

Actividad antihelmíntica *in vitro* de extractos de *Azadirachta indica* A. Juss, *Momordica charantia* L. y *Chenopodium ambrosioides* L. Weber - In vitro antihelmintic activity of extracts of *Azadirachta indica* A. Juss, *Momordica charantia* L. and *Chenopodium (Teloxys) ambrosioides* L. Weber

Eida Avello Oliver,¹ Enrique A Silveira Prado,² Fredy I Peña Rodríguez,¹ Maria C Camacho Escandón,¹ Miguel A Arce González¹

1. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Carretera a Camajuaní Km 5 ½, Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54830.

2. Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní Km 5 ½, Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54830. 4830.

Contacto por e_mail: esilveira@cbq.uclv.edu.cu

RESUMEN

Se realizó un estudio comparativo para evaluar la actividad antihelmíntica *in vitro* de varias formulaciones de las plantas *Azadirachta indica* A. Juss., *Momordica charantia* L. y *Chenopodium (Teloxys) ambrosioides* L. Weber, según la técnica de motilidad y supervivencia de la lombriz de la tierra africana *Eudrilus eugeniae* utilizada como modelo biológico. Los formulados comerciales piperazina 1% y levamisol 10% fueron utilizados como controles positivos y la solución de Prosser y Zimmerman como control negativo. En las condiciones del ensayo, cualitativamente todas las formulaciones mostraron actividad antihelmíntica.

Comparativamente, la formulación en zumo fue la más efectiva ($p < 0,05$), tanto en términos de parálisis como de muerte del organismo de ensayo. Mostraron mayor efectividad el zumo de *M. charantia* y de *C. ambrosioides*, sin diferencias significativas entre éstas, en ambos casos sin manifestarse la fase de parálisis previa a la muerte de las lombrices y con una actividad intermedia significativa ($p < 0,05$) entre los controles positivos piperazina 1% y levamisol 10%.

Palabras claves: Plantas Medicinales. Antiparasitarios. Antihelmínticos. Vermífugos. *Azadirachta indica* A. Juss. *Momordica charantia* L. *Chenopodium (Teloxys) ambrosioides* L. Weber

ABSTRACT

A comparative study was carried out to evaluate the *in vitro* antihelmintic activity of several formulations of plants *Azadirachta indica* A. Juss., *Momordica charantia* L. and *Chenopodium (Teloxys) ambrosioides* L. Weber, according to motility and survival technique of African earthworm *Eudrilus eugeniae* used as biological model. The commercial formulated piperazine 1% and levamisole 10% were used as positive controls and Prosser and Zimmerman

solution as negative control. Under the assay conditions, qualitatively all formulations showed antihelmintic activity. Comparatively, the pure juice formulation was the most effective ($p < 0.05$), so much in paralysis as of death terms of the assay organism. The pure juice formulation of *M. charantia* and *C. ambrosioides* showed bigger effectiveness, without significant differences among these, in both cases without showing the phase of previous paralysis to the death of the worms and with a significant

intermediate activity ($p < 0.05$) between the controls positive piperazine 1% and levamisole 10%.

Azadirachta indica A. Juss. *Momordica charantia* L. *Chenopodium (Teloxys) ambrosioides* L. Weber.

Key words: Medicinal plants. Antiparasites. Antihelmintics. Vermifuge.

INTRODUCCION

Uno de los mayores problemas que actualmente enfrentamos en los sistemas de producción animal de las regiones tropicales y subtropicales son las enfermedades parasitarias, debido a las condiciones óptimas que se presentan para su establecimiento. Las parasitosis provocan anualmente grandes pérdidas económicas a la ganadería, no sólo por mortalidad directa, sino por ser causa de enfermedades debilitantes, agudas y crónicas, que predisponen a los animales a padecer otras enfermedades, reduciendo los niveles de producción y productividad.^[1-2]

La búsqueda de alternativas para el tratamiento de las enfermedades parasitarias constituye una necesidad imperiosa y un reto para la investigación farmacológica. Por otra parte a nivel mundial se está realizando el rescate de la medicina tradicional, como una vía para sustituir medicamentos sintéticos —de elevado costo y potencialmente tóxicos— por medicamentos de origen natural, tendencia que incluye los medicamentos antihelmínticos veterinarios.

