



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“SENSIBILIDAD DE LAS BACTERIAS PRESENTES EN LA MICROBIOTA DEL
TRACTO DIGESTIVO AL EXTRACTO ACUOSO DE CILANTRO EN CONEJOS
DE LA GRANJA CUNINEZA”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA:

MARÍA DEL ROCÍO ORTEGA RAMÍREZ

ASESORES:

DRA. MARÍA ANTONIA MARIEZCURRENA BERASAIN
M. EN C. LUIS FERNANDO VEGA CASTILLO
M. EN C. PERLA MABEL MARÍN MENDOZA



Toluca, México Marzo de 2018

DEDICATORIAS:

Quiero iniciar dedicando este trabajo al mejor padre del mundo Don Joaquín Ortega Orta que siempre confío en mí, todo lo que soy se lo debo a él, a su ejemplo y arduo trabajo de sol a sol.

También te lo dedico a ti madre Roberta Ramírez Ángeles tu apoyo y ejemplo me mostraron que la vida difícil, se puede soportar amándose a uno mismo.

A mi esposo José hombre especial que me cuida, me quiere y me acepta como soy, que con su amor me lleva a superar obstáculos y disfrutar los éxitos, caminando a mi lado el sendero que la vida nos va trazando.

A los motores de mi vida, a la verdadera razón de este momento mis hijos Selene Aurora y José Adrián espero que siempre estén orgullosos de mí y tomen lo bueno que les ofrezco hoy y siempre, los amo.

A mis hermanas Alejandra y Margarita que son un gran ejemplo de resistencia, valor y coraje al enfrentar la vida tan difícil que les tocó vivir.

A mi hermano Joaquín que a pesar de su olvido lo amo y espero pueda seguir este ejemplo.

A mi tía Paula que en vida me vio como a una hija y sé que desde el cielo me sigue protegiendo.

A todos mis ancestros ya que deben ser honrados y venerados, porque son parte esencial de mi existencia.

A mis hermanas de vida Nereida Balderas y Reina Sandoval que siempre han estado a mi lado.

A mis amigas de la facultad ya que compartimos horas de desvelos, clases, diversión, angustia, alegrías y triunfos; Águeda, Xóchitl, Maribel, Paty, Blanca, Julieta, María Antonia y Laurita.

A mi amigo Julián que me apoyo para no desertar de esta carrera, al ayudarme a comprar mi primer libro.

A mi gran amiga Claudia del Olmo Palomeque que desde el otro lado del océano mantiene vivo ese gran cariño que nació en FMVZ, eres una gran persona.

AGRADECIMIENTOS:

A ese ser que se manifiesta de mil formas y encuentra el tiempo exacto para que ocurran las cosas, al Dios que suma aciertos y errores convirtiéndolos en VICTORIAS.

A la vida que sin explicaciones te pone en el lugar correcto y con las personas indicadas para cerrar círculos y poder decir vida nada te debo vida estamos en paz.

A mí alma mater UAEMEX que a pesar de los años acumulados me recordó y me permitió llegar a este momento.

A mí amada Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, que me dio los conocimientos necesarios para ser una profesionista exitosa.

Al proyecto de la UAEMEX «Desarrollo de capacidades en Ciencias de la Carne y Caracterización del valor nutritivo de las Carnes comercializadas en México y Uruguay » con número de clave 3797/2014/CID, por su financiamiento y apoyo en la investigación.

Al Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal por prestar las instalaciones para la realización de las pruebas bacteriológicas.

A la granja CUNINEZA, ubicada en la Colonia las Virgencitas, Nezahualcoyotl, Estado de México, por permitirme muestrear sus conejos.

A ese ángel sin alas que Dios puso en mi camino; mi amiga, colega, compañera y asesora DRA. MARÍA ANTONIA MARIEZCURRENA BERASAIN.

A esos grandes seres humanos que sin conocerme me dieron todo su apoyo y experiencia, asesorándome en este trabajo; M. en C. Luis Fernando Vega Castillo, M. en C. Perla Mabel Marín Mendoza.

A la Dra. Adriana del Carmen Gutiérrez Castillo y M. en C. Ada Elia Díaz González Borja por llenar de aciertos este trabajo con su revisión y orientación

Al M. en C Daniel Arzate Serrano por su confianza y apoyo para llevar esta investigación a buen término.

A mis amigos de la generación 83-88 de la FMVZ UAEMEX por animarme a concluir esta etapa en mi formación académica.

**SENSIBILIDAD DE LAS BACTERIAS PRESENTES
EN LA MICROBIOTA DEL TRACTO DIGESTIVO AL
EXTRACTO ACUOSO DE CILANTRO EN CONEJOS
DE LA GRANJA CUNINEZA.**

ÍNDICE

DEDICATORIAS:	ii
AGRADECIMIENTOS:	iv
ÍNDICE DE CUADROS	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. Historia de las plantas medicinales	2
2.2. Propiedades de las plantas medicinales	3
2.3. Propiedades antimicrobianas del cilantro	4
2.4. El Conejo	5
2.5. La cunicultura en México y en el mundo	6
2.6. Microbiota del tracto digestivo del conejo	7
2.7. Sensibilidad antimicrobiana de Enterobacterias	10
III. JUSTIFICACIÓN	11
IV. HIPÓTESIS	13
V. OBJETIVOS	14
Generales	14
Específicos	14
VI. MATERIAL Y MÉTODO	15
Biológico	15
Material de laboratorio	15
Material de escritorio	15
Diseño Experimental	16
Preparación del cilantro	16
Análisis de Laboratorio	17
Capacidad de Inhibición	18
VII. LÍMITE DE ESPACIO	19
VIII. LÍMITE DE TIEMPO	20

IX. RESULTADOS	21
X. DISCUSIÓN	23
XI. CONCLUSIÓN.....	26
XII. SUGERENCIAS	27
XIII. BIBLIOGRAFÍA	28
XIV. ANEXOS	33

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Bacterias presentes en el conejo (\log^{10} gérmenes por gramo).....	8
Cuadro 2. Evolución de la microbiota en tres momentos del ciclo de crianza (\log^{10} gérmenes por gramo).....	9
Cuadro 3. Inhibición bacteriana en mm del extracto acuoso de cilantro sobre bacterias del tracto digestivo del conejo por la técnica de Kirby-Bauer.....	21

I. INTRODUCCIÓN

En el sector alimentario existen productos animales y vegetales destinados directamente al consumidor y a la industria. En la industria agroalimentaria se utilizan con más frecuencia condimentos de origen natural como saborizantes, colorantes y conservadores debido a su actividad antioxidante (Cury *et al.*, 2011) antibacterial y antifúngica, las cuales son atribuidas a los fenoles y ácidos fenólicos (Burt, 2004).

