

UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZAN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA
SEMILLA DE PALTA (*Persea americana Mill*) EN EL
TRATAMIENTO DE COCCIDIOSIS EN POLLOS (*Gallus
gallus domesticus*)**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO

TESISTA:

Bach. Luana Kris BARRIOS MARTINEZ

ASESOR:

Dr. Rosel APAÉSTEGUI LIVAQUE

HUÁNUCO – PERU

2020

DEDICATORIA

A mi madre Diana que me ha dado la existencia y quien está a mi lado en los momentos buenos y malos.

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios por permitir me realizar esta tesis y por acompañar me en todo instante de mi existencia.

A mi madre, a mis tíos; por haberme inculcado todos los valores y sacrificarse día a día para brindar me una mejor educación y así sobresalir en mis estudios para obtener un mejor futuro.

Al Dr. Rosel Apaéstegui Livaque, por apoyar me en la ejecución y asesoramiento de dicha tesis.

A mis queridos docentes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por brindar me sus conocimientos durante mi educación para mi formación profesional.

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA SEMILLA DE PALTA (*Persea americana Mill*) EN EL TRATAMIENTO DE COCCIDIOSIS EN POLLOS (*Gallus gallus domesticus*)

Bach. Luana kris BARRIOS MARTINEZ

RESUMEN

La coccidiosis es una enfermedad parasitaria ocasionada por el género *Eimeria* spp, ocasionando grandes pérdidas económicas en la industria avícola. Objetivo: El objetivo del presente trabajo fue: Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de palta "*Persea americana Mill*" (ESP); en el tratamiento de coccidiosis en pollos (*Gallus gallus domesticus*). Métodos: Se trabajó con cuatro grupos de pollos (n = 8) de ambos sexos de la línea Cobb 500 de un día de edad, distribuidos en tres grupos experimentales, un grupo control no infectados y grupo control infectados con ooquistes esporulados de *Eimeria* spp. La crianza de pollos se realizó en los galpones de aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNHEVAL durante los meses de Agosto y Septiembre del año 2019. Grupos: grupo control no infectado; grupo control infectado; Tratamiento 1: ESP - 30%, tratamiento 2: sulfaquinoxalina a concentración de 0,1 mg/10ml; tratamiento 3: ESP – 30% + sulfaquinoxalina. A los 21 días de edad se inoculó una dosis infectiva de 2×10^5 de ooquistes esporulados de *Eimeria* spp y las evaluaciones se realizaron a los 7 días, para medir el efecto de la semilla de palta se realizó el recuento de ooquistes mediante la técnica de McMaster y cortes histológicos del ciego de los pollos por grupo. Resultados: El recuento de ooquistes a los 7 días post inoculación por gramo de heces fue: 177445 ± 23976 ; 184704 ± 43709 ; 166770 ± 10781 y 171674 ± 20917 , para los tratamientos 1; 2; 3 y control infectado respectivamente, no se encontró diferencia significativa ($P > 0,05$). A los 7 días post tratamiento el número de ooquistes por gramo de heces fue: 16 ± 24 ; 43 ± 80 ; 162 ± 287 ; 73 ± 64 y 165263 ± 20917 para los tratamientos 2; 3 y 1; control no infectados y control infectado respectivamente, se encontró diferencia significativa con el grupo control infectado ($P = 0.000$). En el estudio histopatológico se observó que el tratamiento 3 y control no infectado no presentaron daño estructural en el tejido. Conclusión: se concluye que el extracto hidroalcohólico de semilla de *P. americana* muestra un efecto terapéutico contra la coccidiosis en pollos, logrando una disminución en el número de ooquistes excretados y la reparación del tejido dañado.

Palabras claves: *Persea americana*, *Eimeria* spp. coccidiosis.

**EFFECT OF THE HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF AVOCADO SEED
(*Persea americana* Mill) IN THE TREATMENT OF COCCIDIOSIS IN
CHICKENS (*Gallus gallus domesticus*)**

Bach. Luana kris BARRIOS MARTINEZ

SUMMARY

Coccidiosis is a parasitic disease caused by the genus *Eimeria* spp, causing great economic losses in the poultry industry. Objective: The objective of the present work was: To determine the effect of the hydroalcoholic extract of the avocado seed "*Persea americana* Mill" (ESP); in the treatment of coccidiosis in chickens (*Gallus gallus domesticus*). Methods: Four groups of chickens (n = 8) of both sexes from the one-day-old Cobb 500 line, distributed in three experimental groups, a non-infected control group and a control group infected with sporulated oocysts of *Eimeria* spp. The raising of chickens was carried out in the poultry houses of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry of UNHEVAL during the months of August and September of the year 2019. Groups: uninfected control group; infected control group; Treatment 1: ESP - 30%, treatment 2: sulfaquinoxaline at a concentration of 0.1 mg / 10ml; Treatment 3: ESP - 30% + sulfaquinoxaline. At 21 days of age, an infective dose of 2×10^5 of sporulated oocysts of *Eimeria* spp was inoculated and the evaluations were carried out at 7 days. To measure the effect of the avocado seed, the oocyst count was performed using the McMaster and histological sections of the cecum of chickens per group. Results: The oocyst count at 7 days post inoculation per gram of faeces was: 177445 ± 23976 ; 184704 ± 43709 ; 166770 ± 10781 and 171674 ± 20917 , for treatments 1; 2; 3 and infected control respectively, no significant difference was found ($P > 0.05$). At 7 days post treatment the number of oocysts per gram of faeces was: 16 ± 24 ; 43 ± 80 ; 162 ± 287 ; 73 ± 64 and 165263 ± 20917 for treatments 2; 3 and 1; uninfected control and infected control respectively, a significant difference was found with the infected control group ($P = 0.000$). In the histopathological study, it was observed that treatment 3 and uninfected control did not show structural tissue damage. Conclusion: it is concluded that the hydroalcoholic extract of *P. americana* seed shows a therapeutic effect against coccidiosis in chickens, achieving a decrease in the number of oocysts excreted and the repair of damaged tissue.

Key words: *Persea americana*, *Eimeria* spp. coccidiosis.

ÍNDICE

Pág.

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
SUMMARY.....	v
ÍNDICE.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
INTRODUCCIÓN	1
I. MARCO TEORICO.....	3
1.1 Revisión de estudios realizados.....	3
1.2 Conceptos fundamentales.....	14
1.2.1 Palta (<i>Persea americana Mill</i>).....	14
1.2.2 Coccidiosis en aves.....	17
1.3 Definición de términos básicos.....	29
1.4 Hipótesis, variables, indicadores y definiciones operacionales	30
1.4.1 Hipótesis	30
1.4.2 Sistema de variables – dimensiones e indicadores.....	31
1.4.3 Definición operacional de variables.....	32
1.5 Objetivos generales y específicos.....	33
1.5.1 Objetivo general.....	33
1.5.2 Objetivos específicos.....	33
II. MARCO METODOLÓGICO.....	34
2.1 Nivel y tipo de investigación	34
2.2 Diseño de la investigación.....	34
2.3 Materiales.....	35
2.4 Fuentes, técnicas e instrumentos de recolección de datos	37
2.5 Procesamiento y presentación de datos	41
III. RESULTADOS Y DISCUSIONES	42
CONCLUSIONES	58

RECOMENDACIONES.....	60
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

ANEXOS:

Anexo 01: Guía de Observación 1

Anexo 02: Guía de Observación 2.

Anexo 03: Vistas fotográficas.

NOTA BIOGRÁFICA.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Conteo de ooquistes por gramo de heces en los tres grupos experimentales y dos grupos controles, los resultados se expresan en $\bar{X} \pm EE$ (media \pm error estándar), así como la mediana y los percentiles 25 y 75, por último se expresa la significancia estadística entre los grupos ($p > 0.05$)..	46
Tabla 2: Lesiones macroscópicas observadas durante la necropsia de dos pollos por grupo en la toma de muestras para el estudio histológico...	49
Tabla 3: Descripción de los hallazgos en los cortes histológicos del ciego de pollos, después de concluir los tratamientos en los tres grupos experimentales y dos grupos control...	50

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1: Valor medio del conteo de ooquistes por gramo de heces durante los siete días tratamiento en los tres grupos experimentales y dos grupos control... 45
- Figura 2: Grafico de cajas del conteo de ooquistes en los tres grupos experimentales y dos grupos controles: a) conteo de ooquistes siete días después de la infección con 2×10^5 ooquistes esporulados de *Eimeria* spp. considerado como día 0, b) conteo de ooquistes 24 horas después de iniciado el tratamiento en los diferentes grupos, considerado como día 1, c); d) conteo de ooquistes al día 2 y 3 de tratamiento, el grafico muestra dos escalas para el conteo de ooquistes por la diferencia entre los números con respecto al grupo control infectado. 47
- Figura 3: Grafico de cajas del conteo de ooquistes en los tres grupos experimentales y dos grupos controles: e); f); g); h) conteo de ooquistes al día 4; 5; 6 y 7 de tratamiento, el grafico muestra dos escalas para el conteo de ooquistes por la diferencia entre los números con respecto al grupo control infectado. 48
- Figura 4: Corte histológico de ciego del grupo experimental tratado con extracto hidroalcohólico de semilla de palta (*P. americana*), tinción hematoxilina – eosina y con objetivo 60x. En la lámina a) se observa esquizontes (A) y pequeños focos hemorrágicos (B) mientras que en la lámina b) se puede observar la regeneración del epitelio intestinal (A). 51
- Figura 5: Corte histológico de ciego del grupo experimental tratado con sulfaquinoxalina, tinción hematoxilina – eosina y con objetivo 40x. En la lámina se observa focos hemorrágicos, descamación de las células epiteliales y desprendimiento de la mucosa. 52

- Figura 6: Corte histológico de ciego del grupo experimental tratado con extracto hidroalcohólico de semilla de palta (*P. americana*) mas sulfaquinoxalina, con tinción hematoxilina – eosina y con objetivo 10x, 40x y 60x. En las láminas se observa una regeneración del epitelio intestinal y la ausencia de esquizontes y hemorragias. . . . 53
- Figura 7: Corte histológico de ciego del grupo control infectado, tinción hematoxilina – eosina. En la lámina a) objetivo 60x se observa múltiples focos hemorrágicos (A) y pequeños esquizontes maduros e inmaduros (B). La lámina b) objetivo 40x se observar degeneración del epitelio intestinal con edematización e infiltración leucocitaria en la lámina propia (A). 54
- Figura 8: Corte histológico de ciego del grupo control no infectado, tinción hematoxilina – eosina y con objetivo 40x. Se observa epitelio intestinal normal. 55

INTRODUCCIÓN

La coccidiosis es una enfermedad intestinal producida por protozoarios del género *Eimeria*, caracterizada por diarrea, enteritis y engrosamiento de la mucosa intestinal. Afecta a aves de cualquier edad, es más común en pollos de engorde y en aves de reproducción, debido a su crianza en piso (Rojo, 1999). Es por ello que la coccidiosis aviar es una enfermedad económicamente importante en la industria avícola (Wen *et al.*, 2019), esta enfermedad es controlada y tratada con productos químicos o agentes anticoccidiales, sin embargo, el desarrollo de resistencia parcial o completa hacia estos anticoccidiales se considera un problema importante en la industria avícola (Aldin *et al.*, 2015). En vista de las desventajas de los fármacos anticoccidiales en pollos, están resurgiendo plantas comestibles y sus compuestos como una estrategia alternativa para combatir esta enfermedad (Wen *et al.*, 2019).

Hoy en día, los consumidores demandan productos “naturales” y ecológicos como alternativa para las drogas convencionales (Bozkurt *et al.*, 2013). En aras de la seguridad alimentaria y la salud pública, las plantas y sus compuestos están resurgiendo ahora como un enfoque alternativo para tratar enfermedades parasitarias (Ahad *et al.*, 2018).

El fruto de *Persea americana* comúnmente llamado palta tiene mucha demanda en el Perú y su semilla usada ampliamente en la medicina tradicional

para tratar el reumatismo, el asma y procesos infecciosos, así como diarrea y disentería causados por parásitos intestinales (Jiménez *et al.*, 2013). En el Perú se produce una gran cantidad de palta y muchas de las semillas de estas es desechada, sin embargo, este residuo también se podría de comprobarse sus efectos terapéuticos contra la coccidiosis. Es por ello que nos planteamos el objetivo de determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de palta (*Persea americana Mill*) en el tratamiento de coccidiosis en pollos (*Gallus gallus domesticus*)

I. MARCO TEORICO

1.1 Revisión de estudios realizados

Antecedentes internacionales

Wen *et al.* (2019) investigaron los efectos anticoccidiales de *Bidens pilosa* y encontraron que *B. pilosa* a 100 ppm o más suprimió significativamente a *E. tenella*, evidenciado por la reducción en la tasa de mortalidad, la excreción de ooquistes y la severidad patológica intestinal en pollos y su duración profiláctica mínima fue de 3 días. Los autores concluyen que los ooquistes de *E. tenella* no fueron eliminados directamente por *B. pilosa*; sin embargo, la administración de la planta suprimió la esporulación de ooquistes, la invasión de esporozoitos y los esquizontes en el ciclo de vida de *E. tenella*. Además, *B. pilosa* reforzó la inmunidad mediada por células T.

Alhotan y Abudabos (2019) realizaron un estudio en el que observaron los efectos anticoccidiales y antioxidantes de los productos herbales comparados con un fármaco anticoccidiano sintético y se estandarizó en el rendimiento de producción, también estudiaron la histología intestinal y algunos parámetros bioquímicos de la sangre en pollos de engorde expuestos a coccidiosis experimental. Para lo cual 336 pollos de engorde de un día de edad se distribuyeron al azar en seis grupos. Un grupo sirvió como control, el segundo fue tratado con

la infección coccidial, el tercero fue tratado con un fármaco anticoccidiano sintético (Elancoban), el cuarto grupo fue tratado con un producto herbal (Cozante), el quinto grupo de aves se trató con Norponin y el sexto grupo tratado con emanox. Los resultados indicaron que el consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia disminuyeron significativamente ($P < 0.05$) en el control positivo. El aumento de peso corporal fue significativamente altos ($P < 0.01$) en las aves tratadas con Elancoban. En el día 25, puntuación de la lesión fue significativamente ($P < 0.01$) bajo en duodeno, yeyuno y ciego en el control de aves tratadas con Elancoban. En el día 30, la puntuación de la lesión fue significativamente ($P < 0.05$) bajo en aves tratadas con Emanox en comparación con el control positivo. La concentración de albúmina fue significativamente ($P < 0.01$) bajo en Emanox mientras que la concentración de glucosa fue significativamente alta ($P < 0.01$) en todos los grupos tratados en comparación con el control positivo de las aves. La capacidad antioxidante total fue significativamente alta ($P < 0.05$) en Emanox en los días 15 y 30 en comparación con el control positivo. Los resultados mostraron que las aves expuestas a los productos anticoccidiales naturales mostraron vellosidades mejoradas y capacidad antioxidante total. Por lo que los autores llegaron a la conclusión de que los productos a base de hierbas se desempeñaron mejor que el grupo de control positivo.

Ahad *et al.* (2018) estudiaron el efecto anticoccidial del extracto de la cáscara de la fruta de *Punica granatum*. Los extractos de plantas

se prepararon utilizando disolventes de polaridades diferentes. El estudio de toxicidad oral aguda se realizó por primera vez para ver la seguridad de los extractos crudos. Una dosis alta de extractos crudos (300 mg/kg de peso corporal) se probó para determinar la actividad contra la infección coccidial inducida experimentalmente en pollos de engorde. La actividad fue medida en comparación con el medicamento de referencia amprolium en función de la reducción de la producción de ooquistes, promedio de ganancia de peso de las aves y tasa de conversión de alimento. El recuento de ooquistes se midió usando técnicas de conteo de ooquistes con Mc-master. El estudio de toxicidad oral aguda mostró que los extractos crudos de *P. granatum* son seguros hasta una dosis de 2000 mg/kg de peso corporal, la LD50 fue determinado como mortalidades y fueron registrados en los cinco grupos de pollos. Con respecto a la actividad anticoccidial del extracto metanólico crudo (CME) de la cáscara de la fruta de *P. granatum*, este mostró el efecto máximo evidente por la reducción de ooquistes (92.8 ± 15.3), ganancia de peso de las aves (1403.0 ± 11.9 g) y tasa de conversión de alimento (1.66 ± 0.04), afirmando así la presencia de ingredientes activos de la planta, solubles en alcohol. También se probaron diferentes dosis (100-400mg/kg de peso corporal) de la CME de la cáscara de la fruta de *P. granatum*, el extracto mostro un efecto activo sobre *E. tenella* y se observó una dependencia a la dosis. Los autores concluyeron que el extracto metanólico de la cáscara de la fruta

de *P. granatum* tiene un potencial significativo para contribuir al control de parásitos coccidios de pollo.

