



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN**

**Y DE LA SALUD ANIMAL**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIPROTOZOARIO DE ESPECIES  
VEGETALES SELECTAS DE LA HERBOLARIA MEXICANA E IMPACTO EN  
LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS DE CONEJOS NUEVA ZELANDA  
BLANCO**

**T E S I S**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**Marisa del Carmen Vázquez García**

**TUTOR: Dr. Benjamín Fuente Martínez**

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

**COMITÉ TUTORAL: Dr. Emiliano Tesoro Cruz**

Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal

**Dr. Fernando Calzada Bermejo**

Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal

MÉXICO, D. F.,

ENERO 2015



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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 esta 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.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi asesor y comité tutorial, los doctores Benjamín Fuente, Emiliano Tesoro y Fernando Calzada por brindarme su ayuda, tiempo, conocimientos y amistad.

Al doctor Ernesto Ávila, a la doctora Hilda Jandete y personal administrativo del CEIEPAv por su respaldo y confianza para la realización del proyecto.

A la doctora Lilian Yépez por su amable colaboración con la donación del inóculo.

A la M. en C. Abigail Aguilar por la identificación de especies vegetales

A la doctora Adriana Correa por su confianza y apoyo.

A Elodia García, Janett de la Cruz y Diego Torres por su ayuda en las fases críticas del experimento.

A Claudia Rangel, Benjamín Hernández y Dionisio González por abrirme las puertas en sus conejares para realizar muestreos y mejorar técnicas.

A Leos y Nacho por darme el impulso que hacía falta para culminar lo iniciado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero proporcionado a través de la beca mensual.

## I. RESUMEN

Las enfermedades gastrointestinales representan una de las principales causas de enfermedad a nivel mundial, están causadas principalmente por protozoarios, tal como el agente causante de la giardiasis, zoonosis de la cual existe poca información descrita en el conejo, especie productiva que además es un animal de compañía de popularidad creciente. Los efectos adversos de algunos tratamientos anti-giardiasis han impulsado la búsqueda de alternativas a partir de extractos herbales; por ello, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de los extractos etanólicos de *Castilleja tenuiflora*, *Geranium mexicanum*, *Justicia spicigera* y *Lepidium virginicum* sobre la actividad anti-giardia y características productivas en conejos. Cuarenta y dos conejos fueron infectados experimentalmente por vía oral con  $3 \times 10^5$  trofozoitos de *Giardia lamblia*. Mediante un diseño completamente al azar con un arreglo factorial  $7 \times 7$ , se formaron siete grupos; dos grupos testigos (positivo y negativo), uno tratado con metronidazol y cuatro grupos que incluyeron los 4 extractos etanólicos. Los tratamientos y las mediciones se realizaron diariamente, se empleó la técnica de Faust y se realizaron conteos de quistes y trofozoitos de *Giardia duodenalis*. Se empleó la técnica de componentes principales para la reducción de variables y para la comparación de las medias se utilizó la prueba de Dunnett con una significancia de  $p < 0.05$ . A los siete días postinfección no hubo diferencias estadísticas en las características productivas. A los treinta días de tratamiento el peso inicial, al igual que el peso final no mostraron diferencias entre tratamientos, mientras que la ganancia diaria de peso y el consumo promedio diario de alimento fueron iguales para el testigo positivo y el tratamiento con metronidazol. El rendimiento en canal fue el mismo para todos los tratamientos ( $p > 0.05$ ). De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que los extractos vegetales empleados poseen un efecto anti-giardia en conejos, sin que tenga un efecto sobre las características productivas.

**Palabras clave:** *Giardia duodenalis*; *Castilleja tenuiflora*; *Geranium mexicanum*; *Justicia spicigera*; *Lepidium virginicum*; conejo.

## II. ABSTRACT

Gastrointestinal diseases are a major cause of disease worldwide, they are mainly caused by protozoa, such as the causative agent of giardiasis, zoonoses with little information described in the rabbit, productive specie and pet with popularity. The side effects of some treatments anti giardiasis have prompted the search for alternatives from herbal extracts; therefore, the aim of this study was to determine the effect anti giardia of ethanol extracts of *Castilleja tenuiflora*, *Geranium mexicanum*, *Justicia spicigera* and *Lepidium virginicum* on productive performance in rabbits. Forty two rabbits were experimentally infected orally with  $3 \times 10^5$  trophozoites of *Giardia lamblia*. Using a completely randomized design with a factorial arrangement  $7 \times 7$ , seven groups were formed; two control groups (positive and negative), one treated with metronidazole and four groups that included the 4 ethanolic extracts. Treatments and measurements were performed daily, the Faust technique was used and counts of cysts and trophozoites of *Giardia duodenalis* were performed. The principal components to reduce variables and for comparison of means was used Dunett test was used with a significance of  $p < 0.05$ . Seven days after infection, there were no statistical differences in the productive characteristics. Within thirty days of treatment the initial weight as the final weight did not differ between treatments, while the average daily gain and average daily food consumption were similar to the positive control and treatment with metronidazole. Carcass yield was the same for all treatments ( $p > 0.05$ ). According to the results it can be concluded that the plant extracts possess anti giardia effect in rabbits, without having an effect on the production performance.

Keywords: *Giardia duodenalis*; *Castilleja tenuiflora*; *Geranium mexicanum*; *Justicia spicigera*; *Lepidium virginicum*; conejo and rabbit.

### III.ÍNDICE

	<b>Página</b>
I. Resumen .....	II
II. Abstract .....	III
III. Índice.....	IV
IV. Lista de cuadros .....	VI
V. Lista de figuras .....	VII
VI. Lista de abreviaturas .....	VIII
1.0 Introducción.....	1
1.1 Antecedentes.....	2
1.1.1 Giardiasis .....	2
1.1.2 <i>Giardia duodenalis</i> .....	2
1.1.2.1 Morfología .....	4
1.1.2.2 Transmisión.....	4
1.1.2.3 Epidemiología .....	5
1.1.2.4 Patogenia.....	6
1.1.2.5 Manifestaciones clínicas .....	7
1.1.2.6 Tratamiento .....	8
1.1.3 Tratamientos alternos .....	10

1.1.4 <i>Castilleja tenuiflora</i> .....	10
1.1.5 <i>Geranium mexicanum</i> .....	12
1.1.6 <i>Justicia spicigera</i> .....	14
1.1.7 <i>Lepidium virginicum</i> .....	16
2.0 Justificación.....	19
3.0 Hipótesis.....	20
4.0 Objetivos.....	21
4.1 Objetivo general.....	21
4.2 Objetivos particulares.....	21
5.0 Material y métodos.....	22
5.1 Obtención de extractos vegetales.....	22
5.2 Determinación del efecto antiprotozoario de los extractos vegetales contra <i>Giardia duodenalis</i> .....	23
5.3 Medición del impacto de los extractos vegetales sobre las características productivas en conejos.....	27
5.4 Diseño experimental.....	28
6.0 Resultados.....	29
7.0 Discusión.....	33
8.0 Conclusiones.....	36
9.0 Referencias.....	37

#### IV. LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Especies de <i>Giardia</i> , genotipo y hospederos.....	3
Cuadro 2.	Nombres científicos, familias, nombres comunes, partes usadas, uso medicinal y algunos compuestos aislados las especies vegetales selectas de la herbolaria mexicana empleadas en este trabajo. ....	18
Cuadro 3.	Composición de la dieta experimental empleada.....	24
Cuadro 4.	Resultados promedio de parámetros productivos de conejos infectados con $3 \times 10^5$ trofozoitos de <i>Giardia duodenalis</i> en los primeros siete días postinfección. ....	30
Cuadro 5.	Resultados promedio de 30 días de tratamiento con extractos vegetales en conejos infectados con $3 \times 10^5$ trofozoitos de <i>Giardia duodenalis</i> siete días postinfección.....	30
Cuadro 6.	Resultados promedio de de las características productivas de conejos infectados con $3 \times 10^5$ trofozoitos de <i>Giardia duodenalis</i> .....	31
Cuadro 7.	Resultados promedio del rendimiento en canal de conejos infectados con $3 \times 10^5$ trofozoitos de <i>Giardia duodenalis</i> .....	32

## V. LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Trofozoito (A) y quiste (B) de <i>Giardia duodenalis</i> .....	4
Figura 2. Número de casos de Giardiasis reportados de 1988 a 2013 .....	5
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Giardia duodenalis</i> .....	7
Figura 4. Algunos fármacos utilizados en el tratamiento de la giardiasis.....	9
Figura 5. Ejemplar de <i>Castilleja tenuiflora</i> .....	11
Figura 6. Compuestos aislados de partes aéreas de <i>Castilleja tenuiflora</i> .....	11
Figura 7. Compuestos aislados de las raíces de <i>Castilleja tenuiflora</i> .....	12
Figura 8. Ejemplar de <i>Geranium mexicanum</i> .....	13
Figura 9. Compuestos aislados de <i>Geranium mexicanum</i> .....	14
Figura 10. Ejemplar de <i>Justicia spicigera</i> .....	15
Figura 11. Compuesto aislado de <i>Justicia spicigera</i> .....	16
Figura 12. Ejemplar de <i>Lepidium virginicum</i> .....	17
Figura 13. Compuesto aislado de <i>Lepidium virginicum</i> .....	17
Figura 14. Proceso de elaboración de extractos etanólicos. ....	23

## VI. LISTA DE ABREVIATURAS

ASESCU	Asociación española de cunicultura
AVMA	American Veterinary Medical Association
BDMTM	Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana
CEIEPAv	Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola
CICUAE	Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación de la FMVZ de la UNAM
CMN	Centro Médico Nacional
FMVZ	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
IPN	Instituto Politécnico Nacional
NRC	National Research Council
NZB	Nueva Zelanda Blanco
PV	Peso vivo
SIIT	Sistema Integrado de Información Taxonómica, América del Norte
SSA	Secretaría de salud
UMAE	Unidad Médica de Alta Especialidad
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
WHO	World Health Organization

## 1.0 INTRODUCCIÓN

Las enfermedades gastrointestinales representan una de las principales afecciones en humanos a nivel mundial, siendo una de sus manifestaciones la diarrea, en países en desarrollo llega a ocasionar la muerte cuando se presentan complicaciones. Aunque la etiología es diversa, uno de los protozoarios comúnmente implicados es *Giardia duodenalis* (WHO, 2012).

Este padecimiento puede afectar a diversas especies domésticas, incluso se ha reportado en el conejo (Porter *et al.*, 1990; Lebbad *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2012). Al considerarse una zoonosis, la presencia de mascotas parasitadas constituye un riesgo potencial para la salud humana (Porter *et al.*, 1990), especialmente tratándose de especies como los conejos y roedores que se han vuelto animales de compañía muy populares (AVMA, 2007; Hill y Brown, 2011).

A partir de la última parte del siglo XX se ha incrementado el interés por el empleo de terapias alternativas y complementarias, que incluyen el uso de plantas medicinales (Taddei- Bringas *et al.*, 1999; WHO, 2002; Raskin *et al.*, 2002; Herrera *et al.*, 2009) y en este sentido, existen diversas investigaciones que buscan encontrar alternativas terapéuticas a la medicación farmacológica que se administra en casos de diarrea ocasionada por protozoarios (Monis y Thompson, 2003; Calzada *et al.*, 2005; Amaral *et al.*, 2006; Calzada *et al.*, 2006; Velázquez, 2006; Barbosa *et al.*, 2007).

