

NOTA TÉCNICA

Primer reporte del uso del ensayo de inhibición del desenvaine larval en ciatostomas

Technical Note Cyathostomes Spawning Inhibition Test

Lester A. Aguilera-Valle y Anay Delgado-Martínez

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba

lester.aguilera@reduc.edu.cu

INTRODUCCIÓN

El desenvaine de L₃ es un proceso esencial en el ciclo de vida porque constituye la transición entre la forma de vida libre y los estadios parasitarios (Hertzberg *et al.*, 2002). Estudios en la cinética del desenvaine han enfatizado que cualquier factor perturbador o compuestos tóxicos podrían reducir el establecimiento del parásito en el hospedero (Dakkak *et al.*, 1981).

Los métodos *in vitro* proveen un medio para el cribado rápido de diferentes extractos de plantas con potencialidad antihelmíntica y para analizar los posibles mecanismos envueltos en las interacciones entre los compuestos activos y los parásitos (Katiki *et al.*, 2011).

El ensayo de inhibición del desenvaine larval (EIDL) ha sido muy empleado para evaluar el efecto antihelmíntico de extractos de diferentes especies de plantas ricas en taninos (Katiki *et al.*, 2011; Macedo *et al.*, 2012; Alonso-Díaz *et al.*, 2008), fundamentalmente contra *Haemonchus contortus* y otros nematodos de ovinos. Este test nunca ha sido empleado en especies de ciatostomas, pero debido a la creciente aparición de resistencia antihelmíntica en estas especies de parásitos (Kaplan, 2004) se hace necesario la búsqueda de alternativas de control como las plantas con propiedades antihelmínticas, por lo cual el objetivo de esta investigación es avalar el uso del EIDL en especies de ciatostomas.

DESARROLLO

Para el desarrollo del ensayo se utilizaron extractos acuosos crudos de las hojas y corteza de *D. cinerea* (marabú), una planta que posee en todas sus partes un alto contenido en taninos (Roig, 1974) y que ha sido utilizada como vermífugo en humanos (Dalziel, 1948).

Las larvas activas fueron colectadas de un coprocultivo usando un tamiz de 25 µm, lavadas dos veces con PBS 1x y concentradas por centrifugación (4 000 rpm durante 2 min) hasta obtener una concentración de 140 larvas/ml. Posteriormente se depositaron 600 µl de la solución de las larvas en tres tubos Falcon de 15 ml y se mezclaron con 400 µl de extracto acuoso crudo de las hojas y la corteza, respectivamente, para los grupos tratamiento y 400 µl de PBS para el control, para un volumen final de 1 ml. El tiempo de incubación fue de 3 h a 27 °C. A continuación las larvas se lavaron tres veces con PBS, centrifugadas (4 000 rpm) y sometidas al proceso de desenvaine artificial mediante el contacto con una solución de hipoclorito de sodio (1 %) diluido 1 en 150 con PBS según Bahuaud *et al.* (2006). El comportamiento del desenvaine larval fue monitoreado cada 10 min de intervalo (0; 10; 20; 30; 40; 50 y 60 min) mediante observación microscópica (40x). Para cada lectura se utilizaron 100 µl y el desenvaine fue detenido con solución de Lugol. El control y cada tratamiento contaron con cuatro réplicas.

Se utilizó un T student pareado para determinar la diferencia de los por cientos de larvas desenvainadas entre el control y los grupos de tratamiento. El programa estadístico empleado fue GraphPad Prism 5.0.0.

El desenvaine del grupo control al minuto 60 fue de 100 %, mientras que ambos extractos inhibieron significativamente el desenvaine con 75,95 % y 87,4 % de inhibición para los extractos de las hojas y la corteza respectivamente (ver tabla).

Estos resultados se corresponden con lo reportado por otros autores (Macedo *et al.*, 2012; Katiki *et al.*, 2011; Alonso-Díaz, Torres-Acosta, Sandoval-Castro y Hoste, 2011; Alonso-Díaz *et al.*, 2008) para *Haemonchus contortus* y otros nematodos de ovino en los cuales las plantas ricas en taninos tienen acción inhibitoria del desenvaine de las larvas infectantes del tercer estadio (L₃).

