



Artículo Original

Efecto del extracto etanólico de *Ficus carica* (Moraceae) sobre la formación de la larva 2 de *Ascaris suum* y *Trichuris ovis*, en condiciones de laboratorio.

Effect of the ethanol extract of *Ficus carica* (Moraceae) on the formation of *Ascaris suum* and *Trichuris ovis* larva 2, under laboratory conditions.

Karen Siccha Aguilar¹, Víctor Terán¹ y César A. Jara²

¹Exalumno de la Escuela AP de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú. ²Departamento de Microbiología y Parasitología. UNT

RESUMEN

Las infecciones parasitarias por helmintos causan disminución en la producción pecuaria y, ante la aparición de resistencia antihelmíntica al uso de químicos, surge la necesidad de indagar respecto de la capacidad antiparasitaria de extractos de plantas hasta ahora no utilizados. En la presente investigación se evaluó el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Ficus carica* "higo" (Moraceae), sobre la formación de la larva 2 (L2) de *Ascaris suum* y *Trichuris ovis*, para ello, se obtuvieron huevos fértiles no embrionados del útero de hembras grávidas de ambas especies, las que fueron colocadas en Placas de Petri, aproximadamente mil huevos por placa: en tres de ellas (E1, E2 y E3) con el extracto, a las concentraciones de 4000, 2000 y 1000 ppm y una cuarta (C) con solución salina fisiológica (el experimento se hizo por duplicado). Las placas fueron mantenidas a temperatura ambiente (25-26°C) y cada 48 horas se hicieron observaciones microscópicas para verificar la formación de las L2. A los 20 días, en C se obtuvo 2.4% de huevos sin L2 de *A. suum* y 2.3% de *T. ovis*, y en E1 se observó el mayor porcentaje de huevos sin L2 de ambas especies: 38.8% y 32.7%, respectivamente ($p < 0.05$). Se concluye que el extracto etanólico de *F. carica* inhibe la formación de la larva 2 de *A. suum* y *T. ovis*, a los 20 días post tratamiento, en condiciones de laboratorio.

Palabras clave: extracto etanólico, *Ficus carica* (Moraceae), *Ascaris suum*, *Trichuris ovis*

ABSTRACT

Parasitic helminth infections cause decrease in livestock production and, before the emergence of resistance to anthelmintic use of chemicals, the need to inquire about the antiparasitic capacity of plant extracts so far unused. In this research the effect of ethanol extract of the leaves of *Ficus carica* (Moraceae) on the formation of the larva 2 (L2) of *Ascaris suum* and *Trichuris ovis* was assessed; for this purpose, fertile eggs, not embryonated, were obtained the uterus of pregnant females of both species, which were placed in Petri dishes, about thousand eggs per plate: three of which (E1, E2 and E3) with the extract, at the concentrations of 4000, 2000 and 1000 ppm and a fourth (C) with physiological saline (the experiment was done in duplicate). The Plates were maintained at room temperature (25-26 ° C) and every 48 hours microscopic observations were made to verify the formation of L2. At 20 days, 2.4% C without L2 eggs of *A. suum* and 2.3% of *T. ovis* was obtained, and E1 the highest percentage of eggs without L2 of both species were observed, 38.8% and 32.7%, respectively ($p < 0.05$). It is concluded that the *Ficus carica*-ethanol extract inhibits the formation of *A. suum* and *T. ovis* larva 2 at 20 days post treatment, under laboratory conditions.

Keywords: ethanol extract, *Ficus carica* (Moraceae), *Ascaris suum*, *Trichuris ovis*

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por helmintos gatrointestinales producen en animales domésticos anemia, falta de vitalidad, retardo del crecimiento, mala conversión alimenticia y predisposición a otras enfermedades y, con ello, disminución en la producción pecuaria^{1,2,3}. Destacan, dentro de ellos, los nematodos *Trichuris ovis* y *Ascaris suum*, parásitos de ovinos y porcinos, respectivamente, debido a que el parasitismo es frecuente porque conforman el grupo de nematodos que se adquieren por la ingesta de huevos de larvas 2, que, se sabe, se mantienen viables por periodos prolongados en diversas áreas húmedas^{4,5,6,7}.

T. ovis en su forma adulta parasita el intestino donde penetran la pared del ciego para alimentarse de sangre y originan, con ello, hemorragias y lesiones que aprovechan otros agentes infecciosos, con el consecuente desequilibrio osmótico que se traduce en diarreas sanguinolentas y pérdida progresiva de peso^{8,9,10}.

