



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto antihelmíntico del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* comparada con albendazol, frente a *Áscaris lumbricoides*, in vitro.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Médico Cirujano

AUTORA:

Salinas Aguilar, Diana Pristila (ORCID: 0000-0003-1425-2746)

ASESORES:

Dra. Llaque Sánchez, María Rocío del Pilar (ORCID: 0000-0002-6764-4068)

Dra. Yupari Azabache Irma Luz (ORCID: 0000-0002-0030-0172)

Mg. Polo Gamboa, Jaime Abelardo (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades Infecciosas y transmisibles

TRUJILLO – PERÚ

2020

DEDICATORIA

A MI MADRE

Por ser mi pilar y motivo durante toda mi vida, por el amor infinito y apoyo constante que siempre me brindas, por nunca permitirme flaquear, gracias por tus consejos y palabras de aliento, me han ayudado a crecer como persona y a luchar por lo que quiero, gracias porque siempre estuviste ahí. Esto es para ti. Te amo.

A IAN

Por tú amor, tranquilidad, apoyo incondicional, porque siempre confiaste en mí y sobre todo por ser en cada momento mi fuente inagotable de compromiso y superación. Esto es por ti. Te adoro.

A MIS HERMANOS

Por lo que representan para mí y por estar en los momentos más importantes de mi vida. Este logro es también de ustedes.

SALINAS AGUILAR, DIANA PRISTILA

AGRADECIMIENTO

A Dios

Por brindarme la vida y fortaleza necesaria para seguir adelante.

A mi familia

Por su amor, motivación y apoyo. Gracias por creer en mí siempre.

A mi Universidad César Vallejo

Por haberme albergado durante estos años y brindarme docentes de calidad para poder forjar mi camino profesional.

A mis asesores: Dra Llaque, Dra Yupari y Dr Polo

Por su paciencia, apoyo, orientación y sobre todo por su preocupación, sin ellos no hubiera podido lograrlo.

SALINAS AGUILAR, DIANA PRISTILA

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
III.METODOLOGÍA.....	7
3.1 Tipo y diseño de investigación.....	7
3.2 Variables y operacionalización.....	7
3.3 Población, muestra y muestreo.....	8
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	8
3.5 Procedimientos.....	9
3.6 Métodos de análisis de datos.....	9
3.7 Aspectos éticos.....	9
IV.RESULTADOS.....	9
V. DISCUSIÓN	9
VI.CONCLUSIONES.....	12
VII. RECOMENDACIONES.....	12
REFERENCIAS.....	12
ANEXOS.....	18

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Datos descriptivos de la media del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de <i>Áscaris lumbricoides</i> según días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> y albendazol 400 mg/10 ml.	10
TABLA 2: Datos descriptivos del porcentaje de la media de inhibición de la eclosión de huevos de <i>Áscaris lumbricoides</i> a los 15 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> y albendazol.	11
TABLA 3: ANOVA del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de <i>Áscaris lumbricoides</i> a los 15 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> y albendazol.	11
TABLA 4: Prueba post ANOVA de Tukey, del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de <i>Áscaris lumbricoides</i> a los 15 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> y albendazol.	12
TABLA 5: Datos descriptivos del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de <i>Áscaris lumbricoides</i> a los 21 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> y albendazol	13
TABLA 6: ANOVA del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de <i>Áscaris lumbricoides</i> a los 21 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> y albendazol.	13
TABLA 7: Prueba post ANOVA de Tukey, del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de <i>Áscaris lumbricoides</i> a los 21 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> y albendazol.	14

ÍNDICE DE FIGURAS

- FIGURA 01:** Porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Áscaris lumbricoides* según los días de observación 1°,5",10°,15° Y 21° días. 10
- FIGURA 2:** Diagrama de cajas y bigotes del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Áscaris lumbricoides* a los 15 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* y albendazol 12
- FIGURA 3:** Diagrama de cajas del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Áscaris lumbricoides* a los 21 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* y albendazol. 14

RESUMEN

Se determinó el efecto antihelmíntico del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* al 100%, 80% y 60% sobre los huevos de *Áscaris lumbricoides* comparado con albendazol, in vitro. Se estudiaron 60 muestras, divididas en cinco grupos, con extracto oleoso de la hoja, albendazol y suero fisiológico. El proceso duró 21 días, empleando la técnica de Egg Hatch Test, encontrando los siguientes resultados: albendazol a las 24 horas inhibió completamente la eclosión de los huevos, el extracto oleoso de la planta al 100% inhibió la eclosión de huevos a partir del día 15 (59.40%). Al día 21, el extracto oleoso al 100% aumenta la inhibición de la eclosión de los huevos (67.19%); menor inhibición evidenció con las concentraciones al 80% (54.90%) y 60% (51.96%). Se concluye que el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* tiene efecto antihelmíntico frente a huevos de *Áscaris lumbricoides*, mostrando mayor efecto inhibitorio cuando el tiempo de exposición y concentración del extracto oleoso aumenta.

Palabras clave: Efecto antihelmíntico, extracto oleoso, *Dysphania ambrosioides*, *Áscaris lumbricoides*, Albendazol.

ABSTRACT

This study assessed the anthelmintic effect of 100%, 80% and 60% *Dysphania ambrosioides* leaf oil extract against *Ascaris lumbricoides* eggs compared to albendazole, in-vitro. A total of 60 samples, divided into five groups, were studied with leaf oil extract, albendazole and physiological serum. The process lasted 21 days, using the Egg Hatch Test technique, obtaining the following results: albendazole at 24 hours completely inhibited the hatching of the eggs, the plant oil extract at 100% inhibited the hatching of eggs from day 15 (59.40%). By day 21, the 100% oil extract increased the inhibition of egg hatching (67.19%); lower inhibition was evidenced with concentrations at 80% (54.90%) and 60% (51.96%). It is concluded that the oil extract of *Dysphania ambrosioides* leaf has an anthelmintic effect against *Ascaris lumbricoides* eggs, showing a greater inhibitory effect when the exposure time and concentration of the oil extract increase.

Keywords: Anthelmintic effect, oil extract, *Dysphania ambrosioides*, *Ascaris lumbricoides*, Albendazole.

I. INTRODUCCIÓN

Las infestaciones por helmintos tienen una enorme importancia y distribución a nivel mundial, están vinculadas a la indigencia y a la mala práctica higiénico-sanitaria apareciendo en países en vía de desarrollo. La parasitosis es más frecuente en niños 25%-75%, se produce tras la deglución de huevos, quistes o larvas.^{1 2 3}

La Organización Mundial de Salud, presume que la parasitosis intestinal afecta un aproximado de 1500 millones de personas a nivel mundial, en América Latina, se cree que 46 millones de niños están en riesgo de contraerla.⁴

En nuestro país, el 40% de niños entre los 2 y 5 años tienen parásitos según el Ministerio de Salud, en la Amazonía se encuentran el 60% de niños que sufren parasitosis, mientras que en la zona andina y costa entre un 50% y 40%. Los helmintos más frecuentes son *Enterobius vermicularis*, *Áscaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* entre otros; que suelen ocasionar dispepsia, diarrea, dolor abdominal, flatulencias, anemia, desnutrición, etc.^{5 6}

El tratamiento para la infestación de parasitosis intestinal es el Albendazol, un antiparasitario que deriva de los benzimidazoles y que actúa inhibiendo la polimerización de la tubulosa a nivel intestinal del helminto ocasionando una alteración en el metabolismo. Este fármaco es activo frente a *Áscaris lumbricoides* y otros helmintos, pero también genera reacciones adversas e interacciones por lo que es necesario buscar alternativas a base de medicina natural generando reducción en el costo y mayor accesibilidad a los antiparasitarios.^{7 8}

Nuestro país cuenta con una gran pluralidad de plantas con propiedades medicinales por lo tanto sigue siendo una opción terapéutica en la medicina tradicional. La alternativa para enfrentar la parasitosis por *Áscaris lumbricoides* se encuentra en *Dysphania ambrosioides*, su componente activo es el ascaridol que genera un efecto paralizante y narcótico en los helmintos, así lo demostró un estudio realizado en Trujillo por Pilioga ¹⁰, quien demostró actividad antihelmíntica de *Chenopodium ambrosioides*, al reducir en 100% la parasitosis en niños.^{8 9}

El problema: ¿Tiene efecto antihelmíntico el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* frente a los huevos de *Áscaris lumbricoides* comparada con Albendazol, in vitro?

Hoy en día existe una gran aceptación y uso de plantas con propiedades medicinales para tratar diferentes patologías tanto por sus diminutos efectos secundarios como por su disponibilidad y accesibilidad. Estos métodos naturales poseen el mismo efecto que los fármacos, siempre y cuando se tengan acceso a los productos farmacológicos. Ya sea por la disponibilidad económica o por el lugar donde radica cada individuo.

Existen diferentes estudios que están relacionados con el empleo de plantas medicinales para tratar parasitosis, dentro de ellas tenemos al *Dysphania ambrosioides*. Es por ello que esta investigación tiene como finalidad determinar el efecto antihelmíntico del compuesto activo del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides*, así mismo promover el uso de la medicina alternativa, como complemento de medicamentos que muchas veces ocasionan reacciones adversas, así mismo poder brindar a la población una alternativa económica y accesible. Por otro lado, tiene como propósito promover futuras investigaciones para que conozcan más acerca del componente activo y función de la planta, dándole gran valor a la medicina complementaria.

El Objetivo general: Determinar el efecto antihelmíntico del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* frente a los huevos de *Áscaris lumbricoides* comparada con Albendazol, in vitro. Objetivos específicos: Establecer la acción antihelmíntica del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* sobre la eclosión de huevos de *Áscaris lumbricoides* a las diluciones del 100%, 80% y 60%. Demostrar la actividad antihelmíntica del Albendazol frente a los huevos de *Ascaris lumbricoides*.

