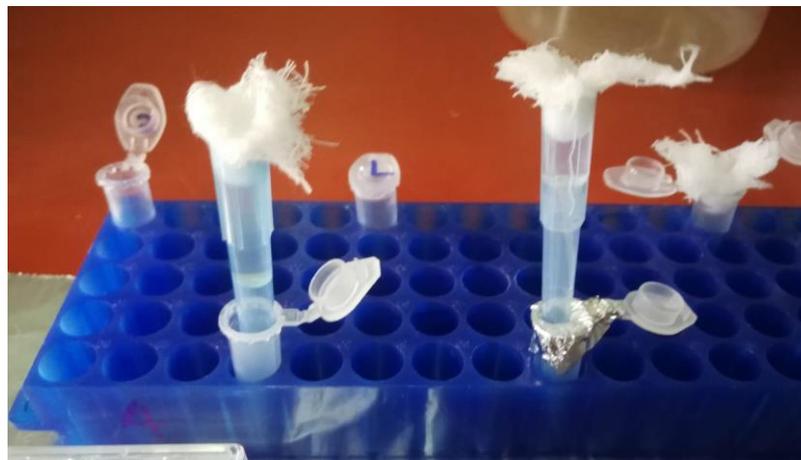
Anexo 6. Inoculación de larvas L3 en Ratas Wistar y Coprocultivo de *Strongyloides venezuelensis* y Ciclo Biológico de *Strongyloides venezuelensis* en *Rattus norvegicus*



Fuente: INSPI (2018). Ciclo Biológico de *Strongyloides venezuelensis*.
 Recuperado de: Tobar, J. Tayupanta, D. & Ramos, D. – INSPI

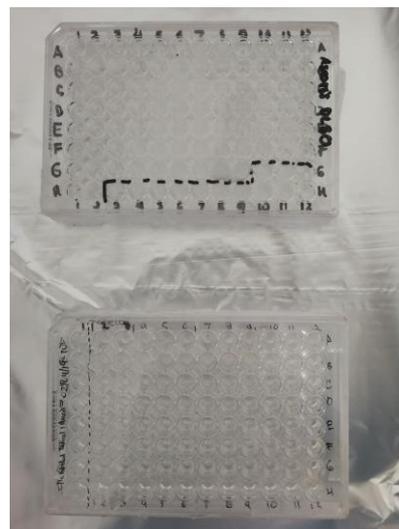
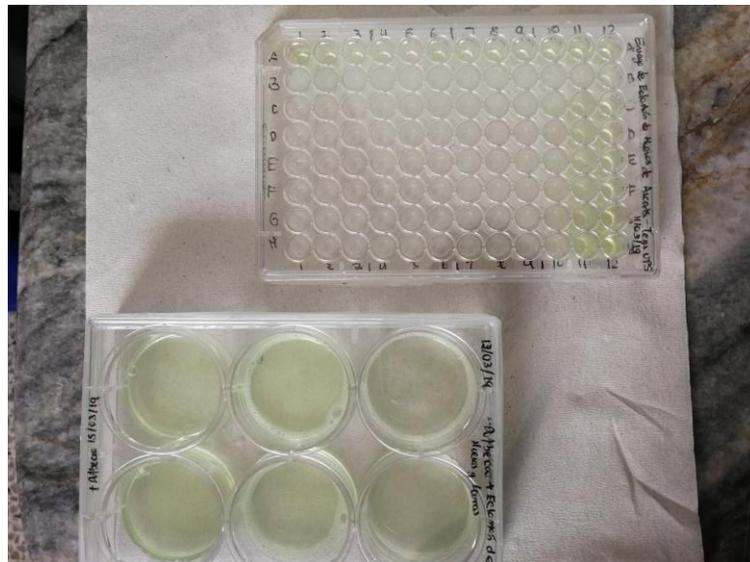
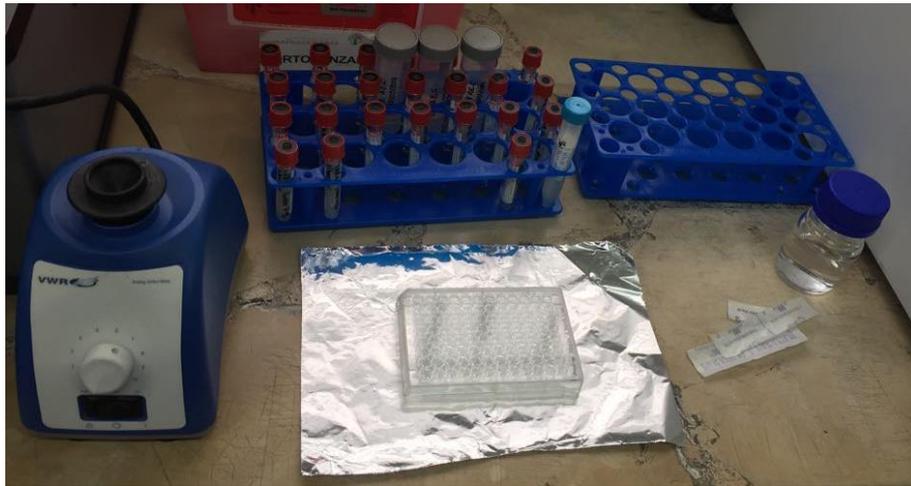
Elaborado por: Las autoras, 2019.

Anexo 7. Técnica de Baermann y micro-Baermann para recuperación de Larvas L1 y L3 de *Strongyloides venezuelensis*.



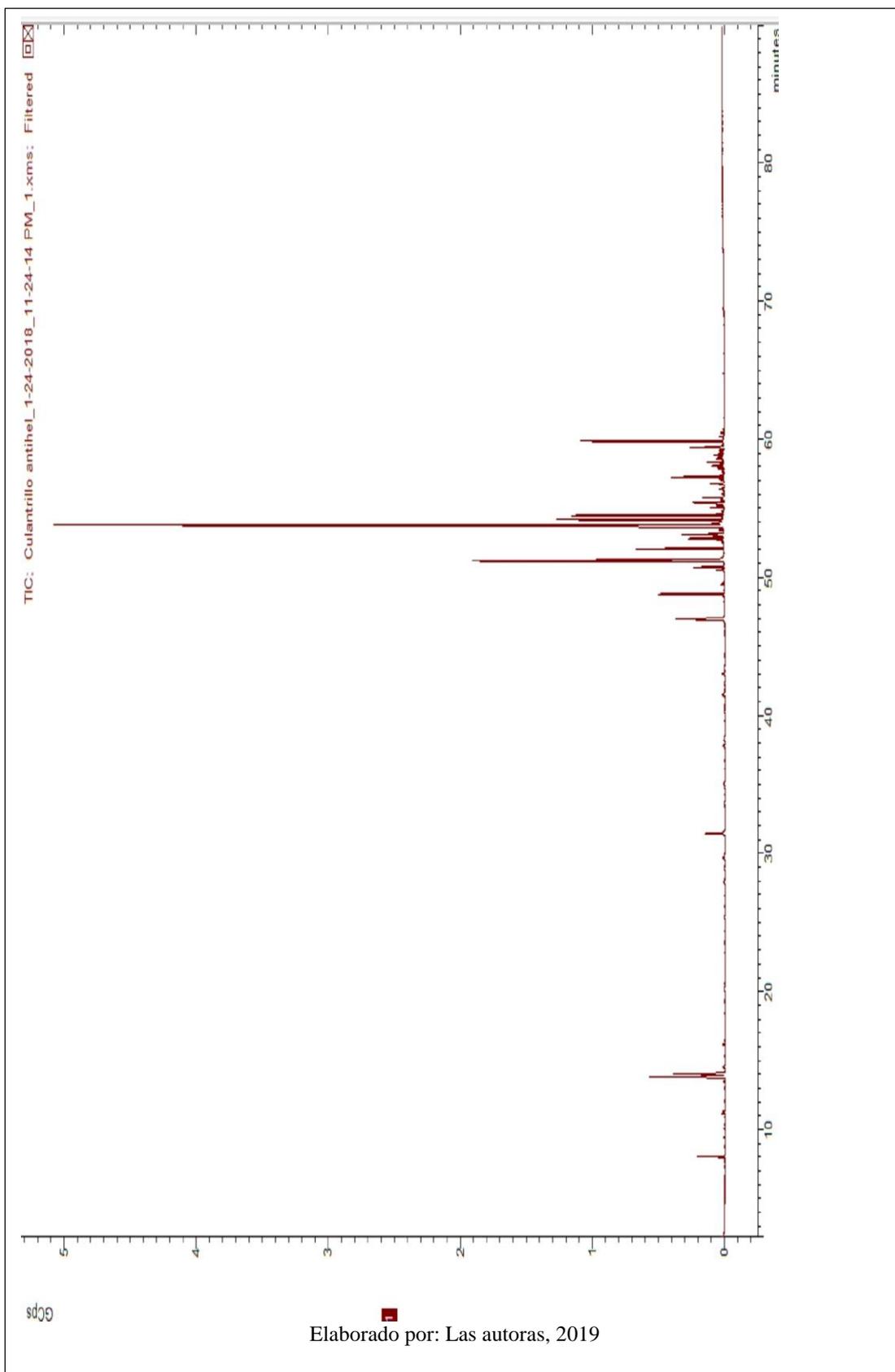
Elaborado por: Las autoras, 2019.

Anexo 8. Distribución de alícuotas de aceites esenciales y placas de 96 pocillos con los ensayos antihelmínticos *in vitro*

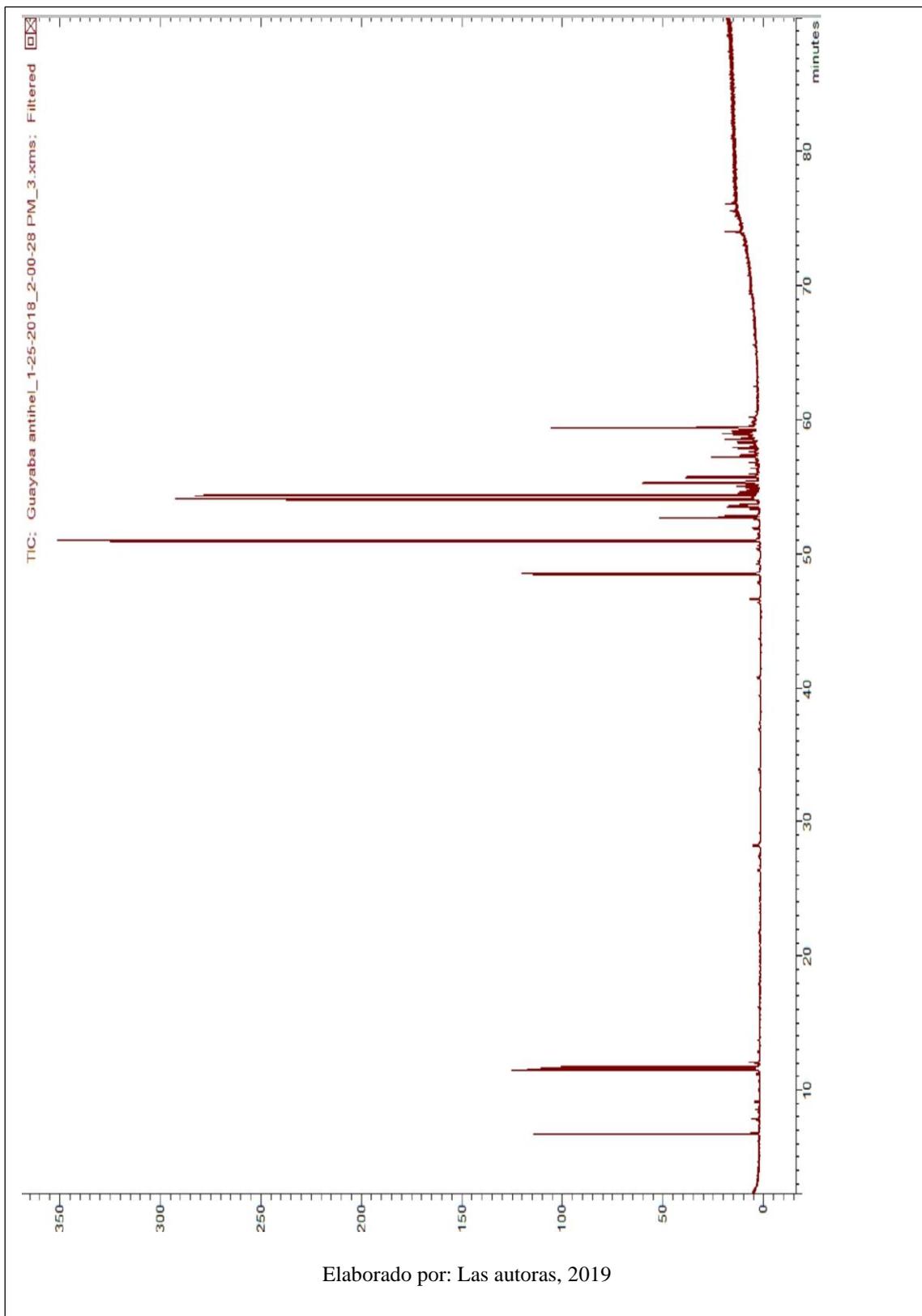


Elaborado por: Las autoras, 2019.