A. suum, por su parte, parasita temporalmente los pulmones, donde producen lesiones que se traducen en pérdida de la capacidad respiratoria y finalmente el duodeno, donde consumen la glucosa que debe ser asimilada a la sangre, con el consecuente desnivel energético y cambios de la función de la maquinaria enzimática, que, al no encontrar sustrato, se convierte en ente pernicioso para el huésped^{11,12}.

El control de estas parasitosis es fundamental para disminuir la mortalidad de animales y minimizar los efectos subclínicos de la enfermedad sobre la producción de carne y lana (en ovinos). En actualidad se realiza el tratamiento con antihelmínticos de derivados químicos y los principios activos disponibles en el mercado veterinario son principalmente; benzimidazoles, imidazothiazoles y lactonas macrocíclicas, como por ejemplo la Ivermectina y Doramectina^{13,14,15}. Sin embargo, la administración masiva e indiscriminada de los distintos principios activos durante periodos prolongados, ha ejercido una excesiva presión de selección sobre las poblaciones parasitarias lo que ha originado resistencia a la mayoría de los compuestos disponibles actualmente en el mercado veterinario¹⁶. La resistencia antihelmíntica puede ser definida como la disminución o ausencia de eficacia de un fármaco frente a poblaciones parasitarias que generalmente son susceptibles a dichos fármacos¹⁷. Además, los residuos de estos medicamentos en los derivados cárnicos, superan los límites máximos permisibles, siendo considerado como un factor de riesgo en la salud pública¹⁸.

Todos los problemas generados por la aparición de resistencia de los helmintos frente a los fármacos veterinarios, ha dado origen a investigaciones orientadas encontrar antihelmínticos obtenidos de fuentes naturales^{19,20,27}, como el uso de plantas medicinales, obteniendo diversos tipos de extractos de hojas o semillas, como tratamiento frente a estos parásitos, basándose en la inhibición de algún estadio en el ciclo de vida de estos. Algunas plantas con propiedad antihelmíntica son : *Ficus carica*²², *Coriandrum sativum*²⁷, *Eucalyptus globulus*²⁸, de los cuales se ha evaluado diferentes tipos de extracto (hidroalcohólico, etanólico y oleoso) y los resultados reportados demuestran que inhiben la formación de la larva 2 de distintos nematodos como *T. muris*²⁰, *Toxocara canis*²¹, *Haemonchus contortus*²⁸.

F. carica (higo) presenta numerosos compuestos bioactivos fenólicos, flavonoides, fitoesteroles, ácidos orgánicos, triterpenoides, compuestos volátiles tales como hidrocarburos, alcoholes alifáticos, algunos ácidos fenólicos y ácidos orgánicos (ácido oxálico, cítrico, málico) que han aislados a partir del extracto acuoso y etanólico de sus hojas²⁸ y tiene actividad nematocida^{22,24}, bactericida²⁵, y fungicida²⁶. En efecto, se demostró que el extracto etanólico de *F. carica*, inhibe la formación de la larva 2 de *H. contortus*¹⁹, in vitro, siendo probable que también actúe contra otros nematodos.

En el presente informe se presentan los resultados de una investigación orientada a verificar si el extracto etanólico de *F. carica* tiene efecto sobre la formación de la larva 2 de *A. suum* y *T. ovis*, a los 20 días post tratamiento, en condiciones de laboratorio. Se plantea que a mayor concentración del extracto etanólico, hay mayor porcentaje de inhibición de la formación de la larva 2 en dicho periodo de tiempo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico:

- 1000 huevos fértiles no embrionados de *A. suum* y 1000 huevos fértiles no embrionados de *T. ovis* no embrionados, obtenidas de parásitos adultos hembras, recolectadas de porcinos y ovinos sacrificados en el camal de El Porvenir-Trujillo (Perú).
- 200 g de hojas de *F. carica* recolectadas de un huerto casero del AA-HH Víctor Raúl del Distrito de El Porvenir- Trujillo, La Libertad (Perú).