Hipótesis planteadas: H1: El extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* tiene efecto antihelmíntico frente a los huevos de *Áscaris lumbricoides* comparada con Albendazol, in vitro. H2: El extracto oleoso de la hoja

de *Dysphania ambrosioides* no tiene efecto antihelmíntico frente a los huevos de *Áscaris lumbricoides* comparada con Albendazol, in vitro.

II. MARCO TEÓRICO

Arroyo, et al.¹¹ (Ecuador, 2018) Estimaron la actividad antihelmíntica del extracto acuoso de “paico” comparado con albendazol en 21 terneros, la muestra parasitológica fue con el método Kato katz, recibiendo tratamiento oral. Concluyeron que el tratamiento convencional obtuvo 93.98% de reducción de parásitos considerándose efectivo mientras que el extracto de paico presentó 34.6% reflejando ser inefectivo.

Lazo ¹² (Nicaragua, 2017) realizaron un estudio sobre la eficacia antiparasitaria del extracto alcohólico de *Chenopodium ambrosioides* y *Cucurbita máxima*. Trabajaron en treinta y seis terneros de ambos sexos. La dosis fue de 10 ml por 3 días vía oral; se realizó análisis de heces 24 horas después de cada aplicación. Se observó la carga de quistes a través de la técnica de McMaster. Las confrontaciones de medias se efectuaron mediante Kruskal Wallis $P > 0,005$. Concluyendo que *Chenopodium ambrosioides* presenta 87% de efectividad y 13% de ineficiencia durante todo el tratamiento, la *Cucurbita máxima* presentó eficiencia del 73.4% en la primera dosis luego fue reduciendo su eficacia.

Clavijo, et al.¹³ (Ecuador, 2016) Estudió el extracto acuoso del *Chenopodium ambrosioides* como antiparasitario en 40 bovinos infestados con nematodos, recibieron el tratamiento vía oral. Se empleó la técnica de Mc Máster, luego se procedió a los exámenes coprocultivos a los 7, 14 y 21 días, se evidencia efectividad del *Chenopodium ambrosioides* al reducir la parasitosis en un 92.36% al día 7, 79.17% al día 14, 100% al día 21 y de 88.89 % durante todo el período de evaluación, demostrando ser eficaz.

Días, et al.¹⁴ (Brasil, 2016) Estudió la actividad antihelmíntica del extracto acuoso del paico en nemátodos, utilizó la técnica de Egg Hatch Test. Uso 30 cabras, los

dividió en 3 grupos, el primero recibió el paico a dosis de 700 mg/kg durante 8 días, el segundo fue tratado con albendazol a dosis de 6.3mg/kg y el último grupo no recibió tratamiento. Se realizaron exámenes de coprocultivos demostrando que la eficacia del paico fue al 90% al no permitir la eclosión de huevos, mientras que el albendazol tuvo un efecto al 100%.

Navone, et al.¹⁵ (Argentina, 2014) investigó el efecto de paico contra enteroparásitos, el estudio estuvo conformada por 148 personas siendo seleccionadas por sexo, se suministró el paico en tintura, el coprocultivo se realizó a través examen directo. Los resultados fueron que los parasitados con *Áscaris lumbricoides* redujo de 20.8% a 0%, *Entamoeba coli* de 30.8% a 0%, siendo eficaces para estos, por otro lado, presentó resistencia para *Giardia lamblia*.

Guerra M, et al.¹⁶ (Cuba ,2010) realizan una investigación de la validación del uso tradicional de plantas medicinales de *Artemisia absinthium*, *Stachytarpheta jamaicensis* y *Chenopodium ambrosioides*. Para la actividad antiparasitaria se utilizó el aislamiento C-5 de G y se cultivó en TYI-S-33 suplementado con 10 % de suero bovino. Se efectuó la lectura a 540 nm en un lector ELISA, se concluyó que *Chenopodium ambrosioides* presentó 70% de inhibición de crecimiento considerándose tener efectividad antiparasitaria.

Castillo ¹⁷ (Perú, 2018) estudió el efecto antiparasitario del extracto etanólico del paico frente a nemátodos intestinales, empleó el método de Egg Hatch Test. Los resultados fueron que la concentración del 100% y 75% de la planta inhibe al 100%la eclosión de los huevos.

Abarca, et al.¹⁸ (Perú, 2014) investigan parásitos que perjudican a 201 escolares del nivel primario y la eficacia del Paico y Zapallo para tratarlos. Procesaron las muestras (heces) a través del método kato-katz. El Paico mostró eficiencia del 70% sobre *Áscaris lumbricoides* y resistencia del 30% sobre *Giardia lamblia*. El zapallo, disminuyó la parasitosis en 80% y presentó ineffectividad del 20% contra *Giardia lamblia*. Concluyen que los dos productos son buenos en el tratamiento antiparasitario.

La infección ocasionada por parásitos intestinales es generada por la engullición de quistes, larvas de gusanos, huevos o por entrada a través de la piel desde el suelo contaminado. Estos ejecutan un trayecto diferente en el huésped de tal manera que alteran uno o más órganos, se cataloga de acuerdo al tipo de parásito y alteración que provocan en los distintos sistemas y órganos. La infestación intestinal generada por parásitos se divide en 2 grupos: protozoos y helmintos, siendo este último el más frecuente.^{19 20}

En el grupo de helmintos se encuentra el *Áscaris lumbricoides*, este nematodo forma parte de la familia Ascarididae, género *Ascaris*, especie *lumbricoides*, mide hasta 40 cm de largo, siendo el de mayor tamaño que habita en el hombre, su hábitat es el tracto gastrointestinal. Posee tres fases evolutivas: adulto, larva y huevo, siendo este último expulsado en las heces, de acuerdo a las condiciones del ambiente, por lo general se encuentran en suelos con aspecto arcilloso y con humedad, temperie cálida o templada; en estas áreas los huevos pueden vivir por mucho tiempo.²¹

La hembra llega a poner hasta 200 000 huevos por día, donde los fertilizados tienen una apariencia de ovalado, arrugado, miden 45 x 65 um, color amarillo y en dentro de ellos se encuentra una célula cigoto. Los no fertilizados son más grandes, irregulares, granuloso y amorfo.²²

La infección en los humanos se produce por los huevos embrionados, que es la forma infectante del helminto. Luego de ser deglutidos, las larvas eclosionan en el intestino delgado, lo traspasan y hacen un recorrido hasta llegar a los espacios alveolares posterior a ello alcanzan la laringe y faringe, son engullidos y llegan hasta el intestino delgado donde se convierten en adultos. Se necesita de 2 meses desde la engullición hasta la producción de huevos. Se alimentan de lo que el hospedador consume generando una alteración en la absorción intestinal ocasionando desnutrición.²³

En la etapa de migración pulmonar, el cuadro clínico depende de la exacerbación de la infestación y la exposición. Las larvas generan disidencia de capilares y paredes alveolares, ocasionando hemorragias y una etapa inflamatoria diseminada, eosinofilia local y sanguínea. Este periodo puede pasar desapercibido, porque ofrece un cuadro de gripe común u ocasionar una neumonitis eosinofílica (síndrome de Loeffler), a veces puede ser febril, puede vincularse a tos, expectoración con o sin hemoptisis, sibilancias, estertores y cuadro de consolidación pulmonar, broncoespasmo y eosinofilia periférica de intensidad variable. Las complicaciones más usuales del *Ascaris lumbricoides* son obstrucción intestinal, apendicitis entre otras.²⁴

El tratamiento convencional de la helmintiasis es con benzimidazoles dentro de los cuales está el Albendazol, actúa al unirse a la tubulina del helminto para inhibir la polimerización de los microtúbulos, ocasionando una alteración en el metabolismo del agente provocando inmovilización y muerte. Posee respuestas contrarias como diarrea, náuseas, vómitos, dolor abdominal, cefalea, fiebre entre otras. Motivo por lo cual es de suma importancia desarrollar tratamientos alternativos para la parasitosis. En nuestra actualidad contamos con medicina tradicional, por lo que una nueva alternativa benéfica y de bajo costo es el tratamiento con *Dysphania ambrosioides*.^{25 26}

El *Dysphania ambrosioides*, es del reino vegetal, forma parte de la familia Amaranthaceae, subfamilia Chenopodioideae, género *Dysphania*, especie *ambrosioides*, conocido con el nombre vulgar de paico, es una hierba utilizada desde la etapa pre hispánicas, es erecta, de olor fuerte, puede medir hasta 1 metro de altura, su tronco puede ser ramificado o simple, posee hojas de color verde oscuro ovoides y de bordes dentados, mide 10cm de largo y 5 cm de ancho, con flores verdes en panículos terminales, con 5 sépalos cada una, circunda el cáliz al fruto, las semillas son de color negro y miden 0.8 mm de longitud, crece en suelos ricos en nitrógeno nítrico, materia orgánica y suficiente humedad, está compuesto de aceite esencial, ascaridol, taninos, entre otros.^{27 28}

El paico se emplea tanto en extracto y aceite esencial, está compuesto por abundante sesquiterpenos y monoterpenos, el componente más importante es el

ascaridol la cual le otorga actividad antiprotozoaria y antihelmíntica tales como *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium falciparum*, *Ascaris lumbricoides* entre otras; se usa también para otros padecimientos tales como cólicos, diarrea y en vómitos. En nuestro territorio lo usan para tratar parasitosis, la manera de suministrar es jugo fresco de la planta en ayunas por tres días, según las revisiones de la OMS, la dosis sería de 20 g de hierba. Posee actividad hipotensor, depresor cardíaco, estimulante respiratorio, relajante muscular y espasmódica.^{27 29}

El componente activo del paico es el ascaridol, posee densidad 1,0113, masa molecular de 168.23 mol, ebullición de 37° a 38°C y punto de congelamiento 3.3°C. Su función radica en alterar a la mitocondria, al inhibir la enzima fumarato reductasa, el cual permite convertir el fumarato a succinato, y permite la respiración anaeróbica. Al haber alteración metabólica se genera una disminución en la conducción de glucosa, proceso que produce energía necesaria para la movilidad de las larvas presentes en los huevecillos, generando un efecto paralizante, por ende, ocasiona la lisis y desprendimiento del helminto que está adherido en el tejido intestinal.^{30 31}

III. METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de investigación

Tipo investigación: Básico.³²

Diseño de investigación: Fue experimental puro, de estímulo creciente con repeticiones múltiples y post prueba.³³ (Anexo 01)

3.2 Variables y operacionalización (Anexo 02)

Variable independiente: Agente Antihelmíntico

- **No farmacológico:** Extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides*.
- **Farmacológico:** Albendazol 400 mg/10 ml.

