

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE
DE CANELA (*Cinnamomun zeylanicum*) SOBRE CEPAS DE
SALMONELLA”.**

Trabajo de investigación previo a la obtención del grado de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

Autor:

JESSICA ALEXANDRA REVELO INCA

Tutora:

Dra. MAYRA MONTERO

Cevallos- Tungurahua- Ecuador, 2017

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

“La suscrita, JESSICA ALEXANDRA REVELO INCA, portadora de cédula identidad número: 060437712-7, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: **“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE DE CANELA (*Cinnamomun zeylanicum*) SOBRE CEPAS DE SALMONELLA.”** es original, autentico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas”.

JESSICA ALEXANDRA REVELO INCA

C.I. 060437712-7

DERECHOS DE AUTOR

“Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado **“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE DE CANELA (*Cinnamomun zeylanicum*) SOBRE CEPAS DE SALMONELLA.”** como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario Zootecnista, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él”.

JESSICA ALEXANDRA REVELO INCA

C.I. 060437712-7

“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE DE CANELA (*Cinnamomun zeylanicum*) SOBRE CEPAS DE *SALMONELLA*”.

REVISADO POR:

Dra. Mayra Montero

TUTORA

Ing. Ricardo Guerrero

ASESOR DE BIOMETRÍA

Mvz. Diana Avilés Ph.D.

ASESOR DE REDACCIÓN TÉCNICA

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a las autoridades y docentes de la Universidad Técnica de Ambato, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia por los conocimientos impartidos y la preparación que día a día me han convertido en una profesional con valores y ética, por permitirme culminar una etapa muy importante en mi vida y el inicio de otra.

A los docentes: Dra. Mayra Montero, Ing. Ricardo Guerrero y la Mvz. Diana Avilés PhD, encargados de guiarme y apoyarme en el presente trabajo de investigación, por su asesoramiento, paciencia y entrega en cada proceso para elaborar un proyecto de calidad y merecedor de la obtención del título Médico Veterinario Zootecnista.

Al personal que forma parte de las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agropecuarias por proporcionar la información, materiales y espacios necesarios en cada momento de la carrera y en la investigación

DEDICATORIA

A mí amada hija Amelie por ser mi fuente de motivación y fortaleza para poder superarme cada día y realizarme como madre, persona y profesional.

A mi madre, hermana, hermanos y tíos por el apoyo incondicional en cada etapa de mi vida con palabras de aliento y superación para alcanzar mis metas a base de perseverancia, sencillez y respeto por las personas que forman parte de mi instrucción académica, religiosa y moral.

A mis compañeros y amigos presentes y pasados, quienes sin esperar nada a cambio compartieron conocimientos, alegrías y tristezas que quedaran guardados por siempre en mis recuerdos y en mi corazón.

A Dios, por brindarme cada día de vida y paciencia para poder superar los obstáculos que se han presentado.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	<i>xí</i>
SUMMARY	<i>xii</i>
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II	4
REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO	4
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.	4
2.2. MARCO CONCEPTUAL	11
2.2.1. ACEITE DE CANELA (<i>Cinnamomun zeylanicum</i>).	11
2.2.2. ENTEROBACTERIAS	13
• SALMONELLA	14
2.2.1. MEDIOS DE CULTIVO	17
2.2.2. MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD.	19
CAPÍTULO III	21
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	21
3.1. HIPÓTESIS	21
3.2. OBJETIVOS	21
CAPÍTULO IV	22
MATERIALES Y MÉTODOS	22
4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO	22
4.2. CARACTERISTICAS DEL LUGAR	22
4.3. EQUIPOS Y MATERIALES	23
4.4. FACTORES DE ESTUDIO	25
A) Concentración de aceite de canela	25
B) Cepas bacterianas	25
4.5. TRATAMIENTOS	25
4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL	27
4.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO	27
4.8. VARIABLES RESPUESTA	29
4.8.1. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de las cepas bacterianas mediante el método de caldo dilución.	29
4.8.2. Determinación de la Concentración Bactericida Mínima (CBM).	30

4.8.3. Medición de los halos de sensibilidad	30
4.9. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	31
<i>CAPÍTULO V</i>	32
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
5.1. RESULTADOS	32
5.1.1. Concentración mínima inhibitoria.....	32
5.1.2. Concentración bactericida mínima (CBM).....	33
5.2. DISCUSIÓN.....	35
<i>CAPÍTULO VI</i>	37
CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS	37
6.1. CONCLUSIONES	37
6.2. BIBLIOGRAFÍA.....	38
<i>CAPÍTULO VII</i>	48
7. PROPUESTA	48
7.1. DATOS INFORMATIVOS	48
7.2. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA	48
7.3. JUSTIFICACIÓN.....	48
7.4. OBJETIVOS.....	49
7.5. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD	49
7.6. FUNDAMENTACIÓN	49
7.7. METODOLOGÍA, MODELO OPERATIVO	50
7.8. ADMINISTRACIÓN.....	50
7.9. PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos informativos del lugar de experimentación.	22
Tabla 2. Cepas y concentraciones respectivas de aceite de canela (<i>Cinnamomun zeylanicum</i>).	26
Tabla 3. Número de tratamientos y repeticiones respectivamente para cada cepa bacteriana.....	26
Tabla 4. Concentraciones y diluciones de etanol y aceite de canela.....	27
Tabla 5. Medios de cultivo utilizados para la determinación de la Concentracion Mínima Inhibitoria y Sensibilidad Bacteriana.....	28
Tabla 6. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) el crecimiento bacteriano a diferentes diluciones de aceite de canela.....	32
Tabla 7. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria mediante el crecimiento bacteriano a diferentes diluciones de aceite de canela.....	33
Tabla 8. Halos de sensibilidad (tomados en mm) de dos cepas bacterianas sometidas a diferentes concentraciones de aceite de canela.....	33

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Obtención del aceite de canela por el método de destilación por arrastre de vapor.....	43
Anexo 2. Aceite de canela 20ml al 100%	43
Anexo 3. Concentraciones de canela (10%, 30%, 50%, 70% y 90%).....	43
Anexo 4. Cepas certificadas de <i>Salmonella</i>	44
Anexo 5. Siembra de la cepa activada de <i>S. Choleraesuis</i>	44
Anexo 6. Siembra de la cepa activada de <i>S. Typhimurium</i>	44
Anexo 7. Distribución de los discos de sensibilidad con concentraciones de aceite de canela sobre la superficie del agar Muller Hinton.	45
Anexo 8. Cajas Petri con discos de sensibilidad empapados de aceite de canela.....	45
Anexo 9. Halos de sensibilidad <i>Salmonella choleraesuis</i> al 30%, 50% ,70% y 90% de aceite de canela.	45
Anexo 10. Halos de inhibición <i>Salmonella typhimurium</i> a concentraciones de 70% y 90% de aceite de canela.....	46
Anexo 11. Diámetro de halos de inhibición <i>Salmonella Choleraesuis</i> . (mm).....	46
Anexo 12. Diámetro de halos de inhibición <i>Salmonella Typhimurium</i> . (mm).....	46
Anexo 13. Análisis de varianza para la variable sensibilidad antimicrobiana para la cepa <i>Salmonella Choleraesuis</i>	46
Anexo 14. Prueba de Tukey al 5% para la variable sensibilidad antimicrobiana para la cepa <i>Salmonella Choleraesuis</i>	47
Anexo 15. Análisis de varianza para la variable sensibilidad antimicrobiana para la cepa <i>Salmonella Typhimurium</i>	47

Anexo 16. Prueba de Tukey al 5% para la variable sensibilidad antimicrobiana para la cepa *Salmonella Typhimurium*.47

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto antimicrobiano del aceite de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) sobre cepas de *Salmonella*; (*Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis* y *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium*), con el objetivo de determinar la Concentración Mínima Inhibitoria, la Concentración Bactericida Mínima y la sensibilidad bacteriana. Para la obtención del aceite de canela se utilizó el método de destilación por arrastre de vapor e inmediatamente se sometido a decantación, almacenándolo en refrigeración. La valoración de la actividad antibacteriana de las distintas concentraciones de aceite de canela (10%, 30%, 50%, 70% y 90%), utilizando como testigo etanol al 99.8% se realizó mediante dos técnicas: la difusión en medio líquido, en el cual se inoculó la cepa respectiva en un tubo de ensayo con caldo Cerebro-Corazón luego se comparó con la turbidez del tubo #5 de la escala de McFarland y se incubaron 10 tubos con un 1ml de caldo con la cepa respectiva y 1ml de aceite de canela a 37°C por 24 horas para la Concentración Mínima Inhibitoria, la concentración con menor turbidez se sembró en medio agar para la determinación de la Concentración Mínima Bactericida. En la técnica de difusión en disco agar se sembró las cepas en la superficie del agar Muller Hinton colocando los discos de sensibilidad con los tratamientos: T0 etanol al 99.8%, T1 aceite de canela al 10%, T2 aceite de canela al 30%, T3 aceite de canela al 50%, T4 aceite de canela al 70%, T5 aceite de canela al 90% y se incubaron los agares a 37°C por 24 hora, posteriormente evaluándose el diámetro del halo de crecimiento con una regleta milimétrica Hiantibiotic ZoneScale. Se utilizó un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y cinco repeticiones, además de un análisis de varianza y prueba de Tukey al 5%. Como resultado se obtuvo que la cepa *Salmonella choleraesuis* fue sensible al aceite de canela a partir del tratamiento T3 con halos de 19 mm y 26 mm para *S. typhimurium*. Manifestando estadísticamente que el tratamiento con concentraciones de aceite de canela al 50%, 70% y 90% son significativos para las dos cepas bacterianas.

Palabras clave: halos de sensibilidad, concentración mínima inhibitoria, *Salmonella Choleraesuis*, *Salmonella Typhimurium*, antibiograma, McFarland.

SUMMARY

The objective of this research was to evaluate the antimicrobial effect of oil of cinnamon (*Cinnamomun zeylanicum*) on strains of Salmonella; (*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis ATCC® 10708 ** and *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium ATCC® 13311 **), with the objective of determining the minimum inhibitory concentration, the minimum bactericidal concentration and sensitivity matting. To obtain the oil of cinnamon was used the method of distillation carryover of dread and subjected to decanting and storing it in refrigeration. The evaluation of the antibacterial activity of the different concentrations of cinnamon oil (10%, 30%, 50%, 70% and 90%), using as a witness to 99,8 ethanol % was performed using two techniques: the spread between liquid in which the respective strain in a test tube with broth was inoculated brain heart infusion then – was compared with turbidity tube #5 McFarland scale and incubated at 37 ° C for 24 hours for the minimum concentration Inhibitory, concentration with less turbidity was sowed in agar medium for the determination of the minimum bactericidal concentration. In Disc diffusion technique - agar was sown the strains on the surface of the agar Muller Hinton placed disks sensitivity treatments: T0 ethanol to 99.8%, T1 cinnamon oil 10%, T2 cinnamon oil to 30%, T3 cinnamon oil to 50%, T4 oil of cinnamon to 70%, T5 cinnamon oil to 90% and the agars at 37 ° C were incubated for 24 hour subsequently evaluating the diameter of the halo of growth with a millimetric rule. We used a completely randomized design with five treatments and five replications, in addition to an analysis of variance and Tukey 5%. As result was obtained the strain Salmonella choleraesuis was sensitive to the oil of cinnamon from the T3 treatment with halos of 19 mm and 26 mm for S. typhimurium. Demonstrating statistically than the 50%,70% y 90% are meaningful for bacterial strains.

