

170
24



Universidad Nacional Autónoma
de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

EVALUACION DEL EFECTO NEMATODICIDA DE LOS EXTRACTOS
HIDROSOLUBLE Y LIPOSOLUBLE DEL AJO (Allium sativum)
EN CARPA (Cyprinus carpio).

T E S I S

Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

presenta

NELLY TERESITA PEÑA HAAZ



Asesores:

M.V.Z. Ma. ESTELA ANA AURO ANGULO
M.V.Z. HECTOR SUMANO LOPEZ



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

	PAGINA
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	5
RESULTADOS.....	10
DISCUSION.....	13
BIBLIOGRAFIA.....	16

RESUMEN

PEÑA HAAZ, NELLY TERESITA. Evaluación del efecto nematodocida de los extractos hidrosoluble y liposoluble del ajo (Allium sativum) en carpa (Cyprinus carpio). (Bajo la dirección de Ma. Estela Ana Auró Angulo y Héctor Sumano López).

Conociéndose el poder nematodocida que el ajo ha demostrado en peces, se realizó una evaluación comparativa del efecto nematodocida en 6 lotes de 10 carpas cada uno, sometidos a los siguientes tratamientos: Lote 1, tratados con extracto hidrosoluble de ajo; lote 2, tratados con extracto liposoluble de ajo; lote 3, sin tratamiento o testigo; lote 4, con una mezcla de los extractos lipo e hidrosoluble; lote 5, tratados con ajo completo molido y lote 6, blanco de hexano (solvente del extracto liposoluble). A pesar de que los extractos liposoluble e hidrosoluble, así como su combinación presentaron un efecto reductor de la cuenta de huevos de parásitos, éste no fue tan notable como el del ajo completo (P 0.05), el cual redujo la cuenta de huevos de nemátodos a cero; hecho que fue confirmado a la necropsia por la ausencia de parásitos adultos. Con base en estos resultados se recomienda llevar a cabo pruebas de campo en piscifactorías utilizando el ajo completo molido a una dosis de 8g/40 l de agua y evaluar su eficacia, facilidad de uso y posible impacto ecológico.

INTRODUCCION

Los países del Tercer Mundo, quienes enfrentan graves - problemas económicos, han tenido la necesidad de buscar fuentes de proteína de origen animal que sean económicas y fáciles de producir. En México se ha recurrido a la acuicultura como una alternativa, ya que existen especies dulceacuícolas de sencilla explotación, adaptables a las condiciones geográficas y que incluso pueden producirse a nivel rural (15).

Sin embargo, la explotación intensiva de peces enfrenta ciertos problemas debidos al hacinamiento; la alta densidad de la población en condiciones artificiales, al igual que algunos factores adversos como la manipulación y deficiencia de oxígeno pueden debilitar a los peces propiciando así las infecciones parasitarias especialmente por nemátodos. Como resultado de estas parasitosis el crecimiento de los peces es -- más lento, la capacidad natatoria disminuye y hay alteraciones en el comportamiento de los peces lo que los hace presa fácil de los predadores (14). También se reportan casos de - pérdidas económicas por la baja de captura en forma libre de peces parasitados (16); los nemátodos pueden producir atrofia y degeneración en las gónadas, neoplasias y por probable inversión del potencial eléctrico, propiciar movimientos antiperistálticos (16). Algunas formas larvarias se introducen en los músculos produciendo tetanización, con el consecuente - demérito de la calidad del producto, ya que ocasional el mal aspecto de su carne (3, 5, 14). Aún más, existen nemátodos -- que son causa de zoonosis, como es el Anisakis spp, que pene-

tra en el tracto digestivo de los consumidores provocando -- abscesos intestinales eosinofílicos con dolores abdominales agudos difíciles de diagnosticar y que generalmente requie-- ren cirugía (1, 8, 18).

Por otro lado, la medicación en piscicultura es muy limitada, ya que los productos que existen en el mercado no - siempre han dado resultados satisfactorios. Su número es reducido; tenemos por ejemplo el D-n-butíl tinóxico, el tetrafinol y el tartrato de amonio y potasio que aunque se usan en peces para el tratamiento de las helmintiasis, no se les encuentra fácilmente en el mercado nacional (9, 14). Por añadidura, entre los piscicultores hay una marcada tendencia hacia la no utilización de fármacos, debido a que la dosificación es difícil y en algunos casos quedan residuos en el producto al cual generalmente se le considera en nuestro medio como "libre de residuos químicos".