## **1.1 Antecedentes**

### **1.1.1 Giardiasis**

Esta enfermedad es causada por un protozoo flagelado de la familia Hexamitidae y género *Giardia*, de la cual existen diversas especies (*agilis*, *ardeae*, *duodenalis*, *microti*, *muris* y *psittaci*), siendo la más común *duodenalis*, también conocida por sus sinónimos *Giardia intestinalis* o *Giardia lamblia* (Mahbubani *et al.*, 1992; Olson *et al.* 2004; Monis *et al.*, 2009). En el cuadro 1 se muestran algunas especies animales de las que se ha aislado, tales como humanos, perros, ratas, tífes, gatos, ovinos, bovinos, cerdos, alpacas, cobayo, ratón ciervo, jerbos, castores, hámster, mapaches, osos negros y conejos, entre otros (Monis y Thompson, 2003; Thompson, 2004; Cacciò y Ryan, 2008; Lebbad *et al.*, 2010).

El primer reporte de la enfermedad se adjudica a Anton van Leeuwenhoek, quien describió el organismo después de analizar sus propias heces diarreicas en 1681 (Campos y Vázquez, 1999).

### **1.1.2 *Giardia duodenalis***

Es un organismo eucariota (Plutzer *et al.*, 2010) con 8 grupos genéticos; de la A a la H, identificados mediante estudios moleculares. Algunos de los hospederos que han sido reportados, se muestran clasificados por grupo genético en el cuadro 1 (Monis y Thompson, 2003; Thompson, 2004; Thompson y Monis, 2004; Cacciò y Ryan, 2008; Lebbad *et al.*, 2010).

CUADRO 1. Especies de *Giardia*, genotipo y hospederos.

Especie parasitaria	Grupo genético	Ejemplos de animales afectados
<i>Giardia duodenalis</i>	A	Perro, gato, humano, cobayo, oveja, hurón, gamo, alce, reno, alpaca, caballo, bovino, cerdo, zorro
	B	Humano, conejo, chinchilla, cobayo, perro, caballo, rata, mono, castor, ciervo, zorro, tití, siamang, lori perezoso
	C	Perro
	D	Perro
	E	Bovino, borrego, cerdos, gato, gamo, yak
	F	Gato
	G	Rata doméstica
	H	Organismos acuáticos
<i>Giardia muris</i>		Ratón, rata, hámster
<i>Giardia microti</i>		Ratón
<i>Giardia ardeae</i>		Garza
<i>Giardia psitacci</i>		Aves
<i>Giardia agilis</i>		Anfibios

### 1.1.2.1 Morfología

Estos microorganismos pueden encontrarse en alguno de sus dos estadios de vida, quistes o trofozoitos (Figura 1). Los quistes poseen una forma oval y su longitud aproximada es de 9-13  $\mu\text{m}$  x 7-9  $\mu\text{m}$  (Payne y Artzer, 2009). Los trofozoitos son organismos con ocho flagelos, tienen forma de pera y miden 12-17  $\mu\text{m}$  x 7-10  $\mu\text{m}$ , poseen dos núcleos prominentes que se encuentran en el centro de la célula, la parte ventral del parásito se encuentra aplanado y ocupado por una ventosa que se estrecha hasta el flagelo caudal (Thompson, 2004; Payne y Artzer, 2009).

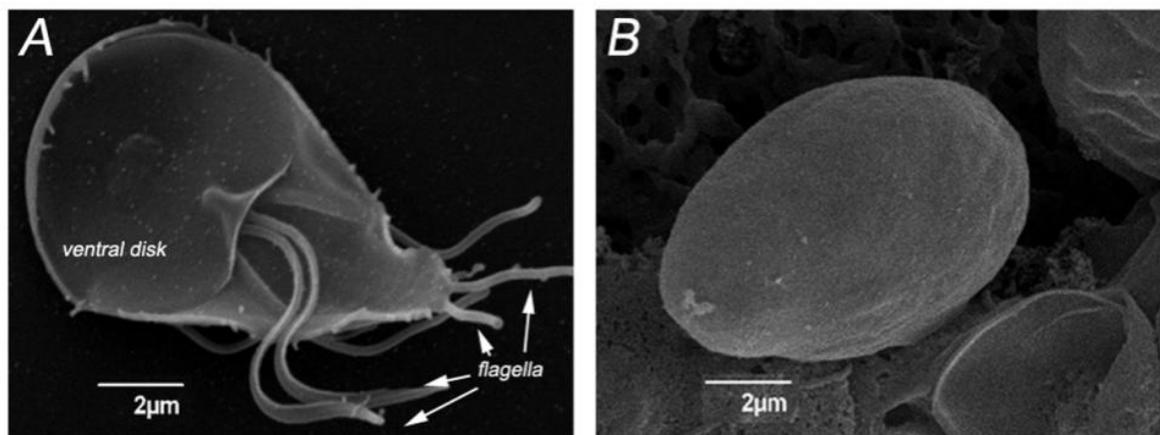


Figura 1. Trofozoito (A) y quiste (B) de *Giardia duodenalis* (Touz, 2012).

### 1.1.2.2 Transmisión

Se ha demostrado que la contaminación con quistes de *Giardia duodenalis* en fuentes de agua, comida, o bien, la vía directa fecal-oral, constituyen un importante mecanismo de infección para humanos y animales (Hunter y Thompson 2005; Cotton *et al.*, 2011).

La transmisión del parásito también está determinada por factores como la cantidad de quistes ingeridos, o el estado fisiológico e inmunológico del huésped. Se requieren entre 10 y 100 quistes para infectar a un humano (Roxtröm- Lindquist, *et al.*, 2006; Vázquez y Campos, 2009) y su mecanismo de respuesta inmunitaria incluye la intervención de linfocitos CD4, citocinas, linfocitos B e inmonoglobulinas (Abdul- Wahid y Faubert, 2008).

### 1.1.2.3 Epidemiología

Esta parasitosis del intestino delgado proximal representa un mayor riesgo para la población pediátrica. Se estima que alrededor del 2% de los niños de América Latina manifiestan la enfermedad, siendo la segunda causa de la presentación de diarrea aguda, diarrea con detención de la curva de crecimiento crónica intermitente o continua, aunque también existe el estado de portador asintomático (González *et al.*, 2009). En México, conforme a la información obtenida en los Anuarios de Morbilidad de la Secretaría de Salud (SSA, 2014), desde hace más de una década se muestra una tendencia descendente en la presentación de nuevos casos reportados a los principales servicios de salud (Figura 2).

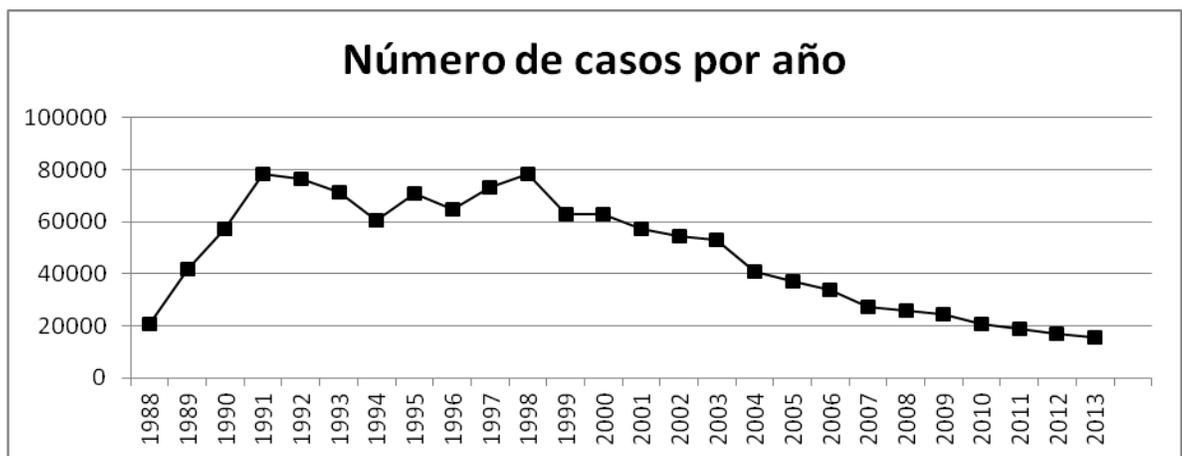


Figura 2. Número de casos de Giardiasis reportados de 1988 a 2013.

#### **1.1.2.4 Patogenia**

Durante el ciclo de vida del parásito, es posible encontrarlo en alguno de sus dos estadios, trofozoito o quiste. La infección comienza con la ingestión de quistes que son expuestos a las secreciones del estómago, así como al cambio de pH en el duodeno, lo que desencadena el proceso de exquistación para liberar los exquistos, que posteriormente se dividirán en dos, generando cuatro trofozoitos. Los trofozoitos se dividen por fisión binaria y con ayuda de sus flagelos, se mueven para adherirse mediante su ventosa a las vellosidades intestinales en el yeyuno e íleon; donde interactúan moléculas como las alfa, beta, delta y gama giardinas y mediante mecanismos complejos, se desencadena la presentación de diarrea (Cotton *et al.*, 2011, Payne y Artzer, 2009). Se cree que esos procesos involucran la apoptosis de enterocitos, activación de los linfocitos del huésped, acortamiento de las microvellosidades del borde de cepillo, con o sin atrofia de las vellosidades, deficiencias de disacaridasa y malabsorción (Roxström- Lindquist *et al.*, 2006; Cotton *et al.*, 2011). El ciclo se esquematiza en la figura 3.

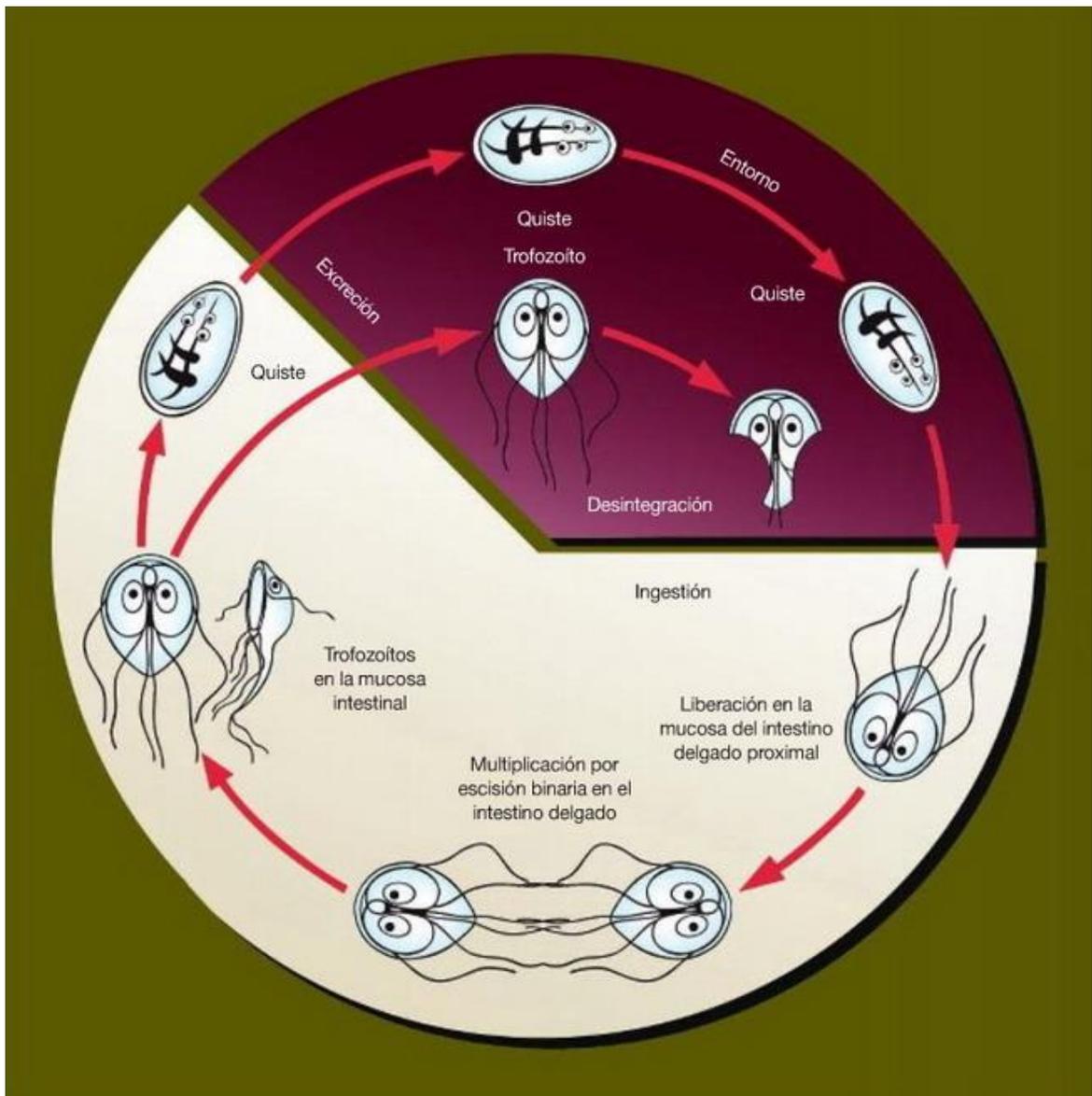


Figura 3. Ciclo de vida de *Giardia duodenalis* (Sabaleta *et al.*, 2011).