Tomando en consideración lo antes expuesto, nos propusimos evaluar comparativamente la actividad antihelmíntica *in vitro* de formulaciones de extractos de las plantas: *Azadirachta indica* A. Juss., *Momordica charantia* L. y *Chenopodium (Teloxys) ambrosioides* L. Weber, reconocidas por su actividad antihelmíntica entre otras actividades biológicas.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal: recolección y selección

- *Azadirachta indica* A. Juss (árbol del neem, nim, margosa, lila india). Se recolectaron semillas y partes aéreas de las plantas en estado de floración. La recolección se realizó en horas tempranas de la mañana, entre los meses de octubre y noviembre, en el Jardín Botánico de la Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas (UCLV).
- El *Momordica charantia* L. (cundeamor, comida de culebra, sorosí, camotillo, pepinillo, jaiva, momordica, balsamina). Se recolectaron ejemplares fructificados y floreados, en el mismo lugar y hora, pero en el mes de febrero.
- *Chenopodium (Teloxys) ambrosioides* L. Weber (apazote, epazote, ipazote, apasote, pazote, pazoli). Se recolectó de un área de terreno no cultivado en el municipio de Santo Domingo (Villa Clara) en el mes de marzo, también en la mañana.

El material vegetal recolectado se trasladó en bolsas de nylon hasta el lugar donde se procedió a la selección de las partes de interés —hojas, semillas y tallos— y eliminación de las materias extrañas, otras especies de plantas e impurezas mecánicas.

Secado y molinado

Una parte del material colectado fue sometido al proceso de secado natural a la sombra a temperatura ambiente, protegido de la humedad y con buena aireación, durante 20, 7 y 12 días respectivamente. También fueron utilizadas las plantas recién colectadas, trituradas con una tijera en fragmentos de 5 a 10 mm. En el caso de *A. indica*, las semillas se trituraron en un molino de cuchillas.

Preparación de los extractos

Una vez seleccionadas las partes de la planta a evaluar se procedió a la preparación de los extractos, según los métodos de infusión, decocción, extracto acuoso y zumo puro.^[3]

- Infusión al 10%. Por separado se pesan 10 g de las hojas de la *A. indica*, de tallos y hojas de *M. charantia* y de la planta completa de *C. ambrosioides*. La masa se coloca en un recipiente y se agregan 100 mL de agua destilada a temperatura de ebullición. Después de refrescada la preparación durante 30 minutos, se filtra y se deja enfriar a temperatura ambiente para su utilización inmediata.
- Decocción al 10%. Semejante a la infusión, con la diferencia de que la preparación se hierve durante 10 minutos tras los cuales se filtra y se deja enfriar a temperatura ambiente para su utilización inmediata.
- Extracto acuoso. Se pesan 80 g de la droga seca y molinada, la masa se coloca en un recipiente apropiado y se añade agua destilada en cantidad suficiente para 400 mL, dejándose en reposo durante 24 horas al cabo de las cuales se filtra y se ajusta el pH a 7 (pHmetro METROM® modelo 520). A partir de esta solución madre al 20% se preparan extractos al 10 y 15% (diluciones $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{3}$ de la solución madre respectivamente),
- Zumo puro. Se trituran en un mortero de porcelana 50 g de la droga fresca, luego se exprime a través de un paño fino (se obtienen 10 mL del zumo puro aproximadamente).

Evaluación *in vitro* de la actividad antihelmíntica

Se realizó según la técnica *in vitro* de motilidad y supervivencia de la lombriz de la tierra. Se utilizó como modelo biológico la especie *Eudrilus eugeniae* (lombriz africana), en estadio adulto con un tamaño comprendido entre 7-8,5 cm de longitud, suministradas por el Instituto de Biotecnología de Plantas (IBP) de la UCLV.

Las lombrices se mantuvieron en un medio de cultivo rico en materia orgánica, a una temperatura de 25-27°C, humedad relativa del 80% y pH 7.

El diseño del experimento consistió en conformar seis grupos para las sustancias de ensayo (infusión 10%, decocción 10%, extracto acuoso 10, 15 y 20% y zumo puro), dos controles positivos y un control negativo.