El ajo ha sido empleado desde hace tiempo como desparasitante en humanos (6, 7). Recientemente se observó que el ajo molido era capaz de eliminar en un 100% la carga parasitaria de tilapias (Tilapia mossambica) infectadas con nemátodos, de manera mucho más eficiente que el tartrato de amonio y potasio (11).

Al parecer se desconocen el o los principios activos - del ajo que actúan como desparasitantes. Su clasificación -- botánica es la siguiente:

División: Fanerógamas

Subdivisión: Angiospermas

Clase: Monocotiledoneas

Orden: Liliifloras

Familia: Liliáceas

Género: allium

Especie: sativum

En las primeras investigaciones que se llevaron a cabo para buscar el principio activo determinante de ciertas propiedades bactericidas, se propuso que los aceites volátiles que dan lugar al marcado olor de las diferentes variedades de allium (que no se manifiesta estando intacto) se forman por escisión enzimática de principios originales de mayor peso molecular.

El aceite de ajo está formado principalmente por disulfuro de dialilo, junto con menores cantidades de trisulfuro y polisulfuro de dialilo y disulfuro de dietilo (2).

Posteriormente se observó que al triturar el ajo, se producía la escisión enzimática del disulfuro de dialilo, lo que da como resultado una substancia a la que se llamó Alicina (2).

Otros estudios llevaron al descubrimiento de otra substancia soluble en agua, la alicina, que posee gran acción bactericida contra Gram positivos y negativos, y se ha llegado a calcular que 1 mg de alicina corresponde a 15 unidades Oxford de penicilina (2).

Como consecuencia lógica de dichos hallazgos se consideró pertinente llevar a cabo pruebas con dos fracciones del ajo: la lipídica y la hidrosoluble. Esto permitirá iden-

tificar a largo plazo el o los principios activos y la fracción en que se encuentran a manera de paso inicial con la generación de tecnología farmacológica propia, emanada de -- nuestra medicina tradicional.

HIPOTESIS

En la fracción liposoluble, hidrosoluble o en la mezcla de ambas fracciones existe la misma capacidad nematodici da que en el extracto total fresco del ajo (Allium sativum en la carpa (Cyprinus carpio) parasitada con nemátodos.

OBJETIVO

Encontrar si la capacidad nematodici da del extracto to tal fresco del ajo está contenida en la fracción liposolu ble, en la hidrosoluble o en la mezcla de ambas fracciones, usando como modelo a la carpa (Cyprinus carpio) parasitada con nemátodos.

MATERIAL Y METODOS

Se usaron 6 acuarios de 40 l de capacidad con agua -- declorada por aereación (mínimo 48 horas), provistas de una bomba de aire Hagen de 115 volts, 60 Hz, 4 watts*, con un - bombeo aproximado de 2500 ml de aire por minuto, con dos - bocas de alimentación. En cada acuario se colocaron 10 car pas de 25 g de peso (biomasa de 250 g) aproximadamente y se registraron como: lote 1, tratados con extracto hidrosolu ble de ajo; lote 2, tratados con extracto liposoluble de ajo; lote 3, sin tratamiento o testigo; lote 4, con una mezcla de los extractos lipo e hidrosoluble; lote 5, tratados con ajo completo molido y lote 6, blanco de hexano; se hicieron dos

* Rolf C. Hagen (U.S.A.) Corp.

repeticiones.

La obtención de los extractos hidrosoluble y liposoluble de ajo se llevó a cabo de la siguiente manera:

250 g de ajo se maceraron, colocándolos en un vaso de precipitado para agregarles 250 ml de agua destilada, agitando esta primera solución durante una hora a 50°C; se añadieron 250 ml de hexano, agitando nuevamente durante una hora a 50°C (13). Posteriormente, se filtró y se separaron las dos fases en un embudo de separación. Más adelante se colocaron y agitaron a 50°C hasta que se evaporaron los solventes.

La dosis de los tres extractos se determinó por medio de una regla de tres simple considerando:

a) Dosis total en gramos de ajo administrada en el ensayo piloto (11).

b) Cantidad de extracto hidro y liposoluble obtenidos en 50 g de ajo entero.