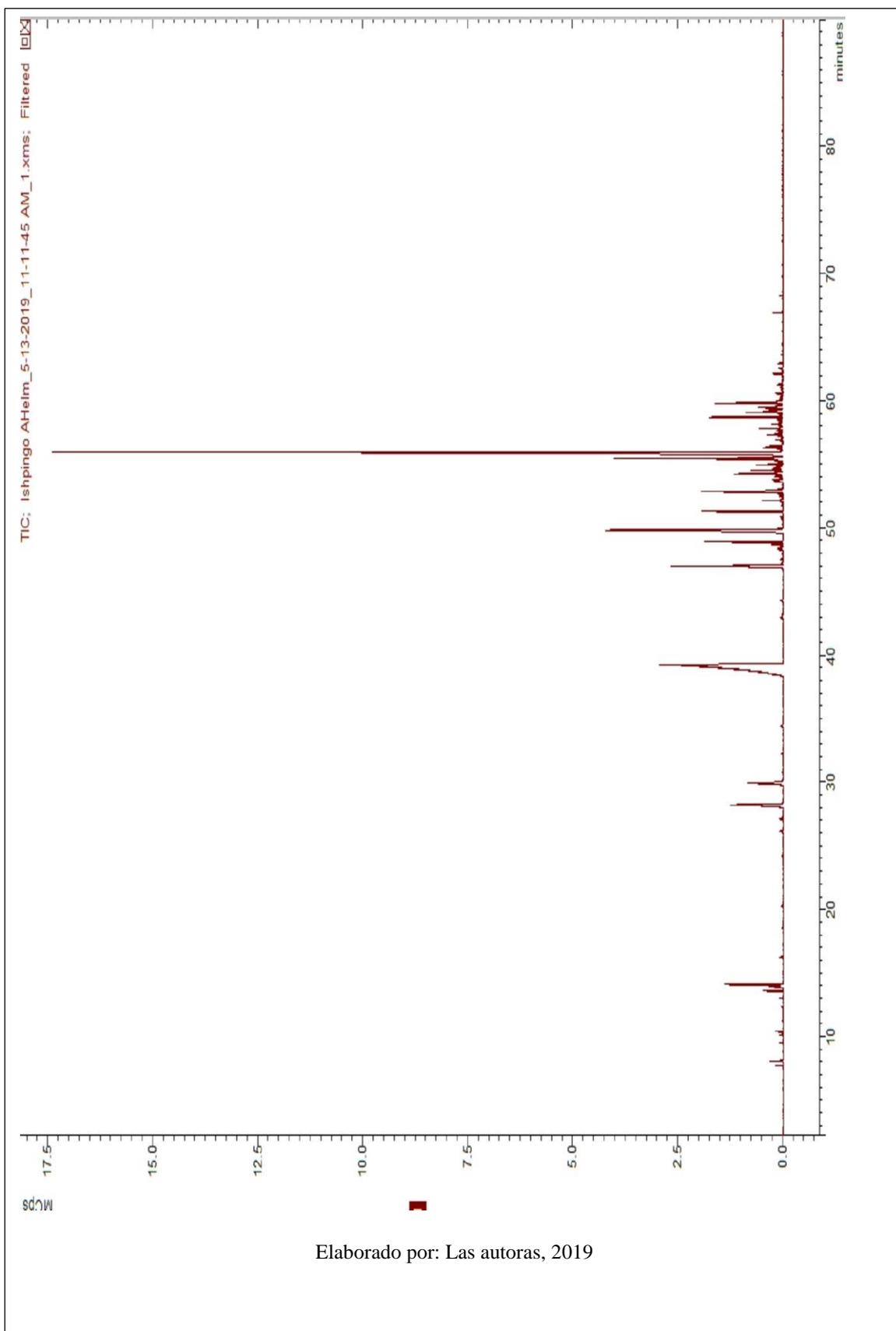
Anexo 9. Análisis de GC de Culantrillo (*Eryngium foetidum* L.)



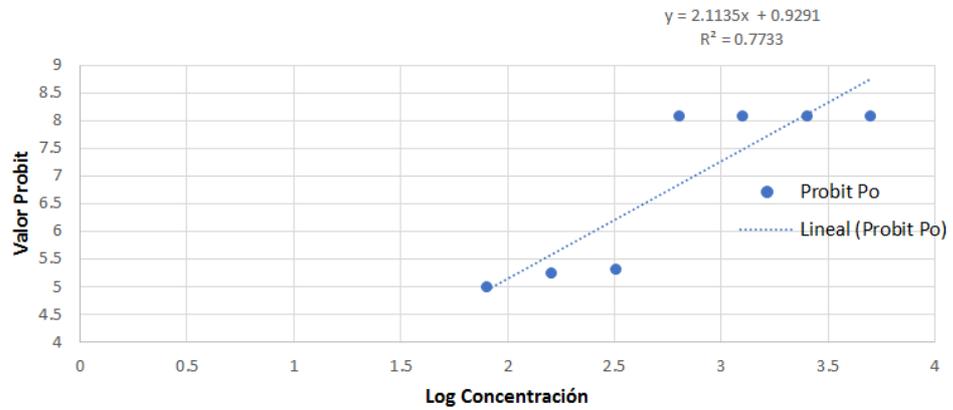
Anexo 10. Análisis de GC de Guayaba (*Psidium guajava* L.)



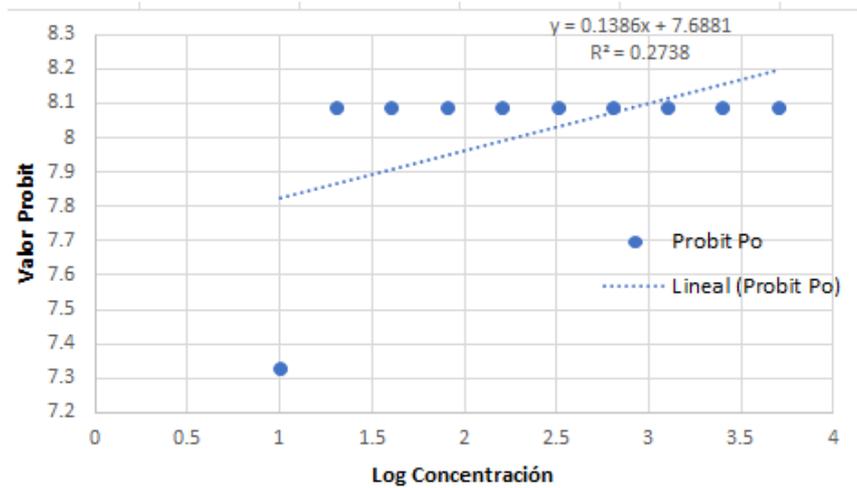
Anexo 11. Análisis de GC de Ishpingo (*Ocotea quixos* (Lam) *Kosterm*)



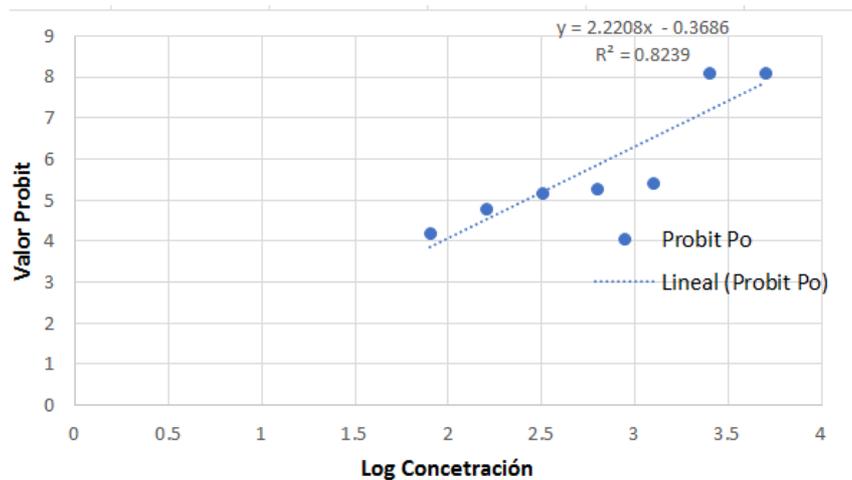
Anexo 12. Gráficas de regresiones de lineales de LC50 de *S. venezuelensis*



Regresión lineal para el análisis de LC50 de *Ocotea quixos* en *S. venezuelensis*



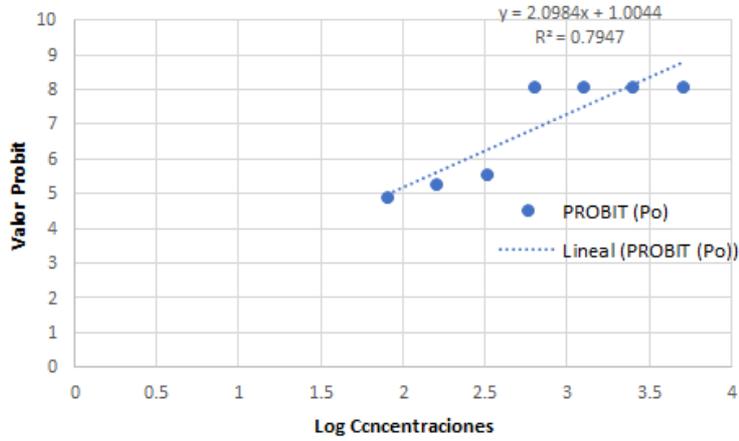
Regresión lineal para el análisis de LC50 de *Eryngium foetidum* en *S. venezuelensis*