Los controles positivos consistieron en las formulaciones farmacéuticas comerciales hexahidrato de piperazina 1% (en forma de citrato hidratado, lote 6017, fabricado por la Empresa de Laboratorios Farmacéuticos "Saúl Delgado", C. Habana) y clorhidrato de levamisol 10% (lote 971027, producido por Laboratorios Biológicos Farmacéuticos,

LABIOFAM, C. Habana). El control negativo consistió en la solución nutritiva de Prosser y Zimmerman para la lombriz de tierra.

Para todas las sustancias de ensayo y controles se siguió la siguiente metodología:

Inmediatamente antes del desarrollo del experimento, las lombrices se extraen cuidadosamente del medio de cultivo y se transfieren a un recipiente con agua destilada para ser lavadas. Seguidamente se colocan en número de 6 en cada una de placas Petri de 9,5 cm de diámetro, identificadas según los grupos experimentales y controles. A continuación se añaden las sustancias de ensayo y los controles en un volumen de 10 mL.

La actividad antihelmíntica se evalúa mediante la observación directa y con el auxilio de microscopio estereoscópico y consiste en detectar en las lombrices cambios en la motilidad y alteraciones en el tegumento hasta la muerte en función del tiempo (motilidad y supervivencia), según los siguientes criterios:

- Parálisis: tiempo transcurrido desde el inicio del experimento hasta que los movimientos de las lombrices cesan más allá de su motilidad normal
- Muerte: tiempo transcurrido desde el inicio del experimento hasta que se comprueba la muerte de las lombrices, colocando éstas durante 10 segundos en tubos de ensayos de 25 mm de diámetro conteniendo 10 mL de agua destilada a 45°C, lo que provoca la estimulación e induce movimientos en los vermes si aún se encuentran vivos. Esta prueba se realiza cada 5 minutos después de detectada la parálisis.

Análisis estadístico

La evaluación estadística de los resultados se realizó mediante un análisis de varianza de clasificación simple y la prueba de comparación múltiple de Duncan, incluidas en el paquete computadorizado de programas estadísticos SPSS.^[4]

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia del pH en la vitalidad de los vermes

Los valores del pH para las diferentes formulaciones de las drogas se encontraron alrededor de 7. Para la *A. indica* y *M. charantia* las preparaciones con pH de 5,4 y 9 respectivamente fueron ajustadas a 7, teniendo en cuenta que este valor se precisa para mantener la vitalidad de los vermes (Tabla 1). En un estudio sobre la actividad antihelmíntica de la semilla de *Cucurbita maxima* Duch. no se detectaron cambios en la motilidad característica de los vermes a pH entre 7 y 7,5; sin embargo a pH 9 estos experimentaron parálisis irreversible a partir de los 68 a 74 minutos.^[5]

Tabla 1. Valores del pH para las diferentes formas de presentación de la droga

Formulación	Valores de pH		
	<i>A. indica</i>	<i>C. ambrosioides</i>	<i>M. charantia</i>
1. Infusión al 10%	7,2	7,3	7,3
2. Decocción al 10%	7,4	7,5	7,5
3. Extracto acuoso 10%	5,4*	7,3	7,3
4. Extracto acuoso 15%	5,4*	7,2	7,2
5. Extracto acuoso 20%	5,4*	7,1	7,1

6. Zumo puro	7,1	7,3	9,0*
--------------	-----	-----	------

*pH ajustado a 7,0

Comportamiento de los controles positivos y el control negativo

La solución de piperazina al 1% produjo parálisis flácida a los 13 minutos de exposición produciéndose la muerte del 100% de las lombrices trascurridos 41 minutos como promedio (Tablas 2 y 3). Se conoce que la piperazina actúa sobre la unión mioneural o placa motriz del verme produciendo parálisis flácida,^[6] pero el tiempo promedio en que ésta se produce puede variar según la especie utilizada como modelo biológico. En un estudio con un extracto acuoso vegetal en que se utilizó como modelo biológico la lombriz de la tierra asiática *Pheretima postuma* se encontró que la parálisis y la muerte se produjo a los 40 y 60 minutos de exposición respectivamente.^[7]