Muchos compuestos presentes en aceites esenciales obtenidos de diferentes plantas, tales como: fenoles, flavonoides y otros polifenoles actúan contra bacterias patógenas, mohos y levaduras presentes en alimentos. Shan *et al.*, 2007 determinaron en más de 10 aceites esenciales la relación existente entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad de inhibición de bacterias Gram positivas y Gram negativas, y concluyen que el contenido de fenoles produce un efecto importante en la capacidad inhibitoria de los extractos.

Es por esto que el objetivo de este trabajo es, evaluar la sensibilidad de las bacterias del tracto digestivo al extracto acuoso de cilantro en conejos de una unidad de producción cunícola.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Historia de las plantas medicinales

Las plantas medicinales han formado parte importante de la historia y la cultura de los pueblos indígenas. El uso y aplicación como tratamiento de enfermedades constituye un conocimiento que se ha transmitido de generación en generación (Borek *et al.*, 2004).

Antes de la llegada de los conquistadores existía en México una gran riqueza de medicina tradicional practicada por muchos grupos indígenas. Los indígenas poseían un amplio conocimiento sobre los vegetales y hierbas. La forma de administrar los medicamentos era mediante emplastos, polvos secos y aceites; muchas veces acompañados de conjuros, mandas, rezos o limpiezas. Cuando los españoles llegaron a México se dieron cuenta de los conocimientos y habilidades que poseían los indígenas sobre el tratamiento de las enfermedades, sin embargo, en su afán de conquistar y en su desconocimiento de este tipo de medicina prohibieron el uso de algunos métodos. La medicina española introdujo nuevas formas de curación, así como la incorporación de nueva herbolaria medicinal como: la manzanilla, el romero, la albahaca, el cilantro y la sábila. Este mestizaje dio origen a la botica donde se preparaban compuestos con sustancias extraídas de plantas, no obstante, el progreso de la medicina provocó la conversión a farmacéuticas desplazando a la herbolaría hasta ser considerada como una actividad ilegal (Cosme, 2008).

La cualidad especial de estas plantas para combatir todo tipo de enfermedades se remonta a tiempos prehistóricos (Masarovičová y Král'ová, 2007). Hasta el siglo XIX, las plantas y algunos productos de origen animal (sueros de bovino para la extracción de hormonas) fueron los únicos medicamentos empleados por el hombre en los países occidentales, y siguen siendo hoy en día la única fuente terapéutica utilizada en numerosas zonas del mundo (Masarovičová y Král'ová, 2007).

2.2. Propiedades de las plantas medicinales

Se define como plantas medicinales a todas aquellas que contienen en algunos de sus órganos principios activos, los cuales administrados producen efectos curativos en las enfermedades del hombre y los animales. El estudio de los componentes de las plantas medicinales se centra en las sustancias que ejercen una acción farmacológica sobre los seres vivos. Los principios activos de las plantas pueden ser sustancias simples (alcaloides) o mezclas complejas (aceites y resinas) (Cosme, 2008).

En el sector alimentario existen productos derivados de las plantas en presentaciones frescas y secas dirigidos directamente al consumidor y productos destinados a la industria. En la industria se utiliza con frecuencia como condimentos, saborizantes, colorantes y conservadores debido a su actividad antioxidante (Tomaino *et al.*, 2005) y actualmente se están usando como productos antibacteriales y antifúngicos (Burt, 2004).

2.3. Propiedades antimicrobianas del cilantro

El aceite esencial del cilantro (*Coriandrum sativum*) contiene diferentes moléculas como el cineol, el borneol, el canfeno, el citronelol, el coriandrol y el geraniol, entre otros, las cuales han demostrado que poseen efecto antimicrobiano, antioxidante, antiinflamatorio, anticancerígeno y antiespasmódico (Euroresidentes, 2007).

Debido a lo anterior el aceite esencial de *Coriandrum sativum* ha sido utilizado con frecuencia para tratar algunas dolencias no relacionadas con las enfermedades infecciosas; sin embargo, se ha demostrado que dicho aceite esencial tiene actividad antimicrobiana frente a diferentes géneros de bacterias Gram positivas y Gram negativas; el efecto de esta planta se ha buscado tanto en las hojas, en las semillas y en los tallos (Matasyoh *et al.*, 2009; Burdock y Garabin, 2009; Delaquis, *et al.*, 2002). Matasyoh y colaboradores (2009) encontraron concentraciones inhibitorias mínimas del aceite esencial de *Coriandrum sativum* en valores que oscilaron entre 108 a 217 mg/L, con porcentajes de inhibición con respecto al cloranfenicol que variaron del 25 al 51%. En este estudio los extractos de hexanocloroformo y hexano diclorometano produjeron inhibición del crecimiento a diluciones de 63 µl/ml (correspondiente a un porcentaje de inhibición del 71% frente a la vancomicina); sin embargo, la concentración inhibitoria mínima se obtuvo solamente con el extracto puro obtenido con la mezcla hexanocloroformo. Este resultado indica que los extractos probados son capaces de inhibir el crecimiento vegetativo del microorganismo, mas no su capacidad de esporulación, ni tampoco

afecta la capacidad de dichas esporas para germinar cuando se colocan en un medio libre del extracto. El efecto antimicrobiano de esta planta se ha asociado con el linalool, el cual tiene la capacidad de inhibir incluso la esporulación (Matasyoh *et al.*, 2009). La mayor concentración del linalool se ha obtenido a partir del aceite esencial de los frutos de la planta (Delaquis, *et al.*, 2002, Burdock y Garabin, 2009). Delaquis y colaboradores (2002), concluyen que a partir de las hojas de *Coriandrum sativum* (el cilantro) se obtiene mayor concentración de linalool cuando se hace la extracción *in vitro* con la mezcla hexano-cloroformo.

2.4. El Conejo

El conejo (*Oryctolagus cuniculus*) es una de las especies animales con mayor eficacia biológica, estimándose que una hembra puede producir al año entre 16 y 18 veces su peso en gazapos (Dalle y Szendrő, 2011). A estas características económicas relacionadas con la producción animal hay que añadir las características de la carne en cuanto a su composición y calidad, su textura y su digestibilidad, cualidades muy apreciables tanto para la población en general como para determinados grupos con necesidades específicas (USDA, 2016). En general y en comparación con otros tipos de carnes, el contenido proteico es mayor, su perfil aminoacídico la sitúa entre las de mayor valor biológico, además de presentar niveles de grasa y colesterol bajos (Lebas, 1996; Dalle Zotte y Szendrő, 2011). A pesar de todas estas ventajas el consumo de la carne de conejo no es habitual en muchos países, probablemente debido a la tradición y a factores culturales. Por

estas razones, la carne de conejo es considerada “dietética” ya que, además, contiene menos calorías que otras carnes (González, 2004).