### 1.1.2.5 Manifestaciones clínicas

Dentro de estas manifestaciones, se pueden distinguir el cuadro agudo y el crónico. En el cuadro agudo suelen presentarse evacuaciones diarreicas explosivas, acuosas y fétidas,

dolor abdominal, náuseas, vómito, distensión abdominal y heces con moco (Vázquez y Campos, 2009; Cotton *et al.*, 2011).

En cuadros crónicos, el paciente puede manifestar diarrea crónica, mala absorción intestinal, cefalea, síndrome de talla y peso bajo (Hanevik *et al.*, 2007; Cotton *et al.*, 2011).

Los pacientes con un sistema inmune deficiente, por ejemplo, con VIH, tienden a presentar una sintomatología marcada, mientras que en los individuos sanos, la enfermedad tiende a mostrarse autolimitante y suelen ser portadores asintomáticos (Cotton *et al.*, 2011).

#### **1.1.2.6 Tratamiento**

Para el tratamiento de esta parasitosis suelen emplearse diversos fármacos, entre ellos se encuentran: metronidazol (como tratamiento de elección), nitazoxanida, albendazol, mebendazol, furazolidona, paromomicina, tinidazol, secnidazol y quinacrina, que se muestran en la figura 4 (Calzada, 2000; Barbosa, 2007; Mørch *et al.*, 2008; Vázquez *et al.*, 2009).

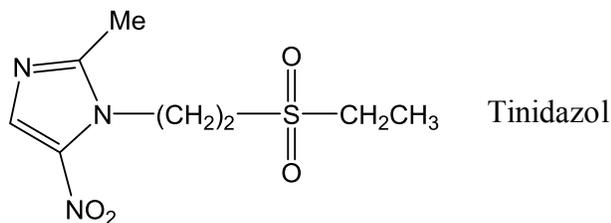
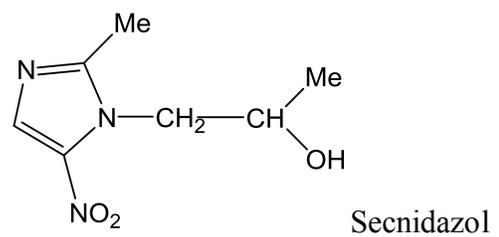
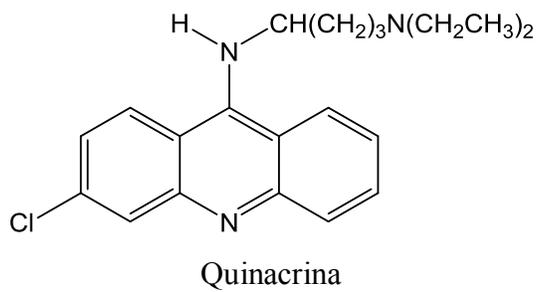
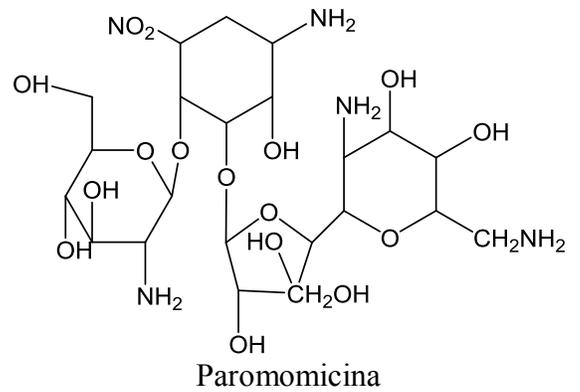
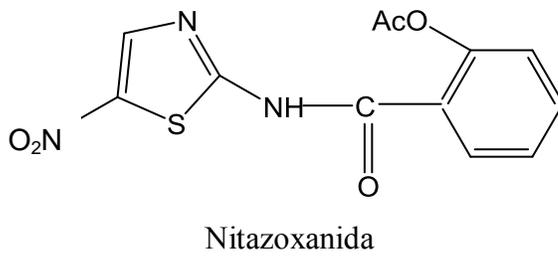
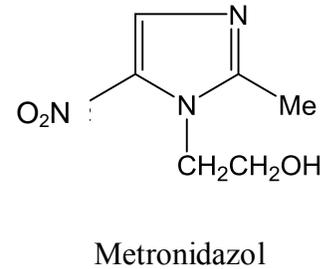
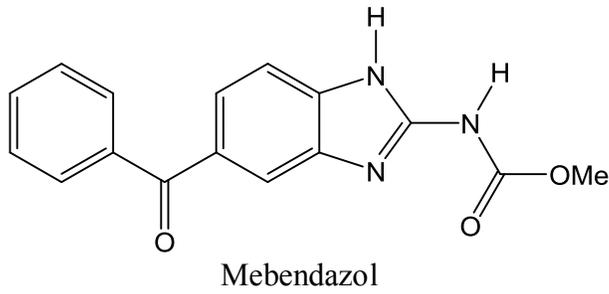
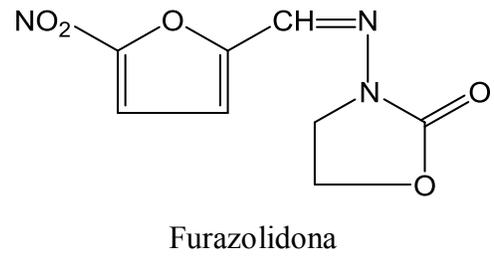
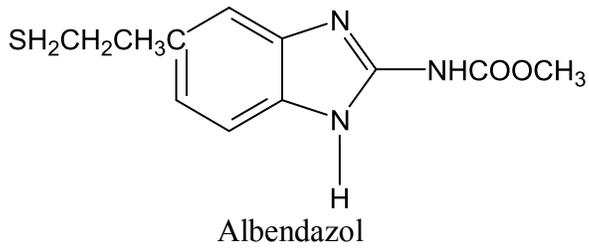


Figura 4. Algunos fármacos utilizados en el tratamiento de la giardiasis.

### **1.1.3 Tratamientos alternos**

Los tratamientos de elección para la enfermedad suelen tener alta disponibilidad en el mercado, ser eficaces y poseer facilidad en su administración, sin embargo, en el caso del metronidazol, una de sus desventajas es que puede acarrear efectos secundarios tales como cefaleas, náuseas, vértigos, vómitos y cambios momentáneos en la percepción de los sabores. Esta ha sido una de las razones de estudiar el potencial de las especies vegetales en el tratamiento de la giardiasis para la posterior producción de fitomedicamentos (Barbosa, 2007; Mørch *et al.*, 2008; Vázquez *et al.*, 2009).

La diversidad ecológica y cultural en nuestro país ha permitido realizar diversas investigaciones con la finalidad de aprovechar eficientemente los conocimientos ancestrales sobre el uso de las plantas en la medicina tradicional y obtener productos naturales benéficos para la salud (Barbosa, 2007).

A continuación se hará una reseña de las especies vegetales que fueron ocupadas en este estudio.

### **1.1.4 *Castilleja tenuiflora***

Es una planta originaria de México, que se puede localizar en climas semiseco y templado, mide de 30 cm a 1 m, presenta hojas alargadas y estrechas, sus flores en racimos combinan coloraciones amarilla y anaranjadas, tienen tallos con pelos rígidos y blanquecinos (BDMTM, 2009). En la figura 5 se puede observar un ejemplar de esta especie.

Pertenece a la familia Orobanchaceae (SIIT, 2013; Tank *et al.*, 2009), posee sinónimos populares como cola de borrego, calzón de indio, castilleja, coneja, copete de grulla, mirto, hierba del golpe o hierba del cáncer. Tradicionalmente, se ha utilizado para tratar cáncer, dismenorrea, enfermedades respiratorias y desórdenes gastrointestinales (BDMTM, 2009).

Se han aislado diversos compuestos en las partes aéreas (Jiménez *et al.*, 1995) y raíces (Gómez *et al.*, 2012) de esta especie vegetal (Figura 6 y 7).