Variable dependiente: Efecto antihelmíntico.

- Con efecto: Inhibición >50% de los huevos

- Sin efecto: Inhibición <50% de los huevos

3.3 Población, muestra y muestreo

Población: Estuvo conformado por todos los huevos fértiles e infectantes de *Áscaris lumbricoides*.

Criterios de inclusión:

- Huevos de *Ascaris lumbricoides* fértiles e infectantes, recién expulsados que no tuvieron contacto con algún antiparasitario.

Criterios de exclusión:

- Huevos de *Ascaris lumbricoides* infértiles, decorticados, conservados en fijadores.
- Hojas de la planta que hayan sido tratadas con herbicidas o fungicidas, o estén deterioradas.

Muestra: Se aplicó la fórmula que nos permite calcular la diferencia de 2 proporciones. Se obtuvieron 12 repeticiones para cada grupo. Adquiriendo un total de 60 observaciones.³⁷ (Anexo 03)

Muestreo: Se aplicó muestreo probabilístico aleatorio simple.³⁷

Unidad de análisis: Cada uno de los huevos fértiles e infectantes del helminto en estudio.

Unidad de muestreo: Cada tubo de ensayo conteniendo huevos viables del helminto.

III.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica: Se realizó mediante la observación del proceso experimental.³²

Instrumento

Se utilizó una ficha de recolección de datos que fue elaborada por el autor de la investigación, los resultados fueron registrados de manera codificada. (Anexo 04)

Validación y confiabilidad del instrumento

El instrumento fue revisado por tres especialistas³² conformado por dos biólogos y un médico especialista en medicina complementaria, quienes garantizaron que el instrumento recoge todas las variables considerados en el presente estudio. (Anexo 05)

3.5 Procedimientos: En la investigación se siguieron los siguientes pasos:

1. Certificación de la planta que se utilizó, *Dysphania ambrosioides*. (Anexo 06)
2. Se obtuvo el extracto oleoso de *Dysphania ambrosioides* a través del método arrastre de vapor de agua.³⁸ (Anexo 07)
3. Obtención y conservación de los huevos de *Áscaris lumbricoides* a través del método de Coles.³⁹ (Anexo 08)
4. Evaluación de la actividad antihelmíntica a través del método Egg Hatch Inhibition Test.⁴⁰ (Anexo 09)

3.6 Métodos de análisis de datos:

Los datos obtenidos fueron procesados en Microsoft Excel 2019, posterior a ello en Software estadístico IBM SPSS vs 26. Luego se contrastó los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, comprobando que los datos tienen un comportamiento normal y sus varianzas son homogéneas, por lo que se aplicaron las pruebas estadísticas de análisis de varianza (ANOVA) y prueba post hoc de TUKEY. Así mismo se utilizó el Diagrama de Cajas y bigotes para interpretar la confrontación de la eficacia del extracto oleoso de *Dysphania ambrosioides* y se complementa con pruebas estadísticas descriptivas como la media y desviación estándar.^{32 37}

3.7 Aspectos éticos:

La investigación se realizó bajo el cumplimiento del Manual de Bioseguridad, según Norma Técnica N° 18- MPR-CNSP-013⁴¹ y de acuerdo a la ley sobre la conservación y aprovechamiento sostenible de la biodiversidad N° 26839.⁴²

IV. RESULTADOS

TABLA 1: Datos descriptivos de la media del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* según días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* y albendazol 400 mg/10 ml.

Tratamiento	Media del % de inhibición				
	Día 1	Día 5	Día 10	Día 15	Día 21
*EOHDA al 100%	8	8	16.27	58.99	67.19
EOHDA al 80%	3.00	3.00	9.43	44.80	55.17
EOHDA al 60%	1.11	1.11	6.02	21.04	51.84
Albendazol	100	100	100	100	100
Suero fisiológico	0	0	0	0	0

Fuente: Reporte SPSS Vs 26

*EOHDA: Extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides*.

TABLA 2: Datos descriptivos del porcentaje de la media de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* a los 15 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* y albendazol.

Grupos	N	Media (%)	Des v. Desviación	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
ALBENDAZOL	12	100.0000	0.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
SUERO FISIOLÓGICO	12	0.0000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
*EOHDA al 60%	12	21.0917	5.63035	17.5143	24.6690	13.80	28.60
EOHDA al 80%	12	45.3167	13.64670	36.6460	53.9874	29.20	76.20
EOHDA al 100%	12	59.4000	12.64516	51.3657	67.4343	38.10	81.80

Fuente: Reporte SPSS Vs 26

*EOHDA: Extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides*.

TABLA 3: ANOVA del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* a los 15 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* y albendazol.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	69947.256	4	17486.814	231.409	0.000
Dentro de grupos	4156.166	55	75.567		
Total	74103.422	59			

Fuente: Reporte SPSS Vs 26

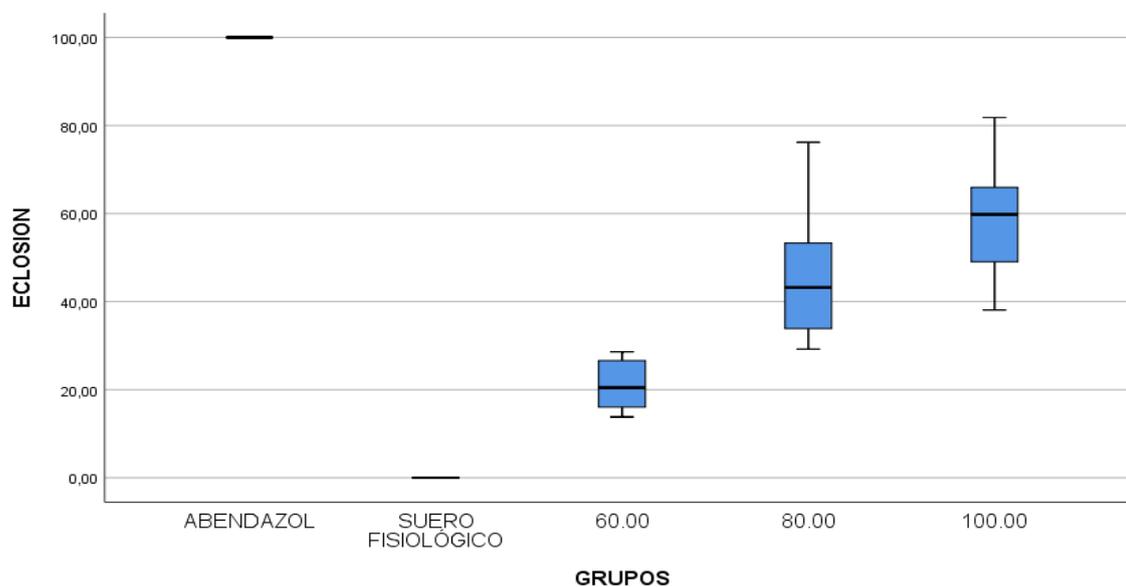
TABLA 4: Prueba post ANOVA de Tukey, del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* a los 15 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* y albendazol.

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
NaCl 9%	12	0.0000				
*EOHDA 60%	12		21.0917			
EOHDA 80%	12			45.3167		
EOHDA 100%	12				59.4000	
ALBENDAZOL	12					100.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Fuente: Reporte SPSS Vs 26

*EOHDA: Extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides*.

FIGURA 2: Diagrama de cajas y bigotes del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* a los 15 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* y albendazol.



Fuente: Tabla 2, Reporte SPSS Vs 26

TABLA 5: Datos descriptivos del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* a los 21 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* y albendazol.

Grupos	N	Media	Desv. Desviación	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
ALBENDAZOL	12	100.0000	0.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
NaCl 9%	12	0.0000	0.00000	0.0000	0.0000	0.00	0.00
*EOHDA 60,00	12	51.9667	7.53083	47.1818	56.7515	37.50	60.90
EOHDA 80,00	12	54.9000	11.79114	47.4083	62.3917	28.60	69.20
EOHDA 100,00	12	67.1917	15.45942	57.3692	77.0141	38.90	90.00

Fuente: Reporte SPSS Vs 26

*EOHDA: Extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides*.