Thabet *et al.* (2017) realizaron un estudio en el que probaron modelos *in vitro* para el control de *Eimeria tenella* utilizando varios poliéter ionóforos (monensina, salinomocina, maduramicina y lasalocid) y toltrazuril. Las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC95, MIC50/95) para los anticoccidiales probados se definieron en base a una referencia susceptible (cepa de Houghton), Ref-1. Ensayo de inhibición de la invasión de esporozoitos (SIA) *in vitro* y el ensayo de inhibición de la reproducción (RIA) se aplicó en un laboratorio sensible (Ref-1 y Ref-2) y en el campo (FS-1, FS-2 y FS-3) para calcular el porcentaje de inhibición bajo exposición de estas cepas a las diversas anticoccidiales (% ISIA y % IRIA, respectivamente). Los datos *in vitro* se relacionaron con la excreción de ooquistes, las puntuaciones de las lesiones, el rendimiento y los índices de resistencia global (GI) evaluados en pollos infectados experimentalmente. En los resultados los ionóforos de poliéter aplicados en el RIA fueron altamente efectivos en MIC95 contra Ref-1 y Ref-2 (% IRIA \geq 95%). En contraste, todas las cepas de campo probadas mostraron una eficacia reducida (% IRIA <95%). El porcentaje de valores IRIA se correlacionó significativamente con la excreción de ooquistes determinada en el modelo animal ($p < 0.01$) para poliéter ionóforos. Sin embargo, esta relación no se pudo demostrar para toltrazuril debido a falta de sensibilidad *in vitro* en Ref-2 (% IRIA = 56.1%). En pollos infectados, el toltrazuril fue generalmente

efectivo. (GI > 89%) contra todas las cepas utilizadas en este estudio. Sin embargo, se ajustó el GI (GI_{adj}) para grupos tratados con toltrazuril mostró diferencias entre las cepas de referencia y de campo, lo que podría indicar una sensibilidad variable.

Fatemi *et al.* (2017) investigaron el efecto del extracto etanólico de *Artemisia annua* como fuente potencial de actividad anticoccidial, para lo cual se empleó ciento noventa y dos polluelos de un día se dividieron en 8 grupos (n = 24); el grupo de AE prevención, grupo tratado con AE, grupo desafiado simultáneamente con AE-medicado, grupo desafiado sin tratamiento (control positivo), grupo no tratado (control negativo), grupo de prevención de salinomicina, grupo tratado con salinomicina, y grupo desafiado simultáneamente salinomicina medicado, en un diseño completamente al azar. La infección oral fue realizada a los 21 de edad con una suspensión que contenía una mezcla de 200.000 ooquistes de *Eimeria acervulina*, 30,000 ooquistes de *Eimeria necatrix* y 20,000 ooquistes de *Eimeria tenella*, en los resultados se observó que la ganancia de peso en el grupo de AE prevención aumentó significativamente en comparación al grupo control positivo (p <0.05). A diferencia del grupo de prevención con salinomicina, el índice de conversión de alimentos (FCR) del grupo la AE prevención no fue significativamente más alto que el control negativo. Ooquistes por gramo (OPG) en el grupo AE-medicado desafiado simultáneamente no tuvo diferencia significativa, mientras que para el 38% de los días, en desafío simultáneo el grupo medicado

con salinomicina disminuyó significativamente ($p < 0.05$). La ingesta de alimentos del grupo tratado con AE no tuvo ningún efecto significativo a diferencia con el grupo tratado con salinomicina ($p > 0.05$). En la mitad de los días de toma de muestras de OPG, el grupo tratado con AE fue reducido significativamente en comparación con el grupo de control positivo ($p < 0.05$).

Lan *et al.* (2016) investigaron el efecto profiláctico y terapéutico del extracto etanólico de *Brucea javanica* en coccidiosis inducida por *Eimeria tenella* en pollos de engorde. Los pollos infectados con *E. tenella* fueron tratados con Extracto de *B. javanica* y comparado con pollos de engorde tratados con el bromhidrato de halofuginona anticoccidial (Stenorol) o con grupos de control que constaban de pollos de engorde infectados no medicados y no infectados no medicados. Los resultados revelaron que el extracto de *B. javanica* podría reducir significativamente ($P < 0.05$) la diarrea sanguinolenta y lesiones. Adicionalmente, la salida ooquistes en los grupos tratados con extractos de plantas se redujo en comparación con grupos no tratados ($p < 0,05$). Sin embargo, no hubo evidencia para demostrar que el extracto podría promover la ganancia de peso. Los datos histológicos mostraron que el número de esquizontes de segunda generación en el grupo medicamento fue sustancialmente menor que en el control infectado no medicado.

Cicero Lee *et al.* (2016) investigaron la eficacia de la *Bidens pilosa* contra la eimeriosis en una granja de pollos orgánicos. Para ello se empleó un suplemento con *B. pilosa*, a la dosis de 0.025% en el alimento, en los resultados se observó que se redujo significativamente la infección por *Eimeria*. Este tratamiento incrementó la ganancia de peso corporal y redujo la tasa de conversión alimenticia, lo que lleva a rendimiento de crecimiento. Redujo la tasa de morbilidad/mortalidad, disminuyó los ooquistes por gramo de heces y aumento del índice anticoccidial.

Aldin *et al.* (2015) realizaron un estudio en el que probaron alicina en contra *E. tenella in vitro*. El porcentaje de inhibición en alicina fue de 99.9 a 71,53% utilizando 180 mg/ml y 180ng/ml, respectivamente. El porcentaje de inhibición fue de 56.24% usando 1,8 ng/ml de alicina,

Pirali *et al.* (2014) realizaron un estudio en el que compararon el efecto anticoccidial de un granulado del extracto de *Artemisia sieberi* (GEAS) versus monensina en coccidiosis experimental en pollos de engorde, para ello emplearon cuatro grupos, cada uno con tres repeticiones (n = 10), grupo 1 se separó como control negativo no infectado y no recibió tratamiento. A los 21 días de edad, grupos. 2, 3 y 4 fueron inoculados con una suspensión mixta de 2×10^5 ooquistes de *Eimeria tenella*, *E. maxima*, *E. acervulina* y *E. necatrix*. El grupo 2 se mantuvo como un control positivo infectado y no recibió tratamiento

mientras que los grupos 3 y 4 recibieron GEAS (5 mg/kg de alimento) y monensina (110 mg/kg) desde el primer día hasta los 42 días de edad como aditivo para piensos, respectivamente. Cinco días después de la inoculación, se midió el número de ooquistes por gramo de heces (OPG) durante 7 días sucesivos. Además, ganancia de peso (WG), consumo de alimento (FI) y tasa de conversión de alimento (FCR), fueron determinados en forma semanal en todos los grupos y réplicas. Los resultados mostraron que GEAS y monensina mejoraron el rendimiento los atributos (FI, WG, FCR) y significativamente ($P < 0.05$) disminuyeron la OPG en pollos de engorde inoculados.

Bozkurt *et al.* (2013) realizaron una revisión del uso de extractos botánicos en el control de la infección coccidial en aves de corral y en ella concluyen que algunas plantas y sus respectivos aceites y extractos volátiles tienen el potencial de aliviar la coccidiosis y reducir su severidad. La mayoría de los bioactivos de plantas mejoran algunos de los aspectos de la coccidiosis, con efectividad variable contra diferentes especies de *Eimeria*. Las dificultades para comparar los resultados de la investigación han surgido del uso de diferentes modelos experimentales, diferentes componentes activos y dosis infecciosas de *Eimeria*. El conocimiento actual de sus posibles efectos anti-coccidios puede proporcionar una guía para el uso de extractos botánicos en el control de la coccidiosis.

Jiménez *et al.* (2013) estudiaron los extractos clorofórmicos y etanólicos de las semillas de *Persea americana* los cuales fueron preparados por maceración y se evaluó la actividad amebicida, giardicida y tricomonocida. Estos extractos también fueron probados contra *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, cuatro cepas de *M. tuberculosis* también monorresistentes y dos multirresistentes, como cinco cepas de *Mycobacterium* no tuberculosas por ensayo MABA. En los resultados se observó que los extractos clorofórmicos y etanólicos de las semillas de *P. americana* mostraron una actividad significativa contra *E. histolytica*, *G. lamblia* y *T. vaginalis* (IC₅₀ <0.634 µg/ml). El extracto clorofórmico inhibió el crecimiento de *M. tuberculosis* H37Rv, *M. tuberculosis* MDR SIN 4 aislado, tres cepas de referencia mono-resistentes *M. tuberculosis* H37Rv y cuatro micobacterias no tuberculosas (*M. fortuitum*, *M. avium*, *M. smegmatis* y *M. absessus*) que muestran valores de CIM ≤50 µg/ml. Por el contrario, el extracto etanólico afectó solo el crecimiento de dos cepas mono-resistentes de *M. tuberculosis* H37Rv y *M. smegmatis* (MIC ≤50 µg/ml).

Muhammad *et al.* (2012) evaluaron el efecto anticoccidial de diferentes concentraciones del complejo herbal de 4 plantas (hojas de *Azadirachta indica* y *Nicotiana tabacum*, flores de *Calotropis procera* y semillas de *Trachyspermum ammi*) en pollos de engorde en comparación con anticoccidial amprolium. Emplearon tres concentraciones (2g, 4g y 6g) de hierbas, el complejo se administró a los grupos experimentales una vez al día y se administró amprolio (a la

dosis de 125 ppm) por vía oral en agua potable desde los 14 a los 21 días de edad. Un grupo se mantuvo infectado, como control no medicado y uno como control no infectado, no medicado. Todos los grupos fueron inoculados por vía oral con 75000 ooquistes esporulados en el día 14 de edad, excepto el control no infectado, no medicado. Entre los grupos medicinales complejos a base de hierbas, el efecto máximo anticoccidial se observó en el grupo medicado con 6g de complejo herbario seguido de 4g y 2g de grupos medicados de complejo herbario. El tratamiento con 6g del complejo herbal redujo significativamente el rendimiento negativo y los efectos patógenos asociados con *Eimeria tenella* a un nivel que era comparable con el de amprolium.

Du y Hu (2004) realizaron un estudio acerca de las actividades anticoccidiales en pollos de un complejo a base de hierbas que consistió en *Uncariae Ramulus cum Uncis*, *Agrimoniae Herba*, *Sanguisorbae Radix*, *Eclipta Prostrate Herba*, *Pulsatillae Radix*, *Sophorae Flavescentis Radix*, *Rehmanniae Radix* y *Glycyrrhizae Radix*. En los resultados se indicó que las aves medicadas mostraron menos heces sanguinolentas que aquellas sin medicación. La lesión intestinal fue leve en los pollos medicados con líquido herbal sin diferencias significativas de las lesiones en comparación con los pollos no infectados. Las aves con medicación tuvieron un peso corporal significativamente mayor y que las aves sin medicación. Por lo tanto,

las hierbas del complejo utilizado en este estudio fue efectivo contra *E. tenella*.

Allen *et al.* (1997) realizaron cuatro experimentos para probar la actividad anticoccidial de hojas secas de *Artemisia annua* y varios de sus componentes químicos para su posible uso como aditivos profilácticos para piensos. Para ello se alimentó durante un período de 3 semana a un nivel del 5%, un suplemento de hoja seca de *A. annua*. En los resultados se observó que *A. annua* proporcionó una protección significativa contra las lesiones debido a *Eimeria tenella* pero no al de *Eimeria acervulina* o *Eimeria máxima*, cuando se alimentó durante un período de 5 semanas a un nivel del 1% a pollos sometidos a inmunización con una vacuna viva, proporcionó protección significativa en inmunización parcial de pollos con *E. acervulina* y *E. tenella*. También dio lugar a menores puntajes medios de lesión en pollos desafiados inmunizados sobre un período de 5 semanas. Artemisinina, un componente antimalárico de *A. annua*, estuvo presente a un nivel de 0.034% en la preparación de hojas secas, un suplemento del 5% así permitido aproximadamente 17 ppm de artemisinina. Cuando el compuesto puro fue alimentado a ese nivel por un período de 3 semanas, produjo ganancias de peso y puntuaciones de lesiones significativamente reducidas atribuible a *E. tenella* pero no a *E. acervulina*. Otro componente de *A. annua*, alcanfor y 1,8-cineol, a 119 ppm también produjo las ganancias de peso, y redujo puntuaciones de la lesión por *E. tenella*. El alcanfor redujo las lesiones de *E. acervulina*.

Artemisinina alimentada por 4 semanas a niveles de 2, 8.5 y 17 ppm redujo significativamente la salida de ooquistes de *E. acervulina* y *E. tenella* y una especie por infección dual.

Sherkov (1976) estudió el efecto de la tiamina a razón de la mezcla de 50 mg/kg y la clara de huevo en proporciones de 25 y 50 por ciento con respecto a la alimentación en el curso de la coccidiosis en pollos causada por *Eimeria tenella*. Se encontró que las aves a las que se les ofreció un 25% de clara de huevo y tiamina en una dosis de 100 mg/kg mostraron signos más graves de coccidiosis y tuvieron cambios morfológicos más pronunciados con una mayor tasa de mortalidad y la cantidad de ooquistes arrojados estos resultados fueron mayores que los mismos índices en aves que recibieron la vitamina a una tasa de 50 mg/kg y clara de huevo en una ración del 50% al alimento. El aumento de la clara de huevo hasta un 50% llevó a una menor producción de ooquistes, sin embargo, esta última fue más alta que en las aves de control que no recibieron blanco de huevos y vitamina.

1.2 Conceptos fundamentales

1.2.1 Palta (*Persea americana Mill*)

Nombres vernáculos

Palto, aguacate.

Taxonomía

Algunos de los aspectos de la especie *Persea americana* Mill relacionados con la taxonomía son los siguientes (Teliz *et al.*, 2000; citado por Pérez *et al.*, 2015).

- ✓ Reino: Plantae
- ✓ División: Magnoliophyta
- ✓ Clase: Magnoliopsida
- ✓ Orden: Laurales
- ✓ Familia: *Lauraceae*
- ✓ Género: *Persea*
- ✓ Especie: *Persea americana* Mill

Descripción

Árbol siempre verde de hasta 15 metros de altura, de tronco recto, corto y corteza rugosa. Hojas grandes, verdes, simples, alternas, de 6 - 30 cm de largo, que forman un ramaje denso y muy abundante. Flores pequeñas, arracimadas, fragantes, blanco-verdosas, 1 - 3 cm de ancho. Fruto comestible en forma de drupa esférica o piriforme, cáscara gruesa de color variable: verde, amarillo o violeta. La pulpa es grasosa, amarillenta o verde; semilla única, dura, ovalada, oleosa (PROTEGE, 2018).

Farmacodinamia

Todas las partes de esta planta han sido investigadas, en especial el aceite esencial, el aceite fijo, las hojas y el fruto (en este último el mesocarpio -pulpa- por sus magníficas cualidades alimenticias y la calidad de su aceite fijo, además del epicarpio y la semilla); el aceite esencial de *Persea* tiene propiedades antibacterianas, el aceite fijo es emoliente e hipocolesterolemiante. Es interesante destacar que no sólo en su zona de origen (mesoamérica) el aguacate tiene una gran variedad de usos médicos, sino también en todos los países que han adoptado su cultivo; así, la corteza se utiliza por sus propiedades vermífugas y la semilla, como antihelmíntico; se ha encontrado compuestos hepatoprotectores en esta planta; en Cuba, numerosas formulaciones homeopáticas se preparan a partir de sus diferentes partes. En nuestro país las hojas frescas o secas se emplean principalmente en tratamientos de afecciones respiratorias: tos, catarro, bronquitis, resfríos; malestares estomacales, enfermedades de la piel y en menstruaciones difíciles y dolorosas; como dato curioso, hasta no hace mucho tiempo, la semilla era empleada como tinta indeleble para “marcar” ropa (PROTEGE, 2018).