Key words: halos of sensitivity, strains, minimum concentration inhibitory, bactericidal. *Salmonella Choleraesuis*, *Salmonella Typhimurium*, McFarland.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La utilización de las plantas medicinales como recurso terapéutico es bastante difundida en todo el mundo, y 67% de las especies vegetales medicinales son provenientes de países en desarrollo. Las llamadas plantas medicinales tienen un gran potencial para su uso como aditivos nutricionales y terapéuticos. Con el uso de los ingredientes activos presentes en estas plantas sería posible minimizar o incluso eliminar el uso de productos químicos. De esta manera, podría disminuir el impacto de los residuos en los productos animales como carne y huevos además de la reducción de la contaminación del medio ambiente, mediante el uso racional de los productos herbarios que combina la necesidad de reducir costos y pérdidas en la producción animal, en un mercado cada vez más exigente por el consumidor (Loya, González & Rivera, 2009).

Para abarcar de mejor manera el tema de las plantas medicinales es necesario hacer énfasis en la Fitoterapia como una alternativa al tratamiento de enfermedades, ya que hace mucho tiempo las plantas medicinales son vistas como medicamentos no químicos, obtenidos de la naturaleza y que fueron testados a través de siglos por los antepasados (Florencio, 2008).

La Fitoterapia del mañana debe realizar una aproximación a la modernidad basada sobre métodos científicos, que tomen en consideración las experiencias válidas acumuladas en el pasado, y que en la actualidad requieren un estudio y entendimiento racional sobre bases científicamente establecidas (Pertierra, 2007).

El desconocimiento de la fitoterapia como alternativa para el control de enfermedades bacterianas hace preciso el estudio de plantas que permitan una solución eficaz al uso indiscriminado de antibióticos y otros medicamentos no benéficos para la salud humana, utilizando así esencias, aceites, extractos que permiten controlar la presencia de enterobacterias en animales de producción (Anónimo, 2000)

Las enfermedades enteropatógenas son uno de los principales problemas que se pueden encontrar en el país debido a su alta prevalencia e incidencia y la dificultad

que tienen para ser eliminadas. Entre las bacterias que pueden producir enfermedades entéricas tenemos: *Salmonella*, esta bacteria Gram-negativa causa alta morbilidad con presencia de lesiones intestinales, retraso del desarrollo, aumento de la conversión alimenticia en animales, dolores intestinales en humanos, y mortalidad en la producción de animales donde no se realiza un correcto manejo de la cuarentena y un control sanitario adecuado, ya que pueden ser controladas por un tiempo determinado pero pueden volver a infectar a nuevos lotes. La alta incidencia de enfermedades producidas por enterobacterias es una de las causas de pérdida económica en todo el mundo. Los tratamientos a base de antibióticos no siempre brindan los resultados esperados, algunos de sus componentes puede crear resistencia produciendo así una disminución en la inmunidad, recalcando que la Unión Europea prohibió su uso debido a que las consecuencias y riesgos en el consumo de productos de origen animal contaminados con bacterias resistentes destinados al consumo humano pueden producir enfermedades graves para los mismos (Torras, 2004).

La aparición de cepas de *Salmonella Typhimurium* y *Choleraesuis* con resistencia a diferentes antibióticos como: cloranfenicol, estreptomina, sulfonamidas y tetraciclinas en algunos países de Europa y que posteriormente tuvieron una distribución mundial, ha causado una preocupación en la salud animal y la salud pública debido a que los tratamientos ya no tienen el efecto esperado. En la actualidad, la presencia de cepas de *Salmonella spp* resistentes en todo el mundo, ha causado un gran problema en la terapéutica de esta enfermedad debido a que los antibióticos utilizados comúnmente ya no funcionan o no se obtienen los resultados deseados (Talavera et al., 2011).

Los aceites esenciales obtenidos de las plantas han mostrado tener propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiparasitarias, antiinflamatorias, antidiarreicas y antimicóticas. Se ha observado que mejoran la conversión alimenticia, estimulan enzimas digestivas y dan mejor sabor a los alimentos. Diversos estudios en diferentes especies pecuarias han demostrado sus beneficios para mejorar la digestibilidad, conversión alimenticia y productividad de los animales, así como su efecto antioxidante y antiparasitario, que los hace una alternativa viable al uso de aditivos y fármacos utilizados hasta ahora en la producción animal (Martínez et al., 2015).

Con los resultados obtenidos en la investigación se pretende dar a conocer a los productores de especies menores la importancia de la fitoterapia mediante la obtención de un producto natural y económico a base del aceite de una planta de fácil adquisición en nuestro país, como es la canela (*Cinnamomun zeylanicum*), implementando nuevas opciones de tratamiento a enfermedades bacterianas que tienen gran incidencia y prevalencia en nuestro país y que por muchos años han provocado considerables pérdidas económicas además de riesgos en la seguridad alimentaria de la población (Salvador & Castillo, 2013).

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.

En el estudio de la composición química cualitativa, realizado en el “ensayo químico dirigido y estudio del efecto antimicrobiano in vitro de algunos condimentos empleados en la cocina mexicana” menciona; los principales constituyentes reportados de la canela son: aceite esencial (2-4%), aldehído cumínico (25-35%), terpenos (pineno, terpineol); flavonoides: derivados del luteolol y apigenol, por lo tanto coincide con los resultados del estudio al obtener la prueba de los flavonoides positiva igual que el de los hidróxidos fenólicos y la importancia de realizar estudios químicos en varias plantas que pueden ayudar a controlar la bacteria *Escherichia coli* y a tener en cuenta la utilidad de la fitoterapia en la vida cotidiana (Esquivel et al., 2010).

En la investigación sobre: “Aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales”. Demostraron que actualmente los aceites esenciales derivados de plantas y especias tienen efectos antimicrobianos que están relacionados con los componentes químicos presentes. Entre los métodos más empleados para la evaluación antimicrobiana se incluyen: dilución, difusión, caja Petri invertida y cámara hermética, siendo así que la técnica más utilizada para determinar y cuantificar los componentes químicos es la cromatografía; esta en conjunto con otras ha mostrado resultados repetibles (Reyes, Palou & López, 2012).

La investigación denominada; “Evaluación in vitro del efecto bactericida de extractos acuosos de laurel, clavo, canela y tomillo sobre cinco cepas bacterianas patógenas de origen alimentario”. Refiere que, al evaluar el efecto bactericida de extractos acuosos de canela, clavo, laurel y tomillo, sobre cepas de *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus* y *B. cereus*, el extracto de canela mostró un amplio espectro de acción, al detener el crecimiento de todas las bacterias ensayadas (Herrera & Rico, 2006).

La actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de cinco plantas fueron seleccionados contra cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Candida albicans* resistentes a múltiples fármacos. Las cepas ATCC de *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus bovis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Candida albicans* también fueron probados. Las cepas que mostraron resistencia frente al número máximo de antibióticos probados se seleccionaron para un ensayo antibacteriano. La planta antimicrobiana más potente fue *A. nilotica* (rango MIC 9,75-313 µg / ml), mientras que otros extractos vegetales crudos estudiados en este informe mostraron mayores valores de CIM que *A. nilotica* frente a infecciones adquiridas en la comunidad y nosocomiales. Este estudio concluye que *A. nilotica*, *C. zeylanicum* y *S. aromaticum* pueden utilizarse contra las drogas multirresistentes que causan infecciones nosocomiales y adquiridas en la comunidad (Khan et al., 2009).

El “Efecto Antimicrobiano de Vainilla y de Aceites Esenciales de Canela y Clavo en Leche de Vaca Pasteurizada”, demuestra que, los antimicrobianos con mayor actividad bactericida frente a *L. monocytogenes* fueron el (AE) clavo seguidos por el eugenol y hojas de canela, (AE) de corteza de canela, cinamaldehído y vainillina. Frente a *E. coli* O157:H7 la mayor actividad bactericida la presentaron el eugenol. La eficacia como antimicrobiano de la canela frente a *Escherichia coli*. en la leche de vaca semidescremada fue superior en comparación con la vainilla que tiene un bajo nivel de efectividad (Cava, Roda, Taboada, Palop, López-Gómez & Marin-Iniesta, 2012).

En el estudio del “Efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su combinación sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays L.*), variedad morado”, se evaluó el efecto del aceite esencial de clavo de olor, canela y su combinación a diferentes concentraciones sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays L.*) variedad morado. La prueba de comparación múltiple de Tamhane determinó que, estadísticamente, los aceites esenciales y su combinación a 0,20% produjeron la misma acción antifúngica sobre *Aspergillus Flavus* en agar chicha de maíz morado (Caballero, Villacorta & Vásquez, 2016).

Para determinar la actividad antimicrobiana de los diferentes extractos estudiados se realizaron ensayos de susceptibilidad antimicrobiana mediante la metodología de difusión radial en placa de agar, la cual consiste en medición del halo de inhibición del crecimiento bacteriano generado por un agente antimicrobiano. Para la realización de los ensayos se utilizaron dos cepas bacterianas diferentes *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25933, ambas con resistencia a antibióticos, las cuales fueron cultivadas utilizando como medio de cultivo caldo nutritivo Mueller-Hinton a una temperatura de 37°C durante un periodo de 18-24 horas, de acuerdo a las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Medina, Mendoza, Núñez & Pacheco, 1980)

Un estudio evaluó el comportamiento productivo y el rendimiento a canal en pollos de engorde, a partir de la combinación de plantas aromáticas, en forma de harina de hoja, incluida al 0,07% en la dieta como aditivos fitoterapéuticos. Los resultados obtenidos en el rendimiento a la canal se debió a un mayor aprovechamiento de los nutrientes de la dieta adicionada con la combinación de harina de hoja; el eugenol y cinamaldehído presentes estimulan la secreción de enzimas digestivas y favorecen la digestión y absorción intestinal que se mide como conversión alimenticia (Devriese, Hernández & Zakaria, 2006).

Los estudios realizados sobre la Nisina y Canela contribuyeron en gran medida a la inactivación de cepas bacterianas como *E. coli* y *Salmonella*. El efecto fue más marcado matando a 20 °C, con recuentos en todas las muestras tratadas siendo indetectable por siembra directa en 3 días para *Salmonella Typhimurium* y 7 días para *E. coli* O157: H7. Por lo tanto, varios factores influyeron en la disminución de los recuentos: bajo pH, adición de nisina y la canela, y la temperatura de almacenamiento. El método TAL fue tan eficaz como TSA en la recuperación de células dañadas de los patógenos. La combinación de nisina y canela acelera la muerte de *Salmonella typhimurium* y *E. coli* O157: H7 en el zumo de manzana y así mejora la seguridad del producto (Yuste & Fung, 2004).

Durante la “Evaluación de la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys verticillata* y limoneno contra cepas de *Streptococcus uberis* aislados de mastitis bovina”, se indica que, el efecto del aceite esencial y el limoneno en la CIM determinada en caso sobre la formación de biofilm de estas cepas. Los valores

de CIM del aceite esencial oscilaron entre 14,3 y 114,5 mg/ml (1,56%-12,5% v/v) y los de CBM entre 114,5 y 229 mg/ml (12,5%-25% v/v). Las CIM del limoneno oscilaron entre 3,3 y 52,5 mg/ml (0,39% - 6,25% v/v) y la CBM fue de 210 mg/ml (25% v/v). Ambos compuestos mostraron actividad antibacteriana y afectaron la formación de biofilm de la mayoría de las cepas (Montironi, Cariddi, & Reinoso, 2016). Horváth & Ács (2015); mencionan que los diferentes aceites esenciales como el de Naranja mostraron que a una concentración del 0,1% induce un estímulo de estrés que fue consistente durante la inhibición, síntesis y lisis de la pared celular mediante observación de transmisión electrónica, en conclusión los aceites esenciales pueden interrumpir la estructura de la membrana celular indirectamente afectando la secreción de toxina de diferentes bacterias.