Figura 5. Ejemplar de *Castilleja tenuiflora*

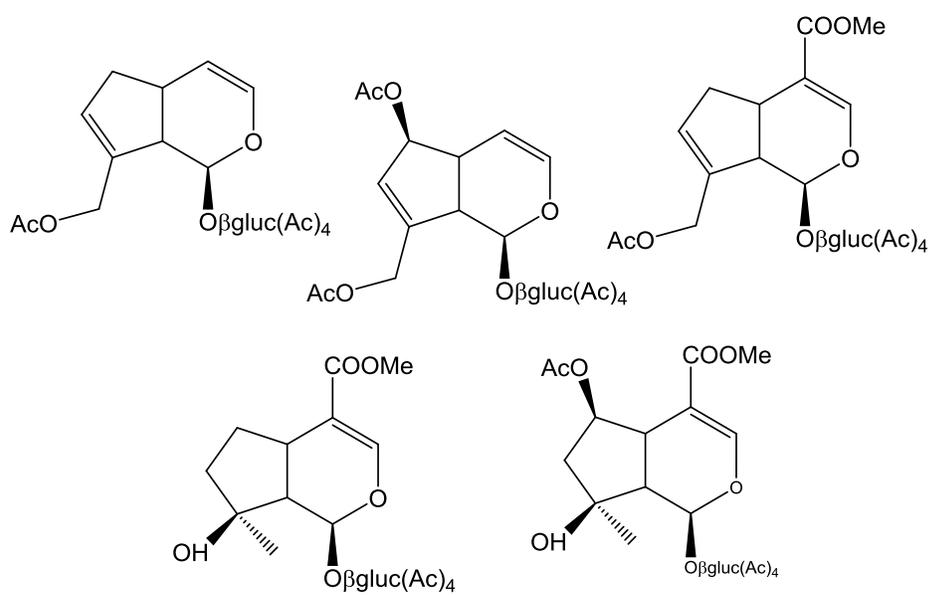


Figura 6. Compuestos aislados de partes aéreas de *Castilleja tenuiflora*

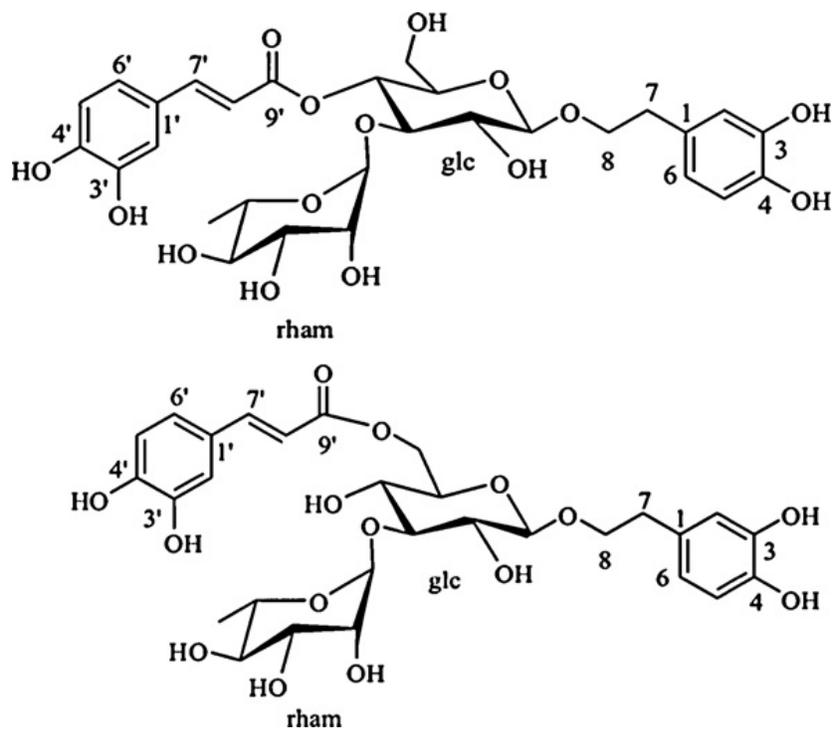


Figura 7. Compuestos aislados de las raíces de *Castilleja tenuiflora*

### 1.1.5 *Geranium mexicanum*

Esta planta mexicana habita en climas semisecos y templados, mide aproximadamente 50 cm, sus hojas tienen forma de una pata de león, presenta flores pequeñas de color rosa con rayas rojas en los pétalos, el tallo es delgado (Figura 8).

Pertenece a la familia Geraniaceae y también es conocida como pata de león o geranio de olor, se utiliza comúnmente para contrarrestar trastornos digestivos (BDMTM, 2009).

Posee actividad antibacteriana, antisecretora, antiperistáltica y antiprotozoaria; de la raíz se han aislado compuestos (Figura 9) útiles para contrarrestar desórdenes gastrointestinales (Alanís *et al.*, 2005; Calzada *et al.*, 2005; Velázquez, *et al.*, 2006; Barbosa *et al.*, 2007; Calzada *et al.*, 2010).

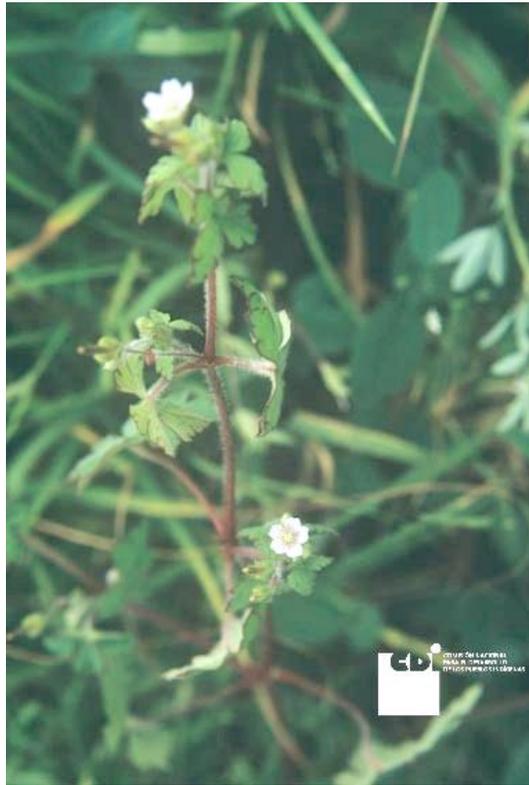


Figura 8. Ejemplar de *Geranium mexicanum* (BDMTM, 2009).

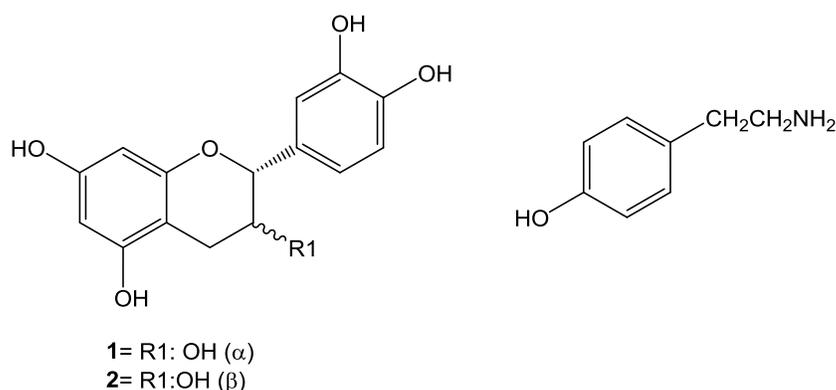


Figura 9. Compuestos aislados de *Geranium mexicanum*.

### 1.1.6 *Justicia spicigera*

Es una hierba originaria de México a Colombia, se encuentra en climas cálido, semicálido, semiseco, seco y templado, mide de 1 a 1.5 m de altura, cuenta con hojas más largas que anchas y con nervaduras muy marcadas (Figura 10), las flores son de color anaranjado o rojo pálido en forma tubular y se agrupan en la unión del tallo y la hoja (BDMTM, 2009).

Está clasificada dentro de la familia Acanthaceae (SIIT, 2013) y es conocida como muicle, muite, miutle, añil de piedra, “me tzi ña”, “yichkaan” o limanin, entre otros. Sus usos tradicionales incluyen el tratamiento de erisipela, sífilis, tumores o granos difíciles de curar, fiebre, infecciones renales, anemia, vértigos, tos, cólicos, dolores menstruales, constipación y diabetes (BDMTM, 2009).

En diversos estudios se han reportado sus efectos, como la actividad antiinflamatoria, inmunomoduladora y citotóxica. Así mismo, se han aislado diversos compuestos del extracto etanólico de esta especie (Euler y Alam, 1982; Meckes, 2004; Sepúlveda *et al.*,

2009; Alonso-Castro *et al.*, 2012; Ortiz *et al.*, 2012), uno de ellos se muestra en la figura 11.



Figura 10. Ejemplar de *Justicia spicigera*

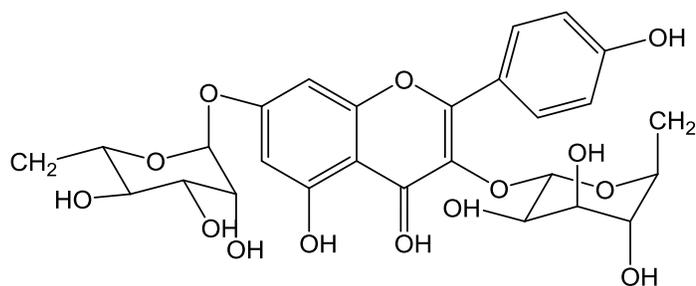


Figura 11. Compuesto aislado de *Justicia spicigera*

### 1.1.7 *Lepidium virginicum*

Originaria de Estados Unidos de América y México, se encuentra distribuida en climas cálidos y templados, es una planta que mide 15 a 70 cm de altura (Figura 12) con hojas dentadas, flores blancas pequeñas y en espigas, el tallo se encuentra ramificado y presenta vellosidades, sus frutos tienen forma de lenteja (BDMTM, 2009).

Esta especie perteneciente a la familia Brassicaceae (SIIT, 2013) es conocida como lentejilla, cola de zorrillo, hierba del pajarito, “chilacaquilil”, ajonjolillo, entre otras más. Los usos tradicionales que se le han conferido se relacionan con el tratamiento de trastornos gastrointestinales y respiratorios (BDMTM, 2009).

Se han identificado de sus raíces compuestos (Figura 13) que actúan contra *Entamoeba histolytica* (Calzada *et al.*, 2003).

En el cuadro 2 se muestra la información adicional sobre las especies vegetales empleadas en este estudio (Aguilar *et al.*, 1994; BDMTM, 2009; Meckes *et al.*, 2004; Moreno, 2004; Calzada *et al.*, 2005; Alonso-Castro *et al.*, 2011;).



Figura 12. Ejemplar de *Lepidium virginicum*

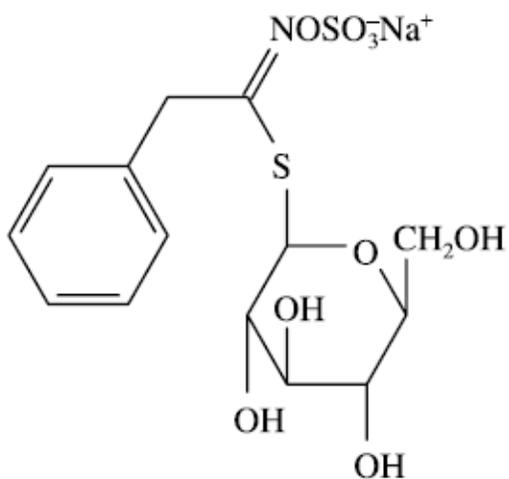


Figura 13. Compuesto aislado de *Lepidium virginicum*

Cuadro 2. Nombres científicos, familias, nombres comunes, partes usadas, uso medicinal y algunos compuestos aislados de las especies vegetales selectas de la herbolaria mexicana empleadas en este trabajo.

Nombre científico	Familia	Nombre común	Partes usadas	Uso medicinal	Algunos compuestos aislados de la especie
<i>Castilleja tenuiflora</i>	Orobanchaceae	Hierba del cáncer, cola de borrego	Hojas, tallo, flor	Cáncer, enfermedades gastrointestinales y respiratorias	Flavonoides (quercetina rutina, catequina)
<i>Geranium mexicanum</i>	Geraniaceae	Geranio de campo, pata de león	Aéreas	Trastornos digestivos	Flavonoides (epicatequina, catequina), tiramina, glucósido de $\beta$ -sitosterol
<i>Justicia spicigera</i>	Acanthaceae	Muicle, muitle	Ramas, hojas, flor	Anemia, desórdenes gastrointestinales y ginecológicos	Flavonoide (disramnósido de camperol), glucósido de $\beta$ -sitosterol
<i>Lepidium virginicum</i>	Brassicaceae	Ajonjolillo, lentejilla	Ramas	Padecimientos digestivos y respiratorios	Bencil glucosinato

A continuación se mencionan algunos efectos que presentan los compuestos mencionados en el cuadro 2 (Dewick P., M., *et al.* 2009; Hoffman, D., *et al.* 2003; Kaufman *et al.*, 1999).

Quercetina: liberación de histamina, inhibición de la lipooxigenasa y otras enzimas involucradas en el metabolismo del ácido araquidónico, hipoglicemiante, quela metales, elimina radicales y previene oxidación de lipoproteínas de baja densidad.

Rutina: actividad antiinflamatoria por la inhibición de la enzima lipooxigenasa, propiedades antivirales y antibacterianas.

$\beta$ - sitosterol: actividad hiperlipoproteínémica, hipoglicemiante y antitumoral.

Glucosinolatos: cuando la planta se rompe liberan aceites volátiles mediante la reacción del glucosinolato con la enzima tioclucosidasa.

Catequina: antioxidante, astringente.

Camperol: hipotensor, antioxidante.