1.2.2 Coccidiosis en aves

La coccidiosis aviar es una enfermedad parasitaria causada por protozoos del Filum Apicomplexa, familia Eimeriidae. Afecta a diversas especies de aves, aunque es en las formas de producción de *Gallus domesticus*, pollo de carne y gallina ponedora y reproductora, donde alcanza la mayor repercusión económica. Es una enfermedad parasitaria que se produce mediante la ingestión de ooquistes esporulados, que dan lugar a un proceso de carácter clínico y subclínico, caracterizado por diarrea y descensos de la producción (Del Cacho *et al.*, 2002, p. 757).

Ciclo biológico

Se toma como ejemplo el de *Eimeria tenella*; el resto de las especies tienen ciclo similar, variando la localización de las esporogonias y el número de generaciones y merozoitos de cada generación.

Los pollos susceptibles se infectan al ingerir junto con el agua o los alimentos, ooquistes esporulados de la coccidia en cuestión, mediante la acción de un sistema enzimático huésped parásito, los esporozoitos son liberados del ooquiste; primero entran a las células superficiales del epitelio intestinal, después pueden pasar a capas más profundas donde son ingeridas por

los macrófagos y llevados por ellos a las glándulas de Lieberkhun. Abandonan los macrófagos y entran a las células epiteliales de la glándula, ocupando la posición debajo del núcleo. Una vez en el epitelio glandular, cada esporozoito se redondea, formando un estado de trofozoito, crece y se transforma en esquizonte que por un proceso de fisión binaria múltiple asexual (esquizogonia), cada uno de ellos da lugar a 900 merozoitos en la primera generación; pasan al lumen del ciego en 2.5 a 3 días después de la infección. Después cada merozoito entra en una nueva célula, se redondea, crece y forma la segunda generación de esquizontes, de donde salen aproximadamente 250 merozoitos al quinto día de infección. Algunos merozoitos todavía dan lugar a una tercera generación de esquizontes originando 7 a 30 merozoitos. La mayoría de los merozoitos de la segunda y los de la tercera generación penetran a nuevas células para iniciar la fase sexual o gametogonia. El merozoito se redondea, crece y algunos dan lugar a microgametos, los cuales a su vez se transforman en microgametos y macrogametos. Los microgametos son elementos múltiples, biflagelados que quedan en libertad al romperse la célula. En el lumen van a la búsqueda de los macrogametos, penetra uno y se realiza la fecundación. El cigoto o huevo resultante sale de la célula. Los macrogametos tienen una o dos capas de gránulos eosinófilos en su citoplasma; están

compuestos de macroproteínas, pasan a la periferia y forman parte de la pared del ooquiste después de la fecundación. La formación de esta pared marca el momento de transición de un macrogameto fecundado a un ooquiste. Los ooquistes ya en el lumen salen con las heces. El periodo prepatente dura siete días (Quiroz, 2007, p. 165).

Patogenia

El poder patógeno de cada especie de *Eimeria radica*, principalmente en las fases esquizogonia y está en función de:

- ✓ Factores ligados al propio parasito como pueden ser el número de esquizogonias y el tamaño o la localización de los esquizontes. De esta forma se puede afirmar que *E. tenella* es la más patógena, seguida de *E. necatrix* y *E. máxima*.
- ✓ Factores dependientes del hospedador como pueden ser la edad, características genéticas, estado de nutrición y sobre todo, el estado de protección frente al parasito.

La destrucción de las células epiteliales es el principal mecanismo de patogenicidad que subyace en la pérdida de la productividad. La infección masiva determina la destrucción de un gran número de células epiteliales intestinales e incluso la

destrucción de las vellosidades. Como consecuencia, se desencadena un síndrome de mala absorción que está definido por la falta de absorción de nutrientes como los aminoácidos, vitaminas y carotenos. La disminución de estos nutrientes determina la pérdida de peso, el descenso en la puesta y alteraciones en la calidad de la carne y de los huevos. La patogenicidad intrínseca de las especies de *Eimeria* parece estar directamente relacionada con el lugar de desarrollo de manera que las especies más patógenas son las que penetran más profundamente en la mucosa y provocan la destrucción del tejido epitelial de la vellosidad intestinal. Cinco de las siete especies de *Eimeria* que se establecen en el pollo y la gallina, pueden considerarse como responsables de los cuadros más graves. Las lesiones han sido descritas por numerosos autores y se ha establecido un criterio de clasificación que las cuantifica de acuerdo al grado de lesión. Estas especies son:

- ✓ *Eimeria tenella* y *E. necatrix*; productoras de hemorragias a partir de finales de cuarto grado y principios del quinto grado. Que se asocian a la maduración de los esquizontes de segunda generación y causan una elevada tasa de mortalidad.

- ✓ *E. brunetti* y *E. máxima*; que generan enteritis en la mucosa, frecuentemente con sangre, ocasionando a

veces mortalidad y cuadros de coccidiosis muy graves, pero la patología de campo suele ser más leve.

- ✓ *E. acervulina*; se asocia con enteritis catarral y produce principalmente, diarreas mucosas, que originan detrimento en la ganancia de peso.
- ✓ *E. mitis* y *E. praecox*; no parece que produzcan mortalidad y lesiones manifiestamente visibles, asociándose su infección a un detrimento de la ganancia de peso y observándose aducción en la absorción intestinal durante la infección.

Existen factores que no están directamente relacionados con la patogenicidad intrínseca de las especies de *Eimeria*, pero no pueden influir en el pronóstico de la infección. Entre estos factores cabe destacar:

- ✓ Edad de las aves: los animales mayores que han sido libres de coccidiosis durante su crianza son más receptivos a la infección que los jóvenes.
- ✓ Diferencias genéticas: observadas en la resistencia a la coccidiosis entre distintas razas o estirpes de aves. Se han descrito estirpes que parecen presentar una mayor resistencia a la coccidiosis, sin embargo, todas las

estirpes comerciales parecen presentar la misma receptividad.

- ✓ Interacciones con otras patologías: deficiencias nutricionales, bacterias, virus, parásitos y micotoxinas. Estas interacciones son difíciles de interactuar en el campo, sin embargo, crece la evidencia de que son cada vez más importantes, a medida que los avances en genética y nutrición producen aves de crecimiento más rápido (Del Cacho *et al.*, 2002, p. 762).

Formas clínicas y lesiones

En la coccidiosis aviar se citan dos formas clínicas:

Coccidiosis cecal, esta desencadenada por *E. tenella*.

Coccidiosis intestinal, causada por la infección de una o varias de las siguientes especies: *E. necatrix*, *E. máxima*, *E. brunetti* y *E. acervulina*.

Coccidiosis cecal

Puede cursar con un cuadro sobreagudo, agudo o crónico:

- El cuadro sobreagudo; se observa en animales jóvenes o en aquellos que no han tenido contacto previo con el parásito y por tanto no presentan protección frente al mismo. Para que se desarrolle este cuadro los animales deben ingerir una gran cantidad de ooquistes en un corto periodo de tiempo. El único síntoma que se manifiesta es la eliminación de heces diarreicas con una gran cantidad de sangre, que se solidifica y forma coágulos de color oscuro. A los dos o tres días después de la observación de las heces diarreicas hemorrágicas se produce una gran mortalidad, que puede llegar a ser del 80 al 100%. La muerte se produce por un choque hipovolémico que se desencadena como consecuencia de la enorme pérdida de sangre.
- El cuadro agudo; es similar al anterior, pero ligeramente atenuado, ya sea como consecuencia de la ingestión de una dosis infectante menor o más espaciada en el tiempo, o bien por el hecho de que los animales han desarrollado cierto estado de inmunidad como consecuencia de un contacto previo con el parásito. Se observa eliminación de heces diarreicas sanguinolentas, los animales se muestran hipoactivos e hipotérmicos y como consecuencia se agrupan e introducen la cabeza debajo del ala en un intento de mantener la temperatura corporal. Como consecuencia

de la sangre eliminada en las heces, las aves presentan anemia y por tanto, las mucosas así como la cresta y las barbillas, muestran un aspecto pálido. La mortalidad puede alcanzar el 50 al 80%. Los animales que sobreviven muestran un notable retraso en el crecimiento.

- El cuadro crónico; se observa en animales adultos que han superado la relación continuada con el parásito y por tanto muestran un excelente estado de inmunidad. El proceso clínico se desencadena con la ingestión de una gran cantidad de ooquistes o por la presencia de una cepa de *E. tenella* que muestra diversidad antigénica con respecto al que estableció el estado de inmunidad. Se aprecia un descenso en las producciones, no es frecuente, pero se puede observar diarrea sanguinolenta, la mortalidad puede alcanzar del 5 al 10%.

Las lesiones únicamente son detectables en los cuadros sobreagudo y agudo. En la necropsia de los animales que muestra diarrea hemorrágica se observa tiflitis hemorrágica con los ciegos notablemente dilatados. En la mucosa del ciego se observa desde petequias a hemorragias, dependiendo de la gravedad del proceso. En la luz del ciego se detecta contenido hemorrágico frecuentemente con coágulos de sangre. Estas lesiones se

producen como consecuencia de la ruptura de los esquizontes subepiteliales. Los animales que superan esta fase muestran los ciegos un contenido solidificado que se definen como molde cecales y que corresponden a la coagulación del contenido cecal que se produjo como consecuencia la esquizogonia. Mediante la realización de cortes histológicos se puede observar que la mucosa cecal está completamente destruida y que los moldes cecales están constituidos por acúmulos de restos celulares entre los que destacan los glóbulos rojos. La submucosa esta edematosa y presentan una intensa infiltración celular (Del Cacho *et al.*, 2002, p. 763).

Coccidiosis intestinal

Se puede observar un cuadro agudo o crónico:

- El cuadro agudo se desencadena en animales jóvenes que no han tenido contacto previo con el parásito. Se observa un brusco descenso en las producciones y una diarrea cuyo aspecto depende de la especie que causa el proceso clínico.

El en caso de *E. brunetti*, *E. máxima* y *E. necatrix* se observa una diarrea sanguinolenta, o al menos con estrías

sanguinolentas, que nunca llega a estar hemorrágico como en el caso de *E. tenella*.

E. acervulina produce una diarrea mucosa de color blanco amarillento, humedece la cama y por ello los animales muestran las plumas manchadas.

La morbilidad varía dependiendo de la especie, ya que *E. necatrix* es la más patógena y es frecuente observar brotes clínicos en reproductoras pesadas que pueden alcanzar una mortalidad de 10 al 20%. Por el contrario, *E. acervulina* frecuentemente no produce bajas.

- El cuadro crónico se produce en animales que ingieren una gran cantidad de ooquistes y presentan un cierto grado de protección frente al parásito. Los animales eliminan heces pastosas y producen una disminución brusca de las producciones.

Las lesiones se observan únicamente en los cuadros agudos y se localizan en el intestino delgado y grueso, pero nunca en los ciegos, la localización exacta y el tipo de lesión dependen de la especie de *Eimeria* que ha desencadenado el brote clínico, así como la gravedad del proceso. En el caso de infecciones por *E. máxima* se observa una yeyunitis catarral que únicamente en procesos graves evoluciona a hemorrágica. En la mucosa del yeyuno

se observa petequias que se produce como consecuencia del desarrollo de los ooquistes subepiteliales, el contenido es mucoso de contenido rosacio y puede mostrar coágulos de sangre. *E. brunetti* produce una ileitis catarral que en proceso graves evoluciona a hemorrágica. En la mucosa del ilion y del recto se observa petequias que corresponde a la ruptura de los esquizontes subepiteliales. Las lesiones producidas por *E. necatrix* se localizan en el yeyuno, se observa yeyunitis catarral, que frecuentemente evoluciona a hemorrágica. En la mucosa del yeyuno se observan lesiones puntiformes y blanquecinas que corresponden a acúmulos de esquizontes epiteliales que al romperse producen petequias incluso hemorragias en proceso muy graves. En los casos clínicos producidos por *E. acervulina* se observa una duodenitis catarral que puede evolucionar a mucosa con un contenido de color amarillento. En la mucosa del duodeno se observan lesiones puntiformes que pueden fusionarse hasta formar bandas que se orienten en sentido transversal al intestino y con aspecto escaleriforme. Estas lesiones corresponden a acúmulos de ooquistes. Tras la eliminación de los ooquistes, las vellosidades se observan desprovistas de células epiteliales (Del Cacho *et al.*, 2002, p. 764).

Diagnostico

En general el diagnóstico de la coccidiosis en pollos se realiza además de los antecedentes clínicos, por la necropsia. Es necesario poner muchos cuidados para no confundir la presencia de coccidias con un brote de coccidiosis en una parvada. La sola presencia de coccidias en un pollo no necesariamente indica problema general. Además del diagnóstico *postmortem*, la identificación de estados evolutivos, las lesiones, etc., es necesario considerar directamente el estado general de la parvada, y además, tomar en consideración otras enfermedades que pueden producir diarrea con sangre, en la observación microscópica ver claramente los estados evolutivos de *Eimeria* así como su relación con las lesiones. Es necesario establecer el diagnóstico por especie a nivel de laboratorio, ya que hay gran diferencia en el grado de patogenicidad según especie y puede ser de utilidad en el pronóstico. Tratándose de ooquistes solamente de *E. máxima* se puede diferenciar por su tamaño, superficie regular y color. Algunas veces puede ser necesario hacer mediciones de ooquistes. Otras se imponen determinar el periodo prepotente en infecciones experimentales, tiempos mínimos de esporulación o prueba de inmunidad de sangre. Es importante considerar la localización de las lesiones en el tracto intestinal, si hay predominancia de una especie, la localización de las

especies ayuda a establecerla; por ejemplo en coccidiosis cecal por *E. tenella* o la porción media del intestino delgado por *E. necatrix*, sin embargo la situación se complica al haber infecciones mixtas (Quiroz, 2007, p. 169).

Tratamiento

Las sulfonamidas fueron los primeros fármacos con acción anticoccidial y se han utilizado comercialmente desde la introducción de la sulfoquinoxalina para la avicultura, a fines de la década de 1940, hasta la introducción de la sulfacloropiridazida, en decenio de 1990. Existe una gran variedad de sulfonamidas con diferente aplicación. En general son muy solubles en agua, lo que facilita la terapéutica de grandes poblaciones (Susano y Ocampo, 2006, p. 499).

1.3 Definición de términos básicos

Extracto hidroalcohólico: son extractos líquidos concentrados obtenidos de la extracción de una planta o parte de ella, usando como solvente alcohol y agua.

Ooquiste: quiste que contiene un huevo o cigoto.

Esporoquiste: quiste con cubierta definida que contiene esporozoitos.

Esporozoito: es una etapa del ciclo de vida de un parasito protozoario, durante el cual puede infectar a nuevos parásitos

Esporogonia: es una división múltiple de una espora o cigoto, dando cada uno de los fragmentos origen a un esporozoito.

Esquizogonia: tipo de reproducción asexual que se observa en el ciclo de la generación alternativa de los esporozoos y que consiste en la división del núcleo celular en gran número de núcleos secundarios que se rodean de protoplasma.

1.4 Hipótesis, variables, indicadores y definiciones operacionales

1.4.1 Hipótesis

H_0 = El extracto hidroalcohólico de la semilla de palta (*Persea americana Mill*) no tiene efecto terapéutico contra la coccidiosis en pollos (*Gallus gallus domesticus*).

H_i = El extracto hidroalcohólico de la semilla de palta (*Persea americana Mill*) tiene efecto terapéutico contra la coccidiosis en pollos (*Gallus gallus domesticus*).

1.4.2 Sistema de variables – dimensiones e indicadores

Variables	Dimensiones	Indicadores
Variable Independiente Extracto hidroalcohólico de semilla de <i>Persea americana mill</i> (ESP)	Grupo tratamiento 1.	Agua de bebida con 30% de ESP.
	Grupo tratamiento 2.	Agua de bebida con sulfaquinoxalina
	Grupo tratamiento 3.	Agua de bebida con 30% de ESP + sulfaquinoxalina.
	Grupo control infectado.	Sin medicación.
	Grupo control no infectado.	Sin medicación.
Variable Dependiente Coccidiosis en pollos	Presencia de ooquistes de <i>Eimeria</i> .	Reducción del número de ooquistes de <i>Eimeria</i> de pollos con coccidiosis de los grupos experimentales.
	Mortalidad de pollos por coccidiosis.	Muerte de pollos con coccidiosis de los grupos experimentales.
	Lesiones provocadas por coccidiosis.	Presencia de macroscópicas y microscópicas de los grupos experimentales.