En la evaluación, “Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia”, se observa que, existen porcentajes de inhibición altos, incluso comparables con la ampicilina; de acuerdo a ello, de los tres aceites evaluados frente a la cepa de *S. aureus*, se pueden observar porcentajes de inhibición de 60 % para el caso del aceite de romero y 70 % en los aceites de tomillo y cúrcuma, respectivamente. Los aceites evaluados no presentan porcentajes de inhibición representativos frente a las cepas gramnegativas *E. coli* y *S. tify*. Por su parte los resultados de densidad e índice de refracción son comparables con los obtenidos en la literatura, lo cual complementa su caracterización (Coy & Acosta, 2013).

La “Inhibición de *Paenibacillus larvae* empleando una mezcla de aceites esenciales y timol”, se evaluó mediante, la actividad antimicrobiana in vitro de una mezcla de dos aceites esenciales y timol frente a *Paenibacillus*, los aceites esenciales utilizados fueron canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y tomillo (*Thymus vulgaris*), con el agregado de timol, componente mayoritario del tomillo presente en un 39,9%. No se detectaron diferencias significativas entre las cepas bacterianas estudiadas, pero sí entre la actividad de los aceites esenciales y la del timol ($P < 0,01$). Un efecto inhibitorio sinérgico frente a *Loque americana*, evidenciado en la reducción de la CIM y de la CBM, fue obtenido mediante la utilización de una mezcla de 62,5% de aceite esencial de tomillo, 12,5% de aceite esencial de canela y 25% de timol (Fuselli, García De La Rosa, Gende, Eguaras & Fritz, 2006).

En el “Estudio de la Actividad Antibacteriana de Películas elaboradas con Quitosano a diferentes pesos moleculares incorporando Aceites Esenciales y Extractos de Especies como Agentes Antimicrobianos”, demuestran que, se evaluó el efecto de quitosano a diferentes pesos moleculares (alto, medio y bajo peso molecular) en la elaboración de películas antimicrobianas., incorporando aceites esenciales (AE) y extractos funcionales (EF), de comino (*Cuminum cyminum L*), clavo (*Eugenia caryophyllata*) como agentes antimicrobianos. La actividad Antimicrobiana de los AE y EF se evaluó mediante la determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y bactericidas (CMB) contra: *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43888), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 11778) y *Listeria monocytogenes*. Se determinó que las películas de quitosano a bajo peso molecular con una concentración de 2% de AE de clavo y clavo-E7 presentan actividad antimicrobiana sobre la mayoría de las cepas probadas (Hernández, Gonzales, Gutiérrez, Muñoz & Quintero, 2011).

El estudio de la “Acción antimicrobiana de extractos crudos de especies de plantas nativas sobre *Escherichia coli* y *Salmonella spp*”, demuestra que, de los 14 extractos metanólicos analizados, 7 mostraron actividad frente a cepas de *E.coli* y *Salmonella*, aunque 2 de ellos que corresponden a los extractos de Radal y Notro sólo presentaron actividad antimicrobiana frente a *S. Typhimurium ATCC14028* (Ocares, 2015).

En el estudio del “Efecto de extractos de productos naturales para controlar la presencia de *Campylobacter jejuni* y *Salmonella spp.* en carne molida de pollo”, menciona que, extractos como el de jugo de limón, tamarindo y tomillo tienen actividad antibacteriana presentando inhibición del crecimiento de *S.Typhi*, *S. Typhimurium* y *C. jejuni* in vitro mostrando halos de inhibición mayores a 1cm. Dichos extractos al ser mezclados in vitro presentaron un efecto sinérgico para la inhibición de *C. jejuni*. Sin embargo, al ser añadidos a la carne molida de pollo contaminada artificialmente, se observó que el tomillo fue el más efectivo contra *C. jejuni* reduciendo la población cerca de 3.5 log en los primeros 5 días de almacenamiento de la carne a 4°C mientras que para ambas cepas de *Salmonella* no se obtuvo el mismo efecto (Robles, 2014).

En la investigación; “Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis subespecie Michiganensis*”, la técnica utilizada para el análisis de la actividad antimicrobiana fue la de difusión en agar, utilizando discos de papel filtro estériles embebidos con el aceite esencial, diluidos 1:1, 1:5 y 1:10 (v/v), en medio de cultivo específico previamente inoculado con la cepa de estudio. Los aceites esenciales que presentaron actividad antimicrobiana fueron las diferentes presentaciones de *Lippia palmeri*, *Thymus vulgaris* y *Cinnamomum zeylanicum*. El tratamiento con *Lippia palmeri* silvestre inhibió significativamente el crecimiento de *Cmm* en diferentes dosis evaluadas. Los aceites de mayor actividad antibacteriana, representan una alternativa para el control de la bacteria *Cmm* (Borboa et al., 2010).

En la investigación sobre; “Antibacterial Activity of Coriander Volatile Compounds against *Salmonella Choleraesuis*”. Indica que, las hojas frescas del coriandro *Coriandrum Sativum L. (Umbelliferae)* presentó actividad bactericida contra *Salmonella Choleraesuis Ssp. Choleraesuis* ATCC 35640 con la concentración de 6,25 µg / mL. El estudio de la curva de tiempo-matanza mostró que estos aldehídos insaturados son eficaces frente a *S. choleraesuis* en cualquier etapa de crecimiento y que su acción bactericida proviene en parte de la capacidad de actuar como tensioactivos no iónicos (Kubo, Fujita, Kubo, Nihei & Ogura, 2004).

En un estudio realizado sobre; “Antibacterial effects of the Cu(II)-exchanged montmorillonite on *Escherichia coli* K88 and *Salmonella Choleraesuis*”. Mencionan que, las propiedades y mecanismos antibacterianos de la montmorillonita modificada con Cu (II) in vitro (MMT-Cu) sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC K88 y *Salmonella choleraesuis* ATCC 50020 como indicadores de las bacterias patógenas del tracto intestinal en cerdos destetados, podrían conducir a una liberación significativa de enzimas basados en los siguientes resultados: MMT-Cu inhibió el crecimiento de *E. coli* K88 y *S. choleraesuis*, y las MICs eran 1024 y 2048 mg / ml, respectivamente. Los datos del consumo de oxígeno de las bacterias mostraron que MMT-Cu podría inhibir la vía TCA del metabolismo de la respiración bacteriana. En conclusión el MMT-Cu tiene una actividad antibacteriana (Tong, Yulong, Peng & Zirong, 2005).

La “Activity of essential oils of *Piper aduncum* and *Cinnamomum zeylanicum* by evaluating osmotic and morphologic fragility of erythrocytes”, demuestran que, la permeabilidad y difusión de aceites esenciales a elevadas dosis en los seres humanos aumentan significativamente la hemólisis y modificaciones de la morfología de los RBC con las consiguientes modificaciones estructurales, provocando efectos tóxicos sobre la membrana de los glóbulos rojos. En conclusión, la presencia de aceites esenciales de las hojas de *P. aduncum* y la corteza de *C. zeylanicum*, aumentó significativamente la curva de fragilidad osmótica de los glóbulos rojos (Barros et al., 2016).

En el estudio; “*Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* inactivation dynamics after treatment with selected essential oils”, mencionan que, se examinaron veintiún aceites esenciales contra las cepas de *Salmonella enterica* y *Listeria monocytogenes*, por determinación de Dispersión en Disco y Concentración Inhibitoria Mínima (MIC). Los EO más eficaces fueron: *Origanum vulgare* (orégano), *Cinnamomum zeylanicum* (canela) *Caryophyllus aromaticus* (clavo), *Thymus vulgaris* (tomillo rojo), *Melaleuca alternifolia* (árbol de té), con valores de MIC de 0.6 para orégano y 20.0 mL / para el árbol del té. Finalmente, todos los aceites esenciales fueron eficaces, mostrando efectos bacteriostáticos o bactericidas, dependiendo de la concentración (Mazzarrino et al., 2015).

“Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento”. Señalan que, el extracto de Rutáceas ensayado posee actividad enzimática, y al adicionarlo a un cultivo en medio líquido de *Escherichia coli* o de *Salmonella typhimurium*, es capaz de modificar el metabolismo de los citados microorganismos. Los estudios in vitro se realizaron con siete cepas bacterianas y cuatro fúngicas procedentes de la American Type Culture Collection (ATCC), elegidas por ser de mayor interés como contaminantes de productos destinados al consumo animal (Ramayoni, 2007).

2.2. MARCO CONCEPTUAL

2.2.1. ACEITE DE CANELA (*Cinnamomun zeylanicum*).

- **Generalidades:** El nombre de canela se deriva de una palabra griega que significa madera dulce. Se deriva por la corteza interna del árbol de la canela, un árbol de hoja perenne de la familia del laurel. La corteza enrollada se deja secar, formando un rollo o canilla. Con las canillas se hace la canela en rama, cortándolas y formando palitos de entre 5 y 7,5 centímetros. Con estas canillas también se hace la canela en polvo después de molerlas. La canela en polvo tiene un sabor más fuerte que la canela en rama. La canela en polvo puede permanecer fresca durante 6 meses, en cambio la canela en rama dura fresca más tiempo. Ambas deben ser almacenadas en un lugar fresco, oscuro y seco. Antiguamente, la canela era un material máspreciado que el oro y fue considerada como un regalo digno de reyes. De hecho, Plinio el Viejo del siglo I.D.C valoró la canela 15 veces más que la plata. Nerón, el emperador de Roma del siglo I D.C, quemó durante 12 meses los suministros de canela en el funeral de su esposa. Este acto fue considerado un gesto extravagante para indicar la profundidad de su pérdida. La canela se ha estado utilizado desde la antigüedad como una especia culinaria, propósitos medicinales y de otro tipo. Hay dos variedades principales de canela. En primer lugar tenemos la *Cinnamomum verum o zeylanicum*, también conocida por la canela original o la canela de Ceilán, que es cultivada en Sri Lanka, el sur de India. En segundo lugar, tenemos la *Cinnamomum aromaticum*, también conocida como Cassia, que se cultiva en China, Indonesia y Vietnam. La canela original es de un color marrón amarillento y tiende a producir un polvo más fino que la Cassia que tiene un color pardo grisáceo. La canela de Sri Lanka, es la preferida por los europeos ya que es más suave, tiene un sabor dulce y es más cara (Burt, 2004).
- **Aceite:** los aceites son sustancias olorosas obtenidas a partir de plantas mediante destilación en corriente de vapor o por expresión del material vegetal. Proviene fundamentalmente del metabolismo secundario de los

vegetales superiores en los que ejercen funciones de defensa y atracción. Tras su producción, los aceites se almacenan en distintos órganos de la planta. En general el rendimiento de la extracción es muy bajo variando entre el 0,01% y el 2%. Los aceites esenciales se caracterizan por ser una mezcla compleja de varios compuestos de aromas volátiles pertenecientes a diferentes clases de la química orgánica: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres y fenoles, obteniéndose de la canela cinamaldehído (Lawrence, 1984).

- **Propiedades:** Generalmente, los aceites poseen notables propiedades antimicrobianas. Sin embargo, su mecanismo de acción aún no está definido. Diversos estudios determinan que los aceites procedentes de: clavo, canela, mostaza, orégano, romero y tomillo son los que poseen actividad antimicrobiana más adecuada. (Deans, 1987). El cinamaldehído (componente de la canela) actúa inhibiendo la producción de enzimas intracelulares, tales como, amilasas y proteasas, lo que provoca el deterioro de la pared y un alto grado de lisis celular Mitch, (2004). Desde el punto de vista químico y a pesar de su composición compleja con diferentes tipos de sustancias, los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo con el tipo de sustancias que son los componentes mayoritarios. Según esto los aceites esenciales ricos en monoterpenos se denominan aceites esenciales monoterpénicos (p.ej. hierbabuena, albahaca, salvia, etc.). Los ricos en sesquiterpenos son los aceites esenciales sesquiterpénicos (p.ej. copaiba, pino, junípero, etc.). Los ricos en fenilpropanos son los aceites esenciales fenilpropanoides (p.ej. clavo, canela, anís, etc.) (Martínez, 2015). La cuantificación de la actividad *in vitro* de los aceites esenciales se realiza habitualmente, mediante alguna de las variantes de los métodos de dilución, estos métodos se basan en la determinación del crecimiento del microorganismo en presencia de concentraciones crecientes del aceite esencial, que se encuentra diluido en el medio de cultivo (caldo).