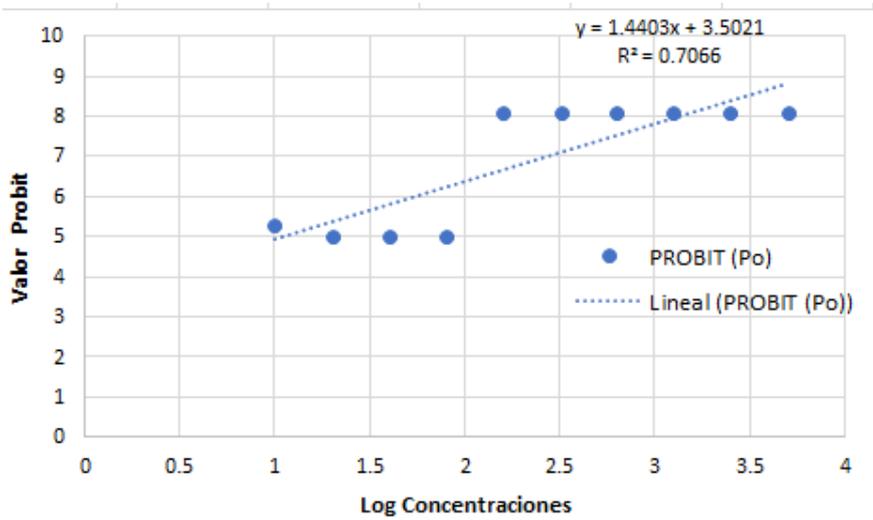
Regresión lineal para el análisis de LC50 de *Psidium guajava* en *S. venezuelensis*

Elaborado por: Las autoras, 2019

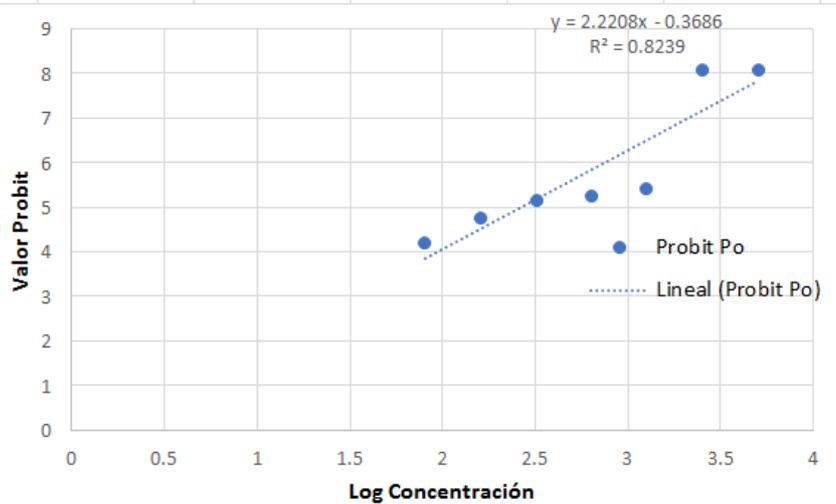
Anexo 13. Gráficas de regresiones lineales de LC50 de *Ascaris* spp.



Regresión lineal para el análisis de LC50 de *Ocotea quixos* en *Ascaris* spp.



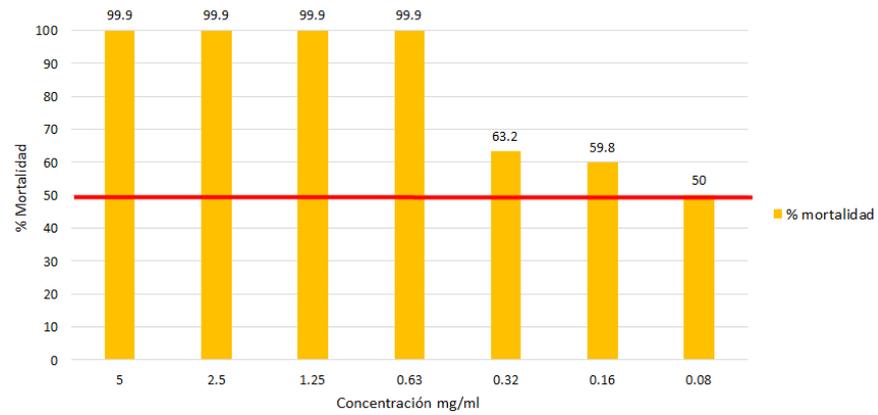
Regresión lineal para el análisis de LC50 de *Eryngium foetidum* en *Ascaris* spp.



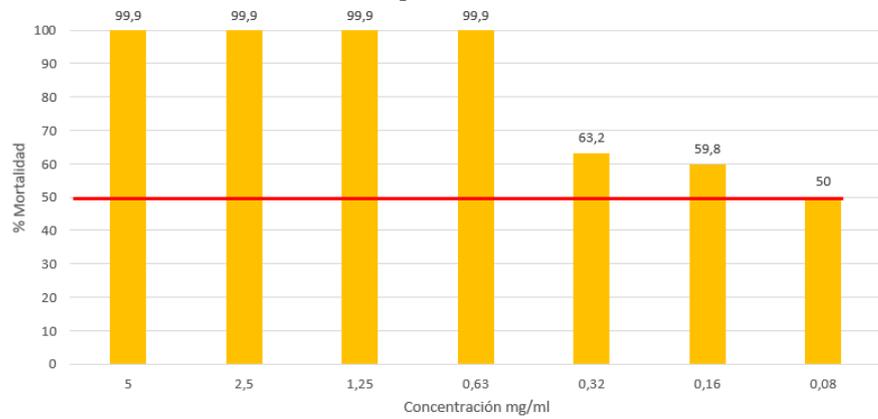
Regresión lineal para el análisis de LC50 de *Psidium guajava* en *Ascaris* spp.

Elaborado por: Las autoras, 2019

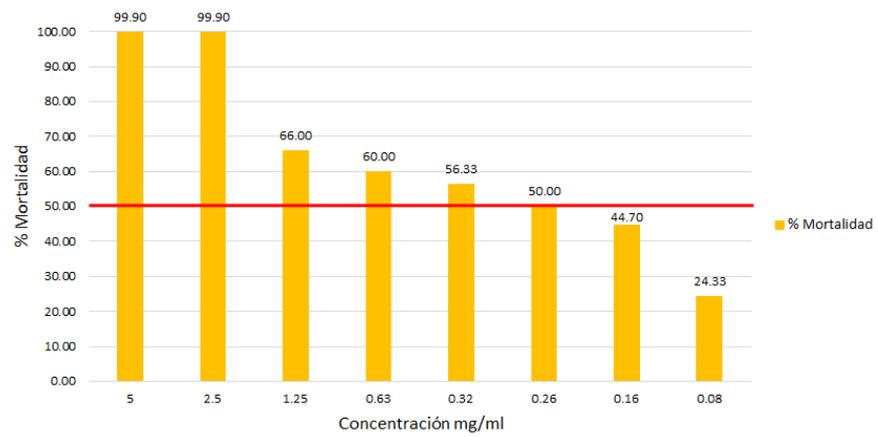
Anexo 14. Gráficas de LC50 de *Strongyloides venezuelensis*



LC50 de *Ocotea quixos* de *S. venezuelensis*



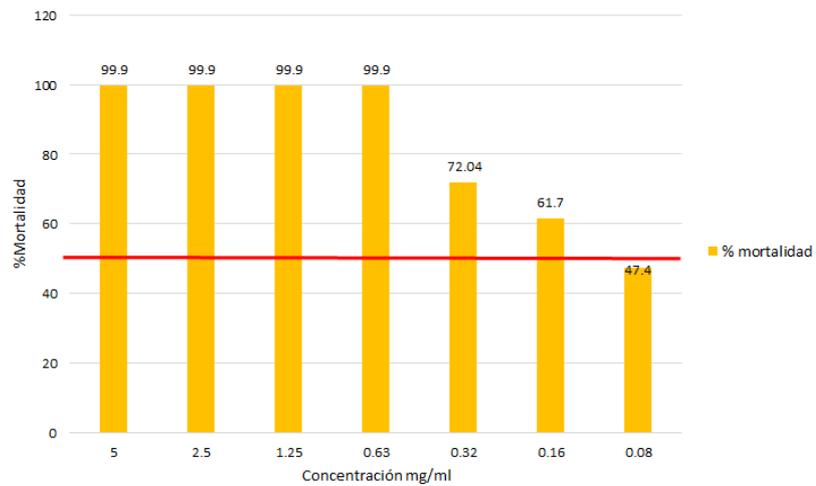
LC50 de *Eryngium foetidum* de *S. venezuelensis*



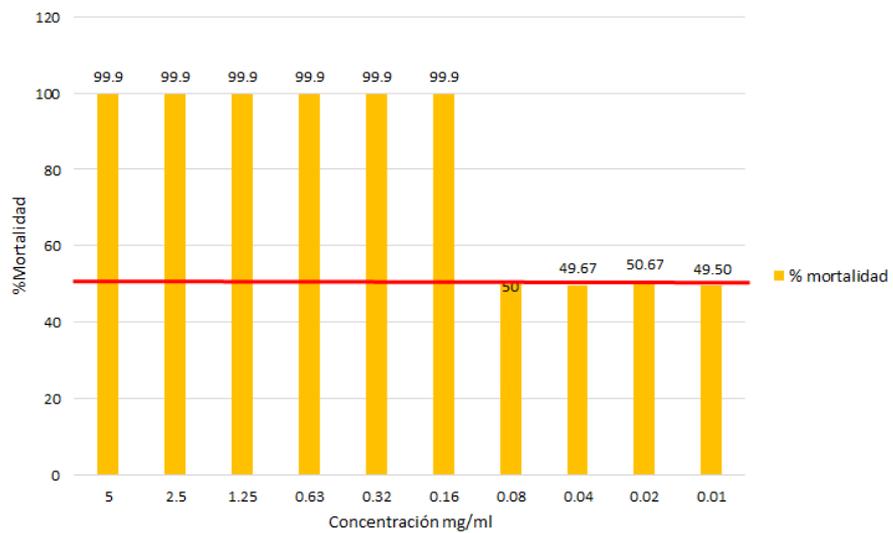
LC50 de *Psidium guajava* de *S. venezuelensis*

Elaborado por: Las autoras, 2019

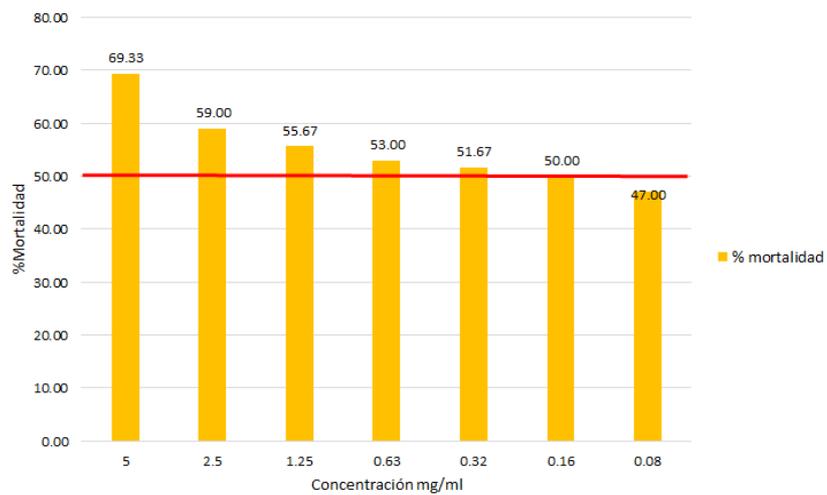
Anexo 15. Gráficas de LC50 de *Ascaris* spp