1.4.3 Definición operacional de variables

Variable	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición
Variable Independiente Extracto hidroalcohólico de semilla de <i>Persea americana</i> Mill (ESP)	Extracto obtenido a través de la maceración de semillas secas de palta con alcohol al 70%.	Grupo tratamiento 1.	Agua de bebida con 30% de ESP.	Nominal
		Grupo tratamiento 2.	Agua de bebida con sulfaquinoxalina	
		Grupo tratamiento 3.	Agua de bebida con 30% de ESP + sulfaquinoxalina	
		Grupo control infectado.	Sin medicación.	
		Grupo control no infectado.	Sin medicación.	
Variable Dependiente Coccidiosis en pollos	Enfermedad producida por protozoos del género <i>Eimeria</i> que se inducirá experimentalmente en pollos.	Presencia de ooquistes de <i>Eimeria</i> .	Reducción del número de ooquistes de <i>Eimeria</i> de pollos con coccidiosis de los grupos experimentales.	Escala
		Mortalidad de pollos por coccidiosis.	Muerte de pollos con coccidiosis de los grupos experimentales.	
		Lesiones provocadas por coccidiosis.	Presencia de macroscópicas y microscópicas de los grupos experimentales.	Nominal

1.5 Objetivos generales y específicos

1.5.1 Objetivo general

Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de palta (*Persea americana Mill*) en el tratamiento de coccidiosis en pollos (*Gallus gallus domesticus*).

1.5.2 Objetivos específicos

Realizar el conteo de los ooquistes de *Eimeria* expulsados por pollos (*Gallus gallus domesticus*) con coccidiosis antes y después del tratamiento con el extracto hidroalcohólico de la semilla de palta (*Persea americana Mill*).

Evaluar la mortalidad de pollos (*Gallus gallus domesticus*) con coccidiosis tratados con el extracto hidroalcohólico de la semilla de palta (*Persea americana Mill*).

Evaluar las lesiones producidas por la coccidiosis en pollos (*Gallus gallus domesticus*) tratados con el extracto hidroalcohólico de la semilla de palta (*Persea americana Mill*).

II. MARCO METODOLÓGICO

2.1 Nivel y tipo de investigación

Según la clasificación de Fonseca *et al.* (2013).

Nivel

Aplicativo

Tipo

- Según el tiempo: Prospectivo
- Según la participación del investigador: Experimental
- Según la cantidad de medición de la variable: Longitudinal
- Según la cantidad a variables a estudiar: Analítico

2.2 Diseño de la investigación

Se empleó un diseño experimental, con pre prueba – post prueba y grupo de control (Hernández *et al.*, 2007) cuyo esquema á:

Grupos	Número de pollos por grupo experimental	Primera observación de ooquistes	Tratamientos	Segunda observación de ooquistes
RG_1	8	O_1	X_1	O_2
RG_2	8	O_3	X_2	O_4
RG_3	8	O_5	X_3	O_6
RG_4	8	O_7	-	O_8
RG_5	8	O_9	-	O_{10}

Donde:

- RG_1 = Grupo experimental 1 con 30% de extracto de *P. americana*
- RG_2 = Grupo experimental 2 con sulfaquinoxalina
- RG_3 = Grupo experimental 3 con 30% de extracto de *P. americana* + sulfaquinoxalina
- RG_4 = Grupo control infectado
- RG_5 = Grupo control no infectado
- O_1, O_3, O_5, O_7, O_9 primera medición de los ooquistes de *Eimeria*
- X_1 = Tratamiento con 30% de extracto de *P. americana*
- X_2 = Tratamiento con sulfaquinoxalina
- X_3 = Tratamiento con 30% de extracto de *P. americana* + sulfaquinoxalina
- $O_2, O_4, O_6, O_8, O_{10}$ segunda medición de los ooquistes de *Eimeria*

2.3 Materiales

Material biológico

- Semilla de palta
- Pollos de engorde

Material de laboratorio

- Gasa
- Botella de vidrio ámbar
- Máquina de moler
- Embudo

- Matraz de vidrio/2L
- Papel filtro
- Bandeja de vidrio
- Guantes
- Mascarillas
- Alimento balanceado
- Comedero
- Bebedero
- Bisturís
- Cámara de McMáster
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pipeta de Pasteur
- Microscopio
- Refrigerador
- Incubadora
- Estufa

Material de escritorio

- Papel bond
- Lapicero

Reactivos

- Alcohol 70%
- Formol
- Dicromato de potasio
- Cloruro de sodio (ClNa)

2.4 Fuentes, técnicas e instrumentos de recolección de datos

Fuente

Para la obtención de los datos se empleará los siguientes procedimientos

Obtención del extracto hidroalcohólico de la semilla de palta (*Persea americana Mill*)

La adquisición del fruto se realizó a primeras horas de la mañana, en los puestos de fruta del mercado modelo de Huánuco. Para la obtención del extracto, se extrajo las semillas de cada fruto y se cortaron hasta reducir su tamaño a 0.5 cm de diámetro, posteriormente fue secarlo en un horno de Pasteur a una temperatura de 60°C durante 2 días. Luego de tener todo el material seco se pesó 250 gr y se introdujo en un frasco ámbar de 5 litros, en el que se añadió alcohol etanólico al 70%, en una proporción del 30:70 (30% de semilla de palta y 70% de alcohol). Una vez completado este procedimiento se dejó reposar por un período de 8 días, agitando 2 veces al día. Al día 8 se

filtró el producto, empleando una gasa, para separar los residuos y para luego volver a filtrar a con papel filtro grueso, una vez obtenido el extracto hidroalcohólico se procedió a secar en la incubadora, para ello se usó una bandeja de vidrio en el que se depositó el extracto hidroalcohólico y se introdujo a la incubadora a 40°C durante 3 días. Una vez seco el extracto, se pesó con una balanza analítica y el material obtenido se depositó en un frasco color ámbar, el cual fue conservado en un ambiente fresco, seco y evitando la luz directa (Montalvo, 2016).

Pollos y alojamiento

40 pollos de engorde de la variedad Cobb 500 se alojaron en una habitación aislada durante 3 semanas, en corrales con cama de viruta, la temperatura de las habitaciones se mantuvo entre 28 y 34°C y los programas de iluminación se ajustaron a la guía de manejo de la variedad de aves.

Obtención de los ooquistes

El aislamiento de ooquistes de *Eimeria* spp. se realizó a partir del contenido cecal de pollos sacrificados en el mercado de Huánuco. Los ooquistes se purificaron por centrifugación y conservaron en una solución de dicromato de potasio al 2,5% a 28°C para inducir la

esporulación. Los ooquistes esporulados se mantendrán a 4°C hasta su uso (Fatemi *et al.*, 2017; Lan *et al.*, 2016). Para determinar la concentración de ooquistes esporulados se empleó la cámara de Mc Master.

Protocolos experimentales

Los pollos de engorde, luego de 21 días de edad ($n = 40$) se separaron en 5 grupos ($n = 8$). Solo a cuatro grupos (grupo experimental 1, grupo experimental 2, grupo experimental 3 y grupo control infectado) se les infectó con 2×10^5 ooquistes esporulados de *Eimeria* sp.

A los 7 días post infección se realizó la medición de los ooquistes eliminados en las heces, mediante la técnica de McMaster. Que es una prueba cuantitativa que se realiza mediante la dilución de 2 gramos de heces en 28 ml de solución azucarada saturada y su posterior centrifugación a 1500 rpm x 5 min, una vez concluido este procedimiento se llenó la cámara de McMaster, se deja reposar durante 3 minutos sobre la platina del microscopio y se procedió a contar los ooquistes, el número de ooquistes se multiplican por 50 para obtener la carga parasitaria por gramo de heces (Rojo, 1999).

Realizada la medición de los ooquistes post infección se procedió a la administración de los tratamientos por vía oral, con ayuda

de una jeringa. Para el grupo experimental 1 se administró el extracto de *P. americana* al 30%, para el grupo experimental 2 se administró sulfaquinoxalina a concentración de 0,1 mg/10ml, para el grupo experimental 3 se administró extracto de *P. americana* más sulfaquinoxalina, al grupo control infectado no se le administró ningún tratamiento, al igual que al grupo control no infectado. La aplicación de los tratamientos fue durante una semana. 24 horas después de la primera administración de los tratamientos se realizó el conteo de ooquistes con el método de McMaster, el cual fue repetido durante los 7 días de tratamiento.

Se contó los pollos muertos por la infección con *Eimeria* sp. en cada grupo, y a los 35 días de edad los pollos fueron sacrificados para la observación de lesiones.

El examen macroscópico consistió en la observación de la serosa, mucosa y contenido intestinal, buscando las alteraciones anatomopatológicas a nivel intestinal siguiendo la técnica desarrollada por Johnson y Reid (1970; citado por Salinas *et al.*, 2001), quienes idearon una escala según el grado de lesiones que va de +0 hasta +4.

+0 = Normal

+1 = Infección ligera

+2 = Infección moderada

+3 = Infección grave

+4 = Infección muy grave, con mortalidad

El ciego fue conservado en formol al 10% para el estudio histológico.

2.5 Procesamiento y presentación de datos

Los datos obtenidos fueron procesados mediante el programa SPSS versión 24. Los resultados fueron expresados media \pm ES (error estándar). Para la comprobación de hipótesis se realizó la comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad, con las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Levene, al no cumplirse estos supuestos se empleó la prueba de Kruskal-Wallis para ver la diferencia entre grupos, se empleó un nivel de confianza de 0.05.

III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Del rendimiento del extracto hidroalcohólico

Se llegó a preparar el extracto hidroalcohólico con 900 g de semilla de *P. americana* seca y se obtuvo 44 g de extracto seco, lo que corresponde un rendimiento de 4.8%.

Del conteo número de ooquistes expulsados.

La tabla 1 presenta los resultados obtenidos al probar el extracto de *P. americana* como tratamiento contra la coccidiosis en pollos de engorde. En los resultados se observa que los grupos experimentales infectados con 2×10^5 ooquistes esporulados de *Eimeria* spp. (Grupo experimental 1 tratado con 30% de extracto de *P. americana*, grupo experimental 2 tratado con sulfaquinoxalina, grupo experimental 3 tratado con 30% de extracto de *P. americana* + sulfaquinoxalina y grupo control infectado) presentaron una alta carga parasitaria (140118 ± 76493 ogh) a los 7 días post infección, no encontrándose diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($p = 0.000$) mientras que grupo control no infectado presento una carga parasitaria de 0 ± 0 ogh. A partir del primer día de tratamiento se observó que la carga parasitaria de los grupos tratados con: 30% de extracto de *P. americana*, sulfaquinoxalina y 30% de extracto de *P. americana* + sulfaquinoxalina fue de 28638 ± 7972 ogh; 37304 ± 19122 ogh y 48352 ± 12265 ogh respectivamente;

no encontrándose diferencia estadística significativa entre estos grupos y siendo estos valores muy inferiores a los presentados por el grupo control infectado (170673 ± 20917 ogh); se presentó diferencias estadísticas significativas entre estos grupos y el grupo control no infectado. Esta tendencia se mantuvo hasta el quinto día de tratamiento en el que la carga parasitaria de los grupos tratados con: 30% de extracto de *P. americana*, sulfaquinoxalina y 30% de extracto de *P. americana* + sulfaquinoxalina fue de 643 ± 1086 ogh; 75 ± 55 ogh y 162 ± 253 ogh respectivamente, no se encontró diferencia estadísticas significativas con el grupo control no infectado que presento una carga parasitaria de 31 ± 46 ogh, estos valores mostraron tener diferencia estadísticamente significativa con la carga parasitaria del grupo control infectado (167363 ± 20917 ogh). Hasta séptimo día de tratamiento esta tendencia se mantuvo, sin embargo, se observó que el grupo con menor carga parasitaria fue el tratado con sulfaquinoxalina (16 ± 24 ogh) seguido del grupo tratado con 30% de extracto de *P. americana* + sulfaquinoxalina (43 ± 80 ogh), grupo control no infectado (73 ± 64 ogh), grupo tratado con 30% de extracto de *P. americana* (162 ± 287 ogh) y grupo control infectado (165263 ± 20917 ogh).

Los resultados de la carga parasitaria durante los siete días de tratamiento se presentan en el gráfico de líneas en la figura 1, en el que se observó una disminución significativa en el número de ooquiste eliminados a partir del primer día de tratamiento. Tal como se muestra en las figuras 2 y 3 en los gráficos de caja en el que se describen el número de ooquistes de *Eimeria* spp. en los tres grupos experimentales y los dos controles teniendo

en consideración la mediana y los percentiles 25 y 75. Los resultados demuestran que entre el 25% al 75% de los pollos infectados con ooquistes esporulados de *Eimeria* spp. presentaron a los siete días post infección un conteo de ooquistes por gramos de heces de: 158100 a 180000 ogh, 143340 a 237500 ogh, 156120 a 178500 ogh, 154145 a 174000 ogh y 0 ogh en los tres grupos experimentales tratados con: 30% de extracto de *P. americana*, sulfaquinoxalina y 30% de extracto de *P. americana* más sulfaquinoxalina y los dos grupos controles: infectado/no tratado y los no infectado respectivamente. Mientras que al séptimo día de tratamiento el 25% 75% de los pollos presento 0 a 195 ogh, 0 a 33 ogh, 0 a 28 ogh, 147735 a 167590 ogh y 15 a 140 ogh en los grupos experimentales uno, dos, tres y los grupos controles: infectado/no tratado y no infectado respectivamente.

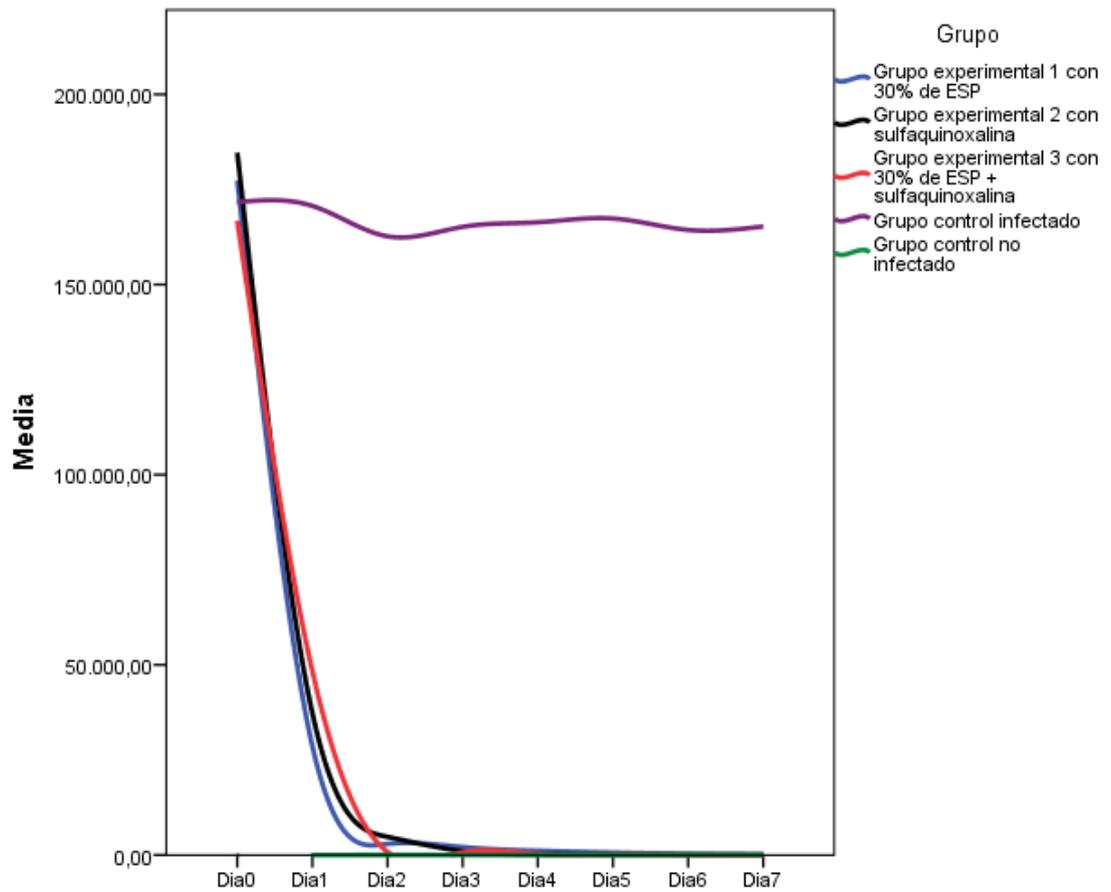


Figura 1: Valor medio del conteo de ooquistes por gramo de heces durante los siete días tratamiento en los tres grupos experimentales y dos grupos control.