## **2.0 JUSTIFICACIÓN**

Las enfermedades gastrointestinales son un problema de salud pública y una de sus principales causas son las infecciones por protozoarios como *Giardia duodenalis*, cuya transmisión a seres humanos puede realizarse a través de los animales, ya que se considera una zoonosis. La existencia de una población creciente de conejos que funge como animal de compañía y como animal productivo, así como la detección de giardiasis en la especie, incrementa el riesgo de infección hacia los seres humanos. La investigación organizada de *Castilleja tenuiflora*, *Geranium mexicanum*, *Justicia spicigera* y *Lepidium virginicum* puede ser el punto de partida para el hallazgo de nuevos productos con efecto antiprotozoario.

### **3.0 HIPÓTESIS**

Los extractos etanólicos de las especies vegetales *Castilleja tenuiflora*, *Geranium mexicanum*, *Justicia spicigera* y *Lepidium virginicum* tendrán actividad antiparasitaria contra una infección de *Giardia duodenalis* sin afectar los parámetros productivos y el rendimiento en canal de conejos Nueva Zelanda Blanco.

## 4.0 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Determinar el efecto anti-giardiasis de cuatro especies vegetales mexicanas: *Castilleja tenuiflora*, *Geranium mexicanum*, *Justicia spicigera* y *Lepidium virginicum*, así como su efecto sobre las características productivas en conejos NZB.

### 4.2 Objetivos particulares

1. Determinar el efecto contra *Giardia duodenalis* causado por la administración vía oral de los extractos etanólicos de *Castilleja tenuiflora*, *Geranium mexicanum*, *Justicia spicigera* y *Lepidium virginicum* en muestras fecales de conejos NZB infectados experimentalmente con trofozoitos de *Giardia duodenalis*.
2. Calcular el impacto sobre las características productivas (ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimentaria y rendimiento en canal) causado por la administración vía oral de los extractos etanólicos de *Castilleja tenuiflora*, *Geranium mexicanum*, *Justicia spicigera* y *Lepidium virginicum* en conejos NZB infectados experimentalmente.

## 5.0 MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en tres fases:

1. Obtención de extractos vegetales.
2. Determinación del efecto antiprotozoario de los extractos vegetales contra *Giardia duodenalis*.
3. Medición del impacto de los extractos vegetales sobre las características productivas en conejos.

### 5.1 Obtención de extractos vegetales

El material vegetal empleado fue seleccionado a partir de criterios etnomédicos y farmacológicos para contrarrestar la diarrea ocasionada por parásitos. Dicho material se adquirió en el mercado Miguel Hidalgo de la Delegación Tláhuac en julio del 2011. Se identificó en el Herbario Nacional del Centro Médico Nacional Siglo XXI, almacenando un ejemplar de referencia (*Castilleja tenuiflora* 15716, *Geranium mexicanum* 14405, *Justicia spicigera* 15793 y *Lepidium virginicum* 12608).

Los extractos de *Geranium mexicanum* y *Lepidium virginicum* fueron proporcionados por la Unidad de Investigación Médica en Farmacología del CMN Siglo XXI, en donde *Castilleja tenuiflora* y *Justicia spicigera* se dejaron secar a la sombra, a temperatura ambiente (15-20°C), se fragmentaron las partes aéreas de cada especie vegetal, se pesaron y se mantuvieron completamente sumergidas en etanol dentro de matraces de bola individuales durante una semana, las cantidades empleadas fueron: 954 g de *Castilleja tenuiflora* en 2.284 l de etanol y 356 g de *Justicia spicigera* en 4.0 l de etanol. Transcurrido ese tiempo se filtró y concentró el líquido empleando un rotoevaporador Heidolph series Laborota 4003, repitiendo la operación una vez más, para recuperar la mayor cantidad de metabolitos, los extractos se concentraron hasta su desecación (obteniendo un rendimiento de 15.35% y 37.96% respectivamente) y se almacenaron en frascos de vidrio herméticos protegidos de la luz, identificados y mantenidos en refrigeración hasta su empleo (Figura 14).

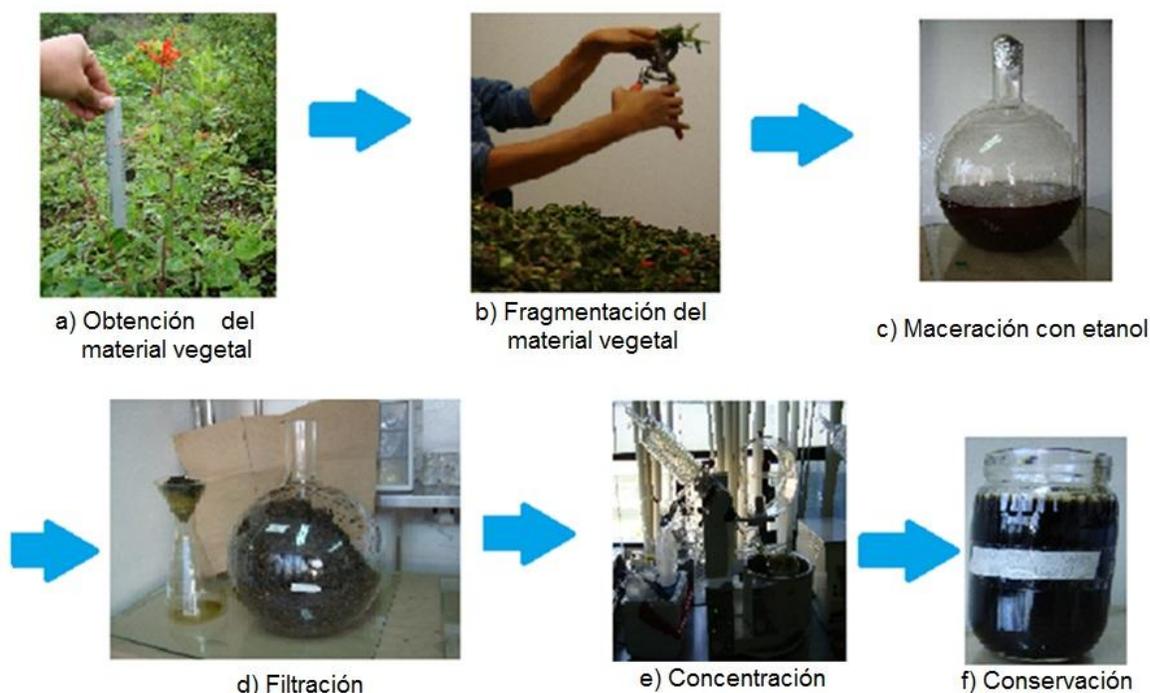


Figura 14. Proceso de elaboración de extractos etanólicos.

## 5.2 Determinación del efecto antiprotozoario de los extractos vegetales contra *Giardia duodenalis*

Todos los procedimientos experimentales en animales se realizaron bajo la normatividad vigente (DOF, 1999; CICUAE, 2010).

Se utilizaron 42 conejos NZB, 21 hembras y 21 machos recién destetados, con un peso promedio inicial de  $1004 \pm 86$  g, de 30 días de edad, provenientes del área de cunicultura del CEIEPAv-FMVZ-UNAM, a los cuales se les realizó un examen físico general y un estudio coprológico previo al inicio del experimento para verificar su estado de salud.

Los animales fueron alojados en una caseta de ambiente natural con jaulas americanas, bebederos automáticos y comederos tipo tolva. Los animales se distribuyeron en un diseño

completamente al azar en siete grupos, ocupando una jaula por cada grupo de seis animales, proporcionando agua y alimento *ad libitum*.

Se formuló una dieta con el paquete computacional NUTRION<sup>®</sup> 2002 a base de alfalfa – sorgo – soya, libre de antiparasitarios (Cuadro 3), cubriendo las necesidades nutricionales de los conejos de engorda (ASESCU, 2005; NRC, 1997).

Para la fabricación del alimento se utilizó una mezcladora vertical de gusano, con capacidad de una tonelada y una peletizadora CAL.-PELLET 2298-Ya, se le adicionó un aglutinante en una proporción de 0.2%<sup>1</sup> para obtener un pellet cilíndrico de 4-5 mm de diámetro y 6-7 mm de longitud.

Cuadro 3. Composición de la dieta experimental empleada.

Ingrediente	Cantidad (kg)
Harina de alfalfa	491.677
Sorgo	357.219
Pasta de soya	90.879
Melaza	30.000
Fosfato de calcio	6.001
Sal	3.904
Premezcla de vitaminas*	1.000
DL- Metionina 99%	0.858
Premezcla de minerales**	0.500
Aceite vegetal	0.242
Antioxidante***	0.100
L- lisina HCl	0.033
Total	1000

<sup>1</sup> Nutribind Aquadry<sup>®</sup>

---

Análisis calculado

---

Energía Digestible, kcal/kg	2474
Proteína cruda, %	17.00
Lisina, %	0.75
Treonina, %	0.65
Metionina + Cistina, %	0.55
Arginina, %	0.84
Triptofano, %	0.22
Calcio total, %	0.80
Fósforo total, %	0.40
Sodio, %	0.20
Extracto etéreo, % <sup>2</sup>	2.99
Cenizas, % <sup>2</sup>	7.43
ELN, % <sup>2</sup>	52.22
Humedad, % <sup>2</sup>	10.11
FAD, % <sup>3</sup>	21.28
FND, % <sup>3</sup>	37.465

---

\*Cantidad por kg aporta: vitamina A 40.000 MIOU, vitamina D<sub>3</sub> 8.000 UI, vitamina E 40.000 g, vitamina K 310.000 g, vitamina B<sub>1</sub> 4.000 g, vitamina B<sub>2</sub> 20.000 g, vitamina B<sub>12</sub> 60.000 mg, ácido fólico 1.200 g, ácido pantoténico 32.000 g, niacina 100.000 g, calcio 149.524 g, c.b.p. 100.000. \*\* Cantidad por kg aporta: manganeso 120.0 g, zinc 100.0 g, cobre 120.0 g, yodo 0.7 g, selenio 0.4 g, cobalto 0.2 g, c.b.p. 100.0 g. \*\*\* BHT y BTQ.

---

<sup>2</sup> Determinado por Análisis Químico Proximal (Kenneth, H., 1990) en el Departamento de Nutrición de la FMVZ de la UNAM

<sup>3</sup> Calculado por el método descrito por Pagano *et al.*, 1986.

Para la infección de los conejos, se administró mediante una jeringa por vía oral a cada individuo 1 ml de inóculo con  $3 \times 10^5$  trofozoitos de *Giardia duodenalis* (Araújo *et al.*, 2008; Amorim *et al.*, 2010), cepa IMSS WB cultivada axénicamente a 37°C en medio TYI-S-33, adicionado con 10% de suero bovino, proporcionado por la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, UMAE Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Los tratamientos fueron los siguientes:

1. Testigo negativo: Sin infección y sin tratamiento alguno.
2. Testigo positivo: Infectado y administrando agua destilada.
3. Infectado y tratado con metronidazol.
4. Infectado y tratado con *Castilleja tenuiflora*.
5. Infectado y tratado con *Geranium mexicanum*.
6. Infectado y tratado con *Justicia spicigera*.
7. Infectado y tratado con *Lepidium virginicum*.

A partir de los siete días posinfección, los animales fueron tratados diariamente durante 30 días. Al testigo positivo, se le administró diariamente una dosis de 1 ml de agua destilada vía oral. En el caso de los tratamientos que incluyeron extractos vegetales, se ocupó una dosis de 300 mg/kg de PV vía oral, (Calzada *et al.*, 2010) mientras que para el metronidazol se empleó una dosis de 30 mg/Kg de PV vía oral (Varga, M., 20014; Maguire, S. y Hauk, T., 2012).

Diariamente se ratificó la excreción de quistes y trofozoitos en muestras seriadas de heces por grupo mediante la técnica de Faust y flotaciones con cloruro de sodio, empleando la cámara de Neubauer para el conteo (Besné *et al.* 2006; Carvajal *et al.*, 2007).