De esto se obtuvo que:

10.50 g extracto hidrosoluble

50 g de ajo completo

3.45 g extracto liposoluble

$50 - 10.59 : : 8 - x = 1.7$ g extracto hidrosoluble

$50 - 3.45 : : 8 - x = .6$ g extracto liposoluble

ya que la dosis de ajo completo molido es de 8 g, los cuales se mezclaron con 5 g de alimento para ser administrados a los peces.

El lote blanco de hexano recibió 5 g de alimento al --

cual se le agregaron 2 ml de hexano dejándolo evaporar hasta quedar completamente seco.

Se tomó una muestra aleatoria de la población, la cual se le practicó la necropsia, para extraer nemátodos adultos.

Los muestreos se llevaron a cabo por la mañana, ya que es cuando se encuentra la mayor cantidad de huevos de parásitos, por sus hábitos de ovoposición (12, 14).

Los muestreos se realizaron de la siguiente manera:

1. Ambientación de los peces 24 horas en agua declorada por aereación, a temperatura de 20°C.
2. Cosecha de heces del fondo de la pecera con ayuda de una pipeta.
3. Obtención de 0.1 g de heces al cual se agregó 1 ml de agua destilada mezclando perfectamente en un frasco pequeño con 10 perlititas de vidrio.
4. Paso de esta solución por un filtro para eliminar residuos de heces que impidieran la lectura.
5. Toma de 0.1 ml de la mezcla con una pipeta Pasteur colocándola en un portaobjetos y cubriéndola con un cubreobjetos de 24 x 50 mm. De aquí se hizo el conteo de huevos de nemátodos al microscopio por lectura en greca, de acuerdo con la técnica descrita por Stoll (4).
6. El número de huevos observado se multiplicó por 100 y esto nos dió el número de huevos por g de heces.

7. Se cambió diariamente el agua de los acuarios para evitar errores en el muestreo.

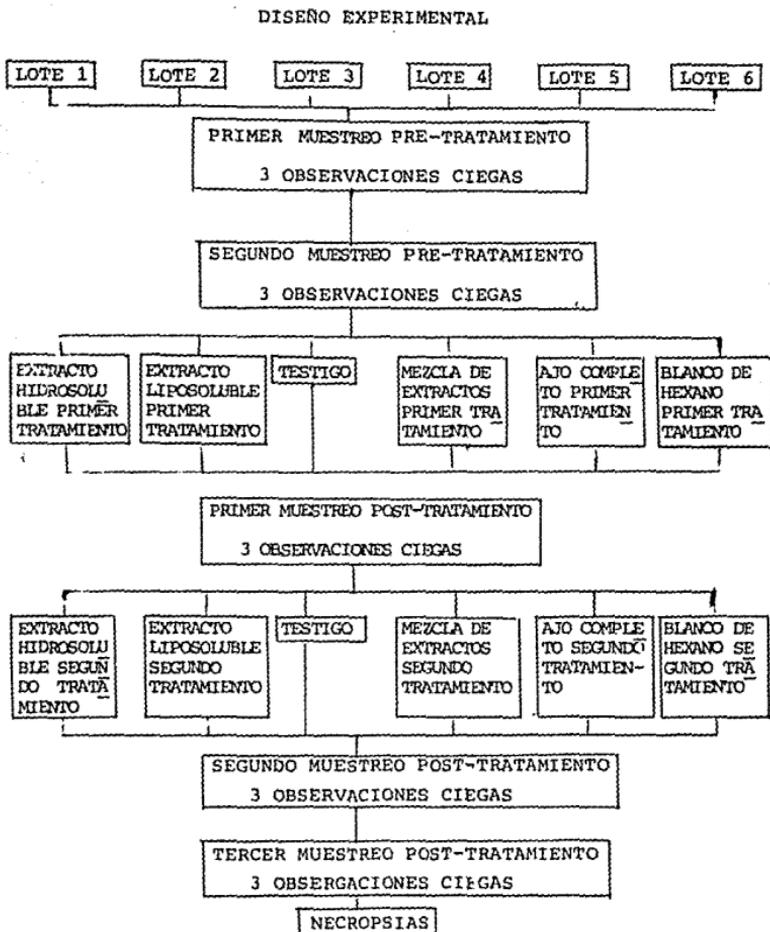


FIG.16. Secuencia de acciones realizadas diariamente para la evaluación del extracto hidrosoluble de ajo, extracto liposoluble de ajo, grupo testigo, mezcla de extractos, extracto fresco completo de ajo y blanco de hexano. Este experimento se realizó 3 veces.