Tabla 1: Conteo de ooquistes por gramo de heces en los tres grupos experimentales y dos grupos controles, los resultados se expresan en $\bar{X} \pm EE$ (media \pm error estándar), así como la mediana y los percentiles 25 y 75, por último se expresa la significancia estadística entre los grupos ($p > 0.05$).

		Grupo con 30% de ESP	Grupo con sulfaquinoxalina	Grupo con 30% de ESP + sulfaquinoxalina	Grupo control infectado	Grupo control no infectado	<i>p</i>
Día 0	$\bar{X} \pm EE$	177445 \pm 23976 ^a	184704 \pm 43709 ^a	166770 \pm 10781 ^a	171674 \pm 20917 ^a	0 \pm 0 ^b	0.000
	Mediana (25 - 75)	170900 (158100 - 180000)	173885 (143340 - 237500)	169200 (156120 - 178500)	166085 (154145 - 174000)	0 (0 - 0)	
Día 1	$\bar{X} \pm EE$	28638 \pm 7972 ^a	37304 \pm 19122 ^a	48352 \pm 12265 ^a	170673 \pm 20917 ^b	0 \pm 0 ^c	0.000
	Mediana (25 - 75)	29590 (18480 - 35850)	34660 (18172 - 56310)	52950 (36630 - 59175)	165085 (153145 - 173000)	0 (0 - 0)	
Día 2	$\bar{X} \pm EE$	2913 \pm 3026 ^a	4763 \pm 3744 ^a	806 \pm 1145 ^a	162673 \pm 20917 ^b	23 \pm 22 ^c	0.000
	Mediana (25 - 75)	1875 (227 - 3880)	3445 (865 - 9607)	155 (77 - 1062)	157085 (145145 - 165000)	15 (0 - 55)	
Día 3	$\bar{X} \pm EE$	2077 \pm 2828 ^a	1019 \pm 1040 ^a	717 \pm 819 ^a	165173 \pm 20917 ^b	10 \pm 20 ^c	0.000
	Mediana (25 - 75)	640 (147 - 3065)	515 (160 - 1525)	360 (230 - 727)	159585 (147645 - 167500)	0 (0 - 8)	
Día 4	$\bar{X} \pm EE$	1113 \pm 1743 ^a	162 \pm 80 ^a	273 \pm 275 ^a	166373 \pm 20917 ^b	18 \pm 30 ^c	0.000
	Mediana (25 - 75)	100 (50 - 1432)	185 (62 - 242)	185 (102 - 287)	160785 (148845 - 168700)	0 (0 - 30)	
Día 5	$\bar{X} \pm EE$	643 \pm 1086 ^a	75 \pm 55 ^a	162 \pm 253 ^a	167363 \pm 20917 ^b	31 \pm 46 ^a	0.000
	Mediana (25 - 75)	55 (22 - 757)	65 (32 - 95)	65 (42 - 92)	161775 (149835 - 169690)	10 (0 - 47)	
Día 6	$\bar{X} \pm EE$	322 \pm 570 ^a	33 \pm 39 ^a	61 \pm 98 ^a	164363 \pm 20917 ^b	48 \pm 48 ^a	0.000
	Mediana (25 - 75)	25 (0 - 360)	15 (3 - 50)	20 (3 - 48)	158775 (146835 - 166690)	30 (13 - 68)	
Día 7	$\bar{X} \pm EE$	162 \pm 287 ^a	16 \pm 24 ^a	43 \pm 80 ^a	165263 \pm 20917 ^b	73 \pm 64 ^a	0.000
	Mediana (25 - 75)	5 (0 - 195)	0 (0 - 33)	10 (0 - 28)	159675 (147735 - 167590)	40 (15 - 140)	

* Letras diferentes expresan diferencia estadística significativa (a; b; c)

** Letras iguales expresan que no existe diferencia estadística significativa (a; b; c)

*** ESP: Extracto de *P. americana*

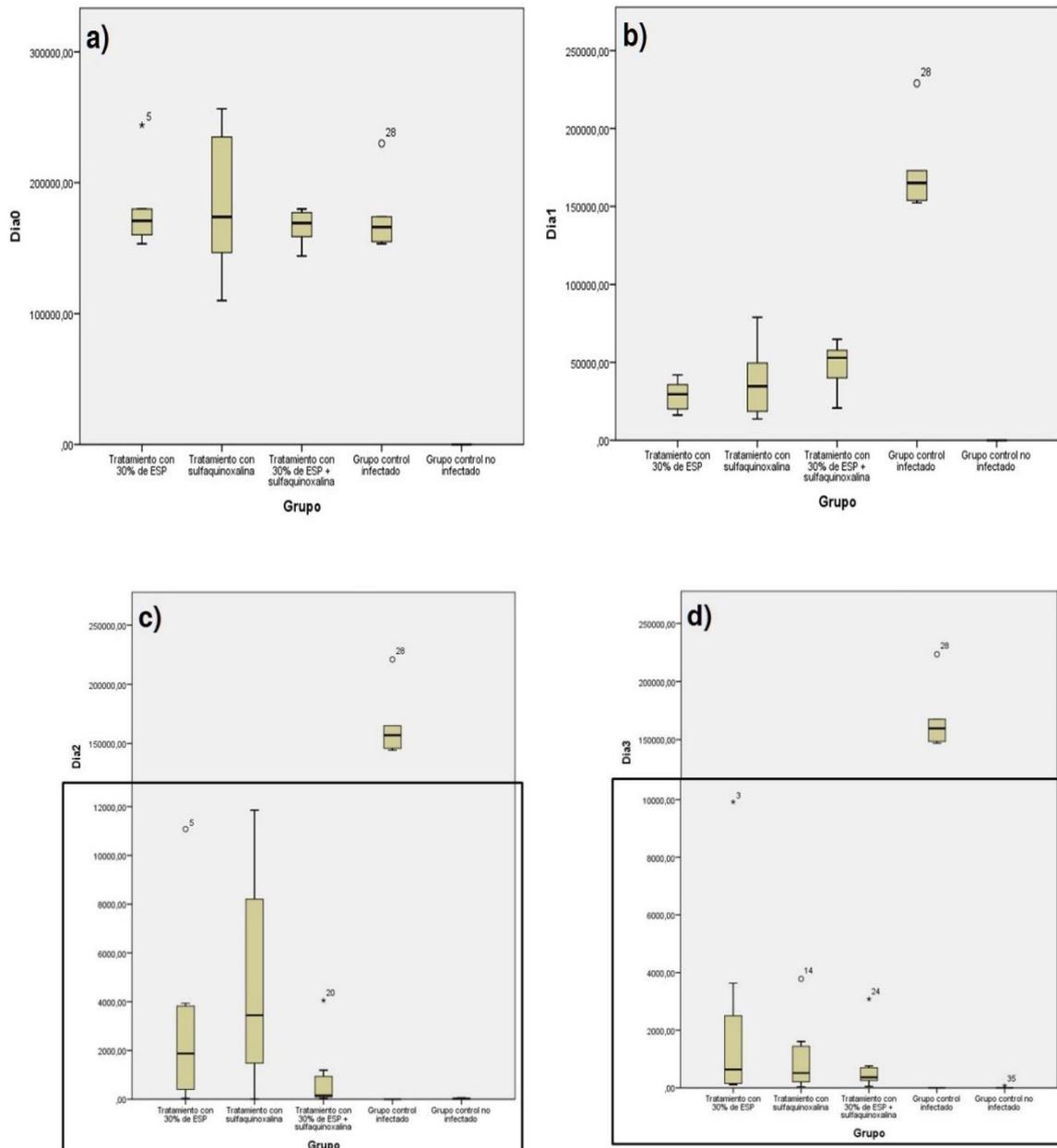


Figura 2: Grafico de cajas del conteo de ooquistes en los tres grupos experimentales y dos grupos controles: a) conteo de ooquistes siete días después de la infección con 2×10^5 ooquistes esporulados de *Eimeria* spp. considerado como día 0, b) conteo de ooquistes 24 horas después de iniciado el tratamiento en los diferentes grupos, considerado como día 1, c); d) conteo de ooquistes al día 2 y 3 de tratamiento, el grafico muestra dos escalas para el conteo de ooquistes por la diferencia entre los números con respecto al grupo control infectado.

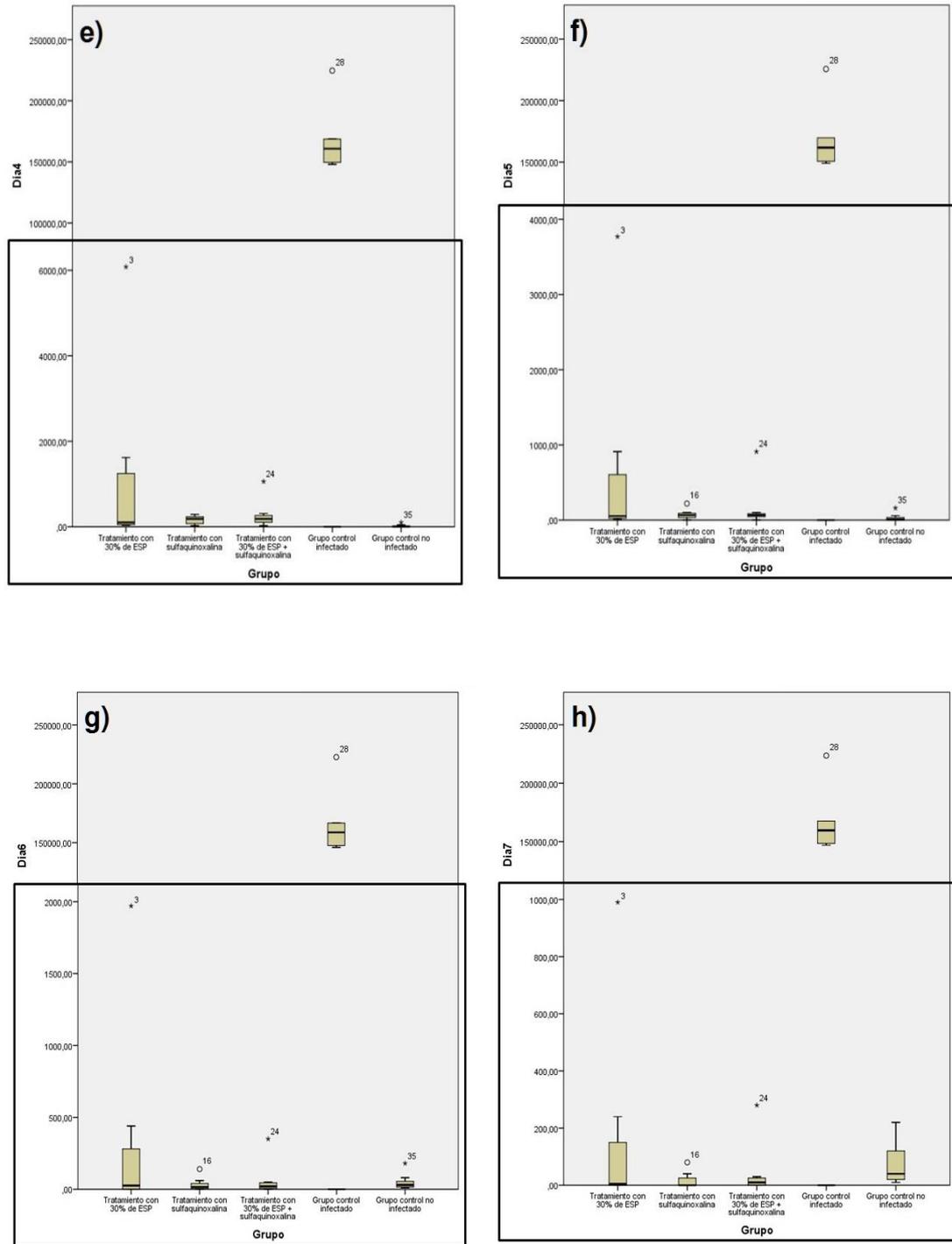


Figura 3: Grafico de cajas del conteo de ooquistes en los tres grupos experimentales y dos grupos controles: e); f); g); h) conteo de ooquistes al día 4; 5; 6 y 7 de tratamiento, el grafico muestra dos escalas para el conteo de ooquistes por la diferencia entre los números con respecto al grupo control infectado.

De las lesiones macroscópicas y mortalidad

A los 4 días de tratamiento se produjo la muerte de un pollo del grupo control infectado, quedando así 7 pollos en este grupo. Terminado los 7 días de tratamiento se realizó la eutanasia y necropsia de 2 pollos por grupo para el estudio histológico, entre las lesiones macroscópicas observadas al momento de la necropsia se mencionan las siguientes en la tabla 2.

Tabla 2: Lesiones macroscópicas observadas durante la necropsia de dos pollos por grupo en la toma de muestras para el estudio histológico.

Grupo	Pollo por grupo	Lesiones macroscópicas
Grupo tratado con 30% ESP	1	Ligero sangrado
	2	Ligero sangrado
Grupo tratado con sulfaquinoxalina	1	Aparentemente normal
	2	Ligero sangrado
Grupo tratado con 30% de ESP + sulfaquinoxalina	1	Aparentemente normal
	2	Aparentemente normal
Grupo control infectado	1	Sangrado
	2	Sangrado
Grupo control no infectado	1	Aparentemente normal
	2	Aparentemente normal

* ESP: Extracto de *P. americana*

Del estudio histológico

Los resultados se presentan en la tabla 2. De los grupos experimentales, se observó que los pollos tratados con extracto de *P. americana* más sulfaquinoxalina no mostro daño estructural en el epitelio intestinal, ni presencia de esquizontes de *Eimeria* spp. (fig. 6) sin embargo el grupo que solo recibió extracto *P. americana* mostro moderada presencia de

esquizontes de *Eimeria* spp. y ligera pérdida de epitelio intestinal (fig. 4), en tanto que el grupo tratado solo con sulfaquinoxalina no mostro presencia de esquizontes, pero si una marcada perdida de epitelio intestinal (fig. 5). Los daños más graves, así como la gran presencia de esquizontes se observó en el grupo control infectado (fig. 7) mientras que en el grupo control no infectado mostro una muy ligera presencia de esquizontes y su epitelio aún tenía a estructura normal (fig. 8).

Tabla 3: Descripción de los hallazgos en los cortes histológicos del ciego de pollos, después de concluir los tratamientos en los tres grupos experimentales y dos grupos control.