2.5. La cunicultura en México y en el mundo

En México, la cunicultura ha sido, históricamente, una actividad pecuaria “auxiliar”, por lo que resulta característica la dispersión de sus explotaciones. Sin embargo, en algunos países como Rusia, Francia, España, Italia y Estados Unidos la producción de conejo para consumo humano es una actividad económica importante, desde el punto de vista del volumen de producción y el consumo, a tal grado que la carne de conejo ocupa un lugar importante entre las carnes que más se consumen, por considerarse más eficiente, económica y nutritiva que otras (González, 2007). Por otra parte, la producción del conejo en México está representada de manera importante por el Centro Nacional de Cunicultura de la Unión Ganadera de Guanajuato, en la ciudad de Irapuato, Guanajuato. Sin embargo, entendiendo a la Cunicultura como una rama más de la Zootecnia, que consiste en la cría y explotación del conejo doméstico para beneficio del hombre, esta especie ha sido considerada de segundo término, debido a que existe poco consumo a nivel nacional, y en casi en toda Latinoamérica, por lo que la Cunicultura no ha tenido el desarrollo y la importancia que merece como industria productiva y lucrativa a corto plazo, como en otros países (González, 2004).

2.6. Microbiota del tracto digestivo del conejo

La flora intestinal que posee el conejo no solo juega un papel predominante sobre los fenómenos fisiológicos, digestivos, patológicos e inmunitarios, sino que también representa una barrera de defensa importante en contra de patógenos que comprometen su salud (Palmieri, 2002).

El conejo presenta un comportamiento alimenticio particular por la cecotrofia, pues produce dos tipos de excremento (heces y cecotrofos) (Lebas, 1996). El cecotrofo se caracteriza por tomar las excretas directamente del ano en horas nocturnas, estas excretas contienen una gran cantidad de proteína y aminoácidos, además de numerosos microorganismos capaces de elevar la actividad enzimática, así como mejorar la utilización del nitrógeno (Motta *et al.*, 2006).

En el intestino delgado predominan los Gram positivos, *Lactobacilos*, *Streptococos*, *Clostridium* y *Bacteroides*, mientras que en el intestino grueso y en el ciego predominan los Gram negativos y bacteroides en su mayoría, como se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Bacterias presentes en el conejo (log¹⁰ gérmenes por gramo).

Microorganismos	Intestino delgado		Intestino grueso		Ciego	
	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra
<i>Escherichia coli</i>	2,3	2,2	2,1	2,0	2,1	2,2
<i>Streptococcus durans</i>	2,3	2,0	2,4	2,0	2,4	2,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,0	4,0	5,3	4,0	2,7	2,3
Levaduras	4,6	4,0	4,6	4,3	1,7	1,7
<i>Lactobacilos</i>	9,3	9,8	10,1	9,4	6,8	6,9
Anaerobios totales	8,0	8,0	10,2	10,0	10,6	10,9
Bifidobacterias	7,9	7,9	10,0	10,0	9,4	9,0
Bacteroides	8,8	8,5	8,9	9,2	10,8	10,2
Aerobios totales	10,3	10,5	10,8	10,0	10,5	10,5

Fuentes: Dihigo, 2007.

En el Cuadro anterior se puede apreciar que la flora predominante es la anaerobia estricta y facultativa, constituida principalmente por Bacteroides, Bifidobacterias y Lactobacilos. El intestino delgado contiene a diferencia de otros tramos un menor número de Bacteroides y Bifidobacterias, pero un número más elevado de Lactobacilos, debido principalmente a que su medio interno o pH es ácido. Se aprecia mayor cantidad de microorganismos en el intestino delgado de machos que en hembras, es el caso de *Escherichia coli*, *Streptococcus durans*, *Staphylococcus aureus*, Levaduras y Bacteroides; comportamiento similar en el caso del intestino grueso.

La microbiota vive en relación estrecha con el organismo huésped, estando íntimamente relacionada con el medio físico-químico, pH, ácidos grasos, alimentos.

En el Cuadro 2 se muestra la cantidad de microorganismos en diferentes etapas de la engorda.

Cuadro 2. Evolución de la microbiota en tres momentos del ciclo de crianza (\log^{10} gérmenes por gramo).

Microorganismos	Post-destete	Mitad de engorda	Final de engorda
<i>Escherichia coli</i>	3,1	2,1	2,2
<i>Streptococcus durans</i>	1,7	2,4	2,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,7	2,4	2,5
Levaduras	5,1	1,7	1,7
<i>Lactobacilos</i>	4,3	6,8	6,8
Anaerobios totales	8,4	10,5	8,7
Bifidobacterias	8,1	9,2	7,2
Bacteroides	9,3	10,8	7,1
Aerobios totales	9,1	10,5	10,5

Fuente: González, 2007.

El intestino delgado sufre oscilaciones en cuanto a la flora, según el régimen alimenticio, pero en el intestino grueso y el ciego se mantiene constante, (Dihigo, 2007).

En el ciego la microbiota presente es estrictamente anaeróbica facultativa. Algunas bacterias presentes en el tracto gastrointestinal son capaces de realizar actividad enzimática, mantienen una actividad simbiótica con el hospedador y son

considerados como gérmenes autóctonos (González, 2004). Las bacterias contenidas en el ciego ejercen un papel fermentativo sobre el alimento ingerido, dando como productos hidrolizados de glúcidos y celulosa (González, 2007).

2.7. Sensibilidad antimicrobiana de Enterobacterias

La resistencia de las bacterias es el principal obstáculo para la eficacia terapéutica de los fármacos (antibióticos), pues no sólo puede anular la acción curativa si se manifiesta en el curso del tratamiento, sino que tiene a la larga consecuencias aún más graves para el conjunto de la población, ya que provoca la desaparición de las cepas susceptibles y la propagación de las resistentes. Ese es el motivo por el cual la determinación de la sensibilidad de las bacterias a los extractos naturales de plantas haya adquirido tanta importancia y sea indispensable para hacer un uso racional y para preservar la eficacia de este grupo tan valioso de agentes terapéuticos (Winward, *et al.*, 2008).

Los antibiogramas son métodos *in vitro* que determinan la susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio específica y estandarizada. La meta principal del estudio de susceptibilidad es proveer una alternativa de terapia que puede ser más apropiada en animales enfermos e inclusive mejorar los parámetros productivos de animales en explotación garantizando un buen estado inmunológico reflejado en el comportamiento productivo el animal (Winward *et al.*, 2008).

III. JUSTIFICACIÓN

La producción de conejo es una fuente importante para satisfacer la demanda de proteína de origen animal de buena calidad en la alimentación del humano. SAGARPA (2015), reportó una producción de conejos en México de 4 200 toneladas de carne. Por lo anterior es necesario impulsar el consumo de la misma, en sus diferentes presentaciones, para ofrecer a la población una alternativa de compra y aprovechar la biodiversidad en la alimentación, lo que representa una ventaja tanto económica como nutricional.