En el control positivo con levamisol al 10% la muerte se produjo a los 2 minutos de exposición manifestándose una parálisis espástica (Tablas 2 y 3). En todos los casos la parálisis estuvo precedida de una ligera excitación caracterizada por contracciones, movimientos en forma de látigo, estiramientos, encogimientos como tratando de escapar del medio, lo que condujo finalmente a la muerte, resultados que coinciden con la literatura consultada.^[6]

En el control negativo (solución de Prosser y Zimmerman) las lombrices se mantuvieron agrupadas mostrando su motilidad normal durante un tiempo superior a las 48 horas. No se detectaron alteraciones del tegumento u otros signos que indicaran daños fisiológicos y respondían normalmente a los estímulos físicos. Por tanto, se descartan las muertes por causa de otros factores que no fuese la acción de las sustancias de ensayo, resultados que coinciden con los obtenidos por otros investigadores que estudiaron el efecto antihelmíntico de *Portulaca oleracea* L. (verdolaga) utilizando un modelo biológico semejante.^[8-9]

Actividad antihelmíntica *in vitro*

El tiempo en que se produce la parálisis y la muerte de los vermes tras la exposición a la droga varió según la formulación, concentración y el origen de ésta (Tablas 2 y 3).

Al comparar el efecto antihelmíntico de la infusión y decocción al 10% como métodos de extracción de la droga se apreció una efectividad superior de la decocción ($p < 0,05$), lo que demuestra que esta última es más eficaz en la extracción del o los ingredientes farmacéuticos activos responsables de la actividad vermífuga. Se infiere que el componente responsable de dicha actividad se extrae en mayor cantidad al dejarlo ebulir o con el calor, estado en que algún metabolito de la planta se descompone formando un compuesto con acción vermífuga. Puede considerarse también que el metabolito pudiera ser termoestable y extraerse en mayor cantidad a mayor tiempo de contacto con el mensturo a esa alta temperatura.

El análisis comparativo entre los extractos de las tres plantas reveló una acción superior de la decocción 10% en *A. indica* con relación al resto de las plantas ($p < 0,05$), tanto en términos de tiempo promedio de parálisis como de muerte. No obstante, en ningún caso la efectividad fue superior a la del resto de las formulaciones y menos aún a la de los controles positivos. Otros investigadores que estudiaron el potencial antihelmíntico *in vitro* e *in vivo* de extractos de *A. indica* obtuvieron resultados semejantes.^[10]

Se observó un comportamiento completamente inverso a lo expuesto anteriormente, respecto al extracto acuoso 10%, es decir mostró mayor efectividad *M. charantia* seguida de *C. ambrosioides* y por último *A. indica*, con diferencias significativas ($p < 0,05$) tanto en

términos de parálisis como de muerte. Estos resultados se aprecian claramente en el Gráfico.

Los resultados obtenidos con los extractos acuosos (10, 15 y 20%) mostraron una actividad biológica concentración dependiente, aunque, en términos generales, en las tres plantas investigadas, las diferencias entre las concentraciones al 20 y 15%, no fueron significativas. En la comparación cualitativa se observa un mejor comportamiento antihelmíntico con el extracto acuoso 20% de *M. charantia* (Gráfico).

Esta forma de acción concentración dependiente y la superioridad de los preparados comerciales de piperazina y levamisol utilizados como controles positivos fue señalada para otros extractos vegetales con actividad antihelmíntica por otros investigadores.^[7,9,10]

El efecto antihelmíntico del zumo puro de *A. indica* fue mucho menor que el de los preparados comerciales utilizados como controles positivos ($p < 0,05$), sin embargo, con el zumo puro de *C. ambrosioides* y *M. charantia* se obtuvieron resultados superiores, con tiempos promedios de muertes del organismo de ensayo intermedios entre la piperazina al 1% y el levamisol al 10%, en ambos casos con diferencias significativas ($p < 0,05$), por lo que podemos inferir que el zumo de ambas plantas es mucho más efectivo *in vitro* que la piperazina al 1%, pues provocan la muerte de los vermes con 27 y 29 minutos de antelación respectivamente. En ambos casos no se observó la fase de parálisis previa a la muerte. Resultados semejantes fueron señalados para otros extractos vegetales con actividad antihelmíntica.^[7,9-11]

Tabla 2. Actividad antihelmíntica comparada en términos de parálisis según el tiempo de exposición (minutos promedio)