Obtención de huevos de *A.suum* y *T.ovis*:

Se recolectó parásitos en el Camal del Distrito de El Porvenir, Trujillo-La Libertad, a partir del intestino grueso de ovinos e intestino delgado de porcinos naturalmente infectados, se obtuvo parásitos adultos de *T. ovis* y *A. suum*, respectivamente, se depositaron en frascos diferentes y fueron lavados con Agua Destilada Estéril²⁷ (ADE), se realizó la identificación taxonómica^{9,23} y se seleccionó parásitos adultos hembras de cada especie, y del útero se obtuvo los huevos fértiles no embrionados^{9,23,11}, los cuales fueron lavados con Hipoclorito de sodio al 3%¹¹ y tres veces con solución salina fisiológica²¹.

Estandarización del inóculo:

Los huevos obtenidos en el procedimiento anterior, fueron colocados en placas de Petri¹⁹, con 10 mL de SSF, previa homogenización, se extrajo 1 mL a una placa de Petri que inicialmente la base fue rotulada en cuatro cuadrantes para facilitar el recuento en el microscopio^{11,19,20}, esto se repitió cinco veces para obtener un promedio de la concentración de huevos por mL, posteriormente se realizó el cálculo correspondiente para extraer aproximadamente 1000 huevos^{19,27} de cada especie y fueron colocados en placas diferentes hasta añadir las concentraciones del extracto^{19,27,28}.

Recolección de hojas de *F. carica* e identificación:

El material vegetal se recolectó de un huerto casero en el distrito de El Porvenir, provincia de Trujillo (La Libertad-Perú) en Junio del 2015, su clasificación Taxonómica se realizó en el **Herbarium Truxillense (HUT)**, Herbario de la Universidad Nacional de Trujillo.

Preparación del extracto etanólico de *F. carica*

Las hojas fueron lavadas con hipoclorito de sodio al 3% durante 30 segundos y luego con agua destilada tres veces, después se colocó a 37°C ± 0,2 durante 24 horas²⁰ se cortaron en trozos pequeños y fueron maceradas con etanol al 95%²⁸ durante 7 días, se filtró con gasa estéril y por último el contenido se llevó al equipo de rotavapor hasta obtener el extracto^{20,28,24}

Exposición de huevos *A. suum* y *T. ovis* frente al extracto:

El extracto se obtuvo a una concentración de 36.5 mg/mL, se realizó la dilución correspondiente usando la suspensión de huevos y SSF (ambos como diluyente), hasta obtener las concentraciones utilizadas^{19,27} (4000, 2000 y 1000 ppm), esto se realizó para ambas especies de parásitos, luego se colocó en placas de Petri y permanecieron a temperatura ambiente (25-26°C) durante 20 días²⁴, durante ese tiempo se realizó observaciones microscópicas cada 48 horas²⁶ para monitorear si hay formación de larva 2 en el interior de los huevos^{6,7,26}. Además 1000 huevos de ambos parásitos fueron colocados en 5 mL de SSF a temperatura ambiente (25-26°C) durante el mismo tiempo (Grupo Control)^{19,27}. Se realizó dos repeticiones para cada grupo: Experimental y Control de ambos tipos de parásitos.

Recuento de huevos con Larva 2 de *A. suum* y *T. ovis*, transcurrido el periodo de exposición al extracto:

De cada Placa del Grupo experimental y Control, correspondiente a cada especie de parásito, se realizó el conteo aproximado de huevos sin L2 en su interior^{20,28}.

Análisis de datos:

Se utilizó el cuadro estadístico de ANOVA, usando un nivel de confianza del 95%, y determinar si existe diferencia significativa entre los grupos Control y Experimental^{27,29}.

RESULTADOS

Transcurrido el tiempo de exposición al extracto, se obtuvo lo siguiente: Respecto de *A. suum*, la cantidad de huevos sin L2 en el Control fue de 2.4% y en los Experimentales: en 1000 ppm se obtuvo 8.10%; en 2000 ppm, 26.8% y en 4000 ppm, 38.8% ($p < 0.05$ (Fig. 1).

Para *T. ovis*, la cantidad de huevos sin L2, en el Control fue de 2.3% y en los Experimentales: en 1000 ppm, 10.9%; en 2000 ppm, 22.8% y en 4000 ppm, 32.7% ($p < 0.05$ (Fig. 2).

No existe diferencia significativa en los porcentajes de huevos sin L2 en los Grupos Experimentales de ambas especies de parásitos, por lo tanto las tres concentraciones de extracto actúan similar en ambas especies ($p > 0.05$) (Fig. 3).