	Presencia esquizontes	Infiltración leucocitaria	Focos hemorrágicos	Perdida de epitelio intestinal	Engrosamiento de la pared intestinal
Grupo tratado con 30% ESP	++	+++	+	+	++
Grupo tratado con sulfaquinoxalina	-	+	++	+++	+
Grupo tratado con 30% de ESP + sulfaquinoxalina	-	+	-	-	-
Grupo control infectado	++++	++++	++++	++++	++++
Grupo control no infectado	+	+	-	-	-

* ESP: Extracto de *P. americana*

* - (Normal), + (ligero), ++ (moderado), +++ (grave), ++++ (muy grave)

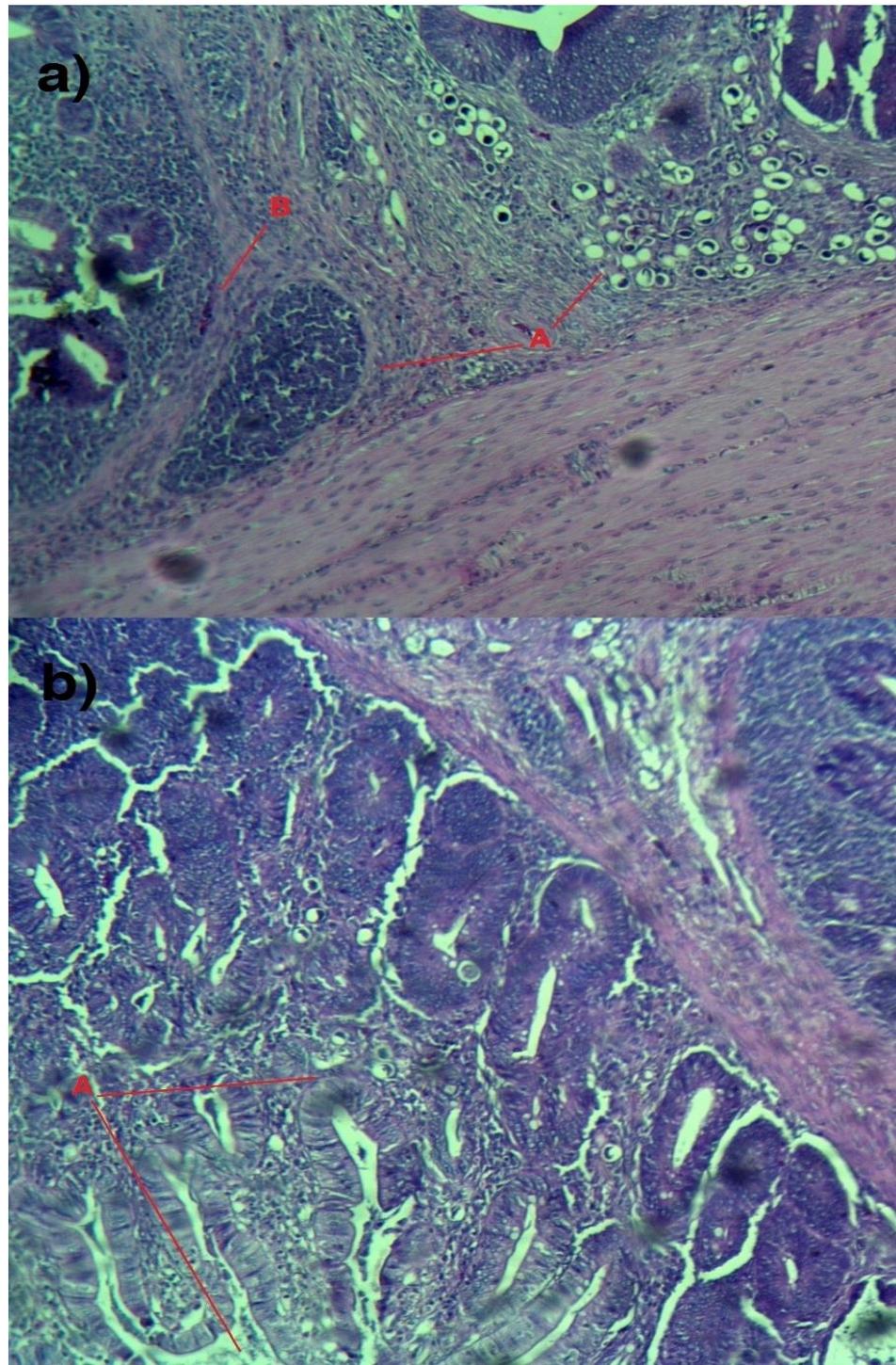


Figura 4: Corte histológico de ciego del grupo experimental tratado con extracto hidroalcohólico de semilla de palta (*P. americana*), tinción hematoxilina – eosina y con objetivo 60x. En la lámina a) se observa esquizontes (A) y pequeños focos hemorrágicos (B) mientras que en la lámina b) se puede observar la regeneración del epitelio intestinal (A).

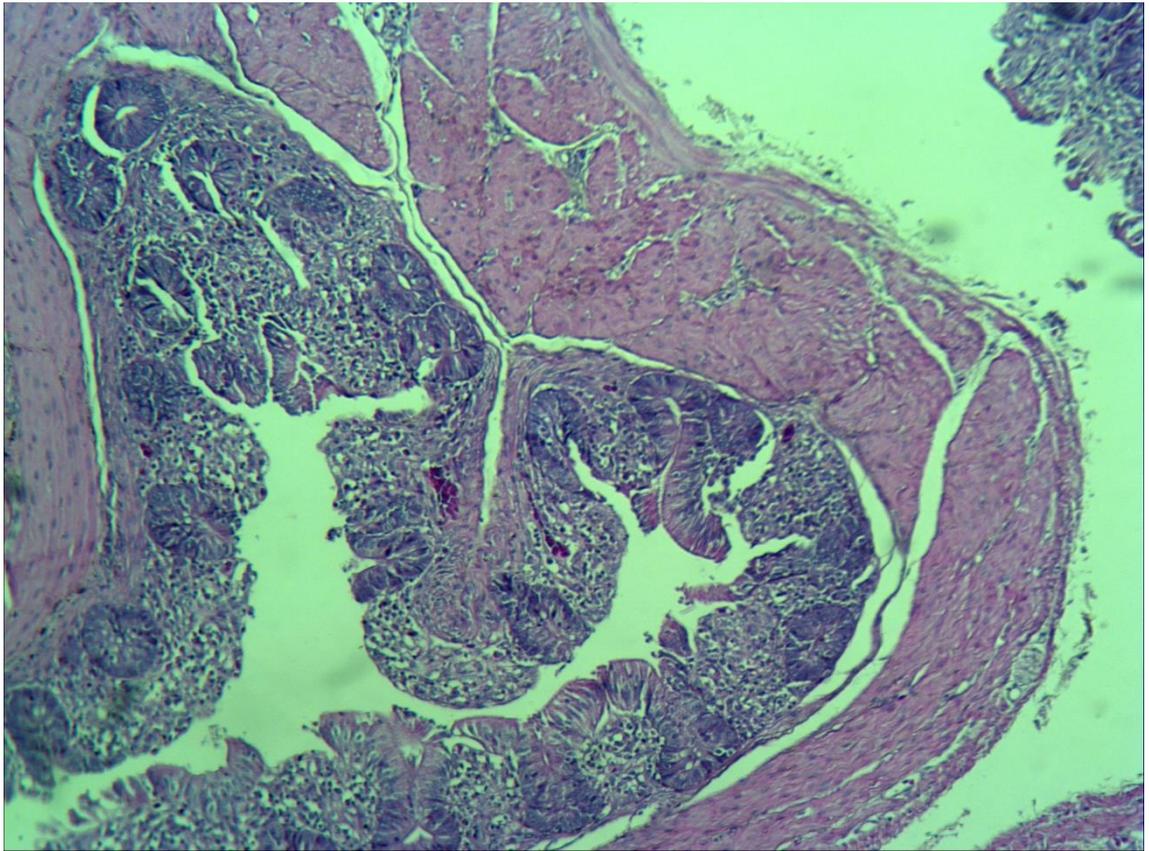


Figura 5: Corte histológico de ciego del grupo experimental tratado con sulfaquinoxalina, tinción hematoxilina – eosina y con objetivo 40x. En la lámina se observa focos hemorrágicos, descamación de las células epiteliales y desprendimiento de la mucosa.

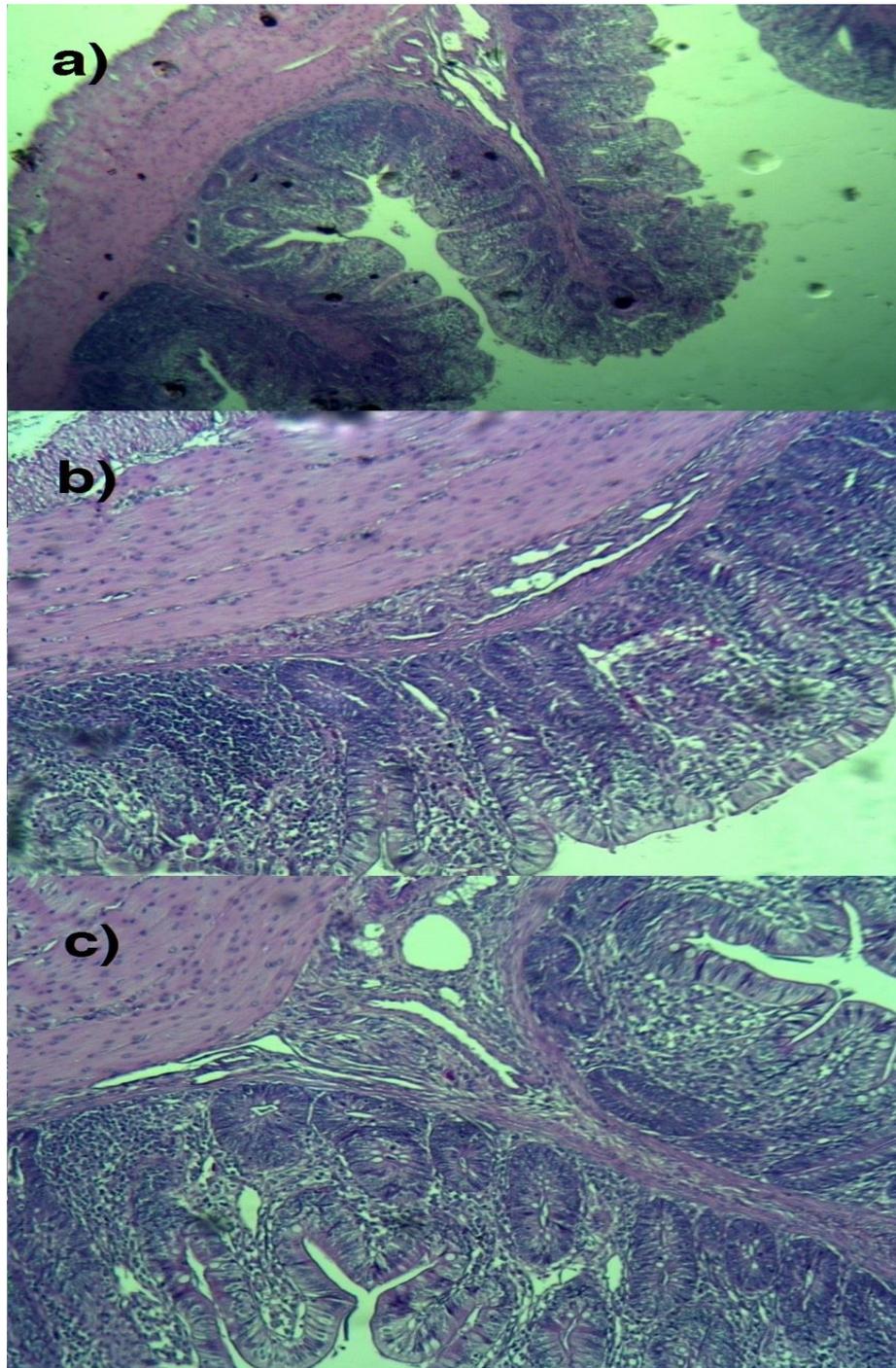


Figura 6: Corte histológico de ciego del grupo experimental tratado con extracto hidroalcohólico de semilla de palta (*P. americana*) mas sulfaquinoxalina, con tinción hematoxilina – eosina y con objetivo 10x, 40x y 60x. En las láminas se observa una regeneración del epitelio intestinal y la ausencia de esquizontes y hemorragias.

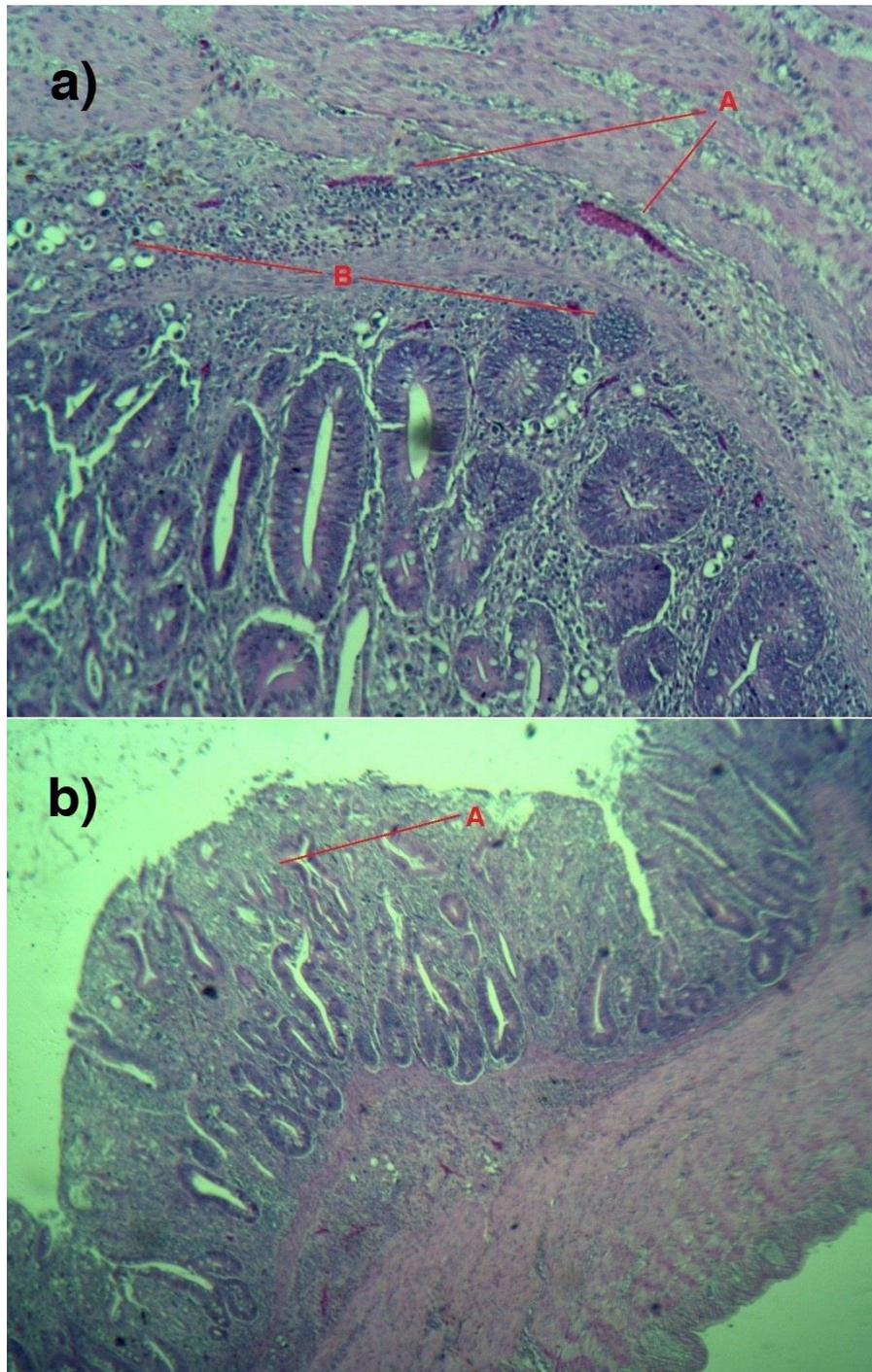


Figura 7: Corte histológico de ciego del grupo control infectado, tinción hematoxilina – eosina. En la lámina a) objetivo 60x se observa múltiples focos hemorrágicos (A) y pequeños esquizontes maduros e inmaduros (B). La lámina b) objetivo 40x se observar degeneración del epitelio intestinal con edematización e infiltración leucocitaria en la lámina propia (A).