TABLA 6: ANOVA del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* a los 21 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* y albendazol.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	62492.046	4	15623.012	179.6	0.000
				83	
Dentro de grupos	4782.116	55	86.948		
Total	67274.162	59			

Fuente: Reporte SPSS Vs 26

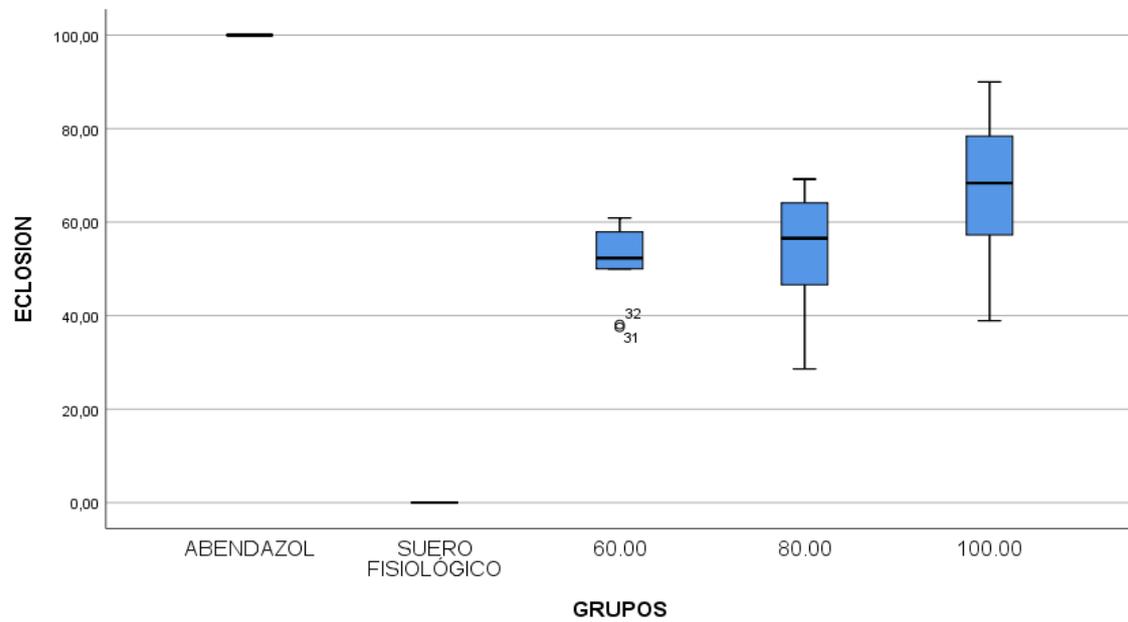
TABLA 7: Prueba post ANOVA de Tukey, del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* a los 21 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* y albendazol.

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
NaCl 9%	12	0.0000			
*EOHDA 60%	12		51.9667		
EOHDA 80%	12		54.9000		
EOHDA 100%	12			67.1917	
ALBENDAZOL	12				100.0000
Sig.		1.000	0.938	1.000	1.000

Fuente: Reporte SPSS Vs 26

*EOHDA: Extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides*.

FIGURA 3: Diagrama de cajas del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* a los 21 días de tratamiento con el extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* y albendazol.



Fuente: Tabla, Reporte SPSS Vs 26

V. DISCUSIÓN

Se determinó el efecto antihelmíntico del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* sobre los huevos de *Ascaris lumbricoides* comparado con Albendazol, se analizaron 60 muestras, conteniendo los huevos del helminto y las diluciones del extracto al 100%, 80% y 60%, Albendazol y suero fisiológico. Se obtuvo muestras según los días de tratamiento (al 1°, 5°, 10°, 15° y 21 días). A continuación, se muestran los siguientes resultados:

Tabla 01, se observa que Albendazol desde el primer día de tratamiento evidencia lisis completa de los huevos al 100%, evitando la eclosión de los mismos. En relación a las diluciones del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* al 100% se observó que inicia el proceso de inhibición a partir del día 15 de tratamiento y va aumentando al finalizar el día 21 del experimento. Y en la figura 01, se aprecia la variación de la media del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* según los días de observación, con los diferentes tratamientos en estudio.

Tabla 02, se realiza el análisis del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos al día 15, observando que a la concentración al 100% del extracto oleoso el 59.40% no eclosionan, (IC 95% 51.36 – 67.43, con un rango de 38.10 a 81.80) considerándose un tratamiento eficaz (>50%). En la tabla 3, se evidencia que existe diferencia significativa entre los grupos de experimentación ($p < 0.05$). En la tabla 04, de Post ANOVA, se observa que el albendazol evita la eclosión de los huevos, seguido del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* al 100%. Y en la figura 02, se puede visualizar que a mayor concentración del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides*, mayor es el efecto inhibitorio de la eclosión de los huevos.

Tabla 5, a los 21 días de experimentación, se observa que al 60% de concentración del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides*, aumenta en un 51.96% el porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos (IC 95% 47.18 – 56.75, con un rango de 37.50 a 60.90), similar comportamiento fue al 80% con 54.90% de inhibición (IC 95% 47.40 – 62.39, con un rango de 28.60 a 69.20) y al

100% con 67.19% de inhibición (IC 95% 57.36 – 77.01, con un rango de 38.90 a 90.00), evidenciando que a mayor tiempo de exposición al aceite y mayor concentración del extracto oleoso, aumenta el efecto inhibitorio en la eclosión de los huevos.

En la tabla 06, el análisis ANOVA nos evidencia que los grupos de experimentación tienen diferencias significativas ($p < 0.05$). Y en la tabla 07, se corrobora que el grupo tratado con albendazol tuvo mayor efecto inhibitorio de la eclosión de los huevos, seguido de la dilución del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides*, al 100%, 80% y 60%, Los resultados se visualizan mejor en la figura 03.

Los resultados obtenidos en el experimento, son mayores que los reportados por Arroyo, et al.¹¹ (34.6% siendo inefectivo en su estudio). Otros autores encuentran mayor efecto antihelmíntico como Lazo ¹² (87%), Clavijo, et al.¹³ (reduce la parasitosis en un 92.36% al día 7, 79.17% al día 14, 100% al día 21 y de 88.89 % durante todo el período de evaluación), Días, et al.¹⁴ (90%), Navone, et al.¹⁵ (100%), Guerra M, et al.¹⁶ (70%), Castillo ¹⁷ (a la concentración del 100% y 75% de la planta inhibe al 100% la eclosión de los huevos) y Abarca, et al.¹⁸ (70%). Todos ellos consideran que a mayor concentración del extracto de paico y a mayor tiempo de tratamiento, el efecto antihelmíntico es mayor.

La diferencia en relación al menor porcentaje de inhibición encontrada en el presente estudio podría ser porque que en los estudios realizados por otros autores no usaron el extracto oleoso de *Dysphania ambrosioides*, predominaron el extracto alcohólico o acuoso, con lo cual probablemente se pudieron obtener mejor cantidad y calidad del principio activo, teniendo en cuenta que el efecto inhibitorio de la eclosión de los huevos del *Ascaris lumbricoides*, se debe a que la hoja de *Dysphania ambrosioides* contiene ascaridol que altera a la mitocondria, al inhibir la enzima fumarato reductasa, el cual permite convertir el fumarato a succinato, y permite la respiración anaeróbica. Al haber alteración metabólica se genera una disminución en la conducción de glucosa, proceso que produce energía necesaria para la movilidad de las larvas presentes en los huevecillos.^{30 31}

VI. CONCLUSIÓN

- El extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* tuvo efecto antihelmíntico frente a huevos de *Ascaris lumbricoides* comparada con albendazol.
- El extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* evidencia mejor efecto inhibitorio sobre la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* cuando aumenta la concentración del extracto (100%) y el tiempo de exposición al mismo (a los 21 días).
- El albendazol evidencia también efecto inhibitorio en la eclosión de los huevos frente *Ascaris lumbricoides*.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios que permitan valorar la mejor forma de administrar la planta y obtener mejores resultados.
- Comparar el efecto antihelmíntico con diferentes tipos de extractos como acuosos, etanólicos, etc.
- Ampliar el estudio a otros enteroparásitos patógenos para el hombre.
- Evaluar los principios activos aislados e identificados de *Dysphania ambrosioides*.
- Realizar estudios comparativos en modelos biológicos experimentales.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Park MS, Kim KW, Ha HK, Lee DH. Intestinal parasitic infection. *Abdom Imaging*. 2008 Mar; 33(2):166-171. Cited in PubMed; PMID: 17901912
2. Zonta ML, Garraza M, Castro L, Navone GT, Oyhenart E. Pobreza, estado nutricional y enteroparasitosis infantil: un estudio transversal en Aristóbulo del Valle, Misiones, Argentina. *Nutr Clín Diet Hosp* [internet]. 2011 May [Citado 2020 May 20]; 31(2):48-57. Disponible en: <https://revista.nutricion.org/PDF/pobreza-estado.pdf>
3. Jacinto E, Aponte E y Arrunátegui V. Prevalencia de parásitos intestinales en niños de diferentes niveles de educación del distrito de San Marcos, Ancash, Perú. *Med Hered* [internet]. 2012 Nov [Citado 2020 Abr 15]; 23(4):235-239. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v23n4/v23n4ao3.pdf>
4. Organización Mundial de la Salud. HelminCIAS transmitidas por el suelo. Madrid: Organización Mundial de la Salud, 2018. [acceso 20 de Marzo 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>
5. Minsa: en el Perú, el 40% de niños entre los 2 y 5 años de edad tienen parásitos: situación de Parasitosis en el Perú. *El Comercio*. 2018 Sept 30; Sect.A:1(col.5). (Citado el 30 abril 2020). Disponible en: <https://elcomercio.pe/peru/minsa-peru-40-ninos-2-5-anos-edad-parasitos-noticia-562192>
6. Organización Panamericana de la Salud. GeohelminCIAS. OPS/OMS. 2015 Enero. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5747:2011-informacion-general-geohelminCIAS&Itemid=4138&lang=es
7. Instituto Químico Biológico. Albendazol. (acceso 20 de febrero 2020). Disponible en: <https://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/m005.htm>
8. Cabieses F. La racionalización de lo irracional. *Apuntes de Medicina Tradicional*. 8° ed. A&B: S.A; 2016. <https://www.dropbox.com/s/fkasikmhhkrtad9/CABIESES%20%281993%29%20Apuntes%20de%20Medicina%20Tradicional%20Tomo%20I.pdf?dl=0>