2.2.2. ENTEROBACTERIAS

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la microbiota intestinal normal de muchos animales y del hombre (Rodríguez, 2005).

Los géneros de la familia *Enterobacteriaceae* se han clasificado en función de sus propiedades bioquímicas, estructura antigénica, hibridación ADN-ADN y secuenciación del ARNr 16S. De forma práctica, se utilizan algunas características (como la capacidad de fermentar la lactosa, detectada por cambios en el color de medios de cultivo que contienen lactosa como el agar McConkey, o la resistencia a las sales biliares) para separar a los patógenos entéricos de los microorganismos comensales (son inhibidos por las sales biliares). La clasificación epidemiológica o serológica de las enterobacterias se basa en tres grandes grupos de antígenos: los polisacáridos O somáticos, los antígenos K de la cápsula (polisacáridos específicos de tipo) y las proteínas H de los flagelos bacterianos. La pared celular de los gramnegativos contiene dos capas situadas en el exterior de la membrana citoplasmática. Inmediatamente por fuera de la membrana citoplasmática se encuentra una delgada capa de peptidoglucano. En la parte externa de esta capa se halla la membrana externa. Esta membrana posee una configuración asimétrica y es una bicapa lipídica que contiene el lipopolisacárido (LPS), importante factor de virulencia (endotoxina) formado por el lipopolisacárido O, el polisacárido central y el lípido A. Algunas enterobacterias se encuentran además rodeadas, por fuera de su pared celular, por unas capas laxas de proteínas o polisacáridos denominadas cápsulas que contienen los antígenos K. Pueden poseer organelas complejas que irradian desde la membrana interna hacia el exterior, como los flagelos utilizados para la locomoción de las bacterias, en los que se localizan los antígenos H. La mayor parte de las enterobacterias son móviles, a excepción de los géneros *Klebsiella*, *Shigella* y *Yersinia*. Las cepas móviles están rodeadas por flagelos peritricos (distribución uniforme sobre la bacteria) (Prats, 2008)

Aunque se trata de una familia compleja, en la que se han descrito 50 géneros y cientos de especies y subespecies, la mayoría de las infecciones en seres humanos y animales están causadas por relativamente pocas especies. Los miembros de esta familia son BGN (Bacterias Gram- Negativas) de tamaño intermedio (0,3 a 1,0 x 1,0 a 6 µm) que comparten un antígeno denominado antígeno común enterobacteriano. Pueden ser inmóviles o móviles con flagelos peritricos. No forman esporas. Pueden crecer de manera rápida tanto en forma aerobia como anaerobia (anaerobios facultativos) así como en medios selectivos o no selectivos. Fermentan la glucosa, reducen los nitratos y son catalasa positivos y oxidasa negativo. Esta última característica se utiliza para diferenciar a las enterobacterias de otros BGN fermentadores y no fermentadores (Pérez, Galán, Gutiérrez, & Guerrero, 2014)

- ***SALMONELLA***

La salmonella se considera principalmente una enfermedad transmitida por los alimentos de origen animal, un huésped humano susceptible ingesta alimentos o agua que está contaminada con heces de un animal infectado, la transmisión de persona a persona puede ocurrir por vía fecal-oral al igual que de los animales a humanos por manipulación de alimentos que están desprendiendo organismos y malas prácticas de higiene. La infección puede ocurrir esporádicamente o en brotes grandes que involucran a miles de individuos con una exposición común. Las fuentes de un brote multiestatal de *S. enterica subespecie enterica serovar Typhimurium* en personas y mascotas fueron causados por la contaminación de alimentos procesados y golosinas. La transmisión vertical (transovarial) puede ocurrir en aves y en especies de reptiles (Starkey, 2013).

Los serotipos de *Salmonella* se engloban dentro de una especie, *Salmonella Choleraesuis*. Existen más de 2.000 serotipos diferentes que se agrupan en seis grupos. Grupo A: *S. paratyphi A*; grupo B: *S. typhimurium* y *S. bredeney*; grupo C1: *S. choleraesuis*, *S. montevideo* y *S. oranienburg*; grupo C2: *S. neuport*; grupo D: *S. typhi*, *S. enteritidis*, *S. dublin* y *S. gallinarum*; grupo E1: *S. butantan*, *S. anatum* y *S. give*. (Cheng, 2004).

- ***Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis***: el serotipo *Choleraesuis* es el serotipo más frecuentemente aislado de cerdos; rara vez se aísla de depósitos no porcinos. Provoca paratifoidea porcina, con manifestaciones clínicas de enterocolitis y septicemia. La fuente de serotipo *Choleraesuis* parece estar limitada a cerdos portadores e instalaciones previamente contaminadas con este serotipo. Los cerdos infectados con el serotipo *Choleraesuis* por lo general presentan signos clínicos entre 36 y 48 horas después de la infección y arrojan 103 a 106 CFU de bacterias por g de heces durante la enfermedad clínica máxima. El serotipo *Choleraesuis* es capaz de sobrevivir e infectar en el medio ambiente. La difusión del organismo de los animales infectados puede dar lugar a largo plazo la contaminación ambiental y continuar la reinfección de los animales de reciente introducción en las granjas. Por otra parte, el medio ambiente, los alimentos o fuentes de agua contaminada pueden servir como reservorio de la infección por el serotipo *Choleraesuis* a los seres humanos. El serotipo *Choleraesuis* resultando depósito en porcinos es una preocupación, no sólo debido a que es causante de la enfermedad en los cerdos jóvenes, sino también debido a sus implicaciones para la salud pública de los seres humanos. A pesar de que la *Salmonella* es una de las especies bacterianas más ampliamente estudiadas en cuanto a su fisiología, la genética, la estructura celular, el desarrollo, y la respuesta inmunitaria del huésped, apenas estamos empezando a comprender a los niveles celulares y moleculares de cómo el serotipo *Choleraesuis* causa infecciones invasivas en seres humanos (Cheng, 2004).
- ***Salmonella entérica subsp. entérica serovar. Typhimurium***: Es especialmente prevalente en el centro y sudeste asiático, sur de África, Hispanoamérica y Oceanía, excepto Australia y Nueva Zelanda. El reservorio es el hombre enfermo y el portador crónico que elimina bacilos por las heces, produciéndose transmisión fecal-oral. Se caracteriza por la aparición de fiebre progresiva asociada a estreñimiento o diarrea profusa de carácter inflamatorio. Clásicamente se ha asociado a esta enfermedad la bradicardia relativa, pero en realidad es un dato con baja sensibilidad y especificidad. Las complicaciones más graves son la hemorragia digestiva, la perforación intestinal y los aneurismas micóticos. El diagnóstico se establece por la sospecha clínica y el aislamiento del microorganismo en el coprocultivo (máximo rendimiento durante la tercera semana) o el hemocultivo que puede ser positivo durante la primera semana de la

infección disminuyendo la rentabilidad a partir de la tercera semana. El cultivo del aspirado de médula ósea se considera el mejor método para el aislamiento de *S. typhi* y *S. paratyphi* en los pacientes con fiebre tifoidea y paratifoidea. El tratamiento se basa en la administración de antibiótico y en mantener un adecuado estado de hidratación. Existen dos vacunas (una de administración oral y otra parenteral). (Bhan MK, 2005). Todas las especies de *Salmonella* pueden dar lugar a bacteriemias, pero los serotipos *Typhi*, *Paratyphi* A, B y C y *Choleraesuis* son las más frecuentes. Sin embargo, hasta un 5 % de los pacientes con salmonellas no tifoideas presentan hemocultivos positivos.

- **Características de crecimiento.**

Salmonella son bacilos, Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, pertenecientes a la familia *enterobacteriaceae*, su tamaño oscila entre 1,3- μm x 1,6 μm , son móviles por flagelos peritricos o inmóviles, no esporulados. Existen más de 2000 serotipos de los cuales en los alimentos los más importante son *S. Enteritidis*, *S. typhi*, *S. typhimurium*. Su temperatura óptima de crecimiento oscila a 35 y 37°C, aw 0.93, sensibles a NaCl, entre otras (Ayala, Martínez, Acosta, Dieppa, & Hernández, 2006).

- ***Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis***: el serotipo *Choleraesuis*, podría generar diferentes tipos de plásmidos híbridos, que consistía en el plásmido de virulencia específicos de serotipo y una serie de casetes de genes. La mayoría de los casetes del gen contenían genes de resistencia que eran responsables de la resistencia a los antibióticos convencionales, tales como ampicilina, cloranfenicol, gentamicina, oxacilina, espectinomicina, estreptomycin, sulfadiazina, tetraciclina, trimetoprim, y otros materiales, incluyendo antisépticos de amonio y mercurio. Una aparición rápida de la resistencia a la ciprofloxacina ha sido reportado en el serotipo *Choleraesuis* recientemente, y todas las cepas resistentes, se mostró a tener mutaciones que dieron lugar a la sustitución de fenilalanina por serina en la posición 83 y asparagina a ácido aspártico en la posición 87 en GyrA. Además, las mutaciones que lleva a un cambio de aminoácido de serina a isoleucina en la posición 80 se encuentra en la mayoría de los serotipos resistente a ciprofloxacina *Choleraesuis*

aísala (C.H.Chiu, datos no publicados). Se requieren más estudios para determinar si las bombas activas-flujo de salida también están implicadas en el fenotipo de resistencia a fluoroquinolonas en el serotipo Choleraesuis (Cheng, 2004).

- ***Salmonella entérica subsp. entérica serovar. Typhimurium***: “Poseen metabolismo fermentativo y oxidativo; fermentan glucosa con producción de ácido y gas (excepto *S. typhi*), también fermentan L-arabinosa, maltosa, D-manitol, D-manosa, L-ramnosa, D-sorbitol, trehalosa, D-xilosa y D-dulcitol”. (Terragno, 2003, p.75). Mientras que, “son oxidasa negativo, catalasa positivo, indol y Voges-Proskauer (VP) negativo, rojo de metilo y citrato de Simmons positivo, producen H₂S, son urea negativo, lisina ornitina y descarboxilasa positivo. Entre otras características bioquímicas se encuentran la reducción de nitratos a nitritos, no desaniman la fenilalanina y son tetracionato reductasa” (Jawetz, 2005, p 89).

2.2.1. MEDIOS DE CULTIVO

No son muy exigentes y crecen en medios comunes que contienen peptonas y extractos de carne, pero crecen mejor si el medio contiene sangre, ácido nicotínico, tiamina y biotina (Heymann, 2011).

- **Preenriquecimiento en medio no selectivo**: se utiliza cuando la muestra en estudio ha sufrido un proceso de desecación o irradiación, cuando he estado congelada por mucho tiempo o si el pH del medio es muy bajo, este tratamiento puede determinar que las bacterias presentes en la muestra se encuentre en un estado semi-latente y tiene como finalidad la revitalización de los microorganismos afectados por las diferentes condiciones (Luna, 1991).
- **Caldo tetracionato**: En el medio selectivo caldo tetracionato Bilis-Verde Brillante: el tetracionato inhibe el crecimiento de coliformes y otras bacterias intestinales, la bilis estimula el crecimiento de *Salmonella* e inhibe la microbiota competitiva, el verde brillante impide el desarrollo de la

microbiota Gram positiva y el carbonato cálcico actúa como tampón para mantener el pH. (Gonzalez, Pereira, Hernández, & Villarreal, 2014). Es selectivo para especies de *Salmonella* y *Shigella*. Caldo base de peptona que incluye iodo, yoduro potásico, sales biliares, tiosulfato de sodio y tetrionato (generado en el medio por el agregado de la solución yodiodurada) que permiten el desarrollo de bacterias que contienen la enzima tetrionato reductasa, como *Salmonella*.