En las últimas cuatro décadas, el consumidor de carne pasivo ha evolucionado a un consumidor cognoscitivo, el cual canaliza su atención sobre las investigaciones y los sistemas de producción de carne libres de antibiótico. Sin embargo, en la cunicultura hay quienes utilizan antibióticos como medida preventiva, lo cual trae como consecuencia la resistencia antimicrobiana tanto en la producción de conejos como en la población humana. Es por ello que en la actualidad el consumidor cognoscitivo busca productos cárnicos orgánicos o que no tengan residuos químicos. El método de crianza del conejo permite que la carne alcance niveles de calidad tanto en la preservación como en el contenido nutricional. Por lo que actualmente se ha implementado el uso de antimicrobianos naturales como es el caso del cilantro que contiene compuestos fenólicos tales como: ácidos fenólicos, flavonoides, flavones, glicoflavones, isoflavones, xantinas y taninos. Estos compuestos sirven como mecanismo de defensa de las plantas en condiciones de

tensión ambiental, infección, luz excesiva o irradiación UV, y expone su acción benéfica como antioxidante y antimicrobiana.

Por lo anterior, el presente trabajo evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto acuoso de cilantro sobre la microbiota presente en el tracto digestivo del conejo.

IV. HIPÓTESIS

El extracto acuoso de cilantro inhibe el crecimiento *in vitro* de agentes bacterianos presentes en el tracto digestivo de conejos de la granja CUNINEZA.

V. OBJETIVOS

Generales

Evaluar la capacidad *in vitro* del extracto acuoso de cilantro sobre el crecimiento de las bacterias presentes en la microbiota del tracto digestivo en conejos de una granja comercial (CUNINEZA).

Específicos

- Identificar la microbiota presente en tracto digestivo del conejo de la granja CUNINEZA.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto acuoso de cilantro.

VI. MATERIAL Y MÉTODO

Biológico

Se utilizaron 21 conejos en engorda

Material de laboratorio

- Agar Tripteina Soya Agar(TSA)
- Agar McConkey
- Agar Mueller Hinton
- Bioquímicas
- Citrato
- MR-VP
- Oxidasa
- TSI
- Urea Tiras reactivas para identificación de enterobacterias
- Cajas Petri
- Tubos con hisopo y medio de transporte
- Papel filtro Whatman 41
- Guantes de látex
- Pinzas estériles
- Termo
- Bata

Material de escritorio

- Computadora
- Libreta
- Lápiz
- Goma

Diseño Experimental

Para el experimento se utilizó un muestreo aleatorio simple, utilizando 21 conejos Chinchilla/Nueva Zelanda de 40±2 d de la granja comercial Cunicultores Nezahualcoyotl (CUNINEZA). El número de muestras se determinó con la siguiente formula:

$$n = \frac{k^2 * p * q * N}{(e^2 * (N-1)) + k^2 * p * q}$$

Donde:

n: Tamaño de la muestra (21).

N: Tamaño de población o universo (30).

K: Nivel de confianza (90%).

q: Proporción de individuos que no poseen la característica de estudio (1-p).

p: Proporción de individuos que poseen la característica a estudiar (0.5), (Aguilar-Barojas, 2005).

Preparación del cilantro

Se elaboraron dos concentraciones de extracto acuoso de cilantro (EAC) (*Coriandrum sativum*) como lo sugiere Salem y colaboradores en 2014, donde la primera dilución se utilizaron 50 g de hoja de cilantro por cada 400 mL de agua (0.125g/mL⁻¹) y para la segunda 50 g hoja de cilantro por 800 mL de agua (0.0625 g/mL⁻¹). Las hojas de cilantro se licuaron durante 5 minutos (Oster 6630-13) filtrando

dicho extracto con papel Whatman No. 1, el resultante se almacenó en refrigeración (4 °C).

Análisis de Laboratorio

Muestreo

La toma de muestras se realizó por la mañana, tomando de cada animal un hisopado bucal y anal. Posteriormente de la matanza se tomó un muestreo cecal. Mismos que se transportaron en tubos con medio Stuart a temperatura de refrigeración (4±1 °C) al laboratorio de bacteriología del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA), para su posterior procedimiento.

Siembra, aislamiento bacteriano e identificación bacteriana

Las muestras se sembraron (37±2 °C 24 h) en cajas Petri con Agar Tripteina Soya (TSA) y Agar McConkey. Se realizaron 126 siembras bacteriológicas por lo que se utilizaron 63 muestras (cabe mencionar que en algunas cajas no hubo crecimiento bacteriano). Las bacterias que morfológicamente eran parecidas se consideraron una sola, por dicha razón se trabajó con 19 muestras. Posterior a esto se realizó un análisis morfológico (mediante tinción de Gram y microscopía) de cada muestra y se aislaron las bacterias más abundantes para su posterior identificación con ayuda del Kit Enteropluri test, basado en pruebas bioquímicas convencionales (Vullo *et al.*, 2000).

Capacidad de Inhibición

Para esta prueba se utilizó el método de Kirby-Bauber, que determina la capacidad de inhibición bacteriana del Extracto Acuoso de Cilantro (EAC) por difusión en placa, se cultivó la bacteria purificada en Infusión cerebro corazón, sumergiendo un hisopo estéril en dicho caldo con el cultivo bacteriano se cubrió la superficie de la placa de Agar Mueller Hinton, posterior a esto se incubó a 37 ± 2 °C 10 min. Después de esto se colocaron los discos estériles de papel Whatman empapados con dos concentraciones diferentes de EAC (0.125 g/mL^{-1} y 0.0625 g/mL^{-1}), un disco de antibiótico comercial (Multidiscos Gram Positivos Serie 2) y los controles para lo cual se utilizó agua, se incubaron a 37 ± 2 °C 18 h para su posterior lectura. Con ayuda de una regla se midió el área de inhibición bacteriana alrededor del disco, de acuerdo al halo de inhibición Se evidenciaron los resultados con fotografías digitales (Wayne, USA: CLSI; 2012).

VII. LÍMITE DE ESPACIO

La recolección de las muestras se realizó en la granja CUNINEZA, ubicada en la Colonia las Virgencitas, Nezahualcoyotl, Estado de México.

Los análisis se realizaron en el laboratorio del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA).