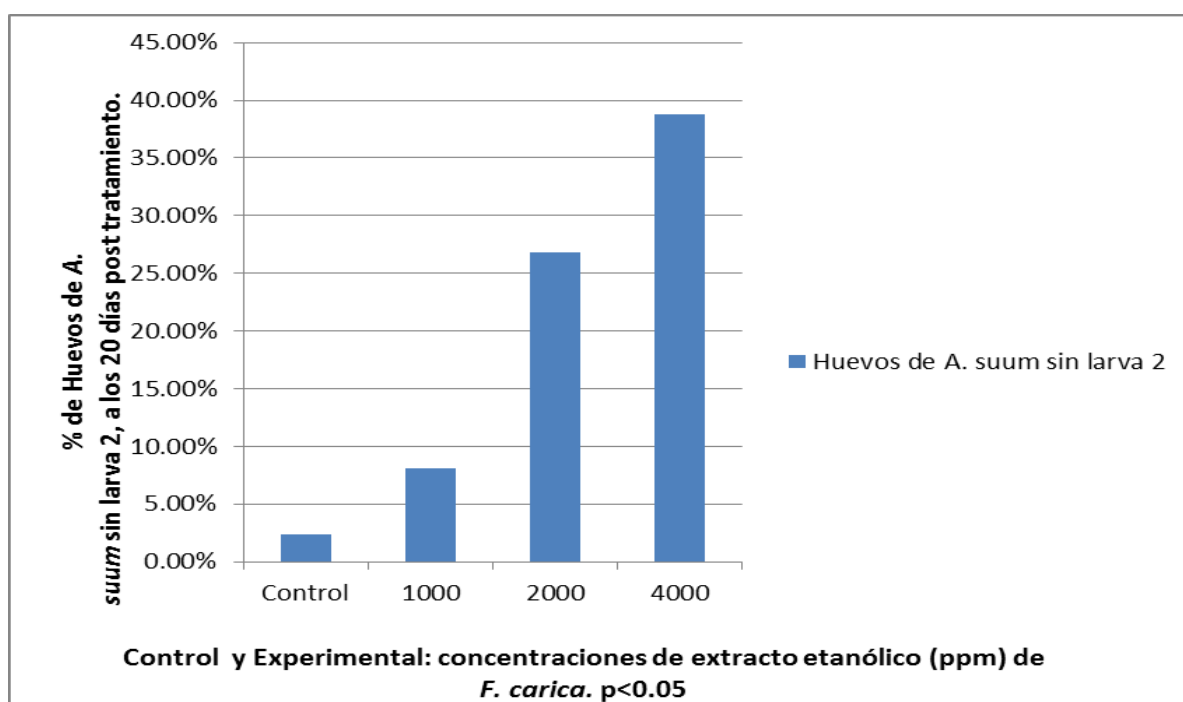


Fig. 1: Porcentaje de huevos de *A. suum* sin larva 2, a los 20 días post tratamiento, en el Control y Experimental (con las concentraciones de 1000, 2000 y 4000 ppm del extracto etanólico de *Ficus carica*)