- **Medios de cultivo selectivos:** son aquellos que permiten seleccionar ciertos microorganismos deteniendo el desarrollo de otros; esto se logra con el agregado de sustancias inhibitorias como antibióticos, ciertos colorantes, sales biliares, etc.
- **Agar MacConkey (McK):** las sales biliares y el cristal violeta ejercen una inhibición significativa sobre las bacterias Gram Positivas. La lactosa y el indicador rojo neutro permiten comprobar la degradación de ese disacárido; las colonias lactosa positivas (*Escherichia coli*) aparecen roja con halo turbio; las lactosas negativas (*Salmonella spp.*) son incoloras (Stanchi, 2007).
- **Agar Mueller Hinton:** medio de cultivo nutritivo no selectivo que promueve el desarrollo microbiano. Por su composición, ha sido recomendado por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), para ser utilizado en forma rutinaria en la realización del antibiograma en medio sólido, debido a que presenta buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad, su contenido en inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina es bajo, la mayoría de los patógenos microbianos crece satisfactoriamente y una gran cantidad de datos adicionales que han sido evaluados y avalados usando este medio de cultivo (Stanchi, 2007)
- **Siembra:** “Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano, para su desarrollo y multiplicación. Una vez sembrado, el medio de cultivo se incuba a una temperatura adecuada para el crecimiento” (Santambrosio, 2009).

2.2.2. MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD.

El estudio de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos es una de las funciones más importantes de los laboratorios de microbiología clínica. Pero la determinación de la sensibilidad a antimicrobianos no implica solo realizar un conjunto de técnicas y medir los resultados. Es necesario saber interpretar los mismos y darles el significado que realmente tienen. Para la determinación la sensibilidad se han utilizados métodos cuantitativos que permiten determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) y los métodos cualitativos (disco difusión) son aquellos que permiten clasificar directamente a un microorganismo como sensible o resistente, siendo uno de los métodos más utilizados en la práctica diaria por la obtención de datos de manera rápida y la interpretación de los resultados (CLSI, 2015).

- **Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).**- Se define como la mínima concentración de antibiótico que es capaz de inhibir el crecimiento in vitro de un inóculo bacteriano previamente estandarizado (concentración conocida de gérmenes). (Horna, Silva, Taboada y Ortiz, 2005) refieren que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37°C. La CMI se ha establecido como “gold Standard” frente a otros métodos que evalúan susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado. Un microorganismo se considera sensible a un determinado antibiótico cuando este puede alcanzar niveles plasmáticos iguales por lo menos a la concentración mínima inhibitoria (CLSI, 2015)
- **Concentración Bactericida Mínima (CBM).**- Se define como la mínima concentración de un antibiótico que en un período de tiempo predeterminado, es capaz de inducir la muerte in vitro del 99.9% de una población bacteriana previamente (Goñi, 2006)
- **Método de disco difusión.**- se caracteriza por ser fácilmente estandarizable y que está indicado para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido. Partiendo de una muestra clínica siempre se debe realizar un cultivo puro

para poder comenzar el estudio de la sensibilidad antibiótica Taroco, Seija, & Vignoli (2006). Método de difusión en agar o método de Kirby-Bauer es un estudio de susceptibilidad por difusión de disco. Un disco que tiene una cantidad específica (no concentración) de antimicrobiano, es aplicado a una superficie de agar inoculado con un microorganismo. El antimicrobiano difunde desde el disco al medio de cultivo produciendo una zona de inhibición en la cual una concentración crítica de antimicrobiano inhibe el crecimiento bacteriano. La zona de inhibición es medida y se relaciona inversamente con la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), esta metodología se encuentra estandarizada para el estudio de Enterobacterias (Viera, 2016).

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPÓTESIS

Ha: Las cepas bacterianas de *Salmonella* presentan sensibilidad antimicrobiana al aceite de canela.

3.2. OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar el efecto antimicrobiano del aceite de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) en cepas bacterianas certificadas de *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis ATCC® 10708^{TM*}* y *Salmonella entérica subsp. entérica serovar. Typhimurium ATCC® 13311^{TM*TM}*.

Objetivos Específicos

- Aplicar concentraciones (10%, 30%, 50%, 70% y 90%) de aceite de canela (*Cinnamomum zeylanicum*).
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), concentración mínima bactericida (CMB) y halos de sensibilidad al aplicar el aceite de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) en las cepas bacterianas *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis ATCC® 10708^{TM*}* y *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium ATCC® 13311^{TM*TM}*.

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

El presente proyecto se realizó en el laboratorio de Bacteriología de la “UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO” campus Querochacha, ubicada en el cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Sus coordenadas geográficas son 01°21' de latitud Sur y 78° 36' de longitud Oeste, a la altitud de 2 750 msnm.

4.2. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR

Tabla 1. Datos informativos del lugar de experimentación.

Datos	Información
Precipitación, mm/año	200-500
Temperatura, °C	6-28
Humedad relativa, %	81

Fuente: INAMHI (2016)

Se conservó un ambiente controlado a una temperatura de 20°C y una humedad de 48% ya que se utilizó la Cámara de Flujo Laminar ubicado en el laboratorio de Bacteriología.

4.3. EQUIPOS Y MATERIALES

4.3.1. Equipos

- Cámara de flujo laminar.
- Incubadora.
- Agitador magnético con calentador.
- Refrigeradora
- Autoclave.

4.3.2. Material vegetal

Como materia prima, se utilizó la corteza de canela, fue adquirida en un mercado de la Ciudad de Riobamba Provincia de Chimborazo.

4.3.3. Material biológico

- KWIK-STIK con Cepas bacterianas de *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis* ATCC® 10708™* y *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium* ATCC® 13311™* obtenidas de Laboratorios MEDIBAC.

4.3.4. Materiales de laboratorio

- Utensilios y vidriería de laboratorio.
- Pipetas volumétricas de 1 mL, 5 mL, y 10 mL.
- Discos en blanco de sensibilidad bacteriana marca OXOID.
- Pizeta.
- Lámparas de alcohol.
- Papel aluminio.
- Asas metálicas.

- Cajas Petri.
- Aspersor (atomizador).
- Espátulas
- Algodón.
- Gasa.
- Cepillos para limpieza de materiales.
- Mascarillas.
- Mandiles.
- Guantes.
- Gorros.
- Fósforos.
- Calculadora.
- Cuaderno de Apuntes.
- Esferos, lápices y borrador.

4.3.5. Materiales para destilación por arrastre de vapor.

- Tubo refrigerante.
- Decantador.
- Tijeras.
- Soporte universal.
- Pinzas universales.
- Mangueras.

4.3.6. Sustancias o Reactivos.

- Agares (Muller Hinton, MacConkey).
- Caldos (Cerebro- Corazón, Tetracionato).
- Suero fisiológico estéril.
- Tubo # 0.5 de la escala McFarland.
- Etanol al 98,5 %

4.4. FACTORES DE ESTUDIO

En la investigación se obtuvieron como factores de estudio los siguientes:

A) Concentración de aceite de canela

C1. 10 %

C2. 30 %

C3. 50 %

C4. 70 %

C5. 90 %

B) Cepas bacterianas

B1. *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis ATCC® 10708^{TM*}*.

B2. *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Typhimurium ATCC® 13311^{TM*TM}*.

4.5. TRATAMIENTOS

La investigación evaluó el efecto antimicrobiano sobre cepas de: *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis ATCC® 10708^{TM*}* y *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Typhimurium ATCC® 13311^{TM*TM}* utilizando cinco concentraciones (10%, 30%, 50%, 70% y 90%) de aceite de canela para las dos cepas aplicándose en los discos de sensibilidad marca Oxoid en la superficie de agar Muller Hinton. En el cual se evaluó un total de 60 cultivos con 5 repeticiones en cada uno y en cada caja Petri se utilizaron 4 discos de sensibilidad, establecidos de la siguiente manera;

Tabla 2. Cepas y concentraciones respectivas de aceite de canela (*Cinnamomum zeylanicum*).

Cepas bacterianas	Aceite de Canela
	C0= etanol 99.8%
B1= <i>Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis ATCC® 10708™</i> ,	C1= 10%
	C2= 30%
B2= <i>Salmonella entérica subsp. entérica serovar Typhimurium ATCC® 13311™</i> ,	C3= 50%
	C4= 70%
	C5= 90%

Tabla 3. Número de tratamientos y repeticiones respectivamente para cada cepa bacteriana.

Número	Tratamientos	Descripción
0	Sin canela	Se realizó cinco repeticiones para cada cepa con 4 discos en cada caja Petri empapados de etanol.
1	B1C1	
2	B1C2	
3	B1C3	
4	B1C4	
5	B1C5	Se realizó cinco repeticiones con 4 discos de sensibilidad empapados cada uno con una gota de aceite de canela al
6	B2C1	10%, 30 %, 50%, 70% y 90% respectivamente en cada caja
7	B2C2	Petri y para cada cepa bacteriana.
8	B2C3	
9	B2C4	
10	B2C5	

4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

- El diseño experimental utilizado es el diseño de bloques al azar (DBCA) en arreglo factorial 2X5+2, con 5 repeticiones. Se realizará el análisis de varianza y la prueba de TUKEY 5% para comparar los tratamientos.

4.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO

4.7.1. Obtención de material biológico.

Las cepas certificadas de *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis ATCC® 10708™** y *Salmonella entérica subsp. enterica serovar Typhimurium ATCC® 13311™** se adquirieron del laboratorio MEDIBAC.

4.7.2. Obtención del aceite de canela.

Para la obtención del aceite, se adquirió 3kg de corteza de canela y se sometió al proceso de destilación por arrastre de vapor utilizándose 250mL de agua destilada y con la obtención de 20mL de aceite.

4.7.3. Elaboración de las concentraciones de aceite de canela

Las concentraciones se determinaron mediante el método de diluciones (5 concentraciones establecidas) para cada cepa. Se utilizó etanol al 99.8% como solvente para el aceite de canela.

Tabla 4. Concentraciones y diluciones de etanol y aceite de canela.

Sustancia.	Concentraciones				
	10%	30%	50%	70%	90%
Etanol al 99,8%	4,5 ml	3.5ml	2,5 ml	1,5ml	0,5ml
Aceite de canela	0,5ml	1,5 ml	2,5ml	3,5ml	4,5ml

Cada concentración se calculó para un volumen de 5ml, fueron colocadas en tubos de ensayo y almacenadas en refrigeración para mantener de mejor manera la muestra.

4.7.4. Elaboración de medios de cultivo

Se prepararon los medios de cultivo necesarios para la determinación de la sensibilidad microbiana, concentración mínima inhibitoria y concentración bactericida mínima. En cajas Petri y tubos de ensayo respectivamente.

Tabla 5. Medios de cultivo utilizados para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria y Sensibilidad Bacteriana.

Nombre	Cantidad	Descripción
Agar	2	Siembra de cada cepa bacteriana posteriormente activada.
MacConkey	10	Determinación de la Concentración Bactericida Mínima.
Agar Mueller Hinton	60	Determinación de la sensibilidad antimicrobiana.
Caldo-Cerebro corazón	14	Inoculación y comparación de la Escala de Mc Farland para cada cepa y determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria.