Las muestras fueron colectadas en bolsas de plástico cerradas herméticamente y previamente identificadas para prevenir su desecación, transportándolas en un termo con refrigerante y procesándolas tan pronto como fue posible después del muestreo.

Se realizó un pesaje diario de las heces totales excretadas por grupo experimental paralelamente a la administración de los tratamientos, mediante el empleo de una superficie plástica perforada bajo jaula para facilitar su recolección.

### **5.3 Medición del impacto de los extractos vegetales sobre las características productivas en conejos.**

Se evaluó diariamente el consumo de alimento pesando el alimento no ingerido en el comedero y haciendo una diferencia con relación al alimento ofrecido el día previo, así mismo, se determinó la ganancia diaria de peso y al final del experimento se calculó la ganancia de peso total, el consumo de alimento total y se calculó la conversión alimentaria global.

Transcurridos cuatro días posteriores al término del periodo de administración de los tratamientos (periodo de retiro) los animales fueron sacrificados empleando la técnica de dislocación cervical manual súbita con inmediato corte de yugulares (DOF, 1996). El rendimiento en canal caliente se obtuvo utilizando los criterios señalados por Blasco *et al.* (1993) y la presentación de la canal fue conforme a la Norma Mexicana NMX-FF-105-SCFI-2005 (DOF, 2005).

## 5.4 Diseño experimental

Con el propósito de reducir el número de variables, se empleó la técnica de componentes principales utilizando las variables ganancia de peso, consumo de alimento, gramos de heces por individuo, número de quistes y trofozoitos excretados diariamente. Posteriormente, a éste componente se le realizó un análisis factorial 7x7, donde el primer factor fueron los diferentes tratamientos y el segundo factor los días de tratamiento, considerando para su descripción al primer componente principal, empleando la siguiente ecuación:

$10.30 * \text{ganancia diaria de peso} + -11.15 * \text{consumo de alimento diario} - 24.67 * \text{cantidad de heces} + 0.003 * \text{quistes} + 0.0006 * \text{trofozoitos} + 2.76 = \text{valor del primer componente principal.}$

Para ganancia diaria de peso, consumo de alimento, índice de conversión, rendimiento en canal caliente y sus componentes, se aplicó un diseño completamente al azar, mediante el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{i(j)}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Parámetros productivos globales y rendimiento de canal caliente.

$\mu$  = Media general

$i = 1, 2, 3, 4, 5, 6 \text{ y } 7$

$T_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento.

$j = 1, 2, 3, 4, 5 \text{ y } 6$

$E_{i(j)}$  = Error del experimento

Para la comparación de las medias se aplicó la prueba de Dunnett utilizando como testigo al grupo infectado que se le administró agua destilada, con una significancia de  $P < 0.05$  en el paquete estadístico JMP (1989-2004).

Se realizó una comparación de medias mediante una prueba de t de Student en los primeros siete días tomando como control positivo a los seis grupos de conejos infectados y como control negativo al grupo de conejos no infectados con *Giardia duodenalis*.

## 6.0 RESULTADOS

Los resultados promedio a los 7 días post infección, considerando dos tratamientos; un grupo de animales no infectado (tratamiento 1) y otro grupo infectado con *Giardia duodenalis* (integrando los tratamientos 2-7) , no reflejaron diferencia estadística significativa ( $P>0.05$ ) sobre los parámetros productivos: consumo de alimento 96 g y 100 g, ganancia diaria de peso; 44 g y 43 g, índice de conversión; 2.3 kg: kg y 2.4 kg: kg y peso de las heces; 57 g y 54 g respectivamente (Cuadro 4).

El análisis factorial mostró en los animales con treinta días de tratamiento que el testigo positivo (Infectado y administrando agua destilada) obtuvo los valores más grandes entre los tratamientos, lo que indica la presencia de mayor cantidad de trofozoitos y quistes de *Giardia duodenalis* en las heces, se redujeron la ganancia diaria de peso y el consumo de alimento, mientras que la cantidad de heces aumentó. En cuanto a los demás tratamientos, se encontró una menor cantidad de trofozoitos y quistes de *Giardia duodenalis* en las heces, presentándose una ganancia diaria de peso y consumo de alimento mayor, disminuyendo la cantidad de heces (Cuadro 5).

En el cuadro 6 se muestran los resultados promedio de las características productivas medidas en el periodo experimental; el peso inicial no tuvo diferencia estadística significativa entre tratamientos, del mismo modo, el peso final resultó ser el mismo para todos los grupos, la ganancia diaria de peso promedio fue la misma para el testigo positivo y el tratamiento con metronidazol (42 g), difiriendo del testigo negativo (41 g), así como del tratamiento con extracto de *Castilleja tenuiflora* (38 g), *Geranium mexicanum* (28 g), *Justicia spicigera* (37 g) y *Lepidium virginicum* (30 g). El testigo positivo y el tratamiento con metronidazol se comportaron de la misma forma (131 g) para la variable consumo promedio diario de alimento, presentando diferencias estadísticas significativas para el resto de los tratamientos, mientras que la conversión alimentaria fue la misma para todos los tratamientos ( $p<0.05$ ).

El rendimiento en canal se presenta en el cuadro 7, donde no existió diferencia estadística significativa entre tratamientos.

Cuadro 4. Resultados promedio de parámetros productivos de conejos infectados con  $3 \times 10^5$  trofozoitos de *Giardia duodenalis* en los primeros siete días postinfección.

Tratamiento	Consumo/ día/ conejo, g	Ganancia diaria de peso, g	Conversión alimentaria, kg: kg	Peso de las heces frescas, g
No Infectado	96.3	44.0	2.306	57.7
Infectado con <i>Giardia duodenalis</i>	100.5	43.7	2.459	54.6
EEM	2.8	4.6	0.229	3.1

No se encontró diferencia estadística significativa entre tratamientos ( $P > 0.05$ )

Peso inicial de los conejos  $1004 \pm 86$  g

EEM= Error estándar de la media

Cuadro 5. Resultados promedio de 30 días de tratamiento con extractos vegetales en conejos infectados con  $3 \times 10^5$  trofozoitos de *Giardia duodenalis* siete días postinfección.

Tratamiento	Comportamiento de infección
1. Testigo negativo	$-0.378^b \pm 0.20$
2. Testigo positivo	$0.778^a \pm 0.22$
3. Infectado y tratado con metronidazol	$0.008^b \pm 0.19$
4 Infectado y tratado con <i>Castilleja tenuiflora</i>	$-0.010^b \pm 0.20$
5. Infectado y tratado con <i>Geranium mexicanum</i>	$-0.538^b \pm 0.21$
6. Infectado y tratado con <i>Justicia spicigera</i>	$0.211^b \pm 0.19$
7. Infectado y tratado con <i>Lepidium virginicum</i>	$0.004^b \pm 0.20$

Diferentes literales entre tratamientos son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ , Dunnett), comparado contra el testigo negativo.

Cuadro 6. Resultados promedio de las características productivas de conejos infectados con  $3 \times 10^5$  trofozoitos de *Giardia duodenalis*.

Tratamiento	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	EEM
	Testigo negativo	Testigo positivo	Infectado y tratado con metronidazol	Infectado y tratado con <i>Castilleja tenuiflora</i>	Infectado y tratado con <i>Geranium mexicanum</i>	Infectado y tratado con <i>Justicia spicigera</i>	Infectado y tratado con <i>Lepidium virginicum</i>	
Variable								
Peso inicial (kg)	1.04 <sup>a</sup>	1.11 <sup>a</sup>	0.89 <sup>a</sup>	0.96 <sup>a</sup>	1.03 <sup>a</sup>	0.91 <sup>a</sup>	1.09 <sup>a</sup>	0.02
Peso final (kg)	2.65 <sup>a</sup>	2.76 <sup>a</sup>	2.75 <sup>a</sup>	2.55 <sup>a</sup>	2.56 <sup>a</sup>	2.57 <sup>a</sup>	2.62 <sup>a</sup>	0.05
Ganancia diaria de peso (g)	41 <sup>a</sup>	42 <sup>b</sup>	42 <sup>b</sup>	38 <sup>a</sup>	28 <sup>a</sup>	37 <sup>a</sup>	30 <sup>a</sup>	2
Consumo diario de alimento (g)	118 <sup>a</sup>	131 <sup>b</sup>	131 <sup>b</sup>	110 <sup>a</sup>	114 <sup>a</sup>	117 <sup>a</sup>	112 <sup>a</sup>	28
Conversión alimentaria (kg: kg)	3.05 <sup>a</sup>	3.30 <sup>a</sup>	2.96 <sup>a</sup>	2.87 <sup>a</sup>	3.12 <sup>a</sup>	2.99 <sup>a</sup>	3.19 <sup>a</sup>	0.55

Diferentes literales entre tratamientos son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ , Dunnett), comparado contra el testigo negativo.

Cuadro 7. Resultados promedio del rendimiento en canal de conejos infectados con  $3 \times 10^5$  trofozoitos de *Giardia duodenalis*.

Grupo	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	EEM
	Testigo negativo	Testigo positivo	Infectado y tratado con metronidazol	Infectado y tratado con <i>Castilleja tenuiflora</i>	Infectado y tratado con <i>Geranium mexicanum</i>	Infectado y tratado con <i>Justicia spicigera</i>	Infectado y tratado con <i>Lepidium virginicum</i>	
Componente								
Peso de la canal completa* (kg)	1.5	1.6	1.6	1.4	1.5	1.5	1.5	0.14
Rendimiento en canal completa* (%)	59.1	60.9	58.3	58.3	60.4	58.7	59.2	2.41
Cabeza (g)	133.3	132.0	127.3	127.5	129.2	118.7	115.0	13.69
Hígado (g)	107.9	111.1	114.3	96.2	104.5	114.8	101.8	26.25
Riñones (g)	20.2	20.4	17.4	17.0	20.8	18.3	20.8	3.56

No se encontró diferencia estadística significativa entre tratamientos ( $P > 0.05$ )

\*Canal completa incluye hígado, riñones y cabeza

## 7.0 DISCUSIÓN

Durante los primeros siete días postinfección no se encontraron diferencias entre tratamientos para los parámetros productivos evaluados, con resultados similares a otros estudios realizados en conejos (Cortez, Z., A., L., 2005; Morales, A., M., A., 2006; Neri, H. A., 2007; Diosdado, E., M., L. 2011) por lo que puede inferirse que los mecanismos de infección que posee el parásito no habían generado signos de enfermedad (Ankarklev *et al.* 2010) que vayan en detrimento de la productividad. Al mismo tiempo, coincide con la dinámica de eliminación del parásito en otras especies (Araujó *et al.*, 2008).

En el cuadro 5, el análisis factorial que contiene los resultados del componente principal, mostró que al aumentar la cantidad de trofozoitos y quistes de *Giardia duodenalis*, incrementaba la cantidad de heces, mientras que el consumo de alimento y la ganancia de peso disminuían, siendo que el grupo infectado con *Giardia duodenalis* al que se le administró agua destilada excretaba mayor cantidad de parásitos y heces con relación al resto de los grupos. Esto puede explicarse debido a que la Giardiasis en los animales ocasiona en ciertas circunstancias pérdida de peso y del apetito como resultado de episodios de diarrea en donde los quistes son expulsados intermitentemente (Carvajal, O., K., *et al.*, 2007; Araujó, N., S. *et al.*, 2008). Existen diversas teorías involucradas en los mecanismos de infección, uno de ellos es la ventosa central que posee *Giardia duodenalis* para adherirse a las células superficiales del intestino, donde se replica en las células del borde de cepillo, por lo que disminuye la absorción de nutrientes (Roxström- Lindquist *et al.*, 2006; Payne, P. y Artzer, M., 2009; Ankarklev *et al.*, 2010; Cotton *et al.*, 2011), lo que explicaría la pérdida de peso en animales enfermos.