9. León B, Pitman N, Roque J. Introducción de las plantas endémicas en el Perú. Rev Perú biol [internet].2006 Dic [citado 2020 Feb 12];13(2):9-22. Disponible en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332006000200004
10. Pilioga EP. Aplicación del extracto del paico en la eliminación de parásitos intestinales en niños y niñas del tercer grado C de primaria, de la institución Educativa Nacional Julio Gutiérrez Solari del C.P.M. [Tesis de grado]. Repositorio UCV: Universidad Privada Cesar Vallejo; 2009. Disponible en: <http://evypaulapiliolga.blogspot.com/2009/12/>
11. Arroyo JX, Cedeño MJ. Extracto de paico (Chenopodium ambrosioides) y su efecto antihelmíntico en terneros. [Tesis de pregrado]. Repositorio Espam MFL: Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí; 2018. Disponible en: <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/857>
12. Lazo CR. Evaluación de la efectividad de las tinturas de Cucúrbita máxima (Ayote) y Chenopodium ambrosioides (Apazote) para el control de Coccidiosis en terneros. [Tesis de pregrado]. Repositorio Una Edu: Universidad Nacional Agraria; 2017. Disponible en: <http://repositorio.una.edu.ni/3592/1/tnl73l431e.pdf>
13. Clavijo F, Barrera V, Rodríguez L, Mosquera J, Yanez I, Godoy G, et al. Evaluación del paico Chenopodium ambrosioides y chocho Lupinus mutabilis Sweet como antiparasitarios gastrointestinales en bovinos jóvenes. La granja [internet]. 2016 Jul[Citado 2020 Oct 30]; 24(2):95-110. Disponible en: <https://search.proquest.com/docview/2211954289/5329BD4797074462PQ/13?accountid=37408>
14. Dias G, Borges M, Gonçalves H, Alvaia J, Trindade E, Oliveira F, et al. Evaluation of the anthelmintic activity and toxicity of an aqueous extract of Chenopodium ambrosioides in goats. J Vet Med[Internet]. 2016 Oct [citado 2020 Oct 19];38(1):156-62. Disponible en: <http://rbmv.org/index.php/BJVM/article/view/265>

15. Navone G, Zonta L, Gamboa I. Fitoterapia Mbya-guaraní en el control de las parasitosis intestinales, un estudio exploratorio con *Chenopodium ambrosioides* L. var. *Anthelminticum* en cinco comunidades de misiones. *Rev Poli bot* [internet]. 2014 Feb [citado 2020 Feb 17]; 5(3):135-151. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/polib/n37/n37a8.pdf>
16. Guerra M, Torres D, Martínez. Validación del uso tradicional de plantas medicinales cultivadas en Cuba. *Rev Cub Plant Med* [internet]. 2001 Ago [citado 2020 Feb 10]; 6(2): 48-51. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962001000200003
17. Castillo N. Efecto antihelmíntico in vitro del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* comparado con albendazol sobre nemátodos intestinales. Trujillo, 2018. [Tesis de pregrado]. Repositorio UCV: Universidad Privada César Vallejo. 2019. Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/25640/castillo_jn.pdf?sequence=1&isAllowed=y
18. Abarca D, Gonzáles V. Efectividad del *Chenopodium ambrosioides* y *Cucurbita máxima* Duch” para el tratamiento de parasitosis en escolares de primaria, ciudad de Puno. *Rev Invest* [internet]. 2014 May [citado 2020 Mar 22]; 5(3):51-6. Disponible en: <http://www.revistaepgunapuno.org/index.php/investigaciones/article/view/22/16>
19. Martínez A, Sierra C. Parasitosis intestinales. *Rev Clin AEP* [internet]. 2008 Jul [citado 2020 Abr 13]; 89(53) 77-88. Disponible en: https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/parasitosis_0.pdf
20. Organización Mundial de la Salud. Helmintiasis transmitidas por el suelo. Nota descriptiva OMS [Internet]. 20 de febrero de 2018. [Consultado: 5 de setiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/soil->
21. Mirales P. *Ascaris lumbricoides*. Facultad de parasitología de la universidad de Lleida. [acceso 17 de febrero 2020] Disponible en:

<https://www.studocu.com/es/document/universitat-de-lleida/parasitologia/apuntes/tema-9-ascaris-lumbricoides/2517801/view?shared=u>

22. Uribarren T. Parasitología. 4ta edición. México: Hispano Americana;2019 (acceso 19 de febrero 2020) Disponible en: http://microypara.facmed.unam.mx/?page_id=2181
23. Aparicio M, Tajada P. Parasitosis intestinales. Rev Clin AEP [internet]. 2008 Jun [citado 2020 Mar 13]; 89(53): 375-384. Disponible en: <https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/parasitosis.pdf>
24. Faust E, Russell P. Parasitología Clínica. 2ºed. México: Hispano Americana;2005.
25. Bennett A, Guyatt H. Reducing intestinal nematode infection: efficacy of albendazole and mebendazole. Par Tod. 2000 Feb; 16(2):71- 4. Cited in PubMed; PMID: 10652492
26. Bolt A. Plantas medicinales. Rev Med Calc [internet]. 2012[citado 2020 Mar 13];23(16):61-63. Disponible en: <http://www.cenaturaleza.org/doc/1328225810Plantas%20Medicinales%20%C3%A1rea%20protegida%20Macizo%20de%20Pe%C3%B1as%20Blancas.pdf>
27. Gómez J. Revisión de sus características morfológicas, actividad farmacológica, y biogénesis de su principal principio activo, ascaridol. Rev Med [internet]. 2008 Jul [citado 2020 Mar 25]; 7(1):3 - 9. Disponible en <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85670103>
28. Paico (Chenopodium ambrosioides) [página web] 2016. [acceso 20 febrero de 2020] Disponible en: http://www.peruecologico.com.pe/flo_paico_1.htm
29. Mejía K, Renjifo E. Plantas medicinales de uso popular en la amazonia peruana. 2 ed. Perú: Asociación Gráfica Educativa; 2000. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/L017.pdf>
30. Burneo M. Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de ascaridol en el extracto hexánico de Chenopodium ambrosioides (paico) mediante cromatografía de gases-FID. [Tesis de Grado]. Repositorio RIUTPL: Universidad Técnica de Loja; 2012. Disponible en:

<http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/3161/1/TESIS%20BURNEO%20MARIA%20LORETO.pdf>

31. Cafferata L, Jeandupeux R, Rimada R. Método simple y rápido para la determinación de ascaridol en medio acuoso utilizando CLAE (RP-HPLC). Rev Farm Bona [internet]. 2005 Jul [Citado 2020 Febr 20]; 24(4):567-571 Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/24/4/LAJOP_24_4_3_2_5177IEM200.pdf
32. Hernández R, Fernández C y Baptista P. Metodología de la Investigación. México: McGraw-Hill Interamericana; 2010.
33. Tresierra A. Proyecto e informe de Tesis y Redacción científica. Industria gráfica ABC. Trujillo 2013.
34. Lorenzo P, Moreno A, Leza J, Lizasoain I, Moro M, Portoles A. Farmacología básica y clínica. 18a ed. Madrid-España: Médica Panamericana; 2009.
35. Brunton L, Lazo S, Parker L. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la Terapéutica. 13va ed. España: Mc Graw-Hill-Lange; 2019.
36. Jabbar A, Arfan M, Iqbal Z. Anthelmintic activity of *Chenopodium album* (L.) and *Caesalpinia crista* (L.) against trichostrongylid nematodes of sheep. Rev Cub Els [Internet]. 2007 Oct [citado 2020 Mar 15]; 114(1): 86-91. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874107003704>
37. Wayne D. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 4ta. edición México: Limusa, 2006
38. Pandey A, Tripathi S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. Journal of Pharm and Phyt [Internet]. 2014 Nov [citado 2020 Abr 19]; 2(5): 115-119 Disponible en: <http://bit.ly/2N0B3Vb>
39. Coles GC, Jackson F, Pomroy WE, Prichard R, Sanson G. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Vet Paras [Internet]. 2006 Mar [citado 2020 Feb 15]; 136(3): 167-185. Disponible en:

<https://www.mcgill.ca/parasitology/files/parasitology/prichard23.pdf>

40. Zenebe S, Feyera T, Assefa S. In Vitro Anthelmintic Activity of Crude Extracts of Aerial Parts of *Cissus quadrangularis* L. and Leaves of *Schinus molle* L. against *Haemonchus contortus*. *Bio Med Research Inter* [Internet]. 2017 Jun [citado 2020 Feb 22]; 22(8): 1-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5749317/>
41. Manual de bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos. [Internet]. 3ra ed. Perú: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2005. [Citado 03 May 2020]. Disponible desde: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1669.pdf>
42. Ley sobre la conservación y aprovechamiento sostenible de la diversidad biológica. [Internet]. Ley N° 26839. Perú. [Citado 15 sep 2020]. Disponible en: <https://sinia.minam.gob.pe/normas/ley-conservacion-aprovechamiento-sostenible-diversidad-biologica#:~:text=Ley%20N%C2%B0%2026839%20.,Sostenible%20de%20la%20Diversidad%20Biol%C3%B3gica.&text=La%20presente%20ley%20norma%20la,la%20Constituci%C3%B3n%20Pol%C3%ADtica%20del%20Per%C3%BA.>

ANEXOS

ANEXO 01

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

RG1 X1 O1

RG2 X2 O2

RG3 X3 O3

RG4 X4 O4

RG5 X5 O5

RG: Grupo de análisis.

X1: Extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* al 100%.

X2: Extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* al 80%.

X3: Extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* al 60%.

X4: Tratamiento con Albendazol.

X5: Control negativo: Suero fisiológico.

O: Inspecciones de la eclosión de huevos.

ANEXO 02

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
VI: Agente Antihelmíntico	Compuesto o medicamento para tratar infestaciones ocasionadas por parásitos. ³⁴ No farmacológico: Extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> . Farmacológico: Albendazol 400 mg/10ml.	Extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> dividido en las siguientes diluciones: 100% 80% 60% Tratamiento con Albendazol NaCl 0.9%.	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5	Cualitativa nominal.
VD: Efecto antihelmíntico	Se le domina a la interrupción de formación y crecimiento del helminto por la presencia de un antiparasitario y con dosis ya establecida. ³⁵	Se considera efectivo de acuerdo al porcentaje de inhibición de la no eclosión de huevos, según método Egg Hatch Inhibition Test. ³⁶	Efecto antihelmíntico >50% de la no eclosión. No efecto antihelmíntico < 50% de la no eclosión.	Cualitativa nominal.