Grupos experimentales	<i>A. indica</i>	<i>C. ambrosioides</i>	<i>M. charantia</i>	ES \bar{x}
1. Infusión al 10%	182 ^{aC}	498 ^{aB}	890 ^{aA}	± 61,48
2. Decocción al 10%	150 ^{bC}	321 ^{bB}	600 ^{bA}	± 66,27
3. Extracto acuoso 10%	154 ^{bA}	116 ^{cB}	48 ^{cC}	± 4,06
4. Extracto acuoso 15%	118 ^{cA}	71 ^{dB}	45 ^{cC}	± 3,06
5. Extracto acuoso 20%	116 ^{cA}	65 ^{dB}	35 ^{cC}	± 2,74
6. Zumo puro	110 ^c	–	–	–
7. Piperazina 1%	13 ^d	13 ^c	13 ^d	
8. Levamisol 10%	–	–	–	
ES \bar{x}	± 5,53	± 5,57	± 63,58	

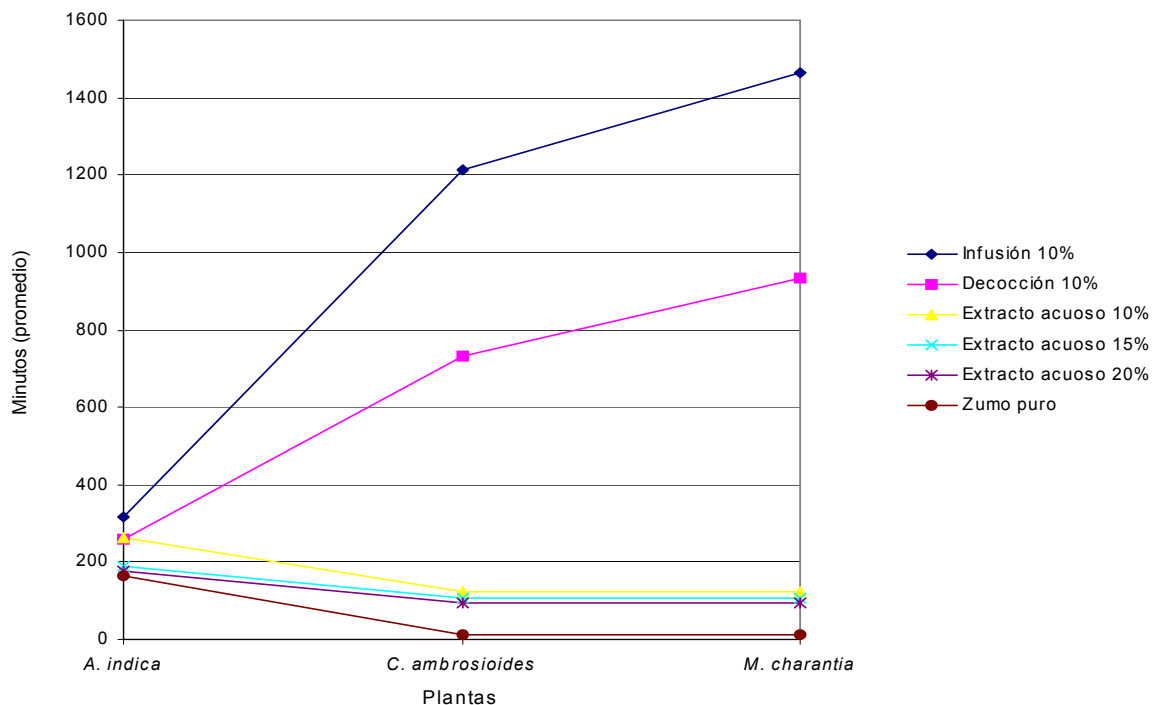
Valores con superíndices en letras en minúscula diferentes en la misma columna difieren estadísticamente para $p < 0,05$.