4.7.5. Activación de las Cepas

Para la activación de las cepas *Salmonella entérica subsp. enterica serovar Choleraesuis ATCC® 10708™** y *Salmonella entérica subsp. enterica serovar Typhimurium ATCC® 13311™**, en la parte superior del hisopo contiene una ampolla con el fluido de hidratación y para liberarlo se realizó la ruptura del mismo comprimiéndola con la yema de los dedos. La cepa se activó cuando el líquido de hidratación se encontró en la parte inferior del hisopo.

4.7.6. Aislamiento y cultivo del inóculo.

En Agar MacConkey mediante la técnica “siembra en estría”, desde el hisopo que contiene la cepa activada se procedió con una asa de siembra metálica a cultivar a en cajas Petri debidamente rotuladas, luego se colocaron las cajas Petri en posición invertida en la incubadora a 37°C por 24 horas.

4.7.7. Preparación de discos de sensibilidad

Se conservaron los discos de sensibilidad en refrigeración para evitar su deterioro, posteriormente se esterilizaron 10 cajas Petri en autoclave, se colocaron los discos en las cajas anteriormente esterilizadas y con la ayuda de un gotero estéril se impregnó una gota para cada disco de sensibilidad con las concentraciones respectivas de aceite de canela y se refrigeraron por 24 horas para evitar que el aceite se disemine por el agar. Se esterilizó los materiales en autoclave.

4.8. VARIABLES RESPUESTA

4.8.1. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de las cepas bacterianas mediante el método de caldo dilución.

- **Procedimiento:** Se esterilizó los materiales en autoclave. Se utilizó el “método del medio de cultivo líquido o de Kirby-Bauer”: con un asa bacteriológica se tocaron cuatro a cinco colonias bien aisladas de las cepas *Salmonella entérica subsp. enterica serovar Choleraesuis ATCC® 10708™** y *Salmonella entérica subsp. enterica serovar Typhimurium ATCC® 13311™** cultivadas anteriormente en agar MacConkey, se inocularon en 5 ml de caldo apropiado Cerebro-Corazón y se dejaron incubar a 35°C durante 2 a 6 horas hasta conseguir o superar una turbidez del tubo # 0.5 de la escala de MacFarland. Obteniendo así un número de 1.5×10^8 Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Se utilizó la dilución de caldo Cerebro-Corazón para todos los tubos de ensayo con las cepas bacterianas respectivas: *Salmonella entérica subsp. enterica serovar Choleraesuis ATCC® 10708™** y *Salmonella entérica subsp. enterica serovar Typhimurium ATCC® 13311™**, a partir del tubo con 5ml que contiene el inóculo primario se colocó:
 - En el tubo N° 1 se colocó 1ml de la dilución de la cepa en caldo Cerebro-Corazón más 1ml aceite de canela al 10 %.

- En el tubo N° 2 se colocó 1ml de la dilución de la cepa en caldo Cerebro-Corazón más 1ml del aceite de canela al 30%.
- En el tubo N° 3 se colocó 1ml de la dilución de la cepa en caldo Cerebro-Corazón más 1ml del aceite de canela al 50%.
- En el tubo N° 4 se colocó 1ml de la dilución de la cepa en caldo Cerebro-Corazón más 1ml del aceite de canela al 70%.
- En el tubo N° 5 se colocó 1ml de la dilución de la cepa en caldo Cerebro-Corazón más 1ml del aceite de canela al 90%.

Nota: Este procedimiento se realizó para las dos cepas en estudio, con un total de 10 tubos con 2ml de caldo. Cada tubo fue llevado a la incubadora a una temperatura de 37°C por 24 horas. Pasado el tiempo de 24 horas, se comparó la turbidez de los tubos que contenían la dilución de la cepa en caldo Cerebro-Corazón más 1ml del aceite de canela en las diferentes concentraciones con los tubos de medio de cultivo líquido inicial o madre y se determinó la CMI.

4.8.2. Determinación de la Concentración Bactericida Mínima (CBM).

Para establecer la CBM, los tubos que no presentan desarrollo o turbidez, fueron replicados a placas Petri con agar MacConkey y se incuban a 37°C por 24 horas.

4.8.3. Medición de los halos de sensibilidad.

Se utilizó el “método del medio de cultivo sólido o de Kirby-Bauer”: con un asa bacteriológica se tocaron cuatro a cinco colonias bien aisladas de las cepas *Salmonella entérica subsp. enterica serovar Choleraesuis ATCC® 10708™** y *Salmonella entérica subsp. enterica serovar Typhimurium ATCC® 13311™** cultivadas anteriormente en agar MacConkey, se inocularon en 5 ml de caldo apropiado Cerebro-Corazón y se dejaron incubar a 35°C durante 2 a 6 horas hasta conseguir o superar una turbidez del tubo # 0.5 de la escala de MacFarland. Obteniendo así un número de 1.5×10^8 Unidades Formadoras de Colonias (UFC). El inóculo anteriormente preparado se sembró por medio de un hisopo por estriado confluyente en las cajas Petri con agar Muller Hinton, dentro de los 15 minutos posteriores a la inoculación de las placas, se colocaron con una pinza estéril 4 discos de sensibilidad con los tratamientos correspondientes asegurándose que contacten

perfectamente con la superficie del agar, por lo que se presionaron ligeramente sobre la superficie del mismo. No deben situarse a menos de 15 mm del borde de la placa, y se distribuyeron de forma que no se produzca superposición de los halos de inhibición. Para placas de 150 mm no se emplearán más de 12 discos y para las de 100 mm no más de 6. Se incubaron las placas invertidas (agar en la parte superior), en grupos no superiores a 20 placas en un tiempo de 24 horas. Se midieron los halos de inhibición de las cepas bacterias (*Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis ATCC® 10708^{TM*}* y *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium ATCC® 13311^{TM*TM}*), anteriormente sembradas en agares Muller Hinton luego se midieron los halos de inhibición con una regleta . “Los resultados se expresan como: Sensible (S), Intermedio o Moderadamente sensible (I) y Resistente (R)” (Ceballos, 2000).

4.9. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

El análisis estadístico, se realizará utilizando el Programa Excel (2010) y el SAS. 2002.

CAPÍTULO V
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. RESULTADOS

5.1.1. Concentración mínima inhibitoria.

Tabla 6. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) el crecimiento bacteriano a diferentes diluciones de aceite de canela.

Cepas	Diluciones del aceite de canela + etanol al					Control negativo Etanol al 99.8%
	10%	30%	50%	70%	90%	
	Turbidez					
Sch.	+	+	-	-	-	+
Sty.	+	+	-	-	-	+

Sch= *Salmonella choleraesuis*. Sty= *Salmonella typhimurium*. Positivo (+), Negativo (-)

La interacción que se observa en la tabla 6 entre las diluciones de concentraciones de canela y el crecimiento de las cepas *Salmonella choleraesuis* y *typhimurium* muestran un comportamiento definido a la razón de un incremento de la concentración y la turbidez reflejada en cada una de las muestras realizadas.

Para la cepa bacteriana *Salmonella Choleraesuis* los niveles de dilución 10% y 30% presentaron turbidez refiriendo que existe un crecimiento bacteriano positivo mientras que al 50%, 70% y 90% no presentaron turbidez es decir no hay crecimiento bacteriano.

Por otro lado, la cepa *Salmonella Typhimurium* los niveles de dilución 10% y 30% mostraron turbidez siendo positivo el crecimiento bacteriano y al 50%, 70% y 90% de dilución de canela y etanol no se presentó ninguna turbidez mostrando que se inhibió el crecimiento de bacterias.

5.1.2. Concentración bactericida mínima (CBM).

Tabla 7. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria mediante el crecimiento bacteriano a diferentes diluciones de aceite de canela.

Cepas	Tubos de ensayo con diluciones de aceite y cepas bacterianas.					Control negativo Etanol al 99.8%
	1	2	3	4	5	
	Crecimiento					
Sch.	+	+	-	-	-	+
Sty.	+	+	-	-	-	+

Sch= *Salmonella choleraesuis*. Sty= *Salmonella typhimurium*. Positivo (+), Negativo (-)

En lo que concierne a la concentración bactericida mínima en la tabla 7 muestra que en los tubos de 1 y 2 se presentó la formación de colonias mientras que los tubos 3, 4 y 5 no se encontró crecimiento de colonias al apreciar el medio sólido agar MacConkey, es decir, las concentraciones que no permitieron el desarrollo bacteriano para las dos cepas fueron de las concentraciones 50%, 70% y 90% de aceite de canela+ etanol al 99.8%. Evidenciándose que el etanol no causa efecto inhibitorio sobre las bacterias.

Tabla 8. Halos de sensibilidad (tomados en mm) de dos cepas bacterianas sometidas a diferentes concentraciones de aceite de canela.

	TRATAMIENTOS					ESM	Valor de P
	T1	T2	T3	T4	T5		
Sch	11.40 ^b	14.800 ^b	19.000 ^a	18.800 ^a	21.600 ^a	0.8944	<.0001
Sty	14.600 ^c	21.200 ^b	26.000 ^a	20.600 ^b	29.400 ^a	0.8148	<.0001

ABC= Medias con letras diferentes en las filas difieren significativamente P=0.05). ESM= Error Estándar de la Media Sch= *Salmonella Choleraesuis*. STY= *Salmonella Typhimurium*. T1= aceite de canela al 10%. T2=aceite de canela al 30%. T3= aceite de canela al 50%. T4=aceite de canela al 70%. T5= aceite de canela al 90%.

En la tabla 8 se observa que el tratamiento T3, T4 y T5 mostraron significancia ($P < 0.0001$) en relación a T1 y T2 para la cepa bacteriana *Salmonella Choleraesuis* con valores reportados de 21.6, 18.8, 19.0 respectivamente.

Para la cepa bacteriana *Salmonella Typhimurium* los tratamientos T3 y T5 reflejaron mayor significancia ($P < 0.0001$) en relación a los demás. De esta forma evidenciando para T3 valores de 26.0 mm mientras que para T5 29.4 mm en halos de inhibición.

5.2.DISCUSIÓN

El uso de aceites esenciales permiten dar alternativas al uso de antibióticos que puedan crear resistencia y ser perjudiciales para la salud como lo afirman Esquivel et al. (2010), al evaluar el efecto antimicrobiano diferentes aceites esenciales como el de canela, según reporta Ramayoni (2007), se puede utilizar aceites esenciales como antibióticos promotores de crecimiento debido a un componente en común que es el eugenol, ya que aumenta la secreción de enzimas digestivas y evitan la proliferación de bacterias mejorando el rendimiento a canal, estudio reportado por Devriese (2006).

Al analizar los resultados obtenidos por el método de difusión en agar podemos indicar que consideramos que esta metodología es adecuada para evaluar de manera cualitativa y cuantitativa la posible actividad antimicrobiana del aceite de canela tal como lo señala Medina et al. (1980), la cual consiste en medición del halo de inhibición del crecimiento bacteriano generado por un agente antimicrobiano.

En lo que respecta a la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria se evidenció un efecto claramente marcado del aceite esencial de canela al utilizar concentraciones de 10%, 30%, 50%, 70% y 90% sobre el crecimiento bacteriano de las cepas en estudio, demostrándose que la utilización de concentraciones menores de aceite esencial de canela como 12,5% también pueden reducir la CMI y la CMB según Fuselli et al. (2006). Este mismo comportamiento lo reporta Borboa et al. (2010), con aceites esenciales de *Lippia palmeri*, *Thymus vulgaris* y *Cinnamomum zeylanicum* en diluciones de 1:1, 1:5 y 1:10 (v/v), mostrando significativo efecto inhibitorio ($p < 0.05$), in vitro sobre la bacteria *C. michiganensis*, permitiendo así una buena alternativa para evitar el uso de antibióticos en el control de este tipo de bacterias. En este mismo sentido Caballero, Villacorta & Vásquez (2016), demostró que los aceites esenciales de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*) a concentraciones de 0,05; 0,10 y 0,20% inhiben crecimiento de otros microorganismos fúngicos inhibitorio como *Aspergillus flavus*.