VIII. LÍMITE DE TIEMPO

Actividad	2017					2018
	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene
<i>Elaboración y aprobación del protocolo</i>	X	X				
<i>Muestreo</i>		X				
<i>Pruebas de sensibilidad</i>		X				
<i>Identificación de la microbiota intestinal</i>			X			
<i>Análisis de resultados</i>			X			
<i>Elaboración del documento final</i>				X	X	
<i>Revisión Bibliográfica</i>	X	X	X	X	X	
<i>Liberación de tesis</i>						X

IX. RESULTADOS

Los resultados obtenidos sobre la inhibición del extracto acuoso de cilantro sobre la microbiota del tracto digestivo de conejos se muestran en el Cuadro 3. Después de la siembra bacteriana se procedió a realizar la identificación morfológica mediante Tinción de Gram así mismo se realizó la prueba de Hidróxido de Potasio (KOH) para descartar bacterias Gram positivas y continuar las pruebas siguientes con Enterobacterias Gram negativas.

Cuadro 3: Inhibición bacteriana en mm del extracto acuoso de cilantro sobre bacterias del tracto digestivo del conejo por la técnica de Kirby-Bauer.

Identificación de la muestra	Origen de la muestra	Aislamiento	Control*	Extracto Acuoso de Cilantro	
				0.125 g/mL ⁻¹	0.0625 g/mL ⁻¹
1	Boca	<i>Escherichia coli</i>	27.06 ¹	0	0
2	Boca	<i>Acinetobacter lowffii</i>	17.39 ²	0	0
3	Boca	<i>Escherichia coli</i>	35.84 ³	0	0
9	Boca	<i>Escherichia coli</i>	23.22 ¹	0	0
21	Boca	<i>Shigella sp</i>	29.37 ²	0	0
22	Boca	<i>Pantoea agglomerans</i>	28.01 ³	0	0
21	Ciego	<i>Shigella sp</i>	42.63 ¹	0	0
3	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	25.68 ²	0	0
11	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	23.79 ³	0	0
12	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	26.99 ¹	0	0
14	Ciego	<i>Shigella sp</i>	18.58 ²	0	0
17	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	23.29 ³	0	0
8	Ano	<i>Escherichia coli</i>	19.68 ¹	0	0
17	Ano	<i>Escherichia coli</i>	21.56 ²	0	0

TSA: Tripteína Soya Agar; MC Agar Mc Conkey.

Concentración de sensidiscos: Gentamicina¹ 10 Mcg, Sulfametoxazol/Trimetroprim² 25 Mcg y Amikacina³ 30 Mcg.

Como se puede apreciar en el Cuadro 3, el extracto acuoso de cilantro en sus dos concentraciones (0.125 g/mL y 0.0625 g/mL) no presenta capacidad de inhibición bacteriana en muestras obtenidas de boca, ciego y ano de conejos de la granja comercial CUNINEZA, las imágenes de la inhibición se presentan en Anexos.

La identificación de las bacterias se realizó con ayuda del Kit Enteropluri Test, el cual se basa en bioquímicas convencionales que identifican Enterobacterias, se observa que los sensidiscos empapados con extracto acuoso de cilantro no presentan actividad antimicrobiana, comparando los controles (agua y antibiótico sintético), se reporta en milímetros los halos de inhibición del antibiótico control: Gentamicina 10 Mcg, Sulfametoxazol/Trimetroprim 25 Mcg y Amikacina 30 Mcg.

Se obtuvieron distintos aislados de las muestras que se tomaron de la boca, ciego y ano de los conejos muestreados, en los cuales encontramos *Escherichia coli*, *Shigella sp.*, y *Acinobacter lowffii*.

X. DISCUSIÓN

En el presente estudio se obtuvieron aislados de *Escherichia coli*, *Shigella sp*, *Paantoea agglomerans* y *Acinobacter lowffii*. Diferentes estudios en conejos demuestran la presencia de *Escherichia coli* y *Shigella sp* aislados de intestino delgado e intestino grueso. *Pantoea agglomerans* es una bacteria que no se ha reportado en el tracto digestivo de conejos, sin embargo, en otras especies como caninos y felinos ya se ha aislado como una infección secundaria (Çetin *et al.*, 2003).

Los extractos naturales deben su actividad biológica al sinergismo entre sus diversos compuestos ya que éstos por separado poseen mucha menor actividad que cuando se encuentran juntos. Se considera que la toxicidad de los extractos es más reducida cuando se encuentran todos sus componentes que cuando se encuentran purificados, a este fenómeno se le conoce como *buffering* (Poppenga, 2001; Smith-Schalkwijk, 1999).

Existen diferentes modos de extracción de los compuestos bioactivos que posee el cilantro. Azuero y col. (2016), mostraron un efecto antibacteriano leve con un extracto metanólico de cilantro contra bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) y Gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*), se ha demostrado científicamente que tiene actividad antimicrobiana frente a diferentes

géneros de bacterias Gram positivas (*Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*) y Gram negativas (Ardila *et al.*, 2009).

Otro tipo de extracto es el aceite esencial de cilantro, el cual contiene diferentes moléculas que presentan mayor capacidad de inhibitoria como: cineol, borneol, canfeno, citronelol, coriandrol y geraniol (Winward *et al.*, 2008; Benkeblia, 2004). Dichos aceites en las bacterias, por su acción lipofílica tienen la capacidad de pasar las membranas celulares, romper polisacáridos, ácidos grasos y lípidos, permeabilizando la membrana celular; esta permeabilización, conduce a la pérdida de iones, al colapso de la bomba de protones y a la disminución del ATP lo cual inevitablemente conduce a la muerte celular; también se ha encontrado que a nivel citoplasmático puede actuar sobre lípidos y proteínas coagulando dichas moléculas (Bakkali *et al.*, 2008). Se ha demostrado que el aceite esencial de cilantro tiene actividad antimicrobiana frente a diferentes géneros de bacterias Gram positivas (*Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*) y Gram negativas; si se ha buscado tanto en las hojas como en las semillas y en los tallos. Matasyoh y colaboradores (2009), encontraron concentraciones mínimas inhibitorias del aceite esencial de esta planta en valores entre 108-217 mg/L, con porcentajes de inhibición con respecto al cloranfenicol que variaron del 25 al 51%; en este estudio los extractos de hexano-cloroformo y hexano diclorometano produjeron inhibición del crecimiento de *Clostridium perfringens* a diluciones de 63 µl/ml (correspondiente a un porcentaje de inhibición del 71% frente a la vancomicina).

El efecto antimicrobiano de esta planta se ha asociado con el linalool, el cual tiene la capacidad de inhibir incluso la esporulación; la mayor concentración del linalool se obtiene a partir del aceite esencial de las hojas del cilantro cuando se hace la extracción con la mezcla hexano-cloroformo (Burdock y Garabin., 2009; Delaquis *et al.*, 2002).