Valores con superíndices en letras en mayúscula diferentes en la misma fila difieren estadísticamente para $p < 0,05$

Tabla 3. Actividad antihelmíntica comparada en términos de muerte según el tiempo de exposición (minutos promedio)

Grupos experimentales	<i>A. indica</i>	<i>C. ambrosioides</i>	<i>M. charantia</i>	ES \bar{x}
1. Infusión al 10%	317 ^{aC}	1215 ^{aB}	1465 ^{aA}	± 86,82
2. Decocción al 10%	259 ^{bC}	733 ^{bB}	932 ^{bA}	± 75,42
3. Extracto acuoso 10%	265 ^{bA}	125 ^{cB}	122 ^{cB}	± 12,07
4. Extracto acuoso 15%	190 ^{cA}	105 ^{dB}	105 ^{cB}	± 4,22
5. Extracto acuoso 20%	176 ^{cA}	94 ^{dB}	96 ^{cB}	± 4,87
6. Zumo puro	166 ^{cA}	14 ^{eB}	12 ^{dB}	± 2,68
7. Piperazina 1%	41 ^d	41 ^f	41 ^e	
8. Levamisol 10%	2 ^e	2 ^g	2 ^f	
ES \bar{x}	± 15,30	± 6,69	± 80,20	

Actividad antihelmíntica en términos de tiempo de muerte



Independientemente de la mayor o menor actividad antihelmíntica, se conoce que los formulados de las plantas estudiadas poseen dicha acción:

- Las propiedades terapéuticas *A. indica* son numerosas y se conocen desde épocas remotas. Los componentes bioactivos se encuentran en sus hojas, frutos, corteza y semilla, siendo estas últimas las que poseen altas concentraciones de azadirachtina (2 a 4 mg/g) entre más de 100 tetratirperpenoides y diversos no isoprenoides potencialmente útiles por su bioactividad.^[12] Resultados experimentales en varias especies muestran que las semillas y hojas de *A. indica* contienen ingredientes farmacéuticos activos efectivos, particularmente contra endoparásitos.^[13-15]
- La esencia de *C. ambrosioides* está constituida por hidrocarburos terpénicos (cimeno, limoneno, terpineno, etc) y ascaridol en hasta un 70%. Su aplicación más importante es como antihelmíntico, sumamente eficaz contra áscaris y anquilostomas y no tanto contra las tenias y los oxiuros.^[16-18]
- Según la literatura botánica, *M. charantia* tiene uso en la medicina popular contra problemas de la piel y parásitos externos. También se usa para expulsar parásitos estomacales e intestinales. Es un purgante drástico, incluso tóxico, y la raíz tiene propiedades detergentes.^[19]

CONCLUSIONES

En las condiciones del ensayo, cualitativamente todas las formulaciones de *A. indica*, *C. ambrosioides* y *M. charantia* estudiadas mostraron actividad antihelmíntica. Comparativamente, la formulación en zumo fue la más efectiva en todos los casos, con diferencias estadísticas significativas respecto al resto, tanto en términos de parálisis como de muerte del organismo de ensayo. Mostraron mayor efectividad antihelmíntica el zumo de *M. charantia* y de *C. ambrosioides*, sin diferencias significativas y en ambos casos sin manifestarse la fase de parálisis previa a la muerte y con una actividad intermedia entre los controles positivos piperazina 1% y levamisol 10%, con diferencias significativas. Al zumo puro le siguen en efectividad el extracto acuoso 20 y 15% de estas últimas plantas, sin diferencias significativas entre éstas y la concentración del preparado.

RECOMENDACIONES

Por la importancia que reviste el tema de la salud en el sector productivo, recomendamos realizar estudios semejantes utilizando otro helminto como modelo biológico, por ejemplo, *Ascaridia galli*, y continuar desarrollando ensayos con diferentes extractos y concentraciones y posteriormente realizar estudios sobre la actividad antihelmíntica *in vivo*.

BIBLIOGRAFIA

1. Malone JB. The Landscape epidemiology of fasciolosis: geographic determinants of disease risk. En: Immunology, Pathobiology and Control of Fasciolosis. JC. Boray (ed). New Jersey: JC Rahway. 1997; p 61-85.