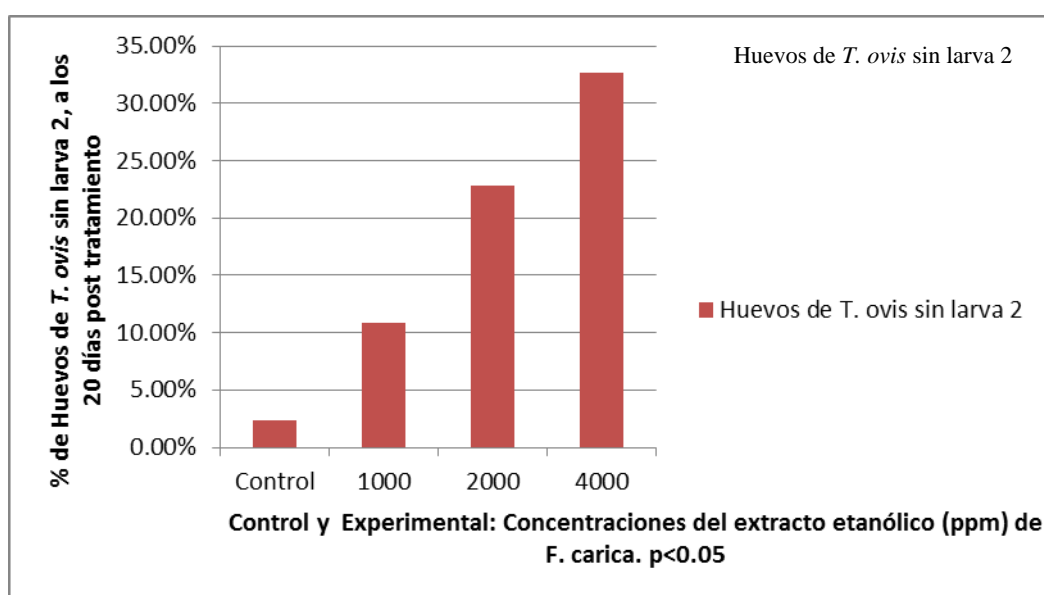


Fig 2: Porcentaje de huevos de *T. ovis* sin larva 2, a los 20 días post tratamiento, en el Control y Experimental (con las concentraciones de 1000, 2000 y 4000 ppm del extracto etanólico de *Ficus carica*)