El cilantro presenta actividad antimicrobiana dependiendo del método de extracción de sus compuestos bioactivos. Un proceso extractivo, debe definir la selectividad del solvente a ser usado en el proceso. Se puede obtener un extracto cuya composición química contiene la mayor parte de los contribuyentes químicos de la planta, o un extracto que contiene solamente contribuyentes químicos con una determinada característica (Sharapin, 2000). Por lo que podemos concluir que el agua no es el mejor solvente para extraer las sustancias responsables del efecto antimicrobiano del cilantro.

Shaaya y col. en 1994, mencionan que muchas hierbas y especies han sido reportadas por poseer propiedades antimicrobianas, como es el caso del cilantro. Sin embargo, existe una gran desventaja en su uso como antimicrobiano: una alta concentración es necesaria para obtener su efecto. Dato que concuerda con el trabajo realizado, posiblemente la proporciones Agua:Cilantro no fueron las mejores para mostrar efecto antimicrobiano.

XI. CONCLUSIÓN

En este trabajo se concluye que el extracto acuoso de cilantro (*Coriandrum sativum*) en ninguna de las concentraciones empleadas (0.125 g/mL⁻¹ y 0.0625 g/mL⁻¹), tiene efecto antibacteriano contra cepas del tracto digestivo de conejos de la granja CUNINEZA.

Se aislaron géneros bacterianos como *Escherichia coli*, *Shigella sp*, *Acinetobacter lowffii* y *Pantoea agglomerans* presentes en tracto digestivo del conejo de la granja CUNINEZA.

Se determinó que el extracto acuoso de cilantro no tiene concentración mínima inhibitoria sobre bacterias del tracto digestivo de conejos de la granja CUNINEZA.

XII. SUGERENCIAS

Se pueden probar concentraciones más altas del extracto acuoso de cilantro ya que las que se usaron en el presente trabajo (0.125 y 0.0625 grs/mL), no tuvieron resultados favorables sobre la inhibición de cepas aisladas del tracto digestivo de conejos de la granja comercial CUNINEZA.

Se puede demostrar el efecto antimicrobiano del cilantro realizando otro tipo de extracción, otra técnica o la utilización de diferentes solventes que garanticen la alta concentración de compuestos bioactivos y por ende un efecto positivo sobre los microorganismos a desafiar.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar-Barojas, S. 2005. Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en Tabasco*, 11(1-2), 333-338.
- Ardila, M., Vargas, A., Pérez, J., y Mejía, L. 2009. Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*, *Biosalud*, 8 (1), 47 – 57.
- Azuero, A., Jaramillo, C. J., San Martín, D., y Regnault, H. D. A. 2016. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador/Analysis of antimicrobial effect of twelve medicinal plants of ancient use in Ecuador. *Ciencia Unemi*, 9(20), 11-18.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils. *Food and chemical toxicology*. 46:446-475.
- Benkeblia N. 2004. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*) *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*; 37:263-268.
- Borek C. 2004. Dietary antioxidants and human cancer Integrative cancer therapies, 3(4) p.333-341.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*; 94:223-253.

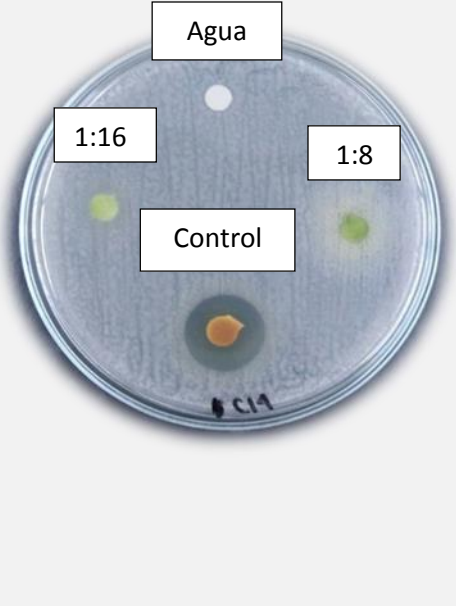
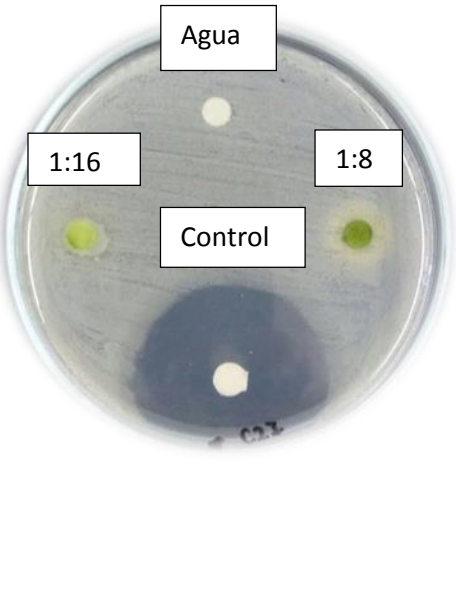
- Burdock, G.A; Garabin, I.G. 2009. Safety of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil as food ingredient. Food and Chemical Toxicology; 47:22-34.
- Çetin, C., Şenturk, S., Kocabiyik, A. L., Temizel, M., y Özel, E. 2003. Bacteriological examination of urine samples from dogs with symptoms of urinary tract infection. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 27 (5), 1225-1229.
- Cosme, I., 2008. El uso de las plantas medicinales. México: Universidad Veracruzana. Obtenido de <http://cdigital.uv.mx>.
- Cury K., Martínez A., Aguas Y., Oliveros R. 2011. Caracterización de carne de conejo y producción de salchicha. Revista Colombiana Ciencia Animal; 3(2):269-282.
- Delaquis, P.J; Stanich, K; Girard, B; Mazza, G. 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal of Food Microbiology 74:101-109.
- Dalle Zotte, A., y Szendrő, Z. 2011. The role of rabbit meat as functional food. Meat Science, 88, 319–331.
- Dihigo, L.E .2007. Caracterización físico-química de productos tropicales y su impacto en la morfofisiología digestiva del conejo. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal ICA. La Habana, Cuba.

- Euroresidentes. Romero (*Rosmarinus officinalis*) [Internet]; 2007. Disponible en: <http://www.euroresidentes.com/Alimentos/hierbas/romero.htm>. Consultado abril 12 de 2017.
- González E, R. 2004. Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. Rev. Cubana Estomatol; 39:139-156.
- González, R. Nutrición y alimentación del conejo. [en línea] 2007. Disponible en: <http://www.uabcs.mx/maestros/mto05/nutricion.htm> [Consultado: 15 de febrero 2017].
- Lebas, F. 1996. The rabbit husbandry, health and production. FAO Animal Production and Health. Series no. 21.
- Matasyoh, J.C; Maiyo, Z.C.; Ngure, R.M; Chepkorir, R. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Coriandrum sativum*. Food Chemistry; 113:526-529.
- Masarovičová E. and K. Král'ová. 2007. Medicinal plants: Past, Nowadays, Future. Acta Horticulturae. 749:19-27.
- Motta, W.F.; Borges, F.M y Apocaypse, R. 2006. Fundamentos da nutrição de conejos, Memorias del III Congreso de Cunicultura de las América. Paraná. Brasil.
- Palmieri, D. Alimentación del conejo [en línea] 2002. Disponible en: <http://www.engormix.com/nuevo/prueba/colaboraciones.asp> [Consultado: junio 2017].