Algunos estudios realizados en otras especies confirman la efectividad anti giardia de los extractos de *Geranium mexicanum* y *Lepidium virginicum* empleados en otro modelo animal (Barbosa, C., R., E., 2007, Calzada, F. *et al.* 2005).

La dieta empleada en el presente experimento cumplió con los requerimientos mínimos para conejos en engorde (ASESCU 2005), por lo que se infirió que no tuvo efecto negativo en los resultados, así mismo, se realizó el mismo manejo y mediciones a los animales

durante el experimento en el horario matutino para eliminar la variabilidad de resultados por efecto del estrés.

Una característica que diferencia a muchos mamíferos del conejo es que éste lleva a cabo la cecotofia, estrategia digestiva en la que reingieren parte del contenido alimenticio para optimizar su aprovechamiento (Morales, A., M., A., 2006) por lo que es muy probable que ocurra una reinfección con *Giardia duodenalis*.

Aunque se ha reportado la presencia de *Giardia* en conejos, no es una enfermedad común de la cual exista un gran acúmulo de información (Porter *et al.*, 1990; Lebbad *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2012), sin embargo, se ha estudiado su potencial zoonótico (Thompson, R., C., A. 2000).

Los resultados indicaron que existió efectividad en la disminución de quistes y trofozoitos de *Giardia duodenalis* de todos los grupos que recibieron el tratamiento convencional y los extractos vegetales al contrastar los resultados entre grupos con el testigo positivo al que se le administró agua destilada, lo que representa un incentivo para continuar el estudio de esas especies vegetales a profundidad (Barbosa, E., *et al.*, 2007) y determinar la confiabilidad en su empleo, aislar sus compuestos para tener mayor control sobre los factores que intervienen en el comportamiento de las variables, estudiar dosis-respuesta, realizar estudios de toxicidad, farmacocinética, farmacodinamia, entre otros (Wu, *et al.*, 2008; EMEA, 2006; CDER, 2004), así como emplear técnicas diagnósticas adecuadas, con alta especificidad y sensibilidad (Ahmed *et al.* 2014).

Existen diversas técnicas para el diagnóstico de Giardiasis que proveen de diferentes grados de especificidad y sensibilidad, en la actualidad existen kits diagnósticos (IDEXX®) que reducen el error en el diagnóstico, generalmente las pruebas tradicionales para detectar animales infectados muestran desventajas como el requerimiento de experiencia en la realización de la prueba, la forma intermitente de liberación del parásito, la viabilidad de los trofozoitos y quistes en el medio, entre otros, estos factores son determinantes en el diagnóstico de falsos positivos. Durante este estudio se realizaron flotaciones seriadas con

cloruro de sodio, sin embargo, ésta posee una especificidad del 48.3% (Carvajal *et al.*, 2007) por lo que presenta una confiabilidad baja. En cuanto al empleo de la cámara de Neubauer, si bien es un método barato, está sujeto a diversas fuentes de error que deben considerarse.

Las características productivas tuvieron un comportamiento similar a lo reportado en estudios previos (Cortez, Z., A., L., 2005; Morales, A., M., A., 2006; Neri, H. A., 2007; Diosdado, E., M., L. 2011) en todos los tratamientos, excepto en el testigo positivo y en el grupo infectado y tratado con metronidazol para la ganancia diaria de peso y el consumo diario de alimento promedio. Ya que el parásito posee diversos mecanismos para desencadenar la enfermedad, pudiendo presentarse uno o varios a la vez (Roxström-Lindquist *et al.*, 2006; Payne, P. y Artzer, M., 2009; Ankarklev *et al.*, 2010; Cotton *et al.*, 2011), la severidad de la infección es variable, es posible que en el caso del testigo positivo, el organismo haya presentado mecanismos de defensa para autolimitar la enfermedad, y en el caso del grupo tratado con metronidazol, la efectividad del medicamento haya generado una diferencia positiva respecto al resto de los tratamientos respecto a las características productivas señaladas previamente.

Existe poca información de giardiasis en animales silvestres y en conejos, por lo que es importante emplear las herramientas diagnósticas adecuadas, así como la nueva tecnología para la generación de información innovadora más precisa. Se recomienda comenzar ordenadamente el estudio, comenzando por estudios *in vitro* y posteriormente *in vivo* (EMEA, 2006). Para obtener datos más precisos, en estudios posteriores es conveniente alojar un conejo por jaula, en el caso de las heces, la frecuencia de evacuación, volumen o peso es un indicativo de la severidad de la diarrea (Farthing, M., J., 2007), por lo que el grado de hidratación de las mismas es una variable a considerar.

En cuanto a los resultados promedio del rendimiento en canal, no mostraron diferencia estadística entre tratamientos, por lo que no hubo efecto a raíz de la infección experimental, ni por los tratamientos administrados, los datos obtenidos son similares a los reportados por

otros autores (Lambertini *et al.*, 2006; Hassan *et al.*, 2011; Peiretti *et al.*, 2011; Trocino *et al.*, 2011; Margüenda, I. *et al.*, 2012).

## **8.0 CONCLUSIONES**

De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas se concluye:

1. Los extractos vegetales de *Castilleja tenuiflora*, *Geranium mexicanum*, *Justicia spicigera* y *Lepidium virginicum* mostraron efecto contra *Giardia duodenalis* en conejos infectados experimentalmente.
2. No hubo efecto sobre la ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimentaria y rendimiento en canal por la administración de los extractos etanólicos de *Castilleja tenuiflora*, *Geranium mexicanum*, *Justicia spicigera* y *Lepidium virginicum* en conejos infectados experimentalmente con trofozoitos de *Giardia duodenalis*.

## 9.0 REFERENCIAS

- Abdul-Wahid, A., Faubert, G. (2008). Characterization of the local immune response to cyst antigens during the acute and elimination phases of primary murine giardiasis. *International Journal of Parasitology*; 38: 691–703.
- Aguilar, A., Camacho, J., R., Chino, S., Jáquez, P., López, M., E. (1994). Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. México: IMSS.
- Ahmed, A., S., McGaw, L., J., Moodley, N., Naidoo, V., Eloff, J., N. (2014). Citotoxic, antimicrobial, antioxidant, antilipoxygenase activities and phenolic composition of *Ozoroa* and *Searsia* species (Anacardiaceae) used in South African traditional medicine for treating diarrhea. *South African Journal of Botany*; 95: 9-18.
- Alanís, A. D., Calzada, F., Cervantes, J. A., Torres, J., Ceballos, G. M. (2005). Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*; 100: 153–157.
- Alonso-Castro, A., J., Villarreal, M., L., Salazar, O., L., A., Gomez, S., M., Dominguez, F., Garcia, C., A. (2011). Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. *Journal of Ethnopharmacology*; 133: 945–972.
- Alonso-Castro, *et al.* (2012). Antitumor and immunomodulatory effects of *Justicia spicigera* Schltdl (Acanthaceae). *Journal of Ethnopharmacology*; 141: 888– 894.
- Amaral, M., M., F., Ribeiro, S., M., N., Barbosa- Filho, J., M., Reis, S., A., Nascimento, R. F., F., Macedo, O., R. (2006). Plants and chemical constituents with giardicidal activity. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*; 16: 696-720 .

- Amorim, R., M., R.; *et al.* (2010). *Giardia duodenalis*: Kinetics of cyst elimination and the systemic humoral and intestinal secretory immune responses in gerbils (*Meriones unguiculatus*) experimentally infected. *Experimental parasitology*; 125: 297-303.
- Ankarklev, J., Jerlström-Hultqvist, J., Ringqvist, E., Troell, K., Svärd, S., G. (2010). Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. *Nature Reviews Microbiology*; 8:413-422.
- Araújo, N., S., Mundim, J., S., Gomes, M., A., Amorim, R., M., R., Viana, J., C., Queiroz, R., P., Rossi, M., A., Cury, M., C. (2008). *Giardia duodenalis*: Pathological alterations in gerbils, *Meriones unguiculatus*, infected with different dosages of trophozoites. *Experimental Parasitology*; 118: 449-457.
- ASESCU. (2005). Guía 2005 de la cunicultura. *Cunicultura*; 96-99.
- AVMA. (2007). Total pet ownership and pet population: Specialty and exotic pet ownership. En *US pet ownership and demographics sourcebook*. Schaumburg, Estados Unidos: American Veterinary Medical Association; 45-47.
- Barbosa, C., R., E. (2007). Evaluación *in vivo* de la actividad anti*giardia* y biotransformación *in vitro* de tres flavonoides de origen natural: Camperol, (-) -epicatequina y tilirósido. Tesis de doctorado. México: IPN.
- Barbosa, E., Calzada, F., Campos, R. (2007). *In vivo* anti*giardial* activity of three flavonoids isolated of some medicinal plants used in mexican traditional medicine for the treatment of diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology*; 109: 552-554.
- Besné, M., A., *et al.* (2006). Manual de prácticas de laboratorio de parasitología. México: UNAM- FMVZ- Departamento de parasitología.
- BDMTM (2009). Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Recuperado el 6 de mayo de 2013 de: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php>

- Blasco, A., Ouhayoun, J., Masoero, G. (1993). Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. *World Rabbit Science*; 1(1): 3–10.
- Cacciò, S., M., Ryan, U. (2008). Review: Molecular epidemiology of giardiasis. *Molecular & Biochemical Parasitology*; 160: 75–80.
- Calzada, F.(2000). Proantocianidinas de tipo A y flavonoides con actividad antiprotozoaria de *Geranium niveum* S. Watson (Geraniaceae) y *Conyza filaginoides* (D.C.) Hieron (Asteraceae). Tesis de doctorado. México: UNAM.
- Calzada, F., Barbosa, E., Cedillo-Rivera, R. (2003). Antiamoebic Activity of Benzyl glucosinolate from *Lepidium virginicum*. *Phytother. Res*; 17: 618–619.
- Calzada, F., Cervantes- Martínez, J., A., Yépez-Mulia, L. (2005). *In vitro* antiprotozoal activity from the roots of *Geranium mexicanum* and its constituents on *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*. *Journal of Ethnopharmacology*; 98 (1-2): 191-193.
- Calzada, F., Yépez- Mulia, L., Aguilar, A. (2006). *In vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*; 108: 367–370.
- Calzada, F., Arista, R., Pérez, H. (2010). Effect of plants used in Mexico to treat gastrointestinal disorders on charcoal-gum acacia-induced hyperperistalsis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*; 128: 49–51.
- Campos, T., Vázquez, O. (1999). Reseña histórica del descubrimiento de los intrusos del arca y de sus cazadores. 1a. parte. *Acta Pediátrica Mexicana*; 20: 55-60.
- Carvajal, O., K, Brenes, S., J., A., Romero, Z., J., J., Caballero, C., M. (2007). Características diagnósticas de tres métodos coprológicos para detectar *Giardia* spp. en caninos, utilizando un ELISA de captura como prueba de oro. *Cienc. Vet*; 25 (2): 349-358.