LC50 de *Ocotea quixos* de *Ascaris* spp



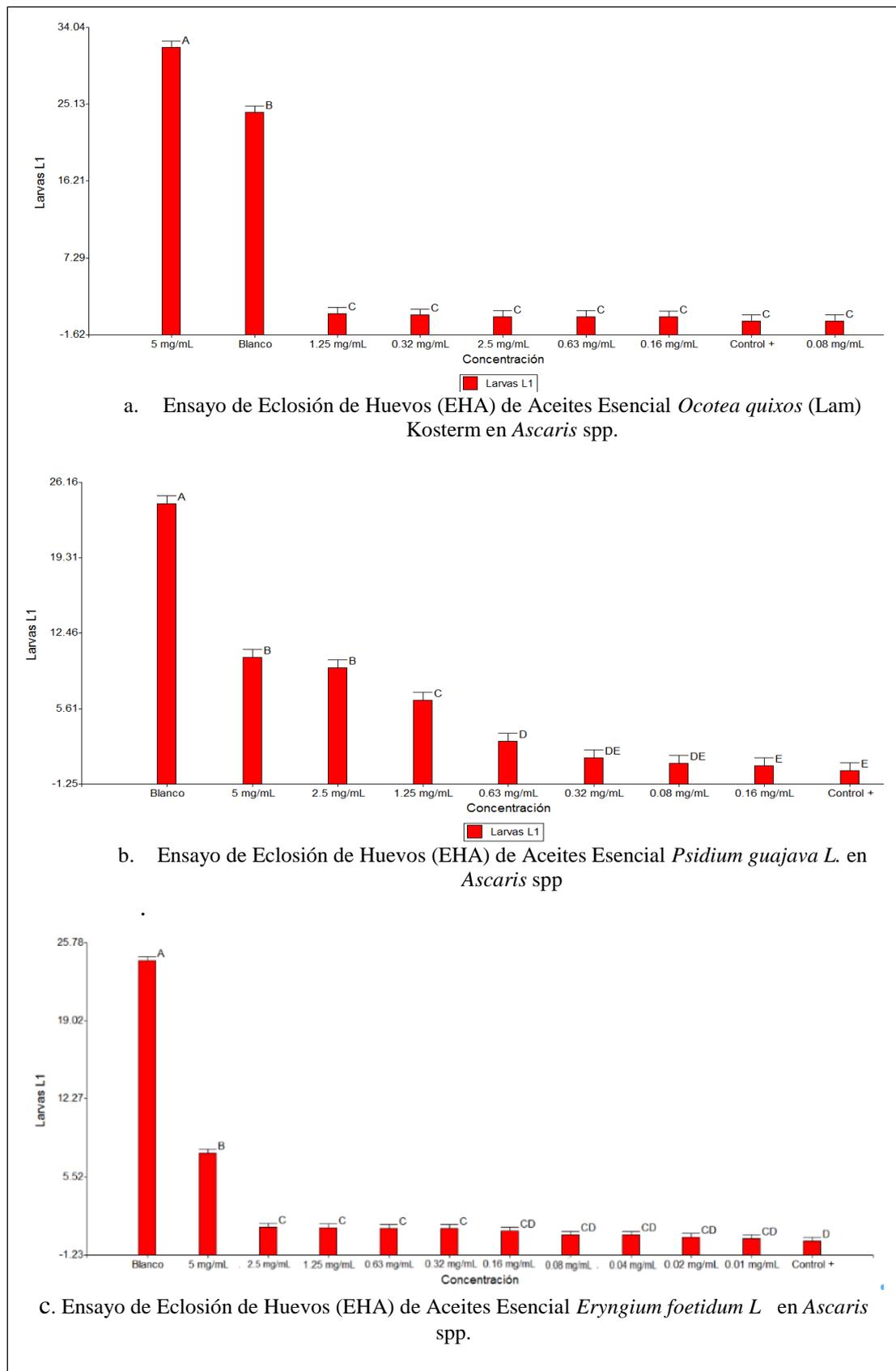
LC50 de *Eryngium foetidum* de *Ascaris* spp

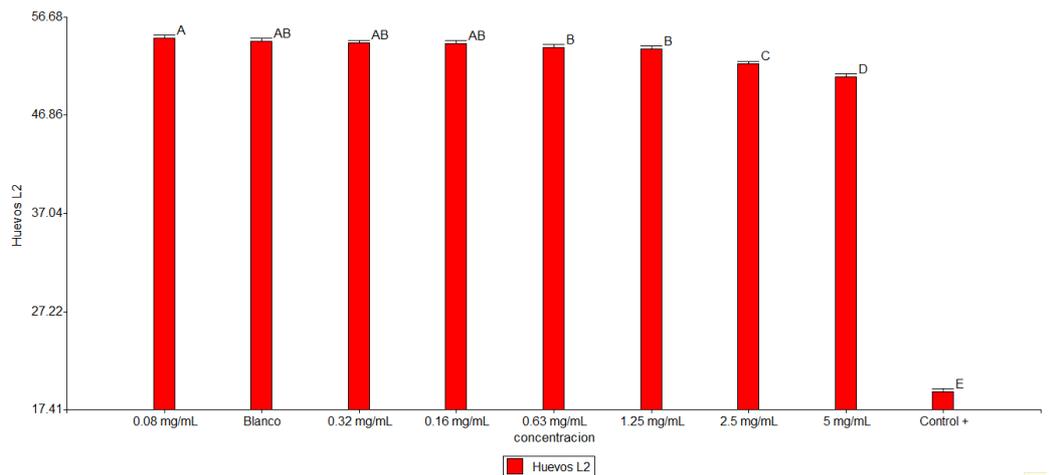


LC50 de *Psidium guajava* de *Ascaris* spp

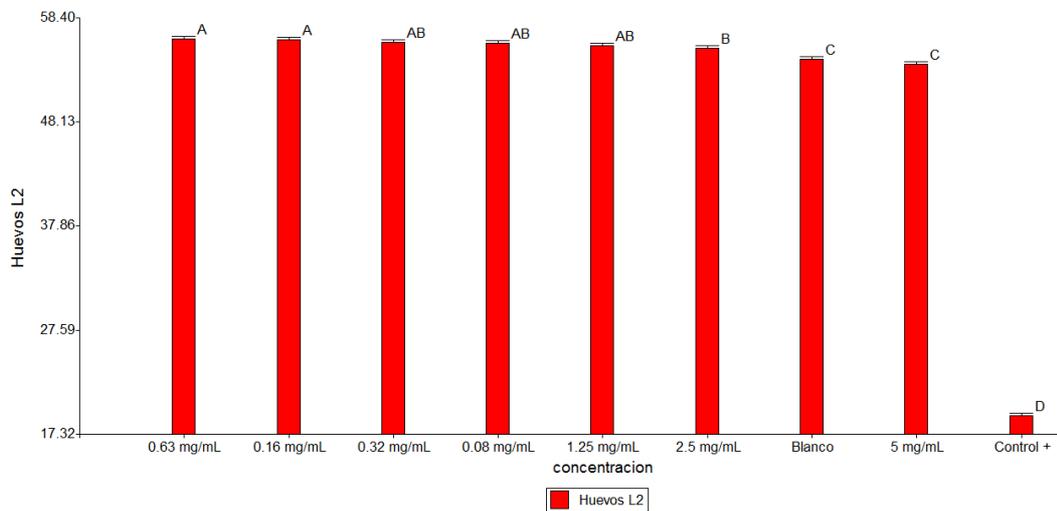
Elaborado por: Las autoras, 2019

Anexo 16. Gráficas de Varianza con prueba post hoc Duncan realizadas en Infostat 2018 de *Ascaris* spp

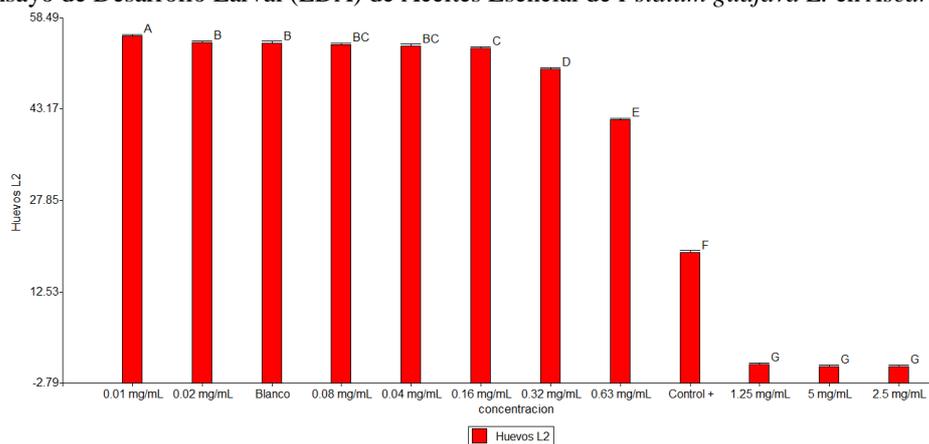




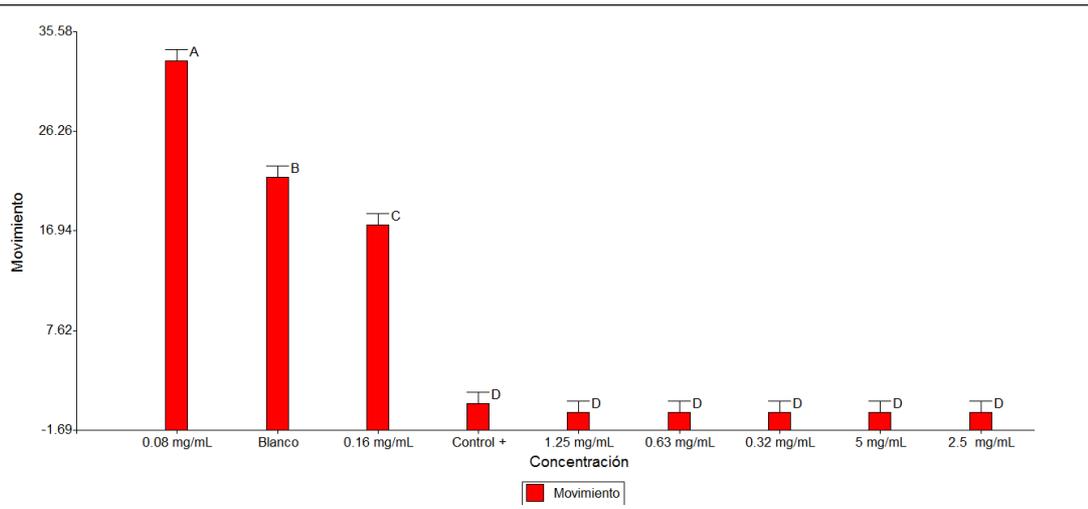
d. Ensayo de Desarrollo Larval (LDA) de Aceites Esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm en *Ascaris* spp.



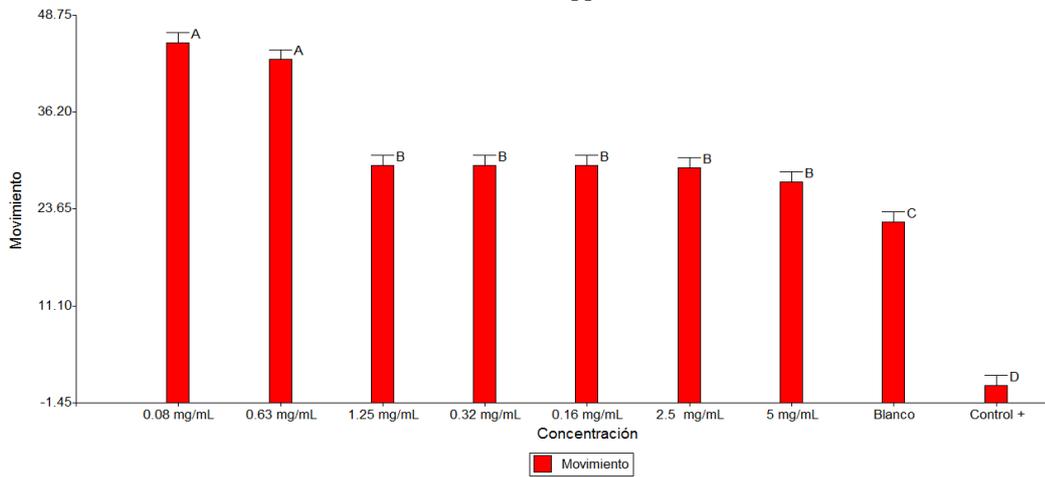
e. Ensayo de Desarrollo Larval (LDA) de Aceites Esencial de *Psidium guajava* L. en *Ascaris* spp.