- Poppenga R.H. 2001. Risk associated with the use of herbs and other dietary supplements veterinary. *Clinic North American, Equine Practic.* 17(3): 455-77
- SAGARPA. 2015. SAGARPA impulsa la cunicultura como alternativa alimentaria y generadora de empleos en el campo. Obtenido en <http://www.sagarpa.gob.mx>.
- Salem, A. Z., Ryena, A. C., Elghandour, M. M., Camacho, L. M., Kholif, A. E., Salazar, M. C., y Mariezcurrena, M. A. 2014. Influence of *Salix babylonica* extract in combination or not with increasing levels of minerals mixture on *in vitro* rumen gas production kinetics of a total mixed ration. *Italian Journal of Animal Science*, 13(4), 3110.
- Shaaya, E., Kostjukovsky, M., y Ravid, U. 1994. Essential oils and their constituents as effective fumigants against stored-product insects. *Israel Agrisearch*, 7, 133-139.
- Shan, B., Zhong, C., Brooks, J. y Corke, H. 2007. The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*; 117:112-119.
- Sharapin N. 2000. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos (No. 78). Convenio Andrés Bello.
- Smith-Schalkwijk, M. J. 1999. Veterinary phytotherapy: An overview. *The Canadian Veterinary Journal*, 40(12), 891.

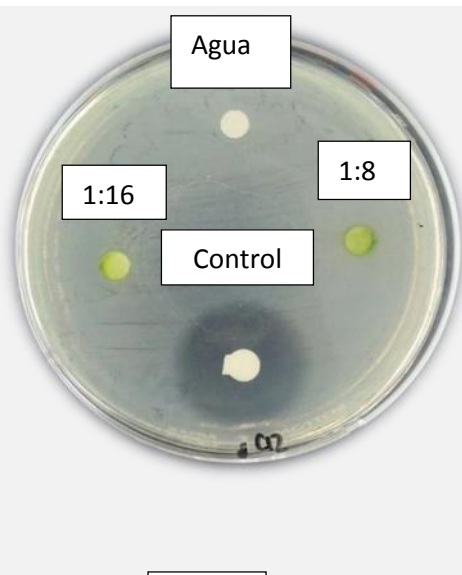
- Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale, A. y Saija, A. 2005. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food chemistry*, 89(4), 549-554.
- USDA.2016. Food Composition Databases. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>.
- Vullo, D., Wachsman, M., Alche, L. 2000. *Microbiología en Práctica. Manual de técnicas de laboratorio para la enseñanza de Microbiología básica y aplicada*. Primera edición Editorial Atlante S.R.L., Buenos Aires.
- Wayne, P.A. USA: CLSI. 2012. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Second Informational Supplement. CLSI Document M100-S22*.
- Winward, GP; Avery, L.M; Stephenson, T; Jefferson, B. 2008. Essential oils for disinfection of grey water. *Water research*; 42:2260-2268.

XIV. ANEXOS

Bacteria	Descripción	Placa con los halos de inhibición
<i>Shigella sp.</i>	Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria <i>Shigella sp</i> aislada de ciego, a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetropim) que inhibió 18.58 mm.	
<i>Shigella sp</i>	Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria <i>Shigella sp</i> aislada de ciego, a diferencia del control (Gentamicina) que inhibió 42.63 mm.	

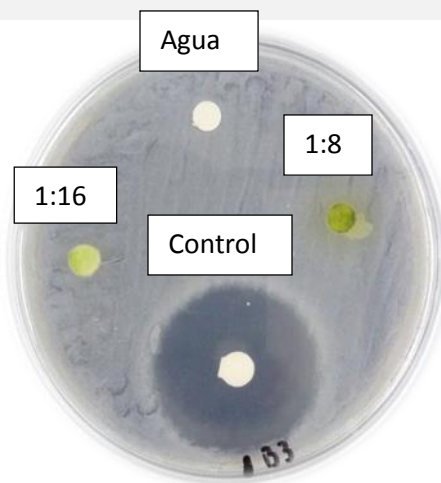
Acinetobacter iwoffii

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Acinetobacter iwoffii* aislada de ciego, a diferencia del control (Gentamicina) que inhibió 26.99 mm.



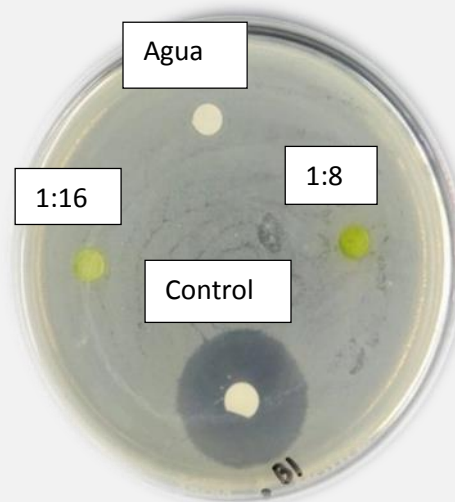
Escherichia coli

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de boca, a diferencia del control (Amikacina) que inhibió 35.84 mm.



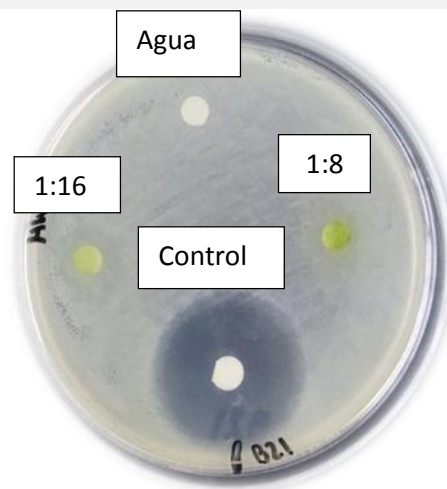
Escherichia coli

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de boca, a diferencia del control (Gentamicina) que inhibió 27.06 mm.



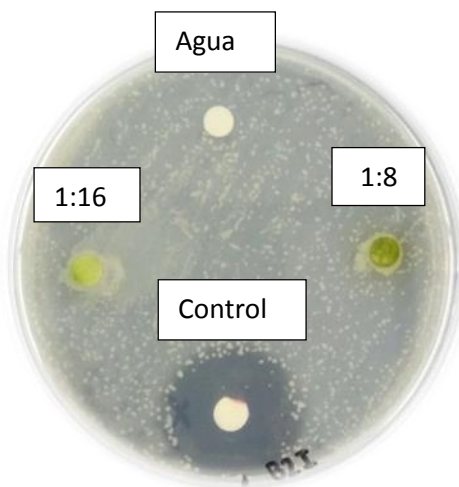
Shiguella sp.