ANEXO 03

TAMAÑO DE MUESTRA

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 [p_1(1 - p_1) + p_2(1 - p_2)]}{(p_1 - p_2)^2}$$

Dónde:

- $Z\alpha = 1,64$ Nivel de confianza del 95%
- $Z\beta = 0,84$ Potencia de prueba del 80%
- $P_1 = 1$
- $P_2 = 0.93$ ¹¹

$$n = 12$$

Tendrá 12 repeticiones para cada grupo. Obteniendo un total de 60 observaciones.

ANEXO 04

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS INHIBICIÓN DE LA ECLOSIÓN DE
HUEVOS DE ASCARIS LUMBRICOIDES**

(Expresado en porcentajes)

DIA 1

N° Repet	TOTAL	INHIBICIÓN DE LA ECLOSIÓN DE HUEVOS DE <i>ASCARIS LUMBRICOIDES</i>																	
		Extracto oleoso de <i>Dysphania ambrosioides</i>									Albendazol 40 mg/ml			Suero fisiológico NaCl 0,9%					
		100%			TOTAL	80%			TOTAL	60%			TOTAL	Inh	NoInh	%	Inh	NoInh	%
		Inh	NoInh	%		Inh	NoInh	%		Inh	NoInh	%							
1	22	0	22	0.0	25	0	25	0.0	18	0	18	0.0	25	0	100.0	0	30	0.0	
2	29	0	29	0.0	17	0	17	0.0	22	0	22	0.0	24	0	100.0	0	27	0.0	
3	25	0	25	0.0	26	0	26	0.0	27	0	27	0.0	23	0	100.0	0	23	0.0	
4	18	0	18	0.0	25	0	25	0.0	27	0	27	0.0	26	0	100.0	0	28	0.0	
5	24	0	24	0.0	20	0	20	0.0	21	0	21	0.0	21	0	100.0	0	22	0.0	
6	20	0	20	0.0	19	0	19	0.0	24	0	24	0.0	25	0	100.0	0	18	0.0	
7	21	0	21	0.0	29	0	29	0.0	19	0	19	0.0	24	0	100.0	0	19	0.0	
8	27	0	27	0.0	24	0	24	0.0	22	0	22	0.0	18	0	100.0	0	26	0.0	
9	25	0	25	0.0	20	0	20	0.0	20	0	20	0.0	18	0	100.0	0	26	0.0	
10	20	0	20	0.0	26	0	26	0.0	28	0	28	0.0	26	0	100.0	0	24	0.0	
11	23	0	23	0.0	22	0	22	0.0	29	0	29	0.0	24	0	100.0	0	23	0.0	
12	22	0	22	0.0	28	0	28	0.0	23	0	23	0.0	27	0	100.0	0	20	0.0	

DIA 5

N° Repet	TOTAL	INHIBICIÓN DE LA ECLOSIÓN DE HUEVOS DE <i>ASCARIS LUMBRICOIDES</i>																	
		Extracto oleoso de <i>Dysphania ambrosioides</i>									Albendazol 40 mg/ml			Suero fisiológico NaCl 0,9%					
		100%			TOTAL	80%			TOTAL	60%			TOTAL	Inh	NoInh	%	Inh	NoInh	%
		Inh	NoInh	%		Inh	NoInh	%		Inh	NoInh	%							
1	18	0	18	0.0	19	1	18	5.3	20	0	20	0.0	24	0	100.0	0	24	0.0	
2	19	0	19	0.0	20	0	20	0.0	18	0	18	0.0	25	0	100.0	0	25	0.0	
3	17	3	14	17.6	22	0	22	0.0	19	1	18	5.3	20	0	100.0	0	24	0.0	
4	18	3	15	16.7	23	1	22	4.3	24	1	23	4.2	24	0	100.0	0	29	0.0	
5	18	0	18	0.0	19	2	17	10.5	20	1	19	5.0	28	0	100.0	0	20	0.0	
6	20	1	19	5.0	20	2	18	10.0	22	0	22	0.0	21	0	100.0	0	21	0.0	
7	17	5	12	29.4	24	0	24	0.0	21	0	21	0.0	20	0	100.0	0	25	0.0	
8	18	2	16	11.1	25	0	25	0.0	28	0	28	0.0	27	0	100.0	0	19	0.0	
9	20	0	20	0.0	23	0	23	0.0	19	0	19	0.0	29	0	100.0	0	19	0.0	
10	24	2	22	8.3	25	0	25	0.0	26	0	26	0.0	19	0	100.0	0	23	0.0	
11	20	0	20	0.0	26	1	25	3.8	27	0	27	0.0	24	0	100.0	0	20	0.0	
12	16	2	14	12.5	21	1	20	4.8	27	0	27	0.0	23	0	100.0	0	24	0.0	

DIA 10

N° Repet	TOTAL	INHIBICIÓN DE LA ECLOSIÓN DE HUEVOS DE <i>ASCARIS LUMBRICOIDES</i>																
		Extracto oleoso de <i>Dysphania ambrosioides</i>											Albendazol 40 mg/ml			Suero fisiológico NaCl 0,9%		
		100%			TOTAL	80%			TOTAL	60%								
		Inh	No Inh	%		Inh	No Inh	%		Inh	No Inh	%	Inh	No Inh	%	Inh	No Inh	%
1	22	3	19	13.6	23	2	21	8.7	25	2	23	8.0	22	0	100.0	0	21	0.0
2	23	3	20	13.0	24	1	23	4.2	25	0	25	0.0	25	0	100.0	0	20	0.0
3	24	4	20	16.7	20	1	19	5.0	21	0	21	0.0	16	0	100.0	0	19	0.0
4	27	5	22	18.5	18	0	18	0.0	24	1	23	4.2	19	0	100.0	0	24	0.0
5	25	2	23	8.0	18	3	15	16.7	22	2	20	9.1	18	0	100.0	0	25	0.0
6	24	7	17	29.2	21	2	19	9.5	24	3	21	12.5	18	0	100.0	0	20	0.0
7	24	3	21	12.5	22	2	20	9.1	16	0	16	0.0	19	0	100.0	0	27	0.0
8	20	7	13	35.0	21	1	20	4.8	20	2	18	10.0	24	0	100.0	0	28	0.0
9	32	8	24	25.0	26	1	25	3.8	20	2	18	10.0	20	0	100.0	0	28	0.0
10	26	4	22	15.4	25	4	21	16.0	21	1	20	4.8	23	0	100.0	0	20	0.0
11	27	2	25	7.4	23	6	17	26.1	22	1	21	4.5	27	0	100.0	0	18	0.0
12	21	0	21	0.0	24	2	22	8.3	26	2	24	7.7	17	0	100.0	0	23	0.0

DIA 15

N° Repet	TOTAL	INHIBICIÓN DE LA ECLOSIÓN DE HUEVOS DE <i>ASCARIS LUMBRICOIDES</i>																
		Extracto oleoso de <i>Dysphania ambrosioides</i>											Albendazol 40 mg/ml			Suero fisiológico NaCl 0,9%		
		100%			TOTAL	80%			TOTAL	60%								
		Inh	No Inh	%		Inh	No Inh	%		Inh	No Inh	%	Inh	No Inh	%	Inh	No Inh	%
1	21	12	9	57.1	24	13	11	54.2	27	7	20	25.9	25	0	100.0	0	17	0.0
2	23	15	8	65.2	21	16	5	76.2	28	7	21	25.0	24	0	100.0	0	22	0.0
3	22	18	4	81.8	21	9	12	42.9	26	5	21	19.2	20	0	100.0	0	23	0.0
4	16	10	6	62.5	21	12	9	57.1	28	8	20	28.6	26	0	100.0	0	27	0.0
5	21	14	7	66.7	23	10	13	43.5	22	6	16	27.3	27	0	100.0	0	20	0.0
6	23	11	12	47.8	21	11	10	52.4	29	4	25	13.8	22	0	100.0	0	20	0.0
7	26	13	13	50.0	28	14	14	50.0	26	4	22	15.4	19	0	100.0	0	21	0.0
8	27	13	14	48.1	22	9	13	40.9	24	4	20	16.7	25	0	100.0	0	26	0.0
9	29	16	13	55.2	22	7	15	31.8	25	7	18	28.0	21	0	100.0	0	23	0.0
10	21	8	13	38.1	24	7	17	29.2	23	5	18	21.7	20	0	100.0	0	24	0.0
11	22	17	5	77.3	25	9	16	36.0	24	4	20	16.7	20	0	100.0	0	21	0.0
12	27	17	10	63.0	27	8	19	29.6	27	4	23	14.8	18	0	100.0	0	25	0.0

DIA 21

N° Repet	TOTAL	INHIBICIÓN DE LA ECLOSIÓN DE HUEVOS DE <i>ASCARIS LUMBRICOIDES</i>																	
		Extracto oleoso de <i>Dysphania ambrosioides</i>												Albendazol 40 mg/ml			Suero fisiológico NaCl 0,9%		
		100%			TOTAL	80%			TOTAL	60%			Inh	NoInh	%	Inh	NoInh	%	
		Inh	No Inh	%		Inh	NoInh	%		Inh	NoInh	%							Inh
1	24	18	6	75.0	22	15	7	68.2	24	12	12	50.0	18	0	100.0	0	22	0.0	
2	25	15	10	60.0	20	13	7	65.0	23	12	11	52.2	17	0	100.0	0	23	0.0	
3	24	16	8	66.7	23	14	9	60.9	24	12	12	50.0	19	0	100.0	0	21	0.0	
4	21	14	7	66.7	21	11	10	52.4	19	11	8	57.9	14	0	100.0	0	20	0.0	
5	20	17	3	85.0	25	14	11	56.0	23	14	9	60.9	21	0	100.0	0	21	0.0	
6	22	10	12	45.5	26	18	8	69.2	22	13	9	59.1	16	0	100.0	0	24	0.0	
7	22	18	4	81.8	24	11	13	45.8	21	8	13	38.1	15	0	100.0	0	18	0.0	
8	20	18	2	90.0	20	9	11	45.0	24	9	15	37.5	19	0	100.0	0	18	0.0	
9	18	13	5	72.2	21	12	9	57.1	25	13	12	52.0	19	0	100.0	0	25	0.0	
10	18	7	11	38.9	19	12	7	63.2	27	15	12	55.6	15	0	100.0	0	22	0.0	
11	22	12	10	54.5	19	9	10	47.4	19	11	8	57.9	20	0	100.0	0	20	0.0	
12	20	14	6	70.0	21	6	15	28.6	21	11	10	52.4	17	0	100.0	0	23	0.0	

Inh = N° de huevos inhibidos por el tratamiento

NoInh = N° de huevos NO inhibidos por el tratamiento

ANEXO 05

VALIDACIÓN DE JUICIO DE EXPERTOS

VALIDEZ DE TEST: JUICIO DE EXPERTOS

INSTRUCTIVO PARA LOS JUECES

Indicación: Señor especialista se le pide su colaboración para que luego de un riguroso análisis de los ítems del cuestionario/ guía de observación o ficha de recolección de datos, el mismo que le mostramos a continuación, indique de acuerdo a su criterio y su experiencia profesional el puntaje de acuerdo a si la pregunta permite capturar las variables de investigación del trabajo.