ANALISIS ESTADISTICO:

Se aplicaron las pruebas de χ^2 y U de Mann-Whitney, utilizando una escala ordinal porque el conteo basal de los huevos en los 5 grupos no es el mismo y por ello no se puede trabajar con cantidades absolutas, sino que dicho conteo se convirtió a cantidades relativas, obteniendo así el porcentaje de huevos hallados en el muestreo (10, 19), elaborando el trabajo estadístico de acuerdo con el siguiente diagrama de flujo:

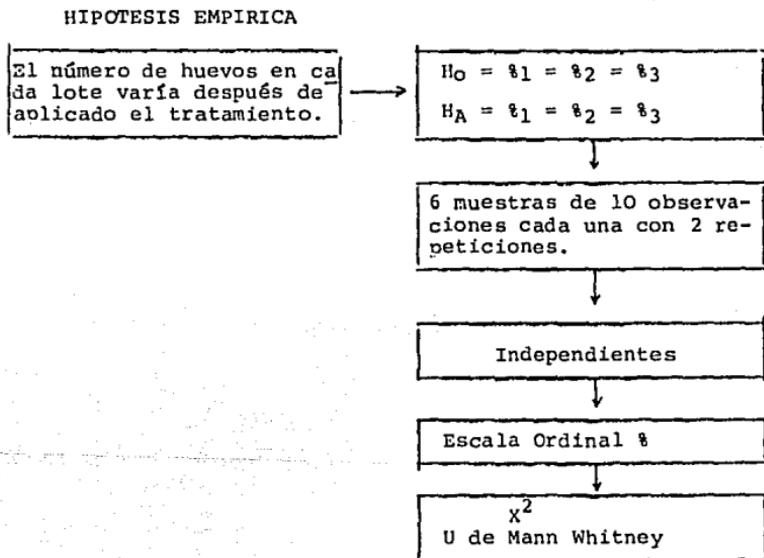


FIG. 1 DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LA EFICACIA COMPARATIVA NEMATODICIDA DEL EXTRACTO HIDROSOLUBLE, DEL LIPOSOLUBLE, DE LA MEZCLA DE AMBOS, DEL EXTRACTO FRESCO COMPLETO DE AJÓ Y DEL GRUPO TESTIGO.

RESULTADOS

Se llevaron a cabo 5 exámenes copro parásitoscópicos por lote (ver métodos) y las medias de las observaciones se pueden observar en el cuadro 1. Aquí destaca el grupo -- tratado con ajo completo molido ya que fue el que mostró -- una mejor respuesta, traducida en reducción de la cuenta de huevos de nemátodos a cero. Los resultados se compararon -- por medio de la prueba de X^2 , contrastando todos los grupos entre sí y con el grupo control, obteniendo de esto que el tratamiento con ajo resultó ser altamente significativo -- utilizando los valores relativos porcentuales ($P < .001$).

Asimismo, al confrontar los grupos por parejas se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$ $P < 0.001$), como se muestra en el cuadro (2). Sin embargo, dado que la prueba de X^2 es muy sensible a valores individuales independientemente de los valores promedio se realizó la prueba de Mann Withney, con la que se detectó que los contrastes entre extracto hidrosoluble contra mezcla de extractos; extracto liposoluble contra mezcla de extractos y extracto liposoluble contra extracto hidrosoluble, no mostraron diferencias estadísticamente significativas a nivel del 95% de confiabilidad (ver cuadro 2).

Durante las necropsias realizadas en 6 peces tratados con ajo molido no se detectaron parásitos adultos en el tracto gastrointestinal. En todos los demás grupos (tratados con extracto liposoluble, hidrosoluble, mezcla y hexano) se encontraron cargas parasitarias variables pero siempre existió una fácil detección de los mismos.