Los efectos reportados en los estudios anteriores pueden estar relacionados con la presencia de eugenol y cimaldehído en los aceites esenciales que actúan directamente sobre la membrana bacteriana inhibiendo el crecimiento de microorganismos bacterianos y fúngicos según Cava et al. (2012). En la investigación de Tong et al. (2005), encontraron que los aceites esenciales pueden inhibir la vía TCA del metabolismo de la respiración bacteriana afectando el consumo de oxígeno de las bacterias produciendo su muerte.

En cuanto tiene que ver al diámetro del halo formado por el aceite de canela sobre microorganismos patógenos en un estudio realizado por Shiva. C (2007), reportó diámetros de halos de inhibición para *E.coli* de 16mm y para *Aspergillus spp.* de 69 mm probablemente sean más sensibles a los componentes de los aceites, comportamientos similares a los encontrados en esta investigación que fueron de 21, 6 mm para *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis* y 29 mm para *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium*, en consecuencia se podría pensar una respuesta dosis dependiente a los niveles de concentración del aceite esencial de canela y la formación del halo ya que se considera sensible, si existe una buena probabilidad de éxito terapéutico en el caso de un tratamiento a la dosis habitual y el diámetro de los halos son mayores a 18 mm según la NCCLS. Sin embargo Barros et al., (2016) en estudios realizados sobre el uso de aceites esenciales (*C. zeylanicum*). Recomienda el uso restringido debido a que el uso continuo puede ocasionar efectos tóxicos en la membrana de los glóbulos rojos en humanos.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

6.1. CONCLUSIONES

Se evaluó el efecto antimicrobiano del aceite de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) en cepas bacterianas certificadas de *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis ATCC® 10708^{TM*}* y *Salmonella entérica subsp. entérica serovar. Typhimurium ATCC® 13311^{TM*TM}*, presentando inhibición del crecimiento bacteriano a concentraciones del 50%, 70% y 90% respectivamente, obteniéndose los mismos resultados en la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria para *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella typhimurium*. Los resultados de la Concentración Bactericida Mínima revelan que el aceite de canela no solo posee efecto bacteriostático ya que, también actúa como un bactericida muy eficaz al no permitir el crecimiento el desarrollo de colonias bacterianas. Mientras que en la determinación de la sensibilidad antimicrobiana los halos de inhibición arrojaron valores mayores a 20mm, considerando este valor como referencia para definir o identificar si una bacteria es sensible a un antibiótico, en este caso el aceite de canela presentó un efecto antimicrobiano sobre las cepas de *Salmonella serovares Choleraesuis* y *Typhimurium*.

Determinándose que la cepa bacteriana *Salmonella entérica subsp. entérica serovar. Typhimurium ATCC® 13311^{TM*TM}* presentó mayor sensibilidad al aceite de canela que la cepa *Salmonella entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis ATCC® 10708^{TM*}* en referencia al diámetro de los halos de sensibilidad.

Con el análisis de los resultados se concluye que a mayor concentración de aceite de canela presenta mayor efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de las bacterias.

6.2. BIBLIOGRAFÍA.

- Anónimo. (2000). Fitoterapia. In *Manual de Fitoterapia* (Primera, Vol. 54, pp. 1–105). Retrieved from <http://www.institutobiologico.com/downloads/Manual de Fitoterapia.pdf>
- Barros, F., Oliveira, R., Alves, F., Bezerra, L., Martins, J., Melo, H., ... Alencar, I. (2016). Activity of essential oils of *Piper aduncum* and *Cinnamomum zeylanicum* by evaluating osmotic and morphologic fragility of erythrocytes. *European Journal of Integrative Medicine*, 8(4), 505–512. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2016.02.011>
- Borboa, J., Rueda, E., Acedo, E., Ponce, J., Cruz, M., García, J., & Ortega, M. (2010). Tropical and Subtropical Agroecosystems 1. *EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE ACEITES ESENCIALES CONTRA Clavibacter Michiganensis Subespecie.*, 12(3), 539–547. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Evelia_Acedo_Felix/publication/48186922_EVALUACION_DE_LA_ACTIVIDAD_ANTIBACTERIANA_IN_VITRO_DE_ACEITES_ESENCIALES_CONTRA_Clavibacter_michiganensis_subespecie_michiganensis/links/00b7d52cb7c0b80330000000/EVALUACION-DE-LA
- Caballero, C. A., Villacorta, L. M., & Vásquez, C. P. (2016). Efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su combinación sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays* L.), variedad morado. *Pueblo Continente*, 22(1), 123–132. Retrieved from <file:///C:/Users/usuario/Downloads/459-1692-1-PB.pdf>
- Cava-Roda, R. M., Taboada, A., Palop, A., López-Gómez, A., & Marin-Iniesta, F. (2012). Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in semi-skim milk supplemented with vanillin. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 314–318. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.003>
- CLSI. (2015). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. Clinical and Laboratory Standards Institute. (Décima,

Vol. 35). USA. Retrieved from http://shop.clsi.org/site/Sample_pdf/M07A10_sample.pdf

Coy, C., & Acosta, G. (2013). Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(2), 237–246. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v18n2/pla07213.pdf>

Esquivel, P., Pedroza, G., Sandoval, N., Mata, R., Mendoza, L., & Balderas, I. (2010). ENSAYO QUÍMICO DIRIGIDO Y ESTUDIO DEL EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE ALGUNOS CONDIMENTOS EMPLEADOS EN LA COCINA MEXICANA. *Revista Salud Pública Y Nutrición*, 10, 7. Retrieved from www.respyn.uanl.mx/especiales/2010/ee-10-2010/documentos/trabajos/28.pdf

Florencio, V. (2008). Divulgação Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro : aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18(2), 308–313. Retrieved from file:///C:/Users/usuario/Desktop/PDF PORTUGUES.pdf

Fuselli, S., García De La Rosa, S., Gende, L. B., Eguaras, M. J., & Fritz, R. (2006). Inhibición de *Paenibacillus larvae* empleando una mezcla de aceites esenciales y timol. *Revista Argentina de Microbiología*, 38(2), 89–92. Retrieved from <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v38n2/v38n2a10.pdf>

Gonzalez, J., Pereira, N., Hernández, E., & Villarreal, J. (2014). Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp . y herramientas moleculares para su detección. *Revista Salud Uninorte*, 30(1), 73–94. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/817/81730850009.pdf>

Goñi, C. (2006). Microbiología General (Guión de Prácticas), 1–61. Retrieved from <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/manual practicas micagral.pdf>

Hernández, L., Gonzales, A., Gutiérrez, N., Muñoz, L., & Quintero, A. (2011). Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a

diferentes pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extractos de especias como agentes antimicrobianos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10(3), 455–463. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v10n3/v10n3a11.pdf>

Herrera, F., & Rico, R. (2006). Evaluación in vitro del efecto bactericida de extractos acuosos de laurel, clavo, canela y tomillo sobre cinco cepas bacterianas patógenas de origen alimentario. *Revista de La Facultad de Ciencias Básicas*, 4(0120–4211), 13–19. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/903/90340202.pdf>

Horváth, G., & Ács, K. (2015). Essential oils in the treatment of respiratory tract diseases highlighting their role in bacterial infections and their anti-inflammatory action : a review †. *Flavour and Fragrance*, (April), 331–341. <https://doi.org/10.1002/ffj.3252>

Khan, R., Islam, B., Akram, M., Shakil, S., Ahmad, A., Ali, M., ... Khan, A. (2009). Antimicrobial activity of five herbal extracts against Multi Drug Resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. *Molecules*, 14(2), 586–597. <https://doi.org/10.3390/molecules14020586>

Kubo, I., Fujita, K. I., Kubo, A., Nihei, K. I., & Ogura, T. (2004). Antibacterial activity of coriander volatile compounds against *Salmonella choleraesuis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3329–3332. <https://doi.org/10.1021/jf0354186>

Loya, A., González, A., & Rivera, J. (2009). Prevalence of polypharmacy, polyherbacy, nutritional supplement use and potential product interactions among older adults living on the United States-Mexico border: A descriptive, questionnaire-based study. *Drugs and Aging*, 26(5), 423–436. <https://doi.org/10.2165/00002512-200926050-00006>

Martínez, A. (2015). Aceites esenciales. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Alejandro_Martinez_Martinez/publication/283308669_Aceites_esenciales/links/56323a7308ae242468d99608.pdf

Martínez, R., Cerrilla, M., Haro, J., Garza, J., Ramos, J., & Robles, R. (2015). USO

DE ACEITES ESENCIALES EN ANIMALES DE GRANJA. *Interciencia*, 40(November), 744–750.

Mazzarrino, G., Paparella, A., Chaves, C., Faberi, A., Sergi, M., Sigismondi, C., ... Serio, A. (2015). Salmonella enterica and Listeria monocytogenes inactivation dynamics after treatment with selected essential oils. *Food Control*, 50(9567135), 794–803. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.029>

Montironi, I. D., Cariddi, L. N., & Reinoso, E. B. (2016). Evaluation of the antimicrobial efficacy of *Mintostachys verticillata* essential oil and limonene against *Streptococcus uberis* strains isolated from bovine mastitis. *Revista Argentina de Microbiología*, 48(3), 210–216. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.04.005>

Ocares, M. (2015). *Acción antimicrobiana de extractos crudos de especies de plantas nativas sobre Escherichia coli y Salmonella spp.* Universidad Austral de Chile. Retrieved from <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fao.15a/doc/fao.15a.pdf>

Pérez, P., Galán, F., Gutiérrez, D., & Guerrero, I. (2014). Infecciones por enterobacterias. *Medicine (Spain)*, 11(55), 3276–3282. [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(14\)70768-1](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(14)70768-1)

Prats, G. (2008). *Microbiología Clínica - Guillem Prats - Google Libros.* (A. Alcoser, Ed.), *Microbiología Clínica* (Primera). Barcelona: Editorial Médica Panamericana.S.A. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=TdsoWPEYaoUC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

Ramayoni, C. (2007). *Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos . Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento.* Universidad Autónoma de Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona.

Reyes, F., Palou, E., & López, M. (2012). Aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales. *Temas Selectos de Ingeniería En Alimentos*, 29, 39. Retrieved from [http://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6\(1\)-](http://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6(1)-)

Reyes-Jurado-et-al-2012.pdf

- Robles, M. (2014). *EFFECTO DE EXTRACTOS DE PRODUCTOS NATURALES PARA CONTROLAR LA PRESENCIA DE Campylobacter jejuni y Salmonella spp. EN CARNE MOLIDA DE POLLO*. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN. Retrieved from <http://eprints.uanl.mx/2237/1/1080156748.pdf>
- Starkey, R. (2013). Salmonellosis. In T. Donnelly (Ed.), *Clinical Veterinary Advisor* (pp. 726–729). Georgia: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3969-3.00422-4>
- Talavera, M., Varela, J., Reyes, N., Lagunas, S., Carranza, B., Alonso, M., & Velazquez, V. (2011). Resistencia antibiótica de genotipos de cepas de Salmonella spp de cerdos sacrificados en rastros del Estado de México. *Veterinaria Mexico*, 42(4), 269–276. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42321608002>
- Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (2006). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. In *Temas de bacteriología y Virología Médica* (pp. 663–672). España. Retrieved from <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>
- Tong, G., Yulong, M., Peng, G., & Zirong, X. (2005). Antibacterial effects of the Cu(II)-exchanged montmorillonite on Escherichia coli K88 and Salmonella choleraesuis. *Veterinary Microbiology*, 105(2), 113–122. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.11.003>

6.3. ANEXOS



Anexo 1. Obtención del aceite de canela por el método de destilación por arrastre de vapor.