En la evaluación de cada ítem, utilice la siguiente escala:

RANGO	SIGNIFICADO
1	Descriptor no adecuado y debe ser eliminado
2	Descriptor adecuado pero debe ser modificado
3	Descriptor adecuado

Los rangos de la escala propuesta deben ser utilizados teniendo en consideración los siguientes criterios:

- ⊕ Vocabulario adecuado al nivel académico de los entrevistados.
- ⊕ Claridad en la redacción.
- ⊕ Consistencia Lógica y Metodológica.

Recomendaciones:

.....

.....

.....

Gracias, por su generosa

colaboración

Apellidos y nombres	Polo Gamboa, Jaime Abelardo
Grado Académico	Magister en Microbiología
Mención	Docencia Universitaria
Firma	 Jaime A. Polo Gamboa MICROBIOLOGO CBP 6951

FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

ITEM	CALIFICACION DEL JUEZ			OBSERVACION
	1	2	3	
Número de repeticiones				
Inhibición de la eclosión de huevos con Albendazol 400mg/10ml				
Inhibición de la eclosión de huevos del extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> al 100%				
Inhibición de la eclosión de huevos del extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> al 80%				
Inhibición de la eclosión de huevos del extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> al 60%				

RANGO	SIGNIFICADO
1	Descriptor no adecuado y debe ser eliminado
2	Descriptor adecuado pero debe ser modificado
3	Descriptor adecuado

Firma y sello:

CBP: 6951


Jaime A. Polo Gamboa
MICROBIOLOGO
CBP 6951

VALIDEZ DE TEST: JUICIO DE EXPERTOS

VALIDEZ DE TEST: JUICIO DE EXPERTOS

INSTRUCTIVO PARA LOS JUECES

Indicación: Señor especialista se le pide su colaboración para que luego de un riguroso análisis de los ítems del cuestionario/ guía de observación o ficha de recolección de datos, el mismo que le mostramos a continuación, indique de acuerdo a su criterio y su experiencia profesional el puntaje de acuerdo a si la pregunta permite capturar las variables de investigación del trabajo.

En la evaluación de cada ítem, utilice la siguiente escala:

RANGO	SIGNIFICADO
1	Descriptor no adecuado y debe ser eliminado
2	Descriptor adecuado pero debe ser modificado
3	Descriptor adecuado

Los rangos de la escala propuesta deben ser utilizados teniendo en consideración los siguientes criterios:

- ⊕ Vocabulario adecuado al nivel académico de los entrevistados.
- ⊕ Claridad en la redacción.
- ⊕ Consistencia Lógica y Metodológica.

Recomendaciones:

¿Qué es lo que se va a colocar dentro de cada casillero? Especificar cómo se llenará cada casillero en una leyenda.....

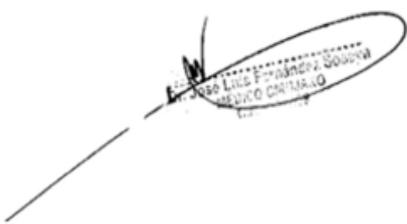
Gracias, por su generosa colaboración

Apellidos y nombres	DE LA CRUZ LUJÁN JOSÉ MILTON
Grado Académico	Maestría
Mención	Ciencias
Firma	

FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

ITEM	CALIFICACION DEL JUEZ			OBSERVACION
	1	2	3	
Número de repeticiones				
Inhibición de la eclosión de huevos con Albendazol 400mg/10ml				
Inhibición de la eclosión de huevos del extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> . al 100%				
Inhibición de la eclosión de huevos del extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> al 80%				
Inhibición de la eclosión de huevos del extracto oleoso de la hoja de <i>Dysphania ambrosioides</i> al 60%				

RANGO	SIGNIFICADO
1	Descriptor no adecuado y debe ser eliminado
2	Descriptor adecuado pero debe ser modificado
3	Descriptor adecuado



ANEXO 06

A.- CERTIFICACIÓN DE LA PLANTA *DYSPHANIA AMBROSIOIDES* POR EL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO



ANEXO 07

B.- OBTENCIÓN DEL EXTRACTO OLEOSO DE *DYSPHANIA AMBROSIoidES*

- **Tratamiento de la muestra**

Las plantas frescas de *Dysphania ambrosioides*, se obtuvieron de la provincia de Santiago de Chuco, Región la Libertad, en una cantidad de 6 Kg y se llevaron al laboratorio de Microbiología, donde se seleccionaron los ejemplares en buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF).



La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató.



Después, se estrujó manualmente el vegetal seco hasta que se obtuvo partículas menores de 10 mm y se reservó almacenando herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).



- El extracto oleoso de *Dysphania ambrosioides* se obtuvo mediante la técnica de arrastre con vapor de agua, siguiendo los siguientes pasos:

En un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llene las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparon herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto.



Al mismo tiempo el balón con la MS estaba conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el Balón con agua se calentó y el vapor de agua pasó a través del ducto hacia el Balón con la MS y arrastró los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos).

Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades.

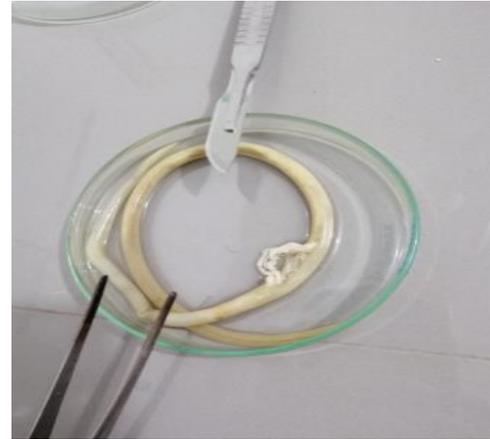
Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el extracto oleoso de *Dysphania ambrosioides* al 100%, el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó en refrigeración hasta su utilización.

ANEXO 08

C.- OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE LOS HUEVOS DE ASCARIS LUMBRICOIDES (Egg Hatch Test - EHT) (Según Coles et al, 2006)

Obtención de huevos de *Ascaris lumbricoides*

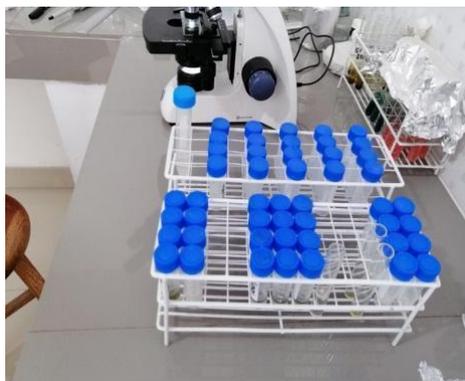
- Las hembras adultas se recogieron después de realizar una incisión longitudinal a lo largo del duodeno de cerdos infectados naturalmente.
- Los nemátodos que estuvieron presentes en la ingesta o adheridos a la superficie de las tripas se tomaron manualmente con pinzas y se colocaron en un frasco, la cual contenía Solución salina fosfato tamponada (PBS) fría (4°C) (pH 7,2).
- La suspensión se filtró a través de tamices de diferentes tamaños basados en las especies de nemátodos en un recipiente.
- El filtrado se centrifugó en tubos Falcón durante 2 min aproximadamente y se descartó el sobrenadante.
- Los tubos se agitaron para aflojar el sedimento y luego se procedió a añadir una solución saturada de cloruro de sodio hasta que se formó un menisco sobre el tubo.
- Se colocó una cubierta (laminilla) al tubo con la muestra y se volvió a centrifugar durante 2 minutos aproximadamente.
- La cubierta se separó cuidadosamente de los tubos y los huevos se lavaron en un tubo de centrifuga de vidrio cónico.
- El tubo se llenó con agua y se centrifugó durante 2 minutos aproximadamente.
- El sobrenadante se decantó y los huevos se volvieron a suspender en agua. Los huevos se lavaron tres veces en agua destilada y se ajustaron a 200 huevos/ml.