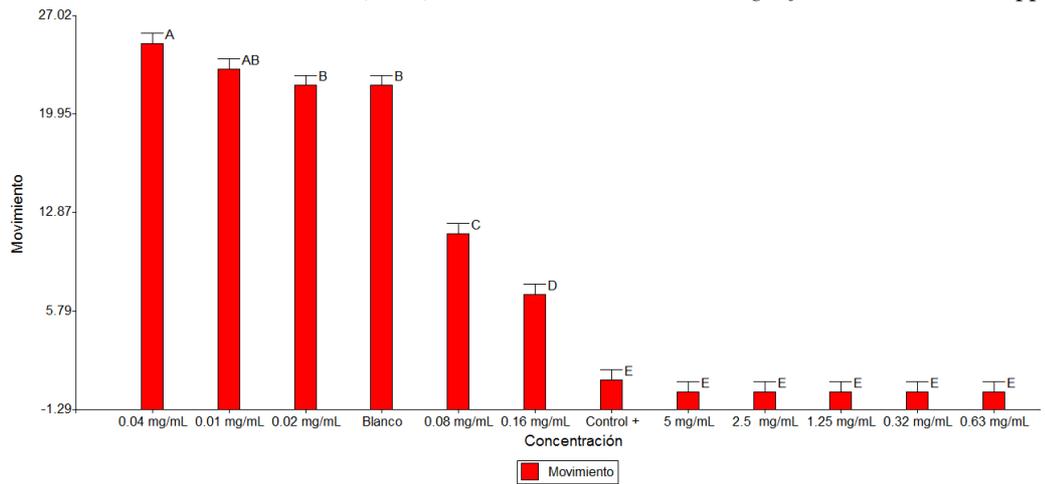
f. Ensayo de Desarrollo Larval (LDA) de Aceites Esencial de *Eryngium foetidum* L. en *Ascaris* spp.



g. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm en *Ascaris* spp.



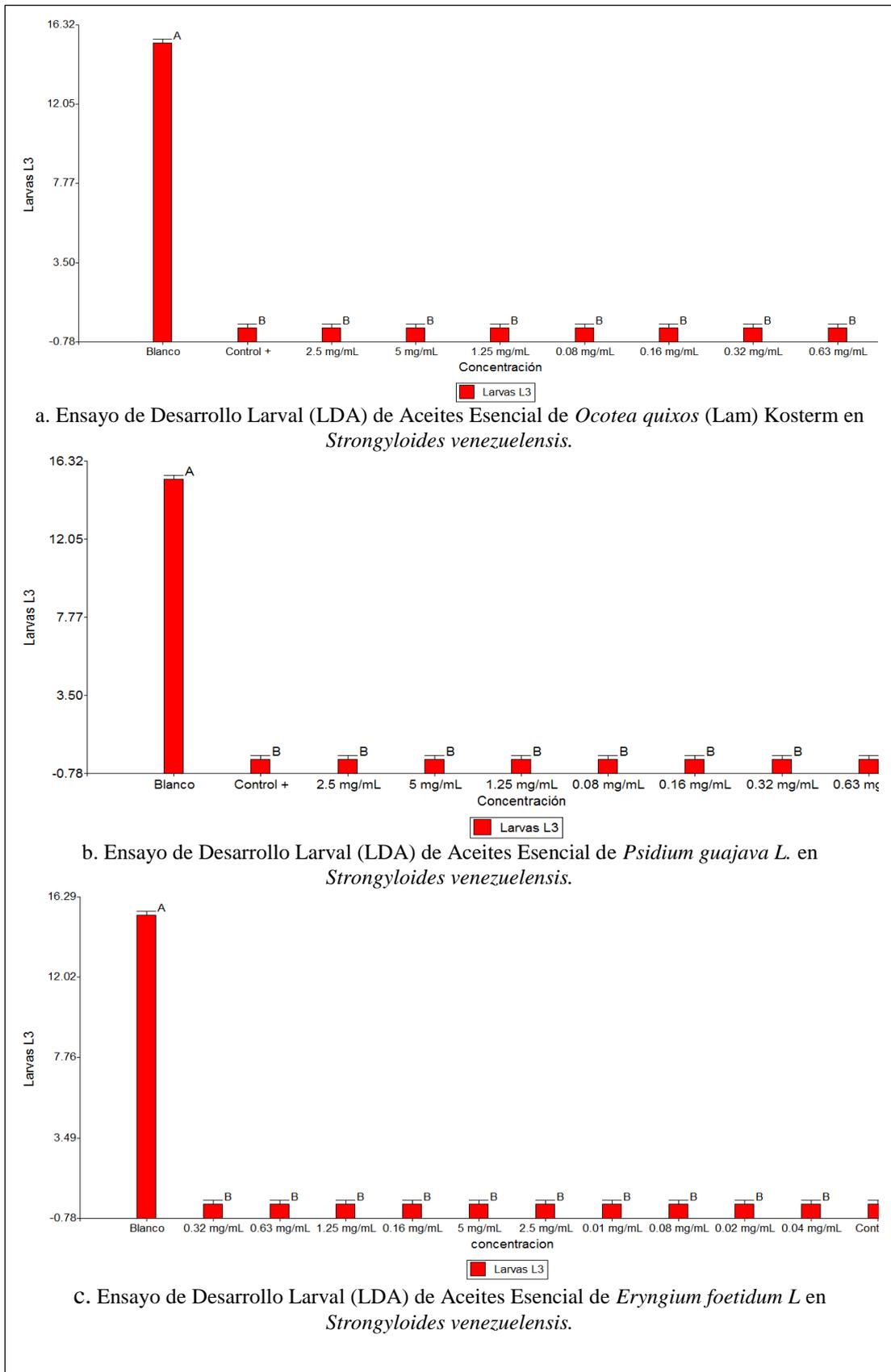
h. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial *Psidium guajava* L. en *Ascaris* spp.

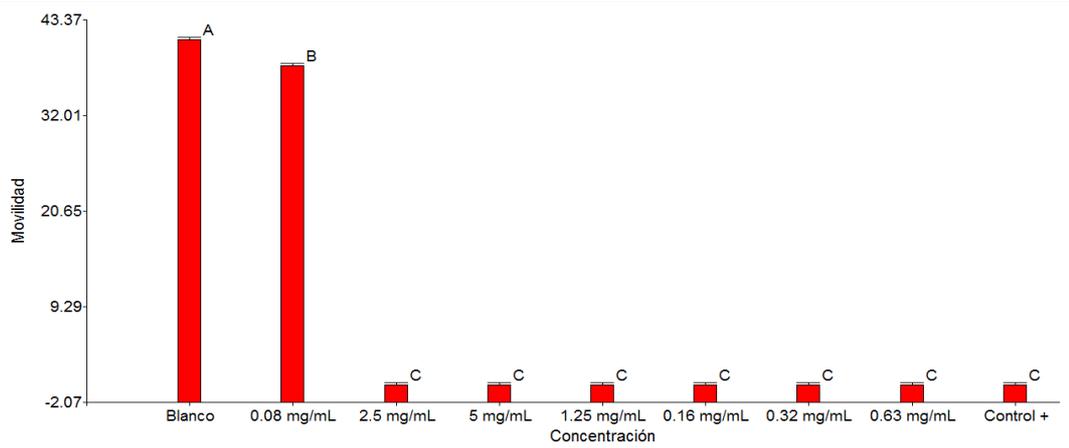


i. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial *Eryngium foetidum* L. en *Ascaris* spp.

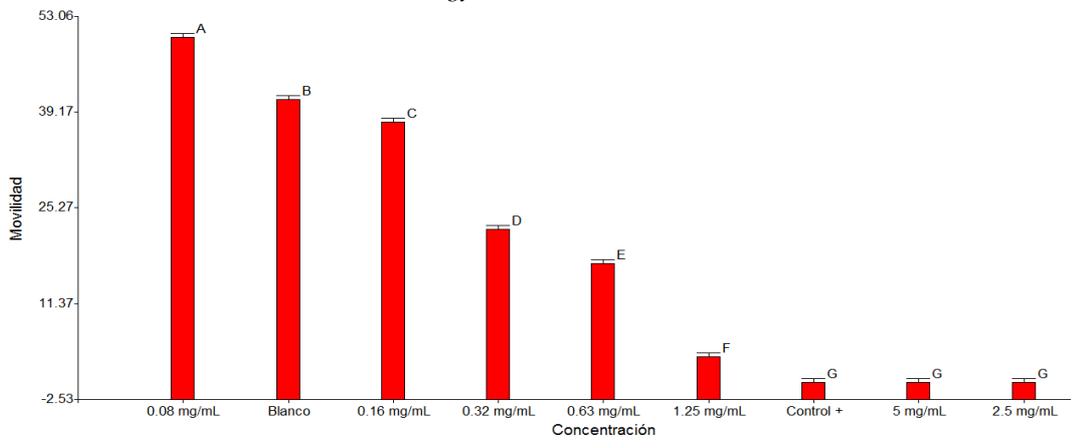
Elaborado por: Las autoras, 2019.

Anexo 17. Gráficas de Varianza con prueba post hoc Duncan realizadas en Infostat 2018 de *Strongyloides venezuelensis*

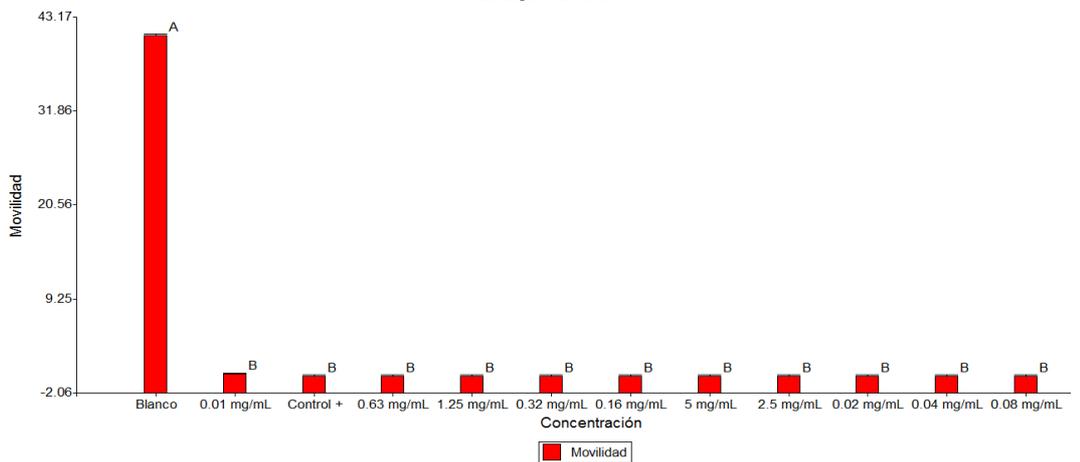




d. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm en *Strongyloides venezuelensis*



e. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial de *Psidium guajava* L. en *Strongyloides venezuelensis*



f. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial de *Eryngium foetidum* L en *Strongyloides venezuelensis*

Elaborado por: Las autoras, 2019.