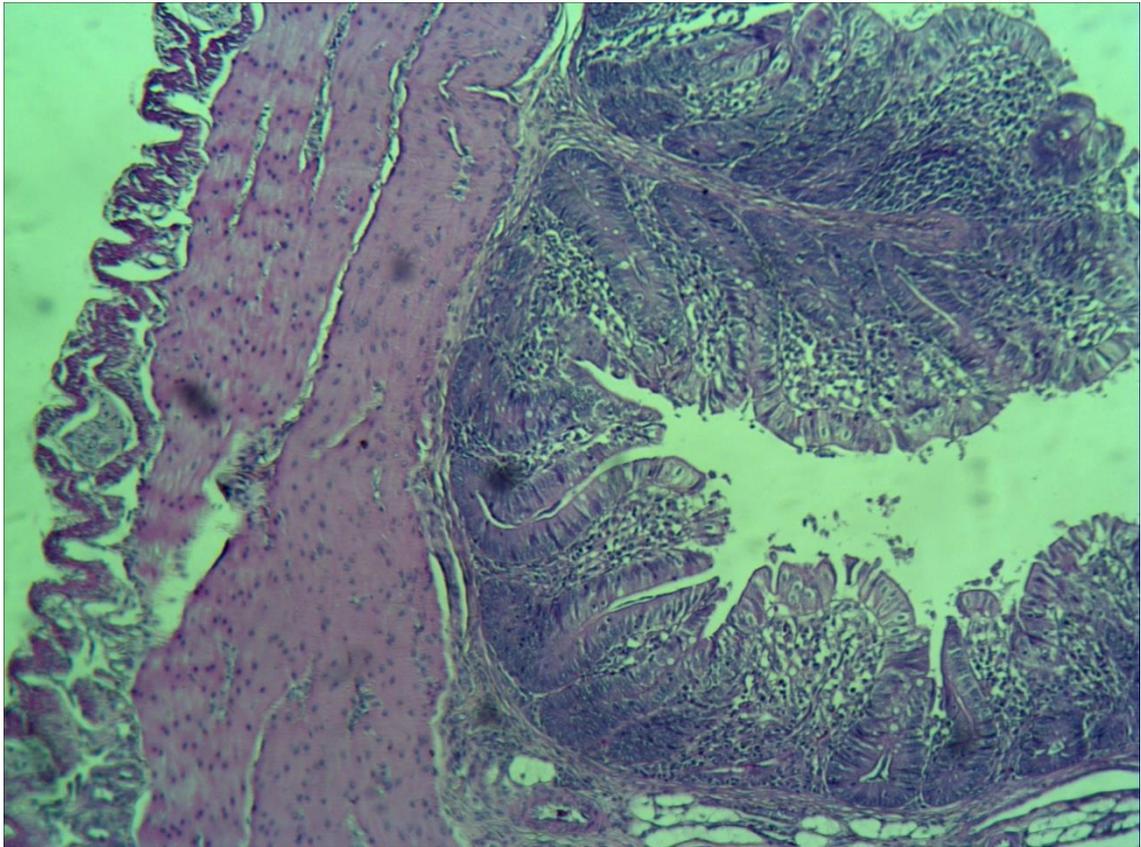


Figura 8: Corte histológico de ciego del grupo control no infectado, tinción hematoxilina – eosina y con objetivo 40x. Se observa epitelio intestinal normal.

Nuestro estudio es el primero en reportar los efectos del extracto de *P. americana* contra *Eimeria* spp. en pollos de engorde, y en los resultados se muestran que a partir del quinto día de tratamiento el número de ooquistes por gramo de heces tuvo una reducción significativa. El grupo de pollos que recibió el tratamiento con sulfaquinoxalina fue el que presento menor número de ooquistes por gramo de heces, cabe mencionar, que este fármaco es el empleado para el tratamiento de la coccidiosis en aves y su mecanismo de acción es por competencia con el ácido p-amionobenzoico para la síntesis de

ácido fólico, sin embargo, en nuestro estudio histológico se observó que el daño estructural del epitelio intestinal aún se presentaba en este grupo.

Por otro lado, también se pudo observar que el grupo de pollos tratados con el extracto hidroalcohólico de semilla de *P. americana* aun mostraba ooquistes en sus heces y en el estudio histológico se corroboró la presencia de esquizontes en la lámina propia del ciego. Sin embargo, el número de ooquistes de *Eimeria*, eliminados en las heces no mostró diferencia significativa con el grupo tratado con sulfaquinoxalina, lo que sugiere que el extracto hidroalcohólico de semilla de *P. americana* no muestra un efecto directo sobre el parásito, pero sí de una manera indirecta, quizás favoreciendo al sistema inmune y en la reparación del epitelio.

Extractos de plantas como *Bidens pilosa* (Wen *et al.*, 2019; Cicero Lee *et al.* 2016), *Punica granatum* (Ahad *et al.*, 2018), *Artemisia annua* (Fatemi *et al.*, 2017), *Brucea javanica* (Lan *et al.*, 2016) *Artemisia sieberi* (Pirali *et al.*, 2014) demostraron tener actividad en reducir la excreción de ooquistes de *Eimeria* spp., disminuir la severidad de las lesiones e incluso favorecer a los parámetros de producción de los pollos. Los autores sugieren que algunos compuestos de las plantas, como antioxidantes ayudan al sistema inmune a combatir la infección. El conteo del número de ooquistes (162 ± 287 ogh) de *Eimeria* spp. al usar el extracto de semilla de *P. americana* fue inferior a los reportados por Arab *et al.* (2006) quien obtuvo un conteo de 3000 ± 1540 ogh de *Eimeria acervulina* usando el extracto etanólico de *Artemisia sieberi* a dosis de 1 mg/kg, por otra parte nuestros resultados no se compararon a los obtenidos por Ahad *et al.* (2018) quien reportó un conteo de 92.8 ± 15.3 ogh

quien uso el extracto metanólico crudo de la cascara de *Punica granatum* a dosis de 300 mg/kg.

Nuestros resultados se suman a los obtenidos por Jiménez *et al.* (2013) quienes demostraron *in vitro* que extractos clorofórmicos y etanólicos de las semillas de *P. americana* tiene una actividad significativa contra *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Trichomona vaginalis*. Los autores no identificaron los componentes responsables de esta actividad, sin embargo, por su parte Adeboyejo *et al.* (2016) mostraron que las semillas de *P. americana* Mill contienen cantidades considerables de fenoles, flavonoides y pro-antocianidina, componentes con actividad antioxidante que favorecen al correcto funcionamiento del sistema inmune.

Con los estudios histológicos y datos del número de ooquistes expulsado por el grupo de pollos tratado solo con extracto de *P. americana* se puede deducir que los compuestos presentes pudieron haber contribuido a que las células del sistema inmune combatan con mayor eficacia la infección y se produzca una recuperación del tejido intestinal dañado. Adicionalmente si sumamos a estos compuestos un producto como la sulfaquinoxalina se obtiene mejores resultados como los encontrado en este estudio.

CONCLUSIONES

El extracto hidroalcohólico de la semilla de palta (*Persea americana Mill*) a una concentración del 30% tiene un efecto terapéutico en el tratamiento contra la coccidiosis en pollos, también se pudo determinar que si adicionamos un coccidiostato como la sulfaquinoxalina se obtiene un mejor resultado en la reparación del tejido dañado por este parásito.

El número de ooquistes excretados post infección con *Eimeria* spp. fue de 177445 ± 23976 ; 184704 ± 43709 ; 166770 ± 10781 y 171674 ± 20917 ooquistes por gramo de heces, para los grupos tratados 1, tratamiento 2, tratamiento 3 y control infectado respectivamente y a los 7 días post tratamiento el número de ooquistes por gramo de heces fue de 16 ± 24 ; 43 ± 80 ; 73 ± 64 ; 162 ± 287 y 165263 ± 20917 para los grupos: tratamiento 2, tratamiento 3, control no infectado, tratamiento 1 y control infectado respectivamente, encontrándose diferencia estadísticamente significativa entre estos.

En el estudio histopatológico: los pollos tratados con extracto de *P. americana* más sulfaquinoxalina no presentaron daño estructural en el epitelio intestinal, ni presencia de esquizontes de *Eimeria* spp. el grupo que solo recibió extracto *P. americana* mostro moderada presencia de esquizontes y ligera pérdida de epitelio intestinal, en tanto que el grupo tratado solo con sulfaquinoxalina no mostro presencia de esquizontes, pero si una marcada

perdida de epitelio intestinal. Los daños más graves e importante presencia de esquizontes fueron observados en el grupo control infectado. Mientras que en el grupo control no infectado mostro una muy ligera presencia de esquizontes y su epitelio aún tenía a estructura normal.

RECOMENDACIONES

Al ser el primer estudio que demuestra que el extracto hidroalcohólico de semilla de *P. americana* tiene un efecto terapéutico en el tratamiento contra coccidiosis en pollos, es recomendable ampliar esta investigación midiendo la toxicidad de este producto y aislando el componente que produce este efecto.

También sería recomendable realizar pruebas con otros métodos de extracción de este producto, para determinar si se presenta el mismo efecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeboyejo F., O., Aderibigbe O., R., & Ademoyegun O., T. (2016). Antioxidant properties of *Persea americana* m. seed as affected by different extraction solvent. *Journal of Advances in Food Science & Technology*, 3(2), 101 - 106.
- Ahad, S., Tanveer, S., Malik, T., & Nawchoo, I. (2018). Anticoccidial activity of fruit peel of *Punica granatum* L. *Microbial Pathogenesis*. doi:10.1016/j.micpath.2018.01.015.
- Aldin A., A., Thabet, A., Dauschies, A., & Bangoura, B. (2015). In vitro efficacy of allicin on chicken *Eimeria tenella* sporozoites. *Parasitol Res*.
- Alhotan, R., & Abudabos, A. (2019). Anticoccidial and antioxidant effects of plants derived polyphenol in broilers exposed to induced coccidiosis. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Allen, P., Lydon, J., & Danforth, H. (1997). Effects of Components of *Artemisia annua* on *Coccidia* Infections in Chickens. *Poultry Science*, 76, 1156 – 1163.
- Arab, H., Rahbari, S., Rassouli, A., Moslemi, M., & Khosravirad, F. (2006). Determination of artemisinin in *Artemisia sieberi* and anticoccidial effects of the plant extract in broiler chickens. *Trop Anim Health Prod*, 38, 497 – 503.
- Bozkurt, M., Giannenas, I., Küçükyılmaz, K., Christaki, E., & Florou, P. (2013). An update on approaches to controlling coccidia in poultry using botanical extracts. *British Poultry Science*, 54(6), 713 - 727. doi:10.1080/00071668.2013.849795

- Cicero Lee-T., C., Cheng Y., Y., Muthamilselvan, T., & Wen C., Y. (2016). Field trial of medicinal plant, *Bidens pilosa*, against eimeriosis in broilers. *Scientific Reports*, 6(24692), 1 - 7.
- Del Cacho, E., Sierra, M. A., & Sánchez A., C. (2002). Coccidiosis aviar (Eimeriosis). En M. Cordero del C., F. A. Rojo V., C. Sánchez A., S. Hernández R., I. N. López C., P. Díez B., . . . M. Carvalho V. (Edits.), *Parasitología veterinaria* (págs. 757 - 768). España: McGraw-Hill.
- Du, A., & Hu, S. (2004). Effects of a Herbal Complex Against *Eimeria tenella* Infection in Chickens. *J. Vet. Med.*, B(51), 194 – 197.
- Fatemi, A., Asasi, K., & Razavi, S. (2017). Anticoccidial effects of *Artemisia annua* ethanolic extract: prevention, simultaneous challenge-medication, and treatment. *Parasitol Res*, 116, 2581 – 2589.
- Fonseca L., A. A., Martel y C., S., Rojas B., V. B., Flores A., V. G., & Vela L., S. T. (2013). *Investigación científica en salud con enfoque cuantitativo*. Huánuco.
- Hernández S., R., Fernández C., C., & Baptista L., P. (2007). *Metodología de la investigación* (Cuarta ed.). Mexico: Ultra.
- Jiménez A., A., Luna H., J., Ruiz N., R., Cornejo G., J., Tapia, A., & Yépez M., L. (2013). Antiprotozoal and antimycobacterial activities of *Persea americana* seeds. *Complementary and Alternative Medicine*, 13(109).
- Lan, L., Zuo, B., Ding, H., Huang, Y., Chen, X., & Du, A. (2016). Anticoccidial evaluation of a traditional chinese medicine—*Brucea javanica*—in broilers. *Poultry Science*, 00, 1 – 8.
- Montalvo S., E. (2016). *Extracto etanólico del cético (Cecropia sp.) sobre cicatrización de injurias provocadas en ratones de la cepa Balb C (Tesis de pregrado)*. Huánuco: Universidad Nacional Hermilio Valdizan.

- Muhammad A., Z., Zafar, I., Rao Z., A., & Muhammad N., K. (2012). Anticoccidial activity of herbal complex in broiler chickens challenged with *Eimeria tenella*. *Parasitology*, 139, 237– 243.
- Pérez Á., S., Ávila Q., G., & Coto A., O. (2015). Revisión bibliográfica: el aguacatero (*Persea americana* Mill). *Cultivos Tropicales*, 36(2), 111 - 123.
- Pirali K., K., Kaboutari K., J., Bahadoran, S., Teixeira da S., J., Dehghani S., A., & Cheraghchi B., M. (2014). Comparison of the anticoccidial effect of granulated extract of *Artemisia sieberi* with monensin in experimental coccidiosis in broiler chickens. *Experimental Parasitology*, 141, 129 – 133.
- PROTEGE. (2018). *Medicamentos hervarios tradicionales*, Palto. Chile: Ministerio de Salud.
- Quiroz, H. (2007). *Parasitología y enfermedades parasitaria de animales Domésticos*. Mexico: Grupo Noriega.
- Rojo M., E. (1999). *Enfermedades de las aves* (2da ed.). México: Trillas.
- Salinas J., M., Icochea D., E., Casas A., E., Falcón, N., & Reyna, P. (2001). Niveles de ooquistes de *Eimeria* en cama y su relación con las lesiones intestinales en pollos broiler. *Rev Inv Vet Perú*, 12(1), 8 - 13.
- Sherkov, S. (1976). Study of the effect of egg white and thiamine on coccidiosis in chickens caused by *E. tenella*. *Vet Med Nauki*, 13(9), 93 - 99.
- Susano L., H., & Ocampo C., L. (2006). *Farmacología veterinaria* (3era ed.). Mexico: McGraw-Hill Intenacional.
- Thabet, A., Zhang, R., Alnassan, A., & Dauschies, A. (2017). Anticoccidial efficacy testing: In vitro *Eimeria tenella* assays as replacement for animal experiments. *Veterinary Parasitology*, 233, 86 – 96.

Wen C., Y., Cheng Y., Y., Yu C., L., Chu W., Y., Wei Q., L., Chih Y., C., . . .
Lee T., C. (2019). Anti-coccidial properties and mechanisms of an
edible herb, *Bidens pilosa*, and its active compounds for coccidiosis.
Scientific Reports (revista electronica), 1 - 11. doi:10.1038/s41598-019-
39194-2

ANEXOS

ANEXO 2.

GUÍA DE OBSERVACIÓN 2

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA SEMILLA DE PALTA (*Persea americana Mill*) EN EL TRATAMIENTO DE COCCIDIOSIS EN POLLOS (*Gallus gallus domesticus*)

Grupos	Sujetos de estudio	Mucosa cecal	Observaciones
GR1	1		
	2		
GR2	1		
	2		
GR3	1		
	2		
GR4	1		
	2		
GR5	1		
	2		

+0 = Normal

+1 = Infección ligera

+2 = Infección moderada

+3 = Infección grave

+4 = Infección muy grave, con mortalidad

ANEXO 3.

VISTAS FOTOGRÁFICAS



Fotografía del secado de la semilla de *P. americana*.



Fotografía de la preparación del extracto hidroalcohólico de la semilla de *P. americana*.



Fotografía de la preparación del extracto hidroalcohólico de la semilla de *P. americana*.



Fotografía del macerado del extracto hidroalcohólico de la semilla de *P. americana*.



Fotografía de la preparación del filtrado del extracto hidroalcohólico de la semilla de *P. americana* para poder realizar el secado y obtener el extracto seco.



Fotografía del pesado del extracto seco de la semilla de *P. americana*.



Fotografía del aislamiento y búsqueda de ooquistes de *Eimeria* en ciego de pollos de mercado.



Fotografía del aislamiento y búsqueda de ooquistes de *Eimeria* en ciego de pollos de mercado.



Fotografía del aislamiento y esporulación de ooquistes de *Eimeria* en ciego de pollos de mercado.