ANEXO 09

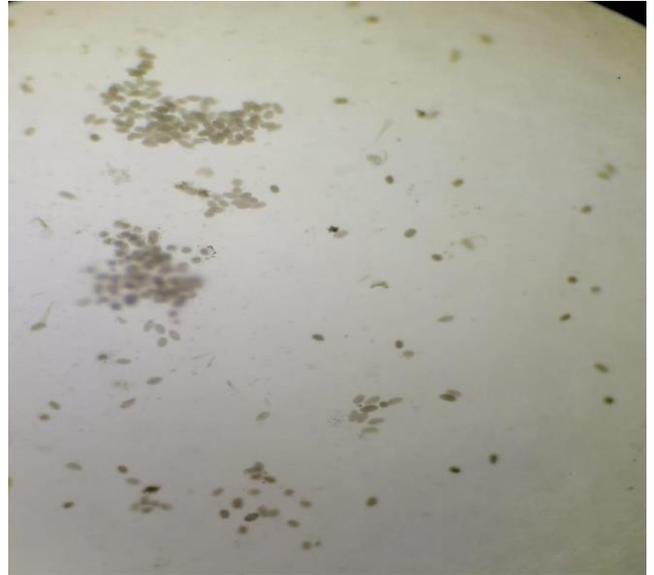
D.- EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA A TRAVÉS DEL MÉTODO EGG HATCH TEST

- La suspensión de huevos se distribuyó en viales, en una cantidad de 500 microlitros y se añadió el mismo volumen del extracto oleoso de la planta en estudio; de forma similar se procede para las otras dos concentraciones (80% y 60%).
- Los viales de control positivo recibieron Albendazol, en lugar del extracto oleoso de planta.
- Los viales de control negativo recibieron el suero fisiológico y la solución con huevos de nemátodos.
- Los huevos con los agentes antihelmínticos en estudio, se incuban a 27°C por 48 horas.
- Después, se añadió una gota de solución de Lugol para evitar que los huevos eclosionen.
- Al microscopio a 4X, se contaron todos los huevos y las larvas de la primera etapa (L1) en cada placa.
- Se realizaron tres réplicas para cada tratamiento con extracto de la planta y controles.
- Lectura e interpretación: Se realizaron observaciones microscópicas al 1, 5; 10; 15 y 21 días.

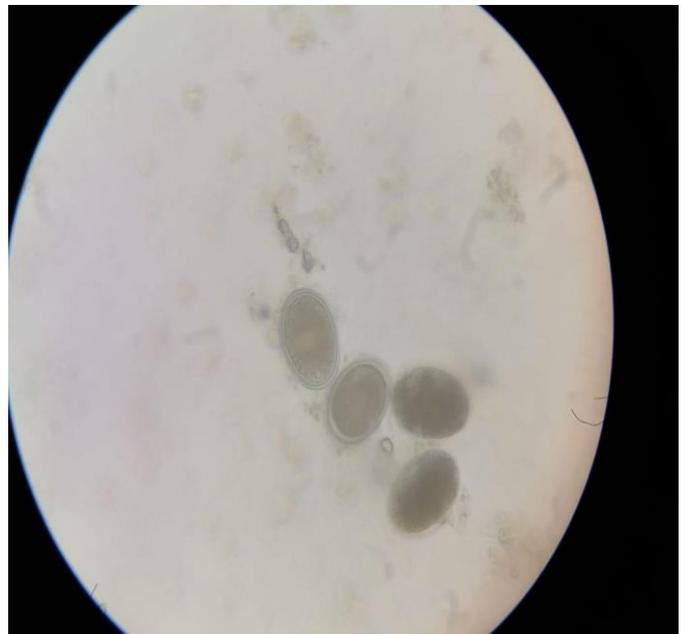




Huevos suspendidos al 100% del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* a los 21 días



Huevos suspendidos al 80 % del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* a los 21 días

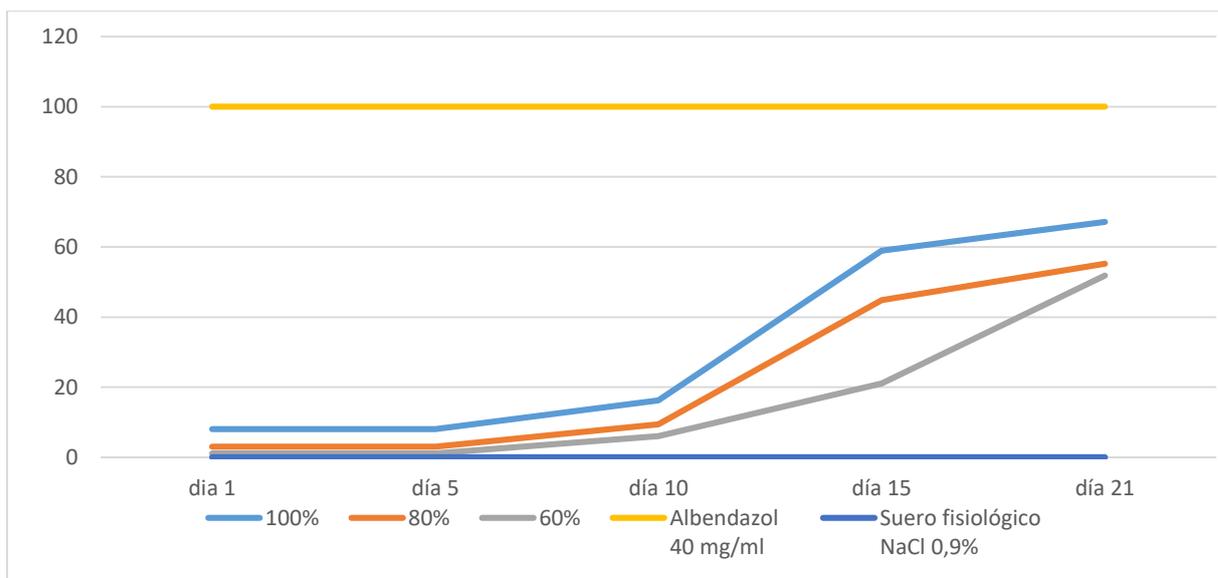


Huevos suspendidos al 60% del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* a los 21 días

ANEXO 10

Análisis estadístico

FIGURA 01: Porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* según los días de observación 1°,5°,10°,15° Y 21° días.



Fuente: Tabla 01

DÍA 15

Pruebas de normalidad							
GRUPOS	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.	
ECLOSION	ABENDAZOL		12		12		
	SUERO FISIOLÓGICO		12		12		
	60,00	0.199	12	,200*	0.887	12	0.108
	80,00	0.136	12	,200*	0.928	12	0.356
	100,00	0.115	12	,200*	0.974	12	0.950

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas						
		Estadístico	de	gl1	gl2	Sig.
		Levene				
ECLOSION	Se basa en la media	13.274		4	55	0.000
	Se basa en la mediana	11.664		4	55	0.000
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	11.664		4	22.741	0.000
	Se basa en la media recortada	12.680		4	55	0.000

DÍA 21

Pruebas de normalidad							
GRUPOS		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
ECLOSION	ABENDAZOL		12		0	12	
	SUERO FISIOLÓGICO		12			12	
	60,00	0.230	12	0.078	0.866	12	0.058
	80,00	0.120	12	,200 [*]	0.933	12	0.413
	100,00	0.154	12	,200 [*]	0.970	12	0.914

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico Levene	de	gl1	gl2	Sig.
ECLOSION	Se basa en la media	10.784		4	55	0.000
	Se basa en la mediana	10.093		4	55	0.000
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	10.093		4	27.245	0.000
	Se basa en la media recortada	10.474		4	55	0.000

ANEXO 12

Ley N° 26839

Ley sobre la conservación y aprovechamiento sostenible de la diversidad biológica

Ley N° 26839

EL PRESIDENTE DE LA REPUBLICA POR CUANTO: El Congreso de la República ha dado la Ley siguiente:

EL CONGRESO DE LA REPUBLICA

Ha dado la Ley siguiente:

LEY SOBRE LA CONSERVACION Y APROVECHAMIENTO SOSTENIBLE DE LA DIVERSIDAD BIOLOGICA

TITULO I: DISPOSICIONES GENERALES

Artículo 1.- La presente ley norma la conservación de la diversidad biológica y la utilización sostenible de sus componentes en concordancia con los artículos 66o. y 68o. de la Constitución Política del Perú.

Los principios y definiciones del Convenio sobre Diversidad Biológica rigen para los efectos de aplicación de la presente ley.

Artículo 2.- Cualquier referencia hecha en la presente Ley a "Convenio" debe entenderse referida al Convenio sobre la Diversidad Biológica, aprobado por Resolución Legislativa No. 26181.

Artículo 3.- En el marco del desarrollo sostenible, la conservación y utilización sostenible de la diversidad biológica implica:

- a) Conservar la diversidad de ecosistemas, especies y genes, así como mantener los procesos ecológicos esenciales de los que dependen la supervivencia de las especies.
- b) Promover la participación justa y equitativa en los beneficios que se deriven de la utilización de la diversidad biológica.
- c) Incentivar la educación, el intercambio de información, el desarrollo de la capacidad de los recursos humanos, la investigación científica y la transferencia tecnológica, referidos a la diversidad biológica y a la utilización sostenible de sus componentes.
- d) Fomentar el desarrollo económico del país en base a la utilización sostenible de los componentes de la diversidad biológica, promoviendo la participación del sector privado para estos fines.

Artículo 4.- El Estado es soberano en la adopción de medidas para la conservación y utilización sostenible de la diversidad biológica.

En ejercicio de dicha soberanía el Estado norma y regula el aprovechamiento sostenible de los componentes de la diversidad biológica.

Artículo 5.- En cumplimiento de la obligación contenida en el artículo 68o. de la Constitución Política del Perú, el Estado promueve:

- a) La priorización de acciones de conservación de ecosistemas, especies, y genes, privilegiando aquellos de alto valor ecológico, económico, social y cultural identificados en la Estrategia Nacional sobre Diversidad Biológica a que se refiere el artículo 7o. de la presente ley.
- b) La adopción de un enfoque integrado para el manejo de tierras y agua, utilizando la cuenca hidrográfica como unidad de manejo y planificación ambiental.
- c) La conservación de los ecosistemas naturales así como las tierras de cultivo, promoviendo el uso de técnicas adecuadas de manejo sostenible.

ANEXO 13

Constancia de ejecución en el laboratorio



San José
LABORATORIO CLÍNICO
Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha cedido *ad honorem* sus instalaciones, en donde DIANA PRISTILA SALINAS AGUILAR, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto antihelmíntico del extracto oleoso de la hoja de *Dysphania ambrosioides* comparada con albendazol, frente a *Ascaris lumbricoides*, in vitro", durante los días 30 de octubre al 19 de noviembre de 2020, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 25 días del mes de noviembre de 2020.


José Luis Calle Quevedo
BIOLOGO - MICROBIÓLOGO
C.R.P. 0301

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - 📠 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/