Anexo 18. Análisis de Varianza con prueba post hoc Duncan realizadas en Infostat 2018 de *Ascaris* spp.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Huevos L2	189	1.00	1.00	2.57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	334335.62	62	5392.51	3319.82	<0.0001
concentracion	22066.86	8	2758.36	1698.14	<0.0001
dias	299496.06	6	49916.01	30730.05	<0.0001
concentracion*dias	12772.70	48	266.10	163.82	<0.0001
Error	204.67	126	1.62		
Total	334540.29	188			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 1.6243 gl: 126

concentracion	Medias	n	E.E.	
0.08 mg/mL	54.62	21	0.28	A
Blanco	54.29	21	0.28	A B
0.32 mg/mL	54.10	21	0.28	A B
0.16 mg/mL	54.05	21	0.28	A B
0.63 mg/mL	53.67	21	0.28	B
1.25 mg/mL	53.52	21	0.28	B
2.5 mg/mL	52.00	21	0.28	C
5 mg/mL	50.71	21	0.28	D
Control +	19.19	21	0.28	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 1.6243 gl: 126

dias	Medias	n	E.E.	
7	104.07	27	0.25	A
6	90.11	27	0.25	B
5	83.00	27	0.25	C
4	45.85	27	0.25	D
3	17.63	27	0.25	E
2	6.33	27	0.25	F
1	0.00	27	0.25	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

a. Ensayo de Desarrollo Larval (LDA) de Aceites Esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm en *Ascaris* spp.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Huevos L2	189	1.00	1.00	2.21

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	352963.31	62	5692.96	4409.71	<0.0001
dias	314325.76	6	52387.63	40578.94	<0.0001
concentracion	24657.41	8	3082.18	2387.42	<0.0001
dias*concentracion	13980.15	48	291.25	225.60	<0.0001
Error	162.67	126	1.29		
Total	353125.98	188			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 1.2910 gl: 126

dias	Medias	n	E.E.	
7	103.89	27	0.22	A
6	98.48	27	0.22	B
5	83.70	27	0.22	C
4	47.07	27	0.22	D
3	19.56	27	0.22	E
2	7.22	27	0.22	F
1	0.00	27	0.22	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 1.2910 gl: 126

concentracion	Medias	n	E.E.	
0.63 mg/mL	56.29	21	0.25	A
0.16 mg/mL	56.24	21	0.25	A
0.32 mg/mL	55.95	21	0.25	A B
0.08 mg/mL	55.90	21	0.25	A B
1.25 mg/mL	55.67	21	0.25	A B
2.5 mg/mL	55.38	21	0.25	B
Blanco	54.29	21	0.25	C
5 mg/mL	53.86	21	0.25	C
Control +	19.19	21	0.25	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

b. Ensayo de Desarrollo Larval (LDA) de Aceites Esencial de *Psidium guajava* L. en *Ascaris* spp.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Huevos L2	252	1.00	1.00	3.43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	433677.98	83	5225.04	3367.54	<0.0001
concentracion	133553.32	11	12141.21	7825.03	<0.0001
dias	214736.87	6	35789.48	23066.36	<0.0001
concentracion*dias	85387.79	66	1293.75	833.83	<0.0001
Error	260.67	168	1.55		
Total	433938.65	251			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 1.5516 gl: 168

concentracion	Medias	n	E.E.	
0.01 mg/mL	55.43	21	0.27	A
0.02 mg/mL	54.38	21	0.27	B
Blanco	54.29	21	0.27	B
0.08 mg/mL	53.95	21	0.27	B C
0.04 mg/mL	53.81	21	0.27	B C
0.16 mg/mL	53.43	21	0.27	C
0.32 mg/mL	49.86	21	0.27	D
0.63 mg/mL	41.43	21	0.27	E
Control +	19.19	21	0.27	F
1.25 mg/mL	0.33	21	0.27	G
5 mg/mL	0.00	21	0.27	G
2.5 mg/mL	0.00	21	0.27	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 1.5516 gl: 168

dias	Medias	n	E.E.	
7	76.92	36	0.21	A
6	67.94	36	0.21	B
5	57.64	36	0.21	C
4	33.97	36	0.21	D
3	13.44	36	0.21	E
2	4.47	36	0.21	F
1	0.00	36	0.21	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

c. Ensayo de Desarrollo Larval (LDA) de Aceites Esencial de *Eryngium foetidum L.* en *Ascaris* spp

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Movimiento	54	0.98	0.97	31.58

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13710.76	17	806.52	122.34	<0.0001
Concentración	7644.93	8	955.62	144.95	<0.0001
dias	2028.91	1	2028.91	307.76	<0.0001
Concentración*dias	4036.93	8	504.62	76.54	<0.0001
Error	237.33	36	6.59		
Total	13948.09	53			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 6.5926 gl: 36

Concentración	Medias	n	E.E.	
0.08 mg/mL	32.83	6	1.05	A
Blanco	22.00	6	1.05	B
0.16 mg/mL	17.50	6	1.05	C
Control +	0.83	6	1.05	D
1.25 mg/mL	0.00	6	1.05	D
0.63 mg/mL	0.00	6	1.05	D
0.32 mg/mL	0.00	6	1.05	D
5 mg/mL	0.00	6	1.05	D
2.5 mg/mL	0.00	6	1.05	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 6.5926 gl: 36

dias	Medias	n	E.E.	
1	14.26	27	0.49	A
2	2.00	27	0.49	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

d. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm en *Ascaris* spp.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Movimiento	54	0.98	0.97	11.26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15451.65	17	908.92	89.24	<0.0001
Concentración	7797.81	8	974.73	95.70	<0.0001
días	3472.02	1	3472.02	340.89	<0.0001
Concentración*días	4181.81	8	522.73	51.32	<0.0001
Error	366.67	36	10.19		
Total	15818.31	53			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 10.1852 gl: 36

Concentración Medias n E.E.

0.08 mg/mL	45.17	6	1.30	A
0.63 mg/mL	43.00	6	1.30	A
1.25 mg/mL	29.33	6	1.30	B
0.32 mg/mL	29.33	6	1.30	B
0.16 mg/mL	29.33	6	1.30	B
2.5 mg/mL	29.00	6	1.30	B
5 mg/mL	27.17	6	1.30	B
Blanco	22.00	6	1.30	C
Control +	0.83	6	1.30	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 10.1852 gl: 36

días Medias n E.E.

1	36.37	27	0.61	A
2	20.33	27	0.61	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

e. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial de *Psidium guajava* L. en *Ascaris* spp.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Movimiento	72	0.99	0.98	19.47

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13923.78	23	605.38	185.48	<0.0001
Concentración	7649.44	11	695.40	213.06	<0.0001
días	2812.50	1	2812.50	861.70	<0.0001
Concentración*días	3461.83	11	314.71	96.42	<0.0001
Error	156.67	48	3.26		
Total	14080.44	71			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 3.2639 gl: 48

Concentración Medias n E.E.

0.04 mg/mL	25.00	6	0.74	A
0.01 mg/mL	23.17	6	0.74	A B
0.02 mg/mL	22.00	6	0.74	B
Blanco	22.00	6	0.74	B
0.08 mg/mL	11.33	6	0.74	C
0.16 mg/mL	7.00	6	0.74	D
Control +	0.83	6	0.74	E
5 mg/mL	0.00	6	0.74	E
2.5 mg/mL	0.00	6	0.74	E
1.25 mg/mL	0.00	6	0.74	E
0.32 mg/mL	0.00	6	0.74	E
0.63 mg/mL	0.00	6	0.74	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 3.2639 gl: 48

días Medias n E.E.

1	15.53	36	0.30	A
2	3.03	36	0.30	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

f. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial de *Eryngium foetidum* L. en *Ascaris* spp.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Larvas L1	162	0.98	0.97	45.25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	55115.53	53	1039.92	118.64	<0.0001
Concentración	21771.53	8	2721.44	310.47	<0.0001
Días	7474.12	5	1494.82	170.54	<0.0001
Concentración*Días	25869.88	40	646.75	73.78	<0.0001
Error	946.67	108	8.77		
Total	56062.20	161			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 8.7654 gl: 108

Concentración	Medias	n	E.E.	
5 mg/mL	31.72	18	0.70	A
Blanco	24.22	18	0.70	B
1.25 mg/mL	0.83	18	0.70	C
0.32 mg/mL	0.67	18	0.70	C
2.5 mg/mL	0.50	18	0.70	C
0.63 mg/mL	0.50	18	0.70	C
0.16 mg/mL	0.44	18	0.70	C
Control +	0.00	18	0.70	C
0.08 mg/mL	0.00	18	0.70	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 8.7654 gl: 108

Días	Medias	n	E.E.	
6	18.89	27	0.57	A
5	11.30	27	0.57	B
4	6.85	27	0.57	C
3	1.41	27	0.57	D
2	0.56	27	0.57	D
1	0.26	27	0.57	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

g. Ensayo de Eclosión de Huevos (EHA) de Aceites Esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm en *Ascaris* spp.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Larvas L1	162	0.97	0.95	48.08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	28132.28	53	530.80	61.12	<0.0001
Concentración	8842.33	8	1105.29	127.26	<0.0001
Días	7113.83	5	1422.77	163.82	<0.0001
Concentración*Días	12176.11	40	304.40	35.05	<0.0001
Error	938.00	108	8.69		
Total	29070.28	161			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 8.6852 gl: 108

Concentración	Medias	n	E.E.	
Blanco	24.22	18	0.69	A
5 mg/mL	10.28	18	0.69	B
2.5 mg/mL	9.33	18	0.69	B
1.25 mg/mL	6.39	18	0.69	C
0.63 mg/mL	2.67	18	0.69	D
0.32 mg/mL	1.17	18	0.69	D E
0.08 mg/mL	0.67	18	0.69	D E
0.16 mg/mL	0.44	18	0.69	E
Control +	0.00	18	0.69	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 8.6852 gl: 108

Días	Medias	n	E.E.	
6	18.44	27	0.57	A
5	10.70	27	0.57	B
4	5.70	27	0.57	C
3	1.11	27	0.57	D
2	0.56	27	0.57	D
1	0.26	27	0.57	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

h. Ensayo de Eclosión de Huevos (EHA) de Aceites Esencial de *Psidium guajava* L. en *Ascaris* spp.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Larvas L1	216	0.99	0.98	42.98

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	24763.44	71	348.78	182.41	<0.0001
Concentración	9478.61	11	861.69	450.67	<0.0001
Días	2388.36	5	477.67	249.82	<0.0001
Concentración*Días	12896.48	55	234.48	122.63	<0.0001
Error	275.33	144	1.91		
Total	25038.77	215			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 1.9120 gl: 144

Concentración	Medias	n	E.E.	
Blanco	24.22	18	0.33	A
5 mg/mL	7.61	18	0.33	B
2.5 mg/mL	1.17	18	0.33	C
1.25 mg/mL	1.11	18	0.33	C
0.63 mg/mL	1.06	18	0.33	C
0.32 mg/mL	1.06	18	0.33	C
0.16 mg/mL	0.83	18	0.33	C D
0.08 mg/mL	0.50	18	0.33	C D
0.04 mg/mL	0.50	18	0.33	C D
0.02 mg/mL	0.33	18	0.33	C D
0.01 mg/mL	0.22	18	0.33	C D
Control +	0.00	18	0.33	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 1.9120 gl: 144

Días	Medias	n	E.E.	
6	9.86	36	0.23	A
5	4.81	36	0.23	B
4	2.47	36	0.23	C
3	1.25	36	0.23	D
2	0.58	36	0.23	E
1	0.33	36	0.23	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

i. Ensayo de Eclosión de Huevos (EHA) de Aceites Esencial de *Eryngium foetidum* L. en *Ascaris* spp.

Elaborado por: Las autoras, 2019.