2. FAO. Resistencia a los antiparasitarios: estado actual con énfasis en América Latina. Roma: División de Salud y Producción Animal, FAO. 2003; 65 pp.
3. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT). El Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Una alternativa agroecológica. C. Habana: Ed INIFAT; 1996.
4. SPSS for Windows. Release 9.0.0 Standard Version. SPSS Inc. 1989-1999.
5. González E, Bravo R, García M, Santos de la Rosa M. Contribución al estudio farmacológico (antihelmíntico) de las semillas de *Cucurbita maxima* Duch. y de su principio activo, la cucurbitina. Anales de la Real Academia de Farmacia. 1974; Números 3-4: 475-486.
6. Flores J. Farmacología Humana. 2^{da} ed. Barcelona: Editorial Masson SA. 1992.
7. Hudkeri VL, Kalyani SA, Harpali DC, Manui KV. In vitro antihelmíntic activity of aqueous extract of fruit rind Granatum. Fitoterapia 1993; 1(64):69-71.
8. Mesa Yaretsky. Evaluación *in vitro* de la actividad antihelmíntica de la *Portulaca oleracea*. Trabajo de Diploma. Facultad Química-Farmacia, Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. 1999.
9. Iyarreta Maite. Estudio preliminar sobre la actividad antihelmíntica de la *Portulaca oleracea*. Tesis en opción al título de Master en Ciencias Farmacéuticas. Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana. Cuba, 1999.
10. López JO, Olazábal E, Avello Eida. Ensayos del potencial antihelmíntico *in vitro* e *in vivo* de los extractos de *Azadirachta indica* A. Juss. Informe Final de Investigación. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. 2000.
11. Gutiérrez Sandra. Evaluación *in vitro* de la actividad antihelmíntica de la infusión de *Cucurbita moschata* Duch. Tesis en opción al título de Master en Ciencias Farmacéuticas. Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana. Cuba, 1997.
12. Martínez Noemí, Estrada J, Góngora F, Martínez Lorenza, Curbelo S. Valoración económica-ambiental del uso de bioplaguicidas de *Azadirachta indica* A. Juss (Nim) en el control de *Hysipyla grandella* Zeller. URL disponible en: <http://www.ilustrados.com/publicaciones/EEuIVyAklyAUEbpAUG.php> [fecha de acceso 10 de agosto de 2006]
13. Pietrosevoli S, Olavez R, Montilla T. Empleo de hojas de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) en control de nemátodos gastrointestinales de bovinos a pastoreo. Rev Fac Agron (LUZ) 1999; 16 (Supl 1):220-225.
14. Salazar E. Endoparasite control with Nim (*Azadirachta indica* A Juss). En: 8th International Conference on Goat. South Africa. 2004. Book of Abstracts p 79.
15. Salazar E, Pariacote FA. Control parasitario en caprinos usando extracto acuoso de semillas de Nim (*Azadirachta indica* A Juss). Arch Latinoam Prod Anim 2004; 12 (Supl. 1):82-85.
16. Pazoli. En: HIPERnatural.com. 2006 URL disponible en: <http://www.hipernatural.com/es/pltpazoli.htm> [fecha de acceso 10 de agosto de 2006]
17. Chenopodium ambrosioides. En: Wikipedia®. URL disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Epazote> [fecha de acceso 10 de agosto de 2006]
18. Torres Ana M, Ricciardi Gabriela AL, Agrelo de Nassiff Ada E, Ricciardi AIA. Aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico macho). URL disponible en: <http://www.unne.edu.ar/cyt/2002/08-Exactas/E-019.pdf#search='Chenopodium%20ambrosioides'> [fecha de acceso 10 de agosto de 2006]

19. Muñoz A. La balsamina (*Momordica charantia*). Fundación Amigos de la Naturaleza (FAN). Santa Cruz, Bolivia. Edición 87/Abril-Diciembre del 2003. URL disponible en: http://www.ambiente-ecologico.com/ediciones/2003/087_02.2003/087_Flora_AlainMunoz.php3 [fecha de acceso 10 de agosto de 2006]

Trabajo recibido el 30/08/2006, nº de referencia 110601_RED VET. Enviado por la Comisión de Villa Clara. Publicado en [Revista Electrónica de Veterinaria REDVET®](#), ISSN 1695-7504 el 01/11/06.

[Veterinaria.org®](#) - [Comunidad Virtual Veterinaria.org®](#) - Veterinaria Organización S.L.®

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica en su totalidad o parcialmente, siempre que se cite la fuente, enlace con Veterinaria.org – <http://www.veterinaria.org/> y [REDVET®](#) <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> y se cumplan los requisitos indicados en [Copyright](#) 1996 -2006