- CDER. (2004). Guidance for industry botanical drug products. USA: HHS-FDA-CDER.
- CICUAE. (1989). Reglamento para el cuidado de los animales en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México: FMVZ, UNAM. Recuperado el 21 de octubre de 2010, de <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/cicuae.html>
- Cortez, Z., A., L. (2005). Parámetros productivos de conejos Nueva Zelanda blanco en la etapa de engorda con la inclusión en la dieta de diferentes niveles de *Spirulina máxima* y *Ascophyllum nodosum*. Tesis de Licenciatura. México: UNAM.
- Cotton, J., A., Beatty, J., K., Buret, A., G. (2011). Host parasite interactions and pathophysiology in *Giardia* infections. *International Journal for Parasitology*, 41: 925–933.
- Dewick, P., M. (2009). Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. 3rd ed. UK: Wiley & Sons Ltd.
- Diosdado, E., M., L. (2011). Influencia del nivel de proteína en el alimento balanceado, sobre los parámetros productivos del conejo Nueva Zelanda Blanco. Tesis de Licenciatura. México: UNAM.
- DOF. (1996). Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres. Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995. Julio 16 de 1996.
- DOF. (1999). Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Agosto 22 de 2001.
- DOF. (2005). Norma Mexicana NMX-FF-105-SCFI-2005. Productos pecuarios - carne de conejo en canal - calidad de la carne- clasificación. Octubre 10 de 2005.
- EMA. (2006). Guideline on the non-clinical investigation of the dependence potential of medicinal products. London: CHMP.

- Euler, K., L., Alam, M. (1982). Isolation of kaempferitrin from *Justicia spicigera*. *Journal of Natural Products*; 45: 220–221.
- Farthing, M., J. (2007). The patient with refractory diarrhea. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*; 21 (3): 485-501.
- Gómez- Aguirre, Y., A., Zamilpa, A., González-Cortázar, M., Trejo-Tapia, G. (2012). Adventitious roots cultures of *Castilleja tenuiflora* as a source of phenylethanoid glycosides. *Industrial Crops and Products*; 36: 188–195.
- González, S., N., Hernández, P., J., López, R., B., M., Ramírez, M., J., Ramírez, S., M., P., Varela, R., M., A., Oliva, G., V. (2009). Infecciones Gastrointestinales. México: Instituto Nacional de Pediatría, Medicina y Farmacia.
- Hanevik, K., Hausken, T., Helvik, M., M., Astrup, S., E., Mørch, K., Coll, P., Helgeland, L., Langeland, N. (2007). Persisting symptoms and duodenal inflammation related to *Giardia duodenalis* infection. *Journal of Infection*; 55: 524- 530.
- Hassan, H., Ebeid, T., A., El- Lateif, A., I., A., Ismail, N., B. (2011). Effect of dietary betaine supplementation on growth, carcass and immunity of New Zealand White rabbits under high ambient temperature. *Livestock Science*; 135: 103-109.
- Herrera, A., A., Jaime, D., M., Herrera, A., S., Oaxaca, N., J., Salazar, M., E. (2009). Uso de terapia alternativa/complementaria en pacientes seropositivos a VIH. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*; 47(6): 651-658.
- Hill, W., A., Brown, J., P. (2011). Review: Zoonoses of rabbits and rodents. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*; 14(3): 519-531.
- Hoffman, D., FNIM, AHG. (2003). Medical Herbalism, the science and practice of herbal medicine. Vermont: Healing Art Press.
- Hunter, P., R., Thompson, R.C.A. (2005). The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology*; 35: 1181–1190.

- Jiménez, E., M., Padilla, M., E., Padilla, M., E., Reyes-Chilpa, R., Espinosa, L., M., Melendez, E., Lira-Rocha, A. (1995). Iridoid glycoside constituents of *Castilleja tenuiflora*. *Biochemical, Systematics and Ecology*; 23(4): 455–456.
- JMP. Paquete estadístico computacional, versión 5.1. (1989-2004). A business unit of SAS. SAS Institute Inc.
- Kaufman, P., B.; Cseke, L., J., Warber, S., Duke, J., A., Briemann, H., L. (1999). Natural products from plants. USA: CRC Press LLC.
- Kenneth, H. (1990). Official methods of analysis of the association of Official Analytical Chemist. (5a. ed.). Vol. 1. (pp 70-88). USA: Association of Official Analytical Chemists Inc.
- Lambertini, L., Vignola, G., Badiani, A., Zaghini, G., Formigoni, A. (2006). The effect of journey time and stocking density during transport on carcass and meat quality in rabbits. *Meat Science*; 72: 641- 646.
- Lebbad, M., Mattsson, J., G., Christensson, B., Ljungström, B., Backhans, A., Andersson, J., O., Svärd, S., G. (2010). From mouse to moose: Multilocus genotyping of *Giardia* isolates from various animal species. *Veterinary Parasitology*; 168: 231–239.
- Maguire, S., Hauk, T. (2012). Formulary. En: Swckow, M., A., *et al.* The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. USA: Academic Press, 1193-1229.
- Mahbubani, M., H., Bej, A., K., Perlin, M., H., Schaefer III, F., W., Jakubowski, W., Atlas, R., M. (1992). Differentiation of *Giardia duodenalis* from other *Giardia* spp. by using polymerase chain reaction and gene probes. *Journal of clinical microbiology*; 30(1): 74-78.

- Margüenda, I. *et al.* (2012). Effect of dietary type and level of fibre on rabbit carcass yield and its microbiological characteristics. *Livestock Science*; 145: 7-12.
- Meckes, R., A., D., Nava, A., V., Jimenez, A. (2004). Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema. *Phytomedicine*; 11: 446–451.
- Monis, P., T., Thompson, R., C., A. (2003). Review: *Cryptosporidium* and *Giardia*-zoonoses: fact or fiction?. *Infection, Genetics and Evolution*; 3: 233–244.
- Monis, P., T., Caccio, S., M., Thompson, R., C., A. (2009). Review: Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in parasitology*; 25 (2): 93-100.
- Morales, A., M., A. (2006). Efecto de la complementación con germinado de cebada en dietas con canola sobre las variables productivas y el pH cecal en Conejos Nueva Zelanda en etapa de engorde. Tesis de Maestría. México: UNAM.
- Mørch, K., Hanevik, K., Robertson, L.J., Strand, E.A., Langeland, N. (2008). Treatment-ladder and enetic characterisation of parasites in refractory giardiasis after an outbreak in Norway. *Journal of Infection*; 56: 268-273.
- Moreno, U., V., coordinadora. (2004). Herbolaria y tradición en la región de Xico, Veracruz. México: SEC, Consejo Veracruzano de Arte Popular.
- Neri, H., A. (2007). Evaluación en el desempeño productivo y propiedades físico-químicas en carne de conejo de engorda Nueva Zelanda blanco con diferentes niveles de inclusión de chía (*Salvia hispanica L.*). Tesis de Maestría. México: UNAM.
- NRC. (1997). Nutrient Requirements of rabbits. 2a. ed. Estados Unidos: National Academic Press.
- Olson, M., E., O’Handley, R., M., Ralston, B., J., McAllister, T., A., Thompson, C., A. (2004). Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. *Trends in parasitology*; 20 (4): 185-191.

- Ortiz, A., R., *et al.* (2012). Antidiabetic effects of *Justicia spicigera* Schltdl (Acanthaceae). *Journal of Ethnopharmacology*; 143: 455–462.
- Pagano, T., G., Bernati, G., Zoccarato, I. (1986). Comparison of crude fiber and the Van Soest detergent methods for fiber determination in rabbit feeds. *J. Appl. Rabbit Res*; 9: 69-75.
- Payne, P., Artzer, M. (2009). The biology and control of *Giardia* spp and *Trichostrongylus axei*. *Vet Clin Small Anim*; 39: 993–1007.
- Peiretti, P., G., Gasco, L., Brugiapaglia, A., Gai, F. (2011). Effects of perilla (*Perilla frutescens* L.) seeds supplementation on performance, carcass characteristics, meat quality and fatty acid composition of rabbits. *Livestock Science*; 138:118-124.
- Plutzer, J., Ongerth, J., Karanis, P. (2010). Review *Giardia* taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*; 213: 321–333.
- Porter, J., D., H., Gaffney, C., Heymann, D., Parkin, W. (1990). Food-borne outbreak of *Giardia lamblia*. *American Journal of Public Health*; 80 (10): 1259-1260.
- Raskin *et al.* (2002). Plants and human health in the twenty-first century. *Trends in biotechnology*; 20 (12): 522-531.
- Roxström- Lindquist, K., Palm, D., Reiner, D., Ringqvist, E., Svärd, G., S. (2006) *Giardia* immunity- an update. *Trends in Parasitolog*; 22(1): 26-31.
- Sabalette, M., T., Burgio, F., Fariñas, G., F. (2011). Giardiasis en mascotas y humanos: ¿una zoonosis emergente?. *Portal veterinario Argos*. Recuperado el 3 de mayo de 2014 de: <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/6748/ARTICULOS-ARCHIVO/Giardiasis-en-mascotas-y-humanos:-una-zoonosis-emergente?.html>

- Sepúlveda, J., G., Reyna, A., C., Chaires, M., L., Bermúdez, T., K., Rodríguez, M., M. (2009). Antioxidant activity and content of phenolic compounds and flavonoids from *Justicia spicigera*. *Journal of Biological Sciences*; 9(6): 629-632.
- SIIT. (2013). Clasificación taxonómica. Recuperado el 25 de enero del 2013, de [http://www.cbif.gc.ca/pls/itisca/taxaget?p\\_ifx=plglt&p\\_lang=es](http://www.cbif.gc.ca/pls/itisca/taxaget?p_ifx=plglt&p_lang=es)
- SSA. (2014). Anuarios de Morbilidad. Recuperado el 28 de agosto del 2014, de <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html>
- Taddei- Bringas, G., A., Santillana- Macedo, M., A., Romero- Cancio, J., A., Romero- Téllez, M., B. (1999). Aceptación y uso de herbolaria en medicina familiar. *Salud pública de México*; 41 (3): 216- 220.
- Tank, D., C., Egger, M., J., Olmstead, R., G. (2009). Phylogenetic classification of subtribe Castillejinae (Orobanchaceae). *Systematic Botany*; 34(1): 182–197.
- Thompson, R., C., A. (2000). Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *International Journal for Parasitology*; 30: 1259- 1267.
- Thompson, R., C., A. (2004). The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Veterinary Parasitology*; 126: 15-35.
- Thompson, R., C., A., Monis, P., T. (2004). Variation in *Giardia*: Implications for Taxonomy and Epidemiology. *Advances in parasitology*; 58: 69- 137.
- Touz, M., C. (2012). The unique endosomal/lysosomal system of *Giardia lamblia*, molecular regulation of endocytosis. En Ceresa, B. (Ed.), *Molecular regulation of endocytosis*. In Tech (pág 277-298).
- Trocino, A., Fragkiadakis, M., Majolini, D., Carabaño, R., Xiccato, G. (2011). Effect of the increase of dietary starch and soluble fibre on digestive efficiency and growth performance of meat rabbits. *Animal Feed Science and Technology*; 165: 265-277.

- Varga, M. (2014). Therapeutics. En: Varga, M. Textbook of rabbit medicine. 2<sup>nd</sup> ed. Butterworth-Heinemann. China, 137-177.
- Vázquez, T., O., Campos, R., T. (2009). Giardiasis. La parasitosis más frecuente a nivel mundial. *Revista del Centro de Investigación. Universidad La Salle México*; 8 (31): 75-90.
- Velázquez, C., Calzada, F., Torres, J., González, F., Ceballos, G. (2006). Antisecretory activity of plants used to treat gastrointestinal disorders in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*; 103: 66–70.
- WHO, IARC. (2002). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 82. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. Lyon, Francia: IARC Press.
- WHO. (2012). Cap. 3.2.2 Protozoan infections. En *Research priorities for zoonoses and marginalized infections* (pp. 31-34). Ginebra, Suiza: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
- Wu, K.- M., Ghantous, H., Birnkrant, D., B. (2008). Current regulatory perspectives on the development of herbal medicines to prescription drug product in the United States. *Food and Chemical Toxicology*; 46: 2606-2610.
- Zhang, W., *et al.* (2012). *Cryptosporidium cuniculus* and *Giardia duodenalis* in rabbits: Genetic diversity and possible zoonotic transmission. *PLoS ONE*; 7(2):e31262.