Anexo 19. Análisis de Varianza con prueba post hoc Duncan realizadas en Infostat 2018 de *Strongyloides venezuelensis*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Larvas L3	81	1.00	0.99	36.89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5259.56	26	202.29	512.05	<0.0001
Concentración	1880.89	8	235.11	595.13	<0.0001
Dias	375.41	2	187.70	475.13	<0.0001
Concentración*Dias	3003.26	16	187.70	475.13	<0.0001
Error	21.33	54	0.40		
Total	5280.89	80			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.3951 gl: 54

Concentración	Medias	n	E.E.	
Blanco	15.33	9	0.21	A
Control +	0.00	9	0.21	B
2.5 mg/mL	0.00	9	0.21	B
5 mg/mL	0.00	9	0.21	B
1.25 mg/mL	0.00	9	0.21	B
0.08 mg/mL	0.00	9	0.21	B
0.16 mg/mL	0.00	9	0.21	B
0.32 mg/mL	0.00	9	0.21	B
0.63 mg/mL	0.00	9	0.21	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.3951 gl: 54

Dias	Medias	n	E.E.	
3	4.74	27	0.12	A
2	0.37	27	0.12	B
1	0.00	27	0.12	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

a. Desarrollo Larval (LDA) de Aceites Esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm en *Strongyloides venezuelensis*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Larvas L3	81	1.00	0.99	36.89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5259.56	26	202.29	512.05	<0.0001
Concentración	1880.89	8	235.11	595.13	<0.0001
Dias	375.41	2	187.70	475.13	<0.0001
Concentración*Dias	3003.26	16	187.70	475.13	<0.0001
Error	21.33	54	0.40		
Total	5280.89	80			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.3951 gl: 54

Concentración	Medias	n	E.E.	
Blanco	15.33	9	0.21	A
Control +	0.00	9	0.21	B
2.5 mg/mL	0.00	9	0.21	B
5 mg/mL	0.00	9	0.21	B
1.25 mg/mL	0.00	9	0.21	B
0.08 mg/mL	0.00	9	0.21	B
0.16 mg/mL	0.00	9	0.21	B
0.32 mg/mL	0.00	9	0.21	B
0.63 mg/mL	0.00	9	0.21	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.3951 gl: 54

Dias	Medias	n	E.E.	
3	4.74	27	0.12	A
2	0.37	27	0.12	B
1	0.00	27	0.12	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

b. Desarrollo Larval (LDA) de Aceites Esencial *Psidium guajava* L. en *Strongyloides venezuelensis*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Larvas L3	108	1.00	0.99	42.60

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5318.33	35	151.95	512.84	<0.0001
concentracion	1939.67	11	176.33	595.12	<0.0001
Dias	281.56	2	140.78	475.12	<0.0001
concentracion*Dias	3097.11	22	140.78	475.12	<0.0001
Error	21.33	72	0.30		
Total	5339.67	107			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.2963 gl: 72

concentracion	Medias	n	E.E.	
Blanco	15.33	9	0.18	A
0.32 mg/mL	0.00	9	0.18	B
0.63 mg/mL	0.00	9	0.18	B
1.25 mg/mL	0.00	9	0.18	B
0.16 mg/mL	0.00	9	0.18	B
5 mg/mL	0.00	9	0.18	B
2.5 mg/mL	0.00	9	0.18	B
0.01 mg/mL	0.00	9	0.18	B
0.08 mg/mL	0.00	9	0.18	B
0.02 mg/mL	0.00	9	0.18	B
0.04 mg/mL	0.00	9	0.18	B
Control +	0.00	9	0.18	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.2963 gl: 72

Dias	Medias	n	E.E.	
3	3.56	36	0.09	A
2	0.28	36	0.09	B
1	0.00	36	0.09	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

c. Desarrollo Larval (LDA) de Aceites Esencial de *Eryngium foetidum L.* en *Strongyloides venezuelensis*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Movilidad	81	1.00	1.00	10.45

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	34963.21	26	1344.74	1601.82	<0.0001
Concentración	21825.65	8	2728.21	3249.78	<0.0001
Dias	2311.28	2	1155.64	1376.57	<0.0001
Concentración*Dias	10826.27	16	676.64	806.00	<0.0001
Error	45.33	54	0.84		
Total	35008.54	80			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.8395 gl: 54

Concentración	Medias	n	E.E.	
Blanco	41.00	9	0.31	A
0.08 mg/mL	37.89	9	0.31	B
2.5 mg/mL	0.00	9	0.31	C
5 mg/mL	0.00	9	0.31	C
1.25 mg/mL	0.00	9	0.31	C
0.16 mg/mL	0.00	9	0.31	C
0.32 mg/mL	0.00	9	0.31	C
0.63 mg/mL	0.00	9	0.31	C
Control +	0.00	9	0.31	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.8395 gl: 54

Dias	Medias	n	E.E.	
1	15.81	27	0.18	A
2	7.59	27	0.18	B
3	2.89	27	0.18	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

d. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm en *Strongyloides venezuelensis*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Movilidad	81	1.00	1.00	8.45

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	47654.54	26	1832.87	703.61	<0.0001
Concentración	28162.54	8	3520.32	1351.40	<0.0001
Dias	8647.21	2	4323.60	1659.77	<0.0001
Concentración*Dias	10844.79	16	677.80	260.20	<0.0001
Error	140.67	54	2.60		
Total	47795.21	80			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 2.6049 gl: 54

Concentración	Medias	n	E.E.	
0.08 mg/mL	50.00	9	0.54	A
Blanco	41.00	9	0.54	B
0.16 mg/mL	37.78	9	0.54	C
0.32 mg/mL	22.22	9	0.54	D
0.63 mg/mL	17.22	9	0.54	E
1.25 mg/mL	3.67	9	0.54	F
Control +	0.00	9	0.54	G
5 mg/mL	0.00	9	0.54	G
2.5 mg/mL	0.00	9	0.54	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 2.6049 gl: 54

Dias	Medias	n	E.E.	
1	32.19	27	0.31	A
2	18.19	27	0.31	B
3	6.93	27	0.31	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

e. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial de *Psidium guajava L.* en *Strongyloides venezuelensis*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Movilidad	108	1.00	1.00	10.10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	25759.88	35	736.00	6114.43	<0.0001
Concentración	13854.99	11	1259.54	10463.91	<0.0001
Dias	1008.07	2	504.04	4187.38	<0.0001
Concentración*Dias	10896.81	22	495.31	4114.88	<0.0001
Error	8.67	72	0.12		
Total	25768.55	107			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.1204 gl: 72

Concentración	Medias	n	E.E.	
Blanco	41.00	9	0.12	A
0.01 mg/mL	0.22	9	0.12	B
Control +	0.00	9	0.12	B
0.63 mg/mL	0.00	9	0.12	B
1.25 mg/mL	0.00	9	0.12	B
0.32 mg/mL	0.00	9	0.12	B
0.16 mg/mL	0.00	9	0.12	B
5 mg/mL	0.00	9	0.12	B
2.5 mg/mL	0.00	9	0.12	B
0.02 mg/mL	0.00	9	0.12	B
0.04 mg/mL	0.00	9	0.12	B
0.08 mg/mL	0.00	9	0.12	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.1204 gl: 72

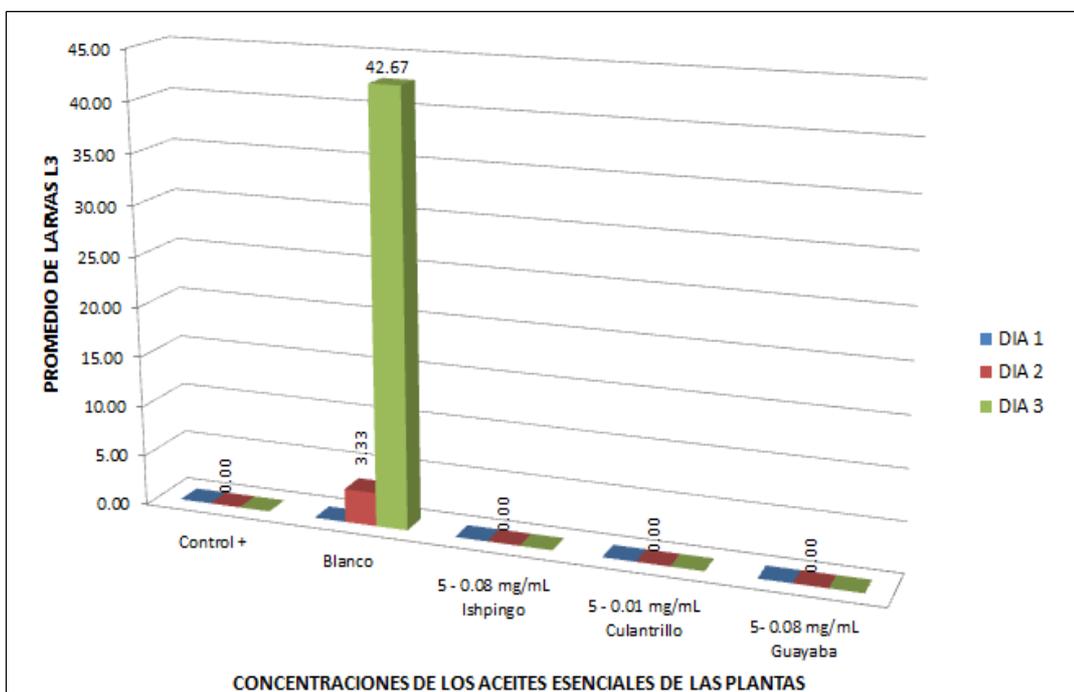
Dias	Medias	n	E.E.	
1	7.47	36	0.06	A
2	2.75	36	0.06	B
3	0.08	36	0.06	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

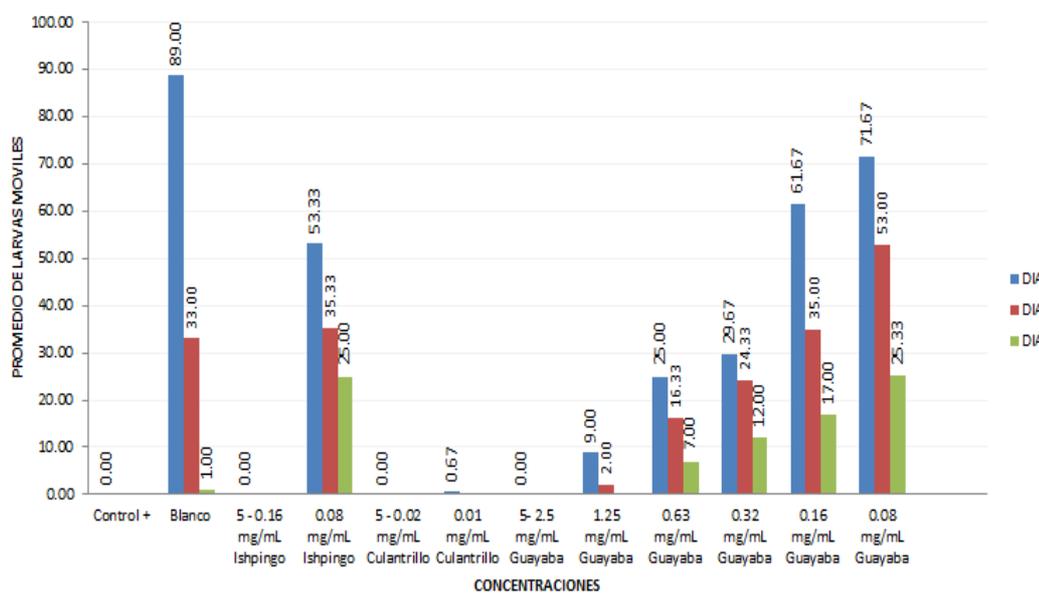
f. Prueba de Motilidad Larval (LMT) de Aceites Esencial de *Eryngium foetidum L.* en *Strongyloides venezuelensis*

Elaborado por: Las autoras, 2019.