	HIDROSOLUBLE		LIPOSOLUBLE		CONTROL		HIDRO + LIPO		AJO		HEXANO	
	\bar{X}	%	\bar{X}	%	\bar{X}	%	\bar{X}	%	\bar{X}	%	X	%
PROMEDIO MUESTROS PRE-TRATAMIENTO	25.5	100	12.5	100	6	100	316	100	13.5	100	611.5	100
PRIMER MUESTRO POST-TRATAMIENTO	35	137.25	11	88	11	183.3	534	168.98	5	37.03	400	65.41
PRIMER MUESTRO SEGUNDO TRATAMIENTO	20	78.4	19	152	10	166.66	145	45.88	2	14.8	520	85
SEGUNDO TRATAMIENTO	30	117.64	8	64	26	433.3	83	26.26	0	0	480	78.5

\bar{X} = Promedio de 3 observaciones ciegas del número de huevecillos (valor absoluto)

% = Valor relativo del número de hevecillos por cien.

CUADRO 1. VALORES ABSOLUTOS (\bar{X}) Y RELATIVOS (%) DE EL CONTEO DE HUEVECILLOS EN LOS DIFERENTES GRUPOS TRATADOS.

	χ^2	U DE MANN WHITNEY
Control vs. ajo	($p < 0.005$)	($p < 0.005$)
Control vs. hidrosoluble	($p < 0.001$)	($p < 0.001$)
Control vs. mezcla	($p < 0.001$)	($p < 0.001$)
Control vs. liposoluble	($p < 0.01$)	($p < 0.01$)
Control vs. hexano	($p < 0.05$)	($p > 0.05$)
Hidrosoluble vs. mezcla	($p < 0.05$)	($p > 0.05$)
Hidrosoluble vs. hexano	($p < 0.05$)	
Hidrosoluble vs. liposoluble	($p < 0.05$)	($p > 0.05$)
Liposoluble vs. mezcla	($p < 0.05$)	($p > 0.05$)
Liposoluble vs. hexano	($p < 0.05$)	($p > 0.05$)
Mezcla vs. hexano	($p < 0.05$)	($p > 0.05$)
Mezcla vs. ajo	($p < 0.01$)	
Ajo vs. hidrosoluble	($p < 0.01$)	($p < 0.01$)
Ajo vs. liposoluble	($p < 0.01$)	($p < 0.01$)
Ajo vs. mezcla	($p < 0.01$)	($p < 0.01$)
Ajo vs. hexano	($p < 0.05$)	($p < 0.001$)

CUADRO 2. RELACION DE LA SIGNIFICACION ESTADISTICA CON LA PRUEBA DE χ^2
 CONTRASTANDO POR PARES Y LA PRUEBA U DE MANN WHITNEY.

DISCUSION

De acuerdo con los resultados obtenidos se confirman los hallazgos hechos por Mojica (11) donde se demostró el efecto nematocida del ajo completo-molido en pruebas con tilapias (Tilapia mossambica). A pesar de que los extractos liposoluble e hidrosoluble, así como su combinación presentaron un efecto reductor de la cuenta de huevos, al contraste con el grupo control (P 0.05), éste no fue tan notable como aquel del ajo completo (P 0.001). Cabe hacer notar que el tratamiento físico del acuario (cambio diario de agua) no influyó en la cuenta de huevos de nemátodos si se considera el grupo control, que fue manejado también con cambios de agua diarios, el número de huevos no sólo no disminuyó sino que aumentó. Esta observación por sí misma representa un hallazgo útil ya que valida la metodología utilizada y pudiera considerarse como precedente para futuros ensayos del laboratorio ahorrando esfuerzo, costos y tiempo para pruebas piloto en el tratamiento de enfermedades de los peces. Más aún, por los resultados de la necropsia del grupo control se puede inferir que la técnica de Stoll (modificada) es un buen instrumento de evaluación, ya que una cuenta de cero coincide con ausencia de parásitos adultos.

La necropsia del grupo control y de una muestra aleatoria de los grupos antes del tratamiento mostraron la presencia de parásitos adultos, con lo que también se demuestra que el efecto del ajo es desparasitante y no solamente disminuye la ovoposición de los nemátodos.

Con esto se rechaza la hipótesis propuesta, ya que en este bioensayo no existió la misma capacidad nematocida -- del ajo completo con respecto a la de sus extractos. Esto -- puede deberse a múltiples factores, incluyendo la forma de extracción, donde el calor, el tiempo de extracción, etc. fueron determinados empíricamente.