ANEXO 2. Aceite de canela 20ml al 100%



Anexo 3. Concentraciones de canela (10%, 30%, 50%, 70% y 90%).



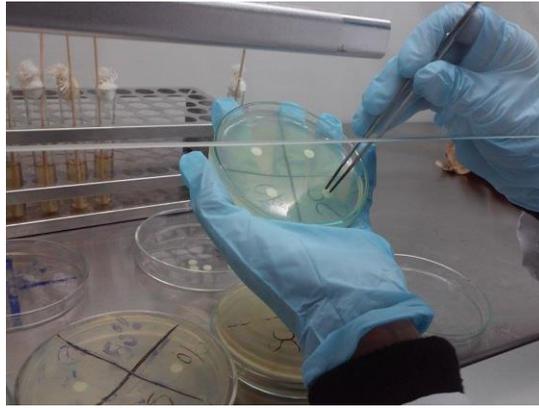
Anexo 4. Cepas certificadas de *Salmonella*.



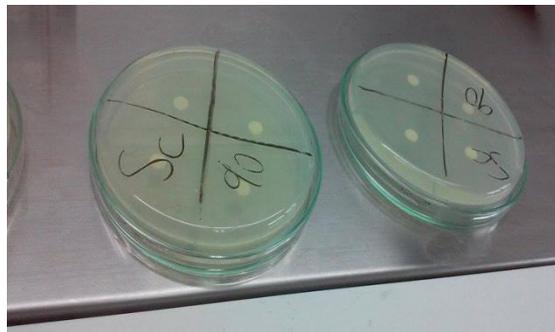
Anexo 5. Siembra de la cepa activada de *S. Choleraesuis*.



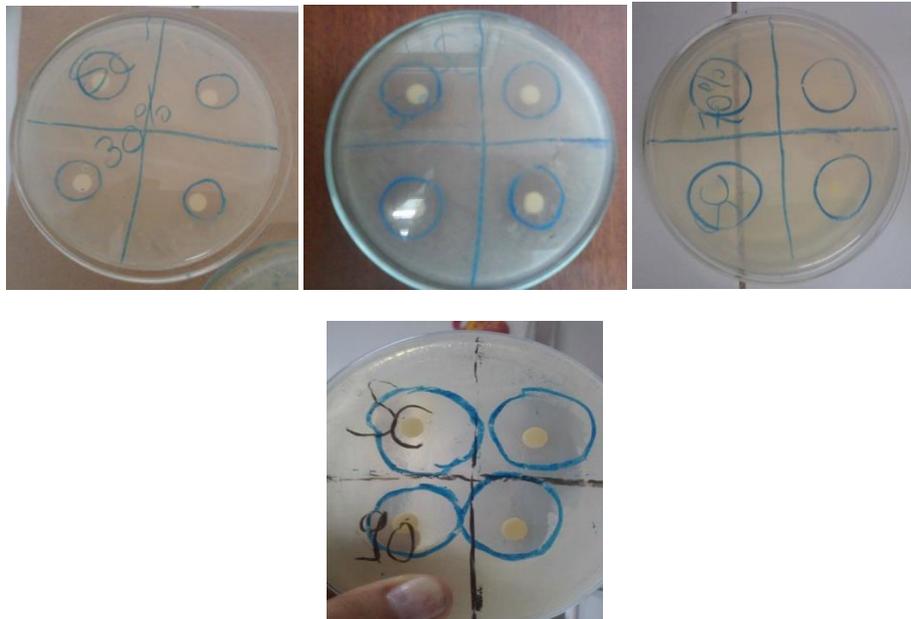
Anexo 6. Siembra de la cepa activada de *S. Typhimurium*.



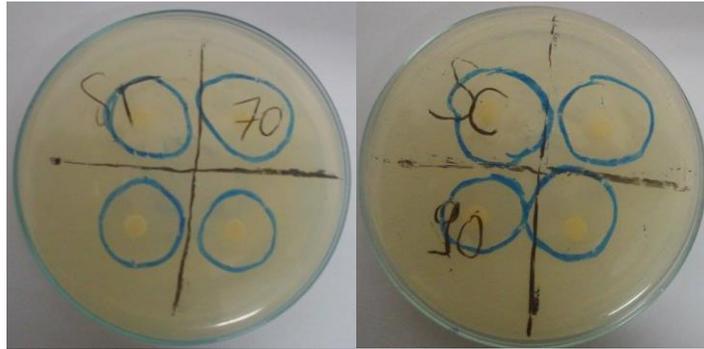
Anexo 7. Distribución de los discos de sensibilidad con concentraciones de aceite de canela sobre la superficie del agar Muller Hinton.



ANEXO 8. Cajas Petri con discos de sensibilidad empapados de aceite de canela.



Anexo 9. Halos de sensibilidad *Salmonella choleraesuis* al 30%, 50% ,70% y 90% de aceite de canela.



ANEXO 10. Halos de inhibición *Salmonella typhimurium* a concentraciones de 70% y 90% de aceite de canela

Anexo 11. Diámetro de halos de inhibición *Salmonella Choleraesuis*. (mm)

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V
B1C1	11,53	11	11	11,75	11,25
B1C2	16,33	13	16	13,25	16
B1C3	18,88	19,25	19,00	18,75	19,25
B1C4	15,43	18,25	18,50	23,00	18,50
B1C5	17,23	23,25	21,25	24,50	22,00

Anexo 12. Diámetro de halos de inhibición *Salmonella Typhimurium*. (mm)

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V
B2C1	13,28	15,25	15,25	15,50	13,50
B2C2	20,83	20,25	22,00	20,50	21,50
B2C3	24,38	23,75	26,25	29,25	27,25
B2C4	20,68	18,25	22,50	17,75	23,00
B2C5	27,98	30,25	29,75	27,25	32,25

Anexo 13. Análisis de varianza para la variable sensibilidad antimicrobiana para la cepa *Salmonella Choleraesuis*.

F de V	GL	SC	CM	FC	P
Tratamiento	4	322.6400000	80.6600000	20.17	0.0001
Error	20	80.0000000	4.0000000		
Total	24	402.6400000			

CV= 11.68224 R²=0.801311

Anexo 14. Prueba de Tukey al 5% para la variable sensibilidad antimicrobiana para la cepa *Salmonella Choleraesuis*.

Tratamientos	Medias	Repeticiones	Rango de significación
5	21.600	5	A
3	19.000	5	A
4	18.800	5	A
2	14.800	5	B
1	11.400	5	B

Anexo 15. Análisis de varianza para la variable sensibilidad antimicrobiana para la cepa *Salmonella Typhimurium*.

F de V	GL	SC	CM	FC	P
Tratamiento	4	637.3600000	159.3400000	47.99	0001
Error	20	66.4000000	3.3200000		
Total	24	703.7600000			

CV= 8.148867 R²= 0.905650

Anexo 16. Prueba de Tukey al 5% para la variable sensibilidad antimicrobiana para la cepa *Salmonella Typhimurium*.

Tratamientos	Medias	Repeticiones	Rango de significación
5	29.400	5	A
3	26.000	5	A
2	21.200	5	B
4	20.600	5	B
1	14.600	5	C

CAPÍTULO VII

7. PROPUESTA

“Aplicar las concentraciones de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) al 50% 70% y 90% que fueron efectivas al inhibir el crecimiento de las cepas *Salmonella typhimurium* y *Salmonella choleraesuis* en la elaboración de balanceados para pollos y cerdos.

7.1. DATOS INFORMATIVOS

Las instituciones involucradas en la presente propuesta será la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, los productores avícolas y porcícolas de las provincias de Tungurahua y Chimborazo.

7.2. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

Los métodos para la obtención de aceites esenciales son relativamente fáciles de realizar ya que pueden ser obtenidos por destilación alcohólica, maceración o por arrastre de vapor manteniendo de igual manera las propiedades de dichos aceites como el de canela que es un excelente antimicrobiano.

En base a los resultados de la presente investigación, se obtuvo que el aceite de canela a concentraciones de 50%, 70% y 90% inhibió el crecimiento de *Salmonella typhimurium* y *choleraesuis* que son responsables de la presencia de diarreas en pollos y en cerdos, por lo tanto se puede utilizar como una alternativa en el tratamiento de estas enfermedades evitando el uso indiscriminado de antibióticos que pueden afectar la salud humana.

7.3. JUSTIFICACIÓN

La aplicación de aceite de canela a concentraciones de 50% 70% y 90% en balanceado de pollos y cerdos tiene como fin proveer a los productores avícolas y porcícolas una alternativa al uso de antibióticos para el tratamiento de diarreas causadas por el género *Salmonella serovariedades Typhimurium y Choleraesuis*,

mediante la elaboración de dietas a base de una determinada cantidad de aceite a concentración establecida, esto podría mejorar la calidad de vida de muchos productores debido a la reducción de costos en la compra de antibióticos para el tratamiento de enfermedades, contribuyendo a obtener una producción de mejor calidad y una adecuada inocuidad alimentaria.

7.4. OBJETIVOS

- Reducir la presencia de *Salmonella typhimurium* y *choleraesuis* en producciones avícolas y porcinas.
- Elaborar dietas balanceadas con suplementación de aceite de canela a concentraciones establecidas.

7.5. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

Con respecto al análisis económico la obtención de aceite de canela mediante métodos convencionales es relativamente factible ya que son fáciles de extraer y aplicar según el fin de utilización. El material se puede conseguir en los mercados del país sin restricción alguna y su precio está al alcance de todos.

Dentro del aspecto social el aceite de canela al no ser un producto que compite con la alimentación del ser humano, se puede utilizar en la alimentación animal para tratar enfermedades de origen bacteriano y evitar la presencia de residuos de antibióticos en la carne animal.

7.6. FUNDAMENTACIÓN

La presencia de diarreas en lechones y pollos producidas por bacterias enteropatógenas han provocado la pérdida de grandes producciones debido a que los animales mueren por deshidratación aunque se utilicen antibióticos para tratar estas bacterias no siempre se obtienen resultados positivos al contrario se puede producir una resistencia de los animales a los antibióticos produciéndose grandes pérdidas económicas y aumento de enfermedades.

Para ello se debe profundizar más sobre la fitoterapia como alternativa al uso de antibióticos mejorando la producción y obteniendo animales de calidad para el consumo humano.

La utilización de aceite de canela como aditivo o suplemento en el balanceado ya sea de engorde o crecimiento para aves y cerdos ayuda a evitar la presencia de bacterias que afectan al tracto digestivo de estos animales.

7.7. METODOLOGÍA, MODELO OPERATIVO

Promover la obtención y utilización de aceites esenciales de plantas mediante métodos fáciles y accesibles, así como la elaboración de balanceados con aceites para el tratamiento de enfermedades producidas por *Salmonella typhimurium* y *choleraesuis*.

7.8. ADMINISTRACIÓN

La Universidad Técnica de Ambato mediante la Facultad de Ciencias Agropecuarias, así como docentes, estudiantes y productores será responsable de la realización de esta propuesta que pueda llevar a una adecuada utilización de aceites en explotaciones de aves y cerdos mediante la concepción de investigaciones que complementen el uso de aceites en animales .

7.9. PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Los pequeños productores de aves y cerdos mediante la realización de esta propuesta podrán mejorar la salud de sus animales mediante la utilización de aceites que formen parte de la dieta balanceada, para obtener buenos resultados de producción y disminuir costos.