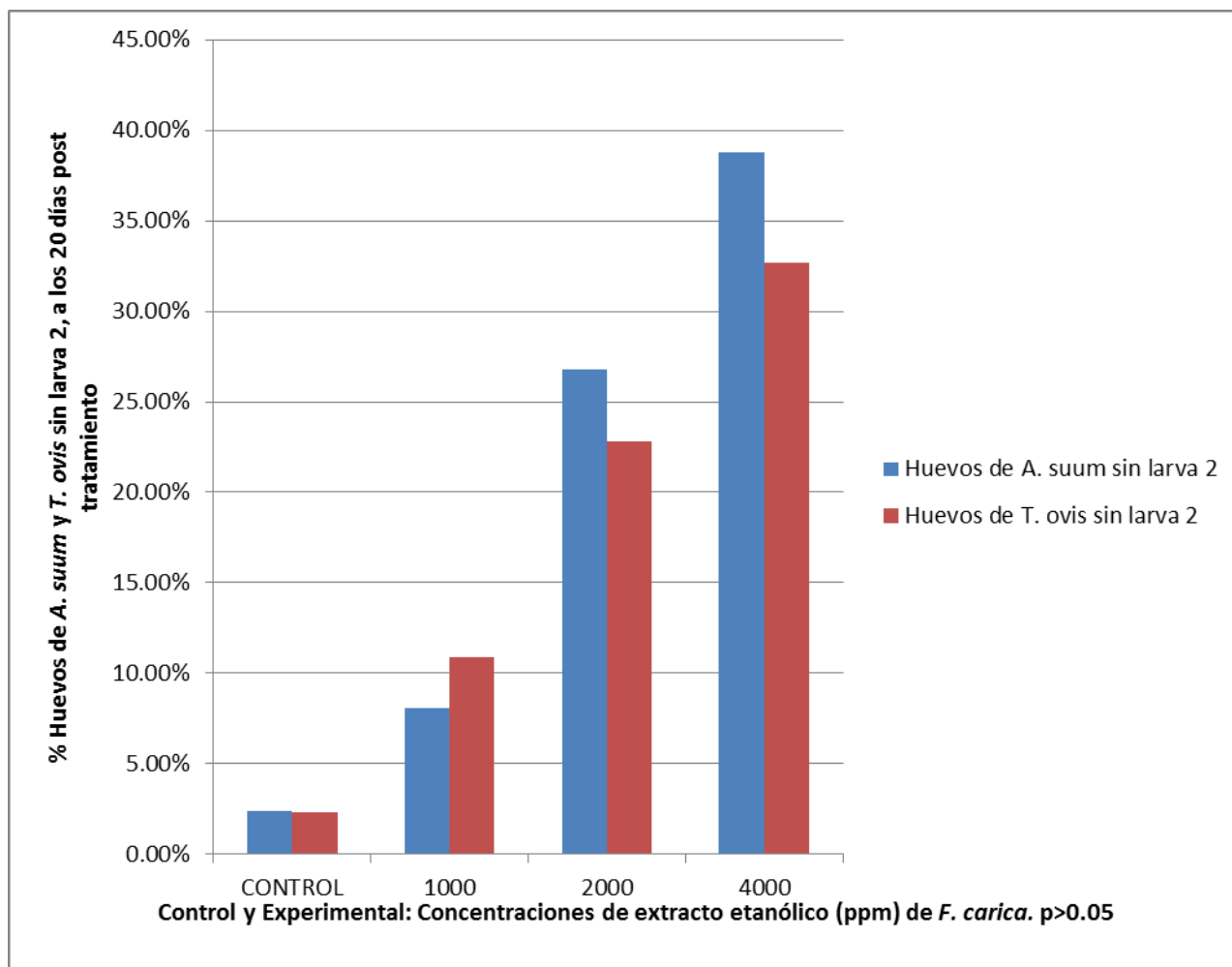


Fig 3: Porcentaje de huevos de *A. suum* y *T. ovis* sin larva 2 a los 20 días post tratamiento, en el Control y Experimental (con las concentraciones de 1000, 2000 y 4000 ppm del extracto etanólico de *Ficus carica*).

DISCUSIÓN

Existen investigaciones relacionadas a encontrar fármacos con el propósito de ser utilizados como antihelmínticos, para el control de infecciones parasitarias en animales. La mayoría de trabajos reportan antihelmínticos de origen químico, principalmente derivados de benzimidazoles, pero debido a la inadecuada administración de estos fármacos, ha surgido la resistencia antihelmíntica, siendo cada vez menos fármacos eficaces disponibles en el mercado veterinario^{13,14,15}.

Otros estudios plantean impedir que el ciclo biológico de estos parásitos se complete, para conseguirlo se busca productos que impidan el desarrollo de la forma infectante, que son los huevos embrionados con larva 2^{7,9}, trabajos reportan que el formol, fenol, hipoclorito de sodio, impiden el desarrollo embrionario, dependiendo de la concentración utilizada, pudiendo incluso alterar la morfología de los huevos, hasta generar su desintegración³².

Por ello, en la actualidad, y aunque los reportes son pocos, existen trabajos orientados a las búsqueda de principios activos de origen natural, es necesarios considerar las ventajas de utilizar productos de origen natural, los cuales no contienen efecto residual, no contaminan el ambiente, convirtiéndose en una alternativa saludable para impedir alguna etapa del ciclo biológico de los nematodos y de esa forma disminuir la prevalencia de estas parasitosis^{19,20,21,28}.

Otro de los problemas, además de existir pocos antihelmínticos de origen natural, es que no existen estudios donde se utilizan productos de origen natural para impedir la formación de larva 2 de huevos fecundados de *A. suum* y de *T. ovis*, siendo estos nematodos reportados frecuentemente en infecciones intestinales del ganado porcino y ovino respectivamente.

Investigaciones previas demuestran que los principios activos de las hojas de *Ficus carica*, obtenidas con el extracto etanólico, son principalmente flavonoides²², los cuales según trabajos reportados, ejercen acción sobre el metabolismo de lípidos, inactivando las enzimas que participan en dicho proceso, esta información permite proponer lo que probablemente sucede durante la exposición de los huevos fecundados de *A. suum* y de *T. ovis* a las diferentes concentraciones del extracto. Los huevos fecundados de ambos parásitos presentan una cubierta protectora, conformada por tres capas, la más interna es la membrana vitelina, de composición lipídica. Los flavonoides contenidos en el extracto, probablemente ingresan al interior de los huevos e impiden que las enzimas relacionadas con el metabolismo de lípidos, no cumplan su función, esto origina que las reacciones metabólicas, necesarias para el desarrollo embrionario, no se realizan o no se completan, provocando que no empiece la división celular, o que no se complete hasta la formación de larva 2.

Algunas especies de plantas han sido descritas como antihelmínticos, como por ejemplo *F. obtusifolia* (Moriaceae), del cual se ha evaluado el extracto etanólico sobre huevos no embrionados de *Toxocara canis* y *T. cati*, teniendo como resultado la inhibición de la formación de la larva 2 en ambas especies²⁹, siendo la concentración de 1000 ppm la que presenta efecto inhibitorio sobre la formación de la larva 2 de ambas especies de parásitos, por ello se utilizó las concentraciones partiendo de esta fuente y duplicando las concentraciones con la finalidad de obtener un resultado fiable. Otra especie de planta que también ha sido objeto de estudio debido a la presencia de metabolitos descritos como antihelmínticos es *Coriandrum sativum*, en el cual el extracto hidroalcohólico de las semillas ha tenido efecto inhibitorio sobre la formación de la larva 2 de *Haemonchus contortus*²⁷.