Anexo 20. Gráficas de Excel de los ensayos antihelmínticos *in vitro* de *Strongyloides venezuelensis*



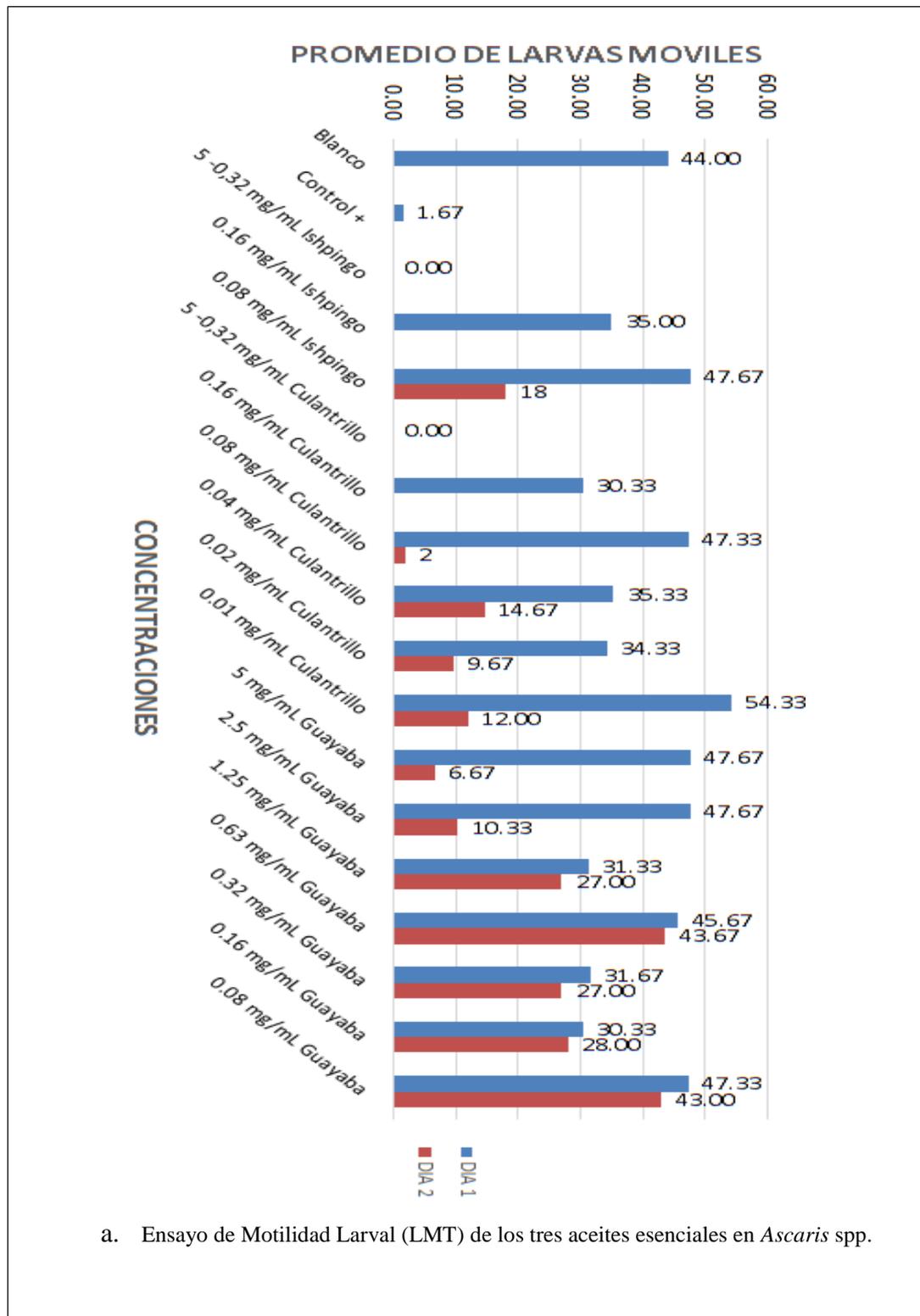
a. Ensayo de Desarrollo Larval (LDA) de los tres aceites esenciales en *Strongyloides venezuelensis*.

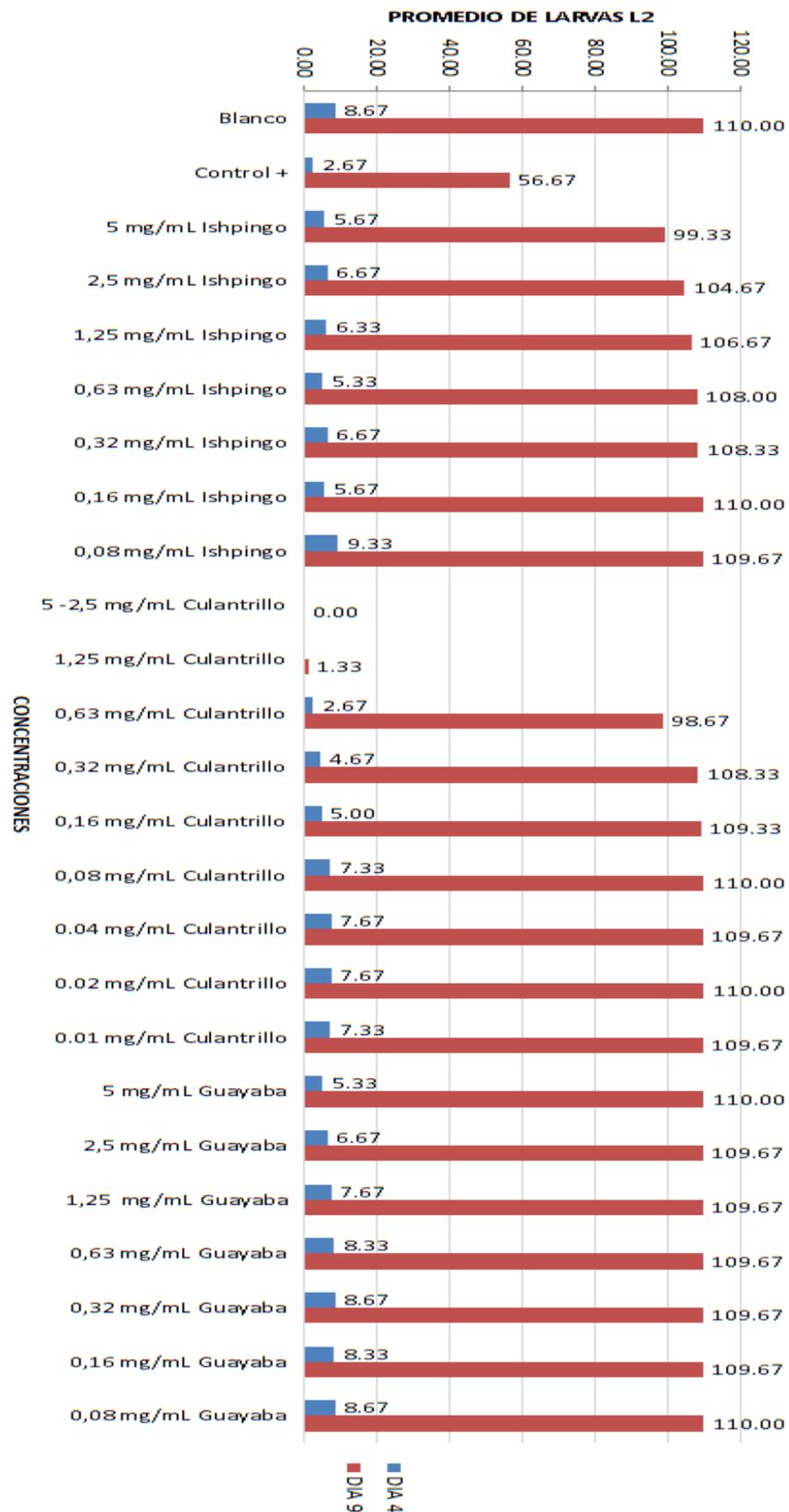


b. Ensayo de Motilidad Larval (LMT) de los tres aceites esenciales en *Strongyloides venezuelensis*.

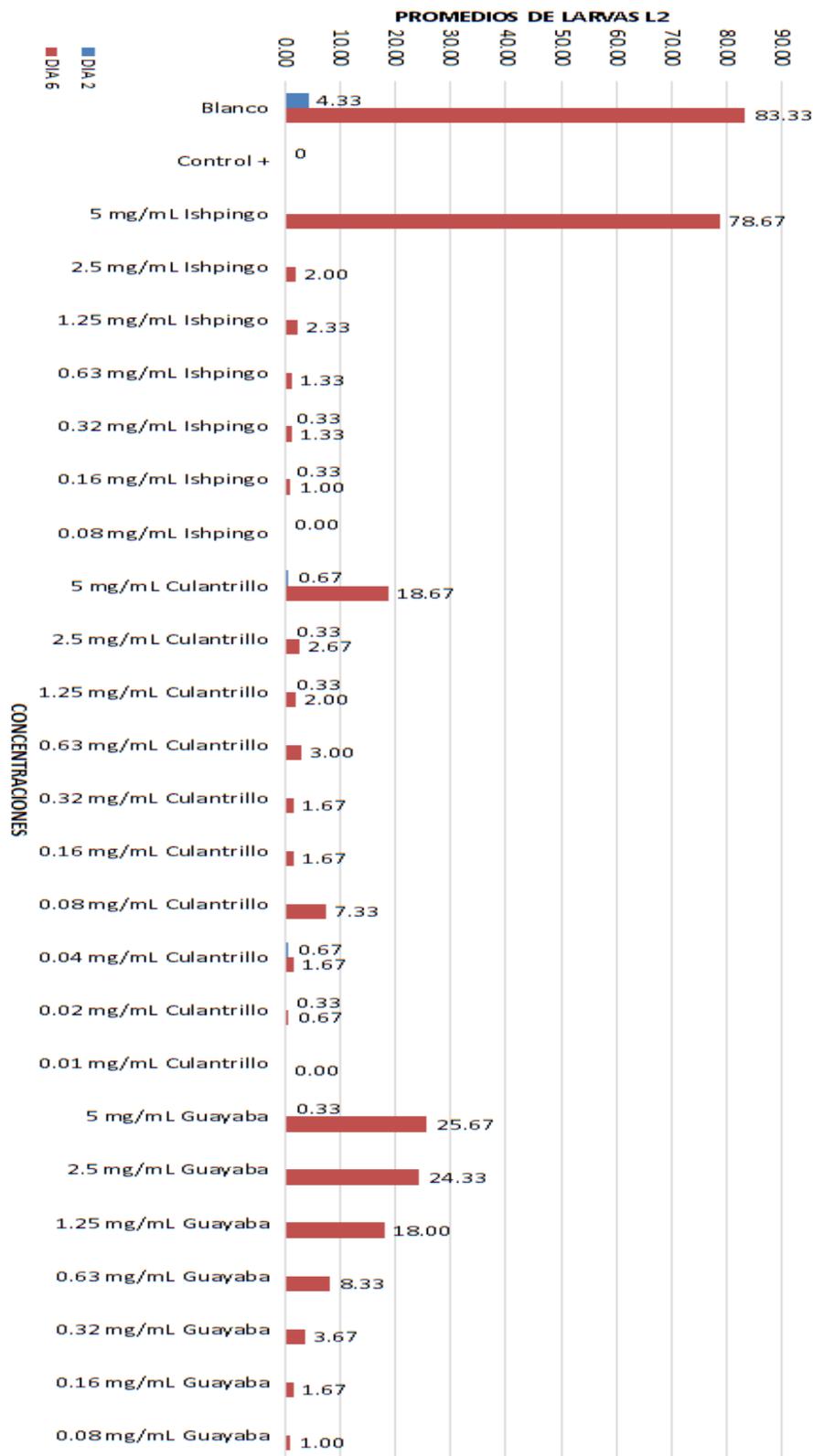
Elaborado por: Las autoras, 2019.

Anexo 21. Gráficas de Excel de los ensayos antihelmínticos *in vitro* de *Ascaris* spp.





b. Ensayo de Desarrollo Larval (LDA) de los tres aceites esenciales en *Ascaris* spp.



c. Ensayo de Eclosión de Huevos (EHA) de los tres aceites esenciales en *Ascaris* spp.

Elaborado por: Las autoras, 2019.