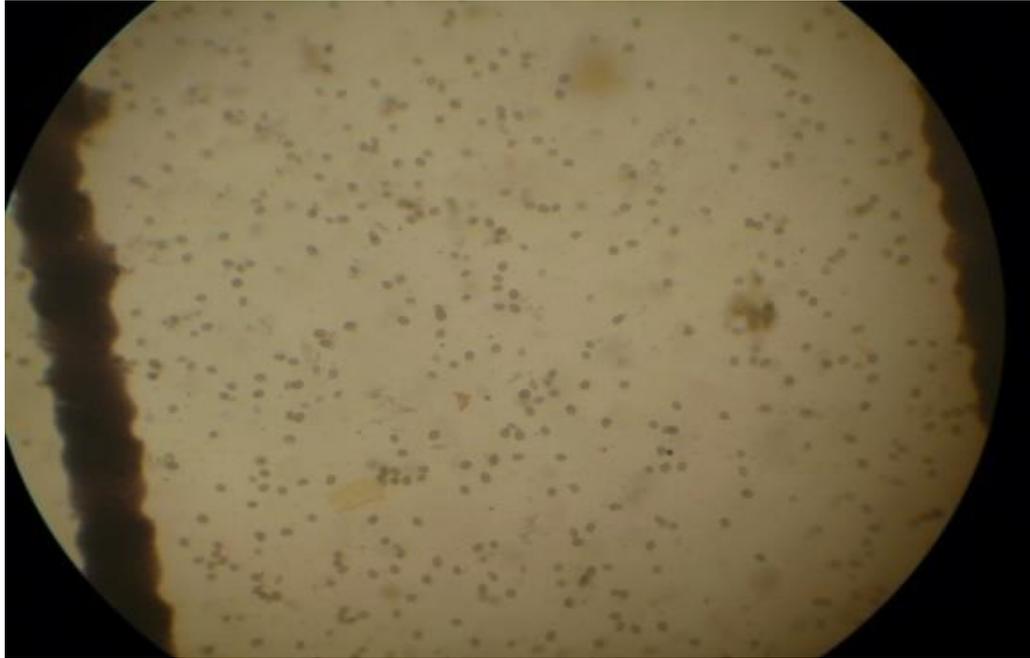
Fotografía crianza de pollos para los conformar los grupos experimentales.



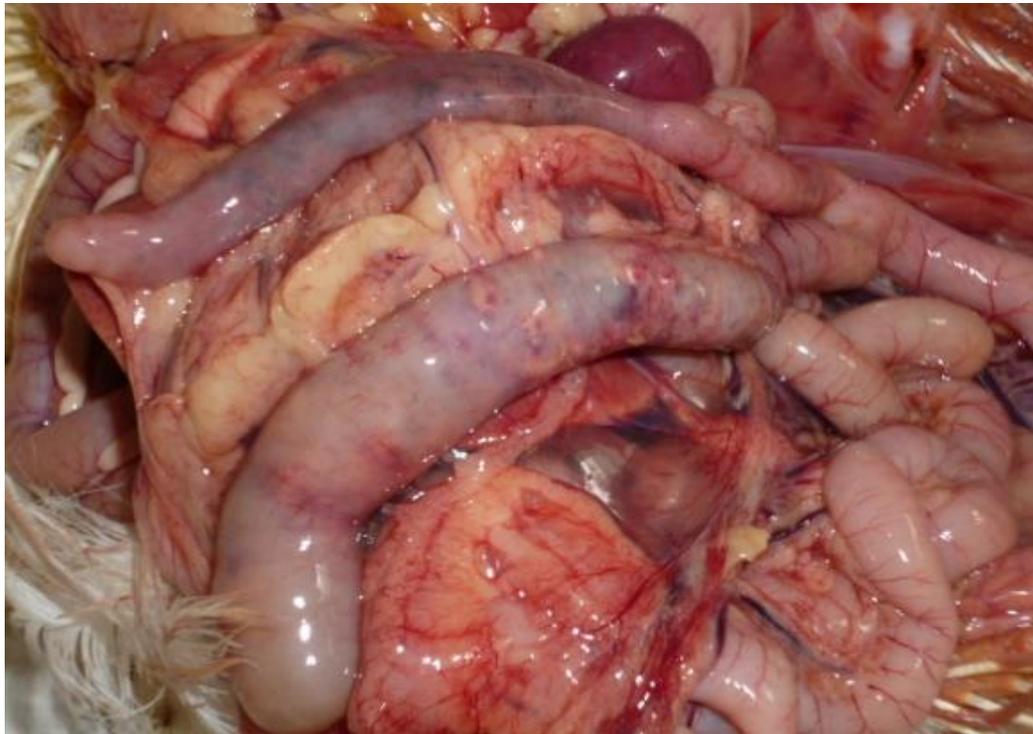
Fotografía de la preparación de los tratamientos antes de la aplicación a los grupos experimentales.



Fotografía de la administración de los tratamientos a los grupos experimentales.



Fotografía de los ooquistes preparados por el método de McMaster



Fotografía de los hallazgos en la necropsia de los pollos de los grupos experimentales.

NOTA BIOGRÁFICA



LUANA KRIS BARRIOS MARTINEZ

Nací el 28 de julio de 1996 en la ciudad de Huánuco, provincia de Huánuco en el departamento de Huánuco, mis padres son Edwin Angelo Barrios Falcón y Diana Elizabeth Martinez Acuña.

DATOS PERSONALES:

Apellido Paterno: Barrios

Apellido Materno: Martinez

Nombres: Luana Kris

FORMACION ACADÉMICA:

Primaria: (2002 – 2007) Institución Educativa “Daniel Alomia Robles” Huánuco - Huánuco – Huánuco.

Secundaria: (2008 – 2012) Institución Educativa Emblemática “Nuestra Señora de las Mercedes” Huánuco - Huánuco – Huánuco.

Superior: (2013 – 2017) Universidad Nacional Hemilio Valdizan: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, distrito de Pillco Marca, provincia de Huánuco.

Grado Obtenido: (2019) Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia.



"Año de la Universalización de la Salud"

UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN - HUÁNUCO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En la ciudad de Huánuco - Distrito de Pillco Marca, a los cinco días del mes de agosto del 2020, siendo las diecisiete horas, en cumplimiento al Reglamento de Grados y Títulos, se reunieron a través de la Plataforma de Video Conferencia Cisco Webex en el Aula Virtual N° 301- VET. 04 <https://unheval.webex.com/unheval/j.php?MTID=m8364546486d55f13200b406c276c7456>, los miembros integrantes del Jurado examinador de la Sustentación de Tesis Titulada: "**EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA SEMILLA DE PALTA (*Persea americana Mill*) EN EL TRATAMIENTO DE COCCIDIOSIS EN POLLOS (*Gallus gallus domesticus*)**", de la Bachiller **LUANA KRIS BARRIOS MARTINEZ**, para **OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO**, estando integrado por los siguientes miembros:

- | | |
|-----------------------------------------|----------------------|
| • Dra. Ernestina ARIZA ÁVILA | : Presidenta |
| • Mg. Teofanes Anselmo CANCHES GONZALES | : Secretario |
| • Mg. Miguel Ángel CHUQUIYAURI TALENAS | : Vocal |
| • Dr. Germany Yusep GÓMEZ MARIN | : Accesitario |

Finalizado el acto de sustentación, los miembros del Jurado procedieron a la calificación, cuyo resultado fue: APROBADO, con la nota de DIECISEIS (16), Con el calificativo de: BUENO

Con lo que se dio por finalizado el proceso de Evaluación de Sustentación de Tesis. Siendo a horas 18:00 hrs., en fe de la cual firmamos.

.....
Dra. Ernestina ARIZA ÁVILA
PRESIDENTA

.....
Mg. Teofanes Anselmo CANCHES GONZALES
SECRETARIO

.....
Mg. Miguel Ángel CHUQUIYAURI TALENAS
VOCAL



"Año de la Lucha Contra la Corrupción y la Impunidad"



UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN – HUÁNUCO
LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N°099-2019-SUNEDU/CD
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DECANATO

RESOLUCIÓN N° 101-2019-UNHEVAL-FMVZ/D

Pillco Marca, junio 11 de 2019

Visto, los documentos presentados en dos (02) folios y tres (03) ejemplares de su proyecto de Tesis:

CONSIDERANDO:

Que, con la Resolución Consejo Universitario N°2846-2017-UNHEVAL, de fecha 03.AGO.2017, se aprueba el Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán de Huánuco, y en cumplimiento a los Artículos 14,15,16,17 y 18 del CAPITULO IV de la Modalidad de Tesis y optando por el inciso a) Presentación, Sustentación y aprobación de Tesis;

Que, mediante Formulario Único de Trámite N°0483011, presentado por la Bach. **Luana Kris BARRIOS MARTINEZ**, quien solicita la designación de la **Comisión Ad hoc** para la revisión de su Proyecto de Tesis Titulado "**EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA SEMILLA DE PALTA (Persea americana Mill) EN EL TRATAMIENTO DE COCCIDIOSIS EN POLLOS (Gallus gallus domesticus)**"; y designación de su asesor;

Que, para el presente Proyecto de Tesis el Decano designa a la Comisión Revisadora Ad hoc, conformada por los siguientes docentes: Dra. Ernestina Ariza Ávila (Presidente); Mg. Teofanes Anselmo Canches Gonzales (Secretario) y Mg. Miguel Ángel Chuquiyauri Talenas (Vocal);

Que estando dentro de las atribuciones conferidas al Decano de Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia;

SE RESUELVE:

7°. **DESIGNAR** a la **Comisión Revisadora Ad hoc**, del Proyecto de Tesis Titulado: "**EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA SEMILLA DE PALTA (Persea americana Mill) EN EL TRATAMIENTO DE COCCIDIOSIS EN POLLOS (Gallus gallus domesticus)**"; presentado por la Bachiller de la Facultad de Medicina Veterinaria, **Luana Kris BARRIOS MARTINEZ**, conformada por los siguientes docentes:

- | | |
|-----------------------------------------|------------|
| • Dra. Ernestina Ariza Ávila | Presidenta |
| • Mg. Teofanes Anselmo Canches Gonzales | Secretario |
| • Mg. Miguel Ángel Chuquiyauri Talenas | Vocal |

8°. **DESIGNAR** al **M.V. Dr. Rosei APAÉSTEGUI LIVAQUE**, como asesor de proyecto de tesis.

9°. **FIJAR en un plazo** de quince días calendarios a partir de la fecha, para que los miembros de la comisión emitan el dictamen e informe conjunto debidamente sustentado por escrito, acerca del Proyecto de Tesis.

10°. **DAR A CONOCER** la presente Resolución la comisión Ad hoc y a la interesada.

Regístrese, comuníquese, archívese.



Mg. Marcé V. Pérez Saavedra
DECANO
Facultad de Medicina Veterinaria y Z.

Distribución: Comisión AD HOC (03) / Asesor/Interesada/Archivo.



"Año de la Lucha Contra la Corrupción y la Impunidad"



UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILO VALDIZÁN – HUÁNUCO
LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N°099-2019-SUNEDU/CD
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DECANATO

RESOLUCIÓN DECANATO N° 112-2019-UNHEVAL-FMVZ

Pillco Marca, julio 01 de 2019

Visto, los documentos presentados en dos (02) folios y dos proyectos de tesis;

CONSIDERANDO:

Que, mediante Resolución N° 0662-2016-UNHEVAL-CUI, de fecha 01.SET.2016, tomar conocimiento las resoluciones y el informe final de los resultados emitidos por el Comité electoral Universitario, por lo expuesto en los considerandos precedentes c). Resolución N°052-2016-UNHEVAL-CEU, del 26.AGO.2016 que proclamo y acreditó como Decano de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia al Mg. Marcé Ulises PÉREZ SAAVEDRA, a partir del 02 de setiembre de 2016 hasta el 01 de setiembre del 2020;

Que, con Formato Único de Trámite N° 0485337, presentada por la Bach. Luana Kris BARRIOS MARTINEZ, quien solicita aprobación de su proyecto de tesis;

Que, mediante carta S/N – 2019-FMVZ, presentada por la Comisión Revisora Ad Hoc integrado por los docentes: Dra. Ernestina Ariza Ávila (Presidente); Mg. Teofanes Anselmo Canches Gonzales (Secretario) y Mg. Miguel Ángel Chuquiyaury Talenas (Vocal), manifestando que se realizó la evaluación del proyecto de tesis Titulado: "**EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA SEMILLA DE PALTA (Persea americana Mill) EN EL TRATAMIENTO DE COCCIDIOSIS EN POLLOS (Gallus gallus domesticus)**"; presentada por la Bach. Luana Kris BARRIOS MARTINEZ, el mismo que ha levantado las observaciones, por lo damos conformidad y declarar apto el Proyecto para su aprobación y ejecución;

Estando conforme a las atribuciones conferidas al Decano de Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por la Ley Universitaria N°30220, el Estatuto vigente

SE RESUELVE:

- 1°. **APROBAR**, el Proyecto de Tesis y su esquema de su desarrollo Titulado: "**EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA SEMILLA DE PALTA (Persea americana Mill) EN EL TRATAMIENTO DE COCCIDIOSIS EN POLLOS (Gallus gallus domesticus)**"; presentado por la Bachiller de la Facultad de Medicina Veterinaria, Luana Kris BARRIOS MARTINEZ, asesorado por el M.V. Dr. Rosel APAÉSTEGUI LIVAQUE, por lo tanto, **se encuentra expedito para su ejecución, por lo expuesto en la parte considerativa de la presente resolución.**
- 2°. **REGISTRAR**, el referido Proyecto de Tesis en el Libro de Proyecto de Tesis de la Facultad, y en el Instituto de Investigación de la Facultad.
- 3°. **AUTORIZAR**, a la Tesista para que desarrolle su Proyecto de Tesis en un plazo máximo de un año.
- 4°. **DAR A CONOCER** esta Resolución a la instancia correspondiente y a la interesada.



Regístrese, comuníquese, archívese.

M.V. Mg. Marcé Ulises Pérez Saavedra
DECANO
Facultad de Medicina Veterinaria y Z.

Distribución: Asesor/Interesada/Archivo.

**AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN DE TESIS ELECTRÓNICAS DE
PREGRADO**

1. IDENTIFICACIÓN PERSONAL: (especificar los datos de los autores de la tesis)

Apellidos y Nombres: BARRIOS MARTINEZ, Luana Kris

DNI: 76196419 Correo electrónico: kris.barriosm@gmail.com

Teléfonos: _____ Celular 966432245 Oficina _____

Apellidos y Nombres: _____

DNI: _____ Correo electrónico: _____

Teléfonos: _____ Celular _____ Oficina _____

Apellidos y Nombres: _____

DNI: _____ Correo electrónico: _____

Teléfonos: _____ Celular _____ Oficina _____

2. IDENTIFICACIÓN DE LA TESIS:

Pregrado
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

Título Profesional obtenido:

Médico Veterinario

Título de la Tesis:

“EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA SEMILLA DE PALTA
(*Persea americana Mill*) EN EL TRATAMIENTO DE COCCIDIOSIS EN POLLOS
(*Gallus gallus domesticus*)”.

Tipo de acceso que autoriza(n) el (los) autor (es):

Marcar (X)	Categoría de Acceso	Descripción del Acceso
X	PÚBLICO	Es público y accesible al documento a texto completo por cualquier tipo de usuario que consulta el repositorio.
	RESTRINGIDO	Solo permite el acceso al registro del metadato con información básica, más no al texto completo

Al elegir la opción "Público" a través de la presente autorizo o autorizamos de manera gratuita al Repositorio Institucional - UNHEVAL, a publicar la versión electrónica de esta tesis en el Portal Web repositorio.unheval.edu.pe, por un plazo indefinido, consintiendo que con dicha autorización cualquier tercero podrá acceder a dichas páginas de manera gratuita, pudiendo revisarla, imprimirla o grabarla, siempre y cuando se respete la autoría y sea citada correctamente.

En caso haya(n) marcado la opción "Restringido", por favor detallar las razones por las que se eligió este tipo de acceso:

Asimismo, pedimos indicar el periodo de tiempo en que la tesis tendría el tipo de acceso restringido:

- () 1 año
- () 2 años
- () 3 años
- () 4 años

Luego del periodo señalado por usted(es), automáticamente la tesis pasará a ser de acceso público.

Huánuco, 07 de octubre de 2020.



Luana Kris Barrios Martinez
DNI N° 76196419