El resultado muestra que hay mayor porcentaje de huevos sin larva 2 a medida que la concentración del extracto etanólico aumenta, probablemente en la concentración de 4000 ppm exista una concentración mayor de metabolito activo (flavonoides) lo que origina menor cantidad de huevos larvados, el presente resultado en la concentración de 4000 ppm hay un porcentaje de inhibición menor al 50% y es similar a los obtenidos por otros autores; siendo los flavonoides unos de los principios activos^{28,29}, y aunque no se llegue a un porcentaje de inhibición, cercano al valor como los obtenidos por antihelmínticos químicos disponibles, esto es una base para futuras investigaciones con la finalidad de obtener la concentración de extracto necesaria para obtener un valor similar a los antihelmínticos comunes y teniendo en cuenta que se trata de un principio activo derivado de una fuente natural, no habría el riesgo de contaminación ambiental por residuos o la resistencia antihelmíntica. En conclusión, a medida que se aumenta la concentración en ppm del extracto etanólico de *Ficus carica*, el efecto inhibitorio sobre la formación de la larva 2 de *Ascaris suum* y *Trichuris ovis*, a los 20 días post tratamiento, en condiciones de laboratorio, es mayor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González GR, Córdova PC, Torres HG, Mendoza de G, Arece GJ, Prevalencia de parásitos gastrointestinales en ovinos sacrificados en un rastro de Tabasco, México. Vet Méx 2011; 42 (2): 126-128.
2. Naquira C. Las zoonosis parasitarias: Problema de Salud Pública en el Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2010; 27(4): 494-97.
3. Steffan, PE, Fiel CA, Ferreyra DA. Endoparasitosis más frecuentes de los rumiantes en sistemas pastoriles de producción: Aspectos básicos de consulta rápida. Tandil, Grupo Reencuentro. 2012; 1: 15-18.
4. Vásquez PV, Flores CJ, Valencia CS, Herrera RD, Palacios FA et.al. Frecuencia de nematodos gastroentéricos en bovinos de tres áreas de clima subtropical húmedo de México. Tec Pecu Méx. 2014; 42(2):237-238.
5. Mejer H, Roepstorff A. *Ascaris suum* infections in pigs born and raised on contaminated paddocks. Parasitology. 2006; 133: 1-4.
6. B. Pineda MR, A. Ramos JD. *Ascaris suum* infective egg supregulate IL-4, 5 and 10 in BALB/c mice. Philippine Science Letters. 2012; 5(2): 139-42.
7. Nejsum P, Roepstorff A, Jorgensen CB, Fredholm M, Goring HHH, et.al. High heritability for *Ascaris* and *Trichuris* infection levels in pigs. Heredity 2009: 357-358.
8. Singh T, Lal SS. A study on in vitro culture of *Trichuris ovis* in different physiological solutions at constant temperature, 37°C. J Parasit Dis. 2011; 35(1):57-58.
9. Oliveros R, Cutillas C. Redescrpción de *Trichuris ovis* (Nematoda) (Abildgaard, 1795) parásito de *Ovis aries* (Linné, 1758) y *Caprahircus* (Linné, 1758). Rev Ibérica Parasitol. 2003; 63(3-4):77-80.