Si bien las tendencias internacionales de la indus-- tria farmacéutica proponen la búsqueda de los principios ac-- tivos para poder elaborar fármacos químicamente puros y es-- tandarizar sus efectos; en los países del tercer mundo se -- carece de tecnología propia que permita realizar esto de -- una manera económica y que pudiera beneficiar a la pobla-- ción de manera inmediata. Los medicamentos generalmente son producidos por empresas transnacionales y dados los siste-- mas de mercadeo, el precio se eleva haciéndose poco accesi-- bles para los piscicultores en este caso.

A nivel mundial y sobre todo en Europa hay una marca-- da tendencia al retorno hacia la medicina tradicional como alternativa (17) México, además de tener una gran tradición herbolaria que data de la época prehispánica, es poseedor -- de una gran variedad de plantas medicinales susceptibles de ser aprovechadas. En otros países que no han adoptado mode-- los de desarrollo en el área médica, como China, la princi-- pal rama de la medicina es la herbolaria (17) y no se le -- considera un recurso escaso de fundamentos.

Es por todo esto que de acuerdo con los resultados - se propone la utilización del ajo completo-molido a nivel - de las explotaciones rústicas de peces, a una dosis de 8 g por 40 l de agua, ya que aparentemente es inocuo a esta dosis y no produce efectos secundarios. Aunque se pudiera inferir que no contamina el agua de la misma forma que las -- sustancias puras, es necesario llevar a cabo pruebas adicionales para evaluar el impacto ecológico de este procedimiento, a fin de determinar la manera óptima de la utilización del ajo como antiparasitario en peces. Se considera es to como paso consecuente a este ensayo en virtud de que el procedimiento es económico y sencillo; siendo el único inconveniente el olor penetrante que puede ser molesto para el operador.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ACHA, P.N. y SZYPRES, B.: Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. O.P.S., Washington, D.C., 1977.
- 2.- ALFONSO, M.E.: Contribución al estudio de la calidad de algunas variedades de Ajo Mexicano. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1957.
- 3.- AMLACHER J.E.: Textbook of Fish Diseases, T.F.H. Publications, U.S.A., 1970
- 4.- BODIE, G.P.: Métodos de Diagnóstico en Medicina Veterinaria. 4 ed., Labor, México, D.F., 1965.
- 5.- DAVIS, H.S.: Culture and Diseases of Game Fishes, 7th ed., University of California Press, Los Angeles, Ca., 1973.
- 6.- DEXTREIT, R. y ABEHSERA, M.: Nuevo Tratado de Medicina Natural. E.D.A.F., Madrid, 1983.
- 7.- FONT, P.: Plantas Medicinales. El Dioscórides Renovado. 9a ed., Labor, Barcelona, 1985.
- 8.- HIGASHI, G.I.: Foodborne parasites transmitted to man from fish and other aquatic foods. Food Technology, 3: 70-72 (1985).
- 9.- MAWDESLEY, T.L.: Diseases of Fish. Academic Press, London, 1972.
- 10.- MENDENHALL, W.: Introducción a la Probabilidad a la Estadística. 5a ed., Wadsworth International Iberoamérica, E.E.U.U., 1982.

- 11.- MOJICA, M.A.: Evaluación comparativa del efecto nematocida del Ajo (Allium sativum) y del Tartrato de Amonio y potasio en Tilapia (Tilapia Mossambica). Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1987.
- 12.- MORAVEC, F.: Observations on the bionomy of the nematode Pseudocapillaria brevispicula. Folia Parasitológica (PRAHA), 30: 229 - 241 (1983).
- 13.- MORTON, I.D. and MACLEOD, A.J.: Food Flavour. Elsevier Scientific Publishing Company, London, 1982.
- 14.- ROBERTS, R.J.: Patología de los Peces. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, 1981.
- 15.- RUBIN, R.: La Piscifactoría. 6a ed. C.E.C.S.A., México, 1984.
- 16.- SALGADO, G. y Osorio D.: Helminfos de algunos peces del lago de Pátzcuaro. Ciencia y Desarrollo, 74: 41 - 57 (1987).
- 17.- SIMONS, P.: Garlic, The Healing Herb. Richard Clay Limited, Bungay, Suffolk, 1986.
- 18.- SINDERMANN, C.J.: Principal Diseases of Marine Fish and Shell fish. Academic Press. London, 1970.
- 19.- STEEL, R.G.O. y TORRIE J.H.: Bioestadística: Principios y procedimientos. 2a ed. Mc Graw-Hill, México, 1985.