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Shiguella sp* aislada de boca, a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetropim) que inhibió 29.37 mm.



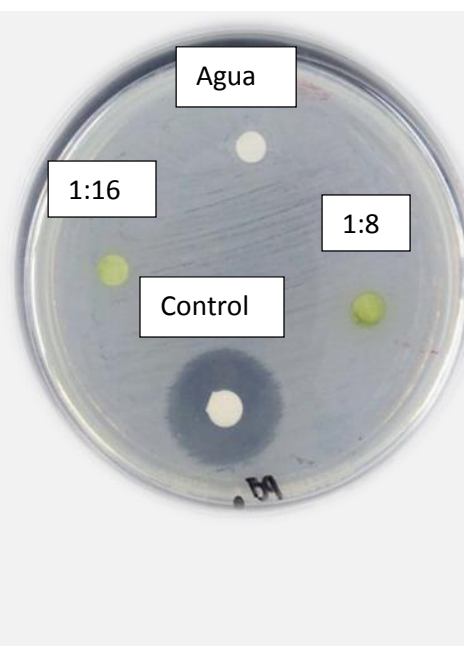
Acinetobacter iwoffii

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Acinetobacter iwoffii* aislada de boca, a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetropim) que inhibió 17.39 mm.



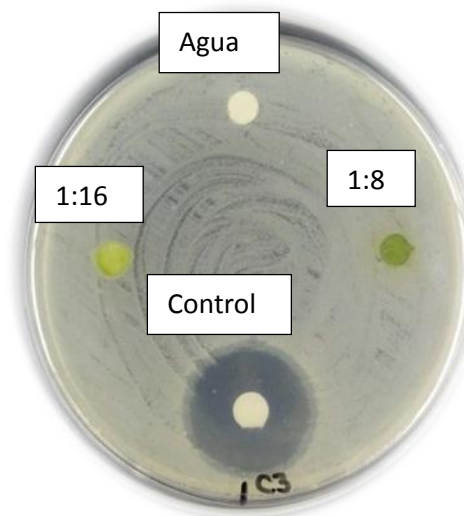
Escherichia coli

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de boca, a diferencia del control (Gentamicina) que inhibió 23.22 mm.



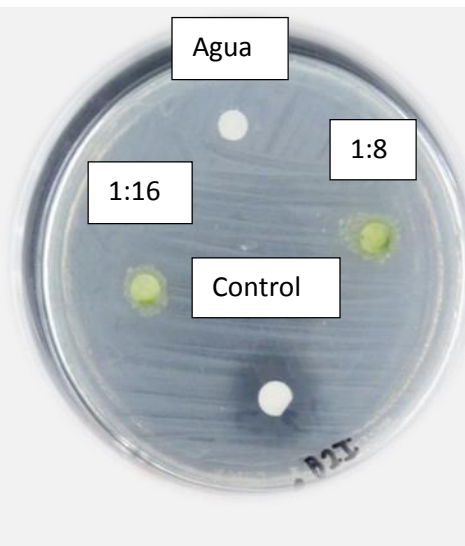
Escherichia coli

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ciego, a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetropim) que inhibió 27.68 mm.



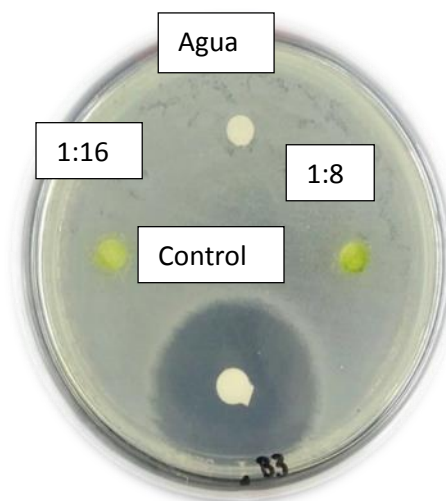
Acinetobacter iwoffii

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Acinetobacter iwoffii* aislada de boca, a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetropim) que inhibió 17.39 mm.



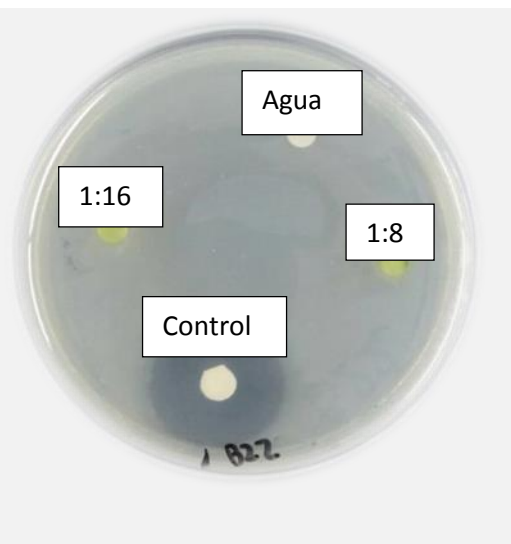
Escherichia coli

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de boca, a diferencia del control (Amikacina) que inhibió 35.84 mm.



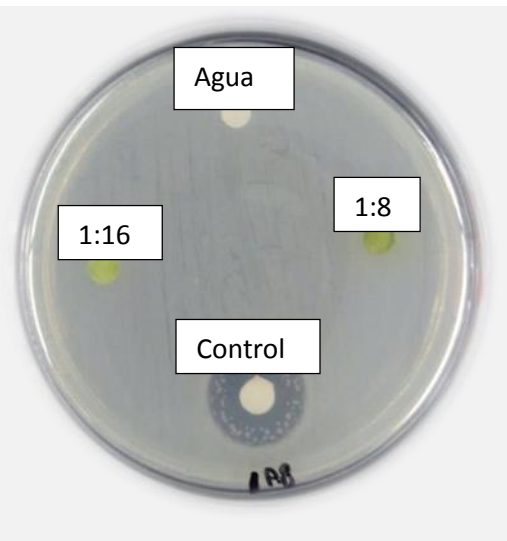
Pantoea agglomerans

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Pantoea agglomerans* aislada de boca, a diferencia del control (Amikacina) que inhibió 28.01 mm.



Escherichia coli

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ano, a diferencia del control (Gentamicina) que inhibió 19.68 mm.



Escherichia coli

Se muestra que no hubo inhibición del Extracto Acuoso de Cilantro sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ano, a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetropim) que inhibió 21.56 mm.