10. Ruiz de Ybáñez MR, Garijo MM, Balanza P, Alonso FD. Parásitos del intestino grueso del ganado Ovino en la Región de Murcia. *An. Vet.* 1999; 15: 25-26.
11. Han Q, Eriksen L, Boes J, Nasen P. Effects of bile on the in vitro hatching, exsheathment, and migration of *Ascaris suum* larvae. *Parasitol Res.* 2000; 86: 630-632.
12. Conde F, González de Moreno L, Pino LA, Morales G, Balestrini C. Infección por *A. suum* en granjas porcinas del Municipio Carlos Arvelo, parroquia Güügüe del Estado Carabobo. *Veterinaria Trop.* 2002; 27(1): 25-27.
13. Steffan P, Sánchez E, Entrocasso C, Fiel C, Lloberás M, Riva E, Guzmán M. Eficacia de Monepantel contra Nematodos de Ovinos con Resistencia Antihelmíntica Múltiple en la Región Templada de Argentina. *Vet. Arg.* 2011; 273(18): 12-16.
14. Geerts S, Gryseels B. Drug Resistance in Human Helminths: Current Situation and Lessons from Livestock. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000; 13(2): 213-216.
15. Palma C, Godoy C, Arboix M, Pérez R. Determinación de residuos de abamectina-triclabendazol en tejidos bovinos. *Arch. Med. Vet.* 2006; 38(3):265-266.
16. Coles GC. Cattle nematodes resistant anthelmintics: why so few cases?. *Vet. Res. Review.* 2002; 33: 481-3.
17. Toro A, Rubilar L, Palma C, Perez R. Resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales de ovinos tratados con ivermectina y fenbendazol. *ArchMedVet* 2014; 46: 247-50.
18. Cabrera NM. Determinación de residuos de Triclabendazol en leche y quesos Provenientes de Ganado Vacuno en Cajamarca. Curso Seminario Avanzado de Investigación-Cajamarca. 2009.
19. Carvalho CO, S. Chagas AC, Cotinguiba F, Furlan M, Brito LG, et.al. The antihelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. *Vet Parasitol.* 2012; 183: 260-261.
20. Macedo LTF, Bevilacqua CML, B. de Oliveira LM, Camurça-Vasconcelos ALF, Vieira L da S. et.al. Atividade ovicida e larvicida in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal.* 2009; 18(3) 62-64.
21. Sven Klimpel, Fathy Abdel-Ghaffar, Khaled AS, Al-Rasheid, Gülendem A, Fischer K, et.al. The effects of different plant extracts on nematodes. *Parasitol Res.* 2011; 108:1047–1050.
22. Shukranul Mawa, Khairana Husain, Ibrahim Jantan. *Ficus carica L.* (Moraceae): Phytochemistry, Traditional Uses and Biological Activities. *Review.* 2013; 2-5.
23. Sanchez M.J.M. Etiología y Epidemiología de la Ascariosis Porcina. 2002; 1-10. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar-Parasitologia porcina.
24. Amol, PP, Vikas VP, Vijay RP, Rajesh YC. Anthelmintic and preliminary phytochemical screening of leaves of *Ficus carica* Linn against intestinal helminthiasis. *IJRAP* 2010; 1(2): 601-3.
25. Aref HL, Salah KB, Chaumont JP, Fekih A, Aouni M. et. al. In vitro antimicrobial activity of four *Ficus carica* latex fractions against resistant human pathogens (antimicrobial activity of *Ficus carica* latex). *Pak J Pharm Sci.* 2010; 23(1): 53-8.
26. Carvalho DD, Alves E, Barbosa CR, Ferreira OD, Soares SJ. et. al. Plant extracts to control *Alternaria alternata* in *Murcott tangor* fruits. *Rev Iberoam Micol.* 2011; 28(4):173-6.
27. Eguale T, Tilahun G, Debella A, Feleke A, Makonnen E. In vitro and in vivo anthelmintic activity of crude extracts of *Coriandrum ativum* against *Haemonchus contortus*. *J Ethnopharmacol* 2007; 110 (3): 428-33.
28. Kanojiya D, Shanker D, Sudan V, Jaiswal AK, Parashar R. In vitro and in vivo efficacy of extracts of leaves of *Eucalyptus globulus* on ovine gastrointestinal nematodes. *Parasitol Res.* 2015; 114(1):141-8
29. Quesada LF, Osorio JC, Bilbao M. Efecto antiparasitario de los extractos etanólicos y etéreos de *Ficus obtusifolia Kunth* (Moraceae), frente a parásitos de clase nematodos (*Toxocara cati* y *Toxocara canis*). *Infectio.* 2009; 13 (4): 259-266.
30. De Souza Mde F, Pimentel N M, De Pinho AL, Da Silva RM, Farias AC. Et. al. Seasonal distribution of gastrointestinal nematode infections in sheep in a semiarid region, northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2013; 22(3):351-7.
31. Fausto MC, Oliveira IC, Fausto GC, Carvalho LM, Valente FL, et. al. *Ascaris suum* in pigs of the Zona da Mata, Minas Gerais State, Brazil.
32. Pautova EA, Dovgalev AS, Shchuchinova LD, Aliautdina LV. Effects of disinfectants on *Toxocara canis* eggs (results of experimental studies). *Med Parazitol (Mosk).* 2013; (4):27-31

Correspondencia:
César A. Jara. cjara@unitru.edu.pe.