CONCLUSIONES

Este constituye el primer reporte del uso del EIDL en especies de ciatostomas y avala su uso como test *in vitro* para evaluar los efectos antihelmínticos de extractos de plantas ricas en taninos sobre especies de ciatostomas.

REFERENCIAS

- ALONSO-DÍAZ, M. A.; TORRES-ACOSTA, J. F. J.; SANDOVAL-CASTRO, C. A. y HOSTE, H. (2011). Comparing the Sensitivity of Two *in Vitro* Assays to Evaluate the Anthelmintic Activity of Tropical Tannin Rich Plant Extracts Against *Haemonchus Contortus*, *Veterinary Parasitology*, 181, 360-364.
- ALONSO-DÍAZ, M. A.; TORRES-ACOSTA, J. F. J.; SANDOVAL-CASTRO, C. A.; AGUILAR-CABALLERO, A. J. y HOSTE, H. (2008). *In Vitro* Larval Migration and Kinetics of Exsheathment of *Haemonchus contortus* Larvae Exposed to Four Tropical Tanniniferous Plant Extracts, *Vet. Parasitol.*, 153, 313-319.
- BAHUAUD, D.; MARTÍNEZ-ORTIZ, C.; CHAVEAU, S.; PREVOT, F.; TORRES-ACOSTA, F.; FOURASTE, I. *et al.* (2006). Effects of Four Tanniferous Plant Extracts on the *In Vitro* Exsheathment of Third-Stage Larvae of Parasitic Nematodes, *Parasitology*, 132 (4), 545-554.
- DAKKAK, A.; FIORAMONTI, J. y BUENO, L. (1981). *Haemonchus contortus* Third Stage Larvae in Sheep: Kinetics of Arrival into the Abomasum and Transformation during Rumino-Omasal Transit. *Res. Vet. Sci.*, 31, 384-385.
- HERTZBERG, H.; HUWYLER, U.; KOHLER, L.; REHBEIN, S. y WANNER, M. (2002). Kinetics of Exsheathment of Infective Ovine and Bovine Strongylid Larvae *In Vivo* and *In Vitro*, *Parasitology*, 125, 65-70.
- KAPLAN, R. M. (2004). Drug Resistance in Nematodes of Veterinary Importance: a Status Report, *Trends Parasitol.*, 20, 477-481.
- KATIKI, L. M.; CHAGAS, A. C. S.; BIZZO, H. R., FERREIRA, J. F. S. y AMARANTE, A.F.T. (2011). Anthelmintic Activity of *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon schoenanthus* and *Mentha piperita* Essential Oils Evaluated in Four Different *In Vitro* Tests, *Veterinary Parasitology*, 183, 103-108.
- MACEDO, I.; BEVILAQUA, C.; DE OLIVEIRA, L.; CAMURCA-VASCONCELOS, A.; MORAIS, S. M.; MACHADO, L. *y et al.* (2012). *In vitro* Activity of *Lantana camara*, *Alpinia zerumbet*, *Mentha villosa* and *Tagetes minuta* Decoctions on *Haemonchus contortus* Eggs and Larvae, *Veterinary Parasitology*, 190, 504-509.
- DALZIELD, J. M. (1948). *The Useful Plants of West Tropical Africa*. The Crown Agents for the Colonies. Westminster, Londres.
- ROIG MESA, J. T. (1974). *Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba*. La Habana, Cuba: Editorial Ciencia y Técnica.

Recibido: 22-1-2015

Aceptado: 1-2-2015

Tabla. Efecto de los extractos acuosos crudos de *D. cinerea* en el proceso de desenvaine de L₃ de ciatostomas

Extracto	Concentración (mg/mL)	Por ciento de desenvaine al minuto 60 (media ± D.T.).
<i>D.cinerea</i> (hojas)	4	24,05 ± 1.42 a
<i>D. cinerea</i> (corteza)	6.8	12,6 ± 0.48 a
Control (PBS)	-	100 ± 0

a: P < 0,05