

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA



“USO DE LA MIEL DE CHUMELO (*Tetragonisca angustula*) COMO COADYUVANTE EN EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN DE HERIDAS EN CONEJOS (*Oryctolagus cuniculus*) DE ENCASTE DE NEOZELANDÉS.”

POR:

KAREN ANDREA BOLAÑOS SOLÓRZANO

MELIDA GLORIBEL MALDONADO LEMUS

KAREN ELENA PINEDA ANAYA

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SAN SALVADOR DICIEMBRE 2008

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR:**

**ING. AGR. Y MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SÁNCHEZ**

**SECRETARIO GENERAL:**

**LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHÁVEZ**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

**DECANO:**

**DR. E ING. AGR. REYNALDO ADALBERTO LÓPEZ LANDAVERDE**

**SECRETARIO:**

**ING. MSc. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO**

**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ZOOTÈCNIA:**

---

**Ing. Ludwing Vladimir Leyton Barrientos**

**DOCENTES DIRECTORES:**

---

**Ing. Agr. Carlos Enrique Ruano Iraheta**

---

**MVZ. Eduardo Bonilla Mena**

**COORDINADOR DE PROCESOS DE GRADUACION.**

---

**Ing. Agr. Carlos Enrique Ruano Iraheta.**

## RESUMEN

Se evaluó el uso de la miel de chumelo (*Tetragonisca angustula*) como coadyuvante en el proceso de cicatrización de heridas en conejos, con el fin de proveer un producto de origen natural que presente propiedades similares a los cicatrizantes comerciales. Se utilizó el diseño de bloques completamente al azar, teniendo 20 conejos de raza neozelandés, los cuales se dividieron por edades en 5 bloques, con 4 animales en cada bloque. A cada conejo se le realizó una herida situada en la cabeza, en la zona frontal y media, entre las orejas, de 2 centímetros de largo y 1 milímetro de profundidad en la piel, previamente rasurada. Los tratamientos aplicados en las heridas fueron: T0= testigo absoluto (ningún tipo de tratamiento), T1= miel de *T. angustula*, T2= miel de *A. mellifera* y T3= cicatrizante comercial. Se observó la longitud de la herida, el tiempo de cicatrización, el grado de infección, la sensibilidad de las bacterias a las mieles y los costos de los productos. En cada la herida se inoculó con un hisopo estéril la bacteria del genero *Streptococcus* sp. Durante un periodo de 2 días se permitió la multiplicación de la bacteria en la herida, comprobando su crecimiento con la toma de un primer hisopado como muestra para análisis de laboratorio. Después se aplicaron de forma tópica los diferentes tratamientos una vez al día durante 8 días. El último día de la aplicación de los tratamientos se tomó un segundo hisopado para comprobar la presencia o ausencia de la bacteria, previamente inoculada, en la herida.

El proceso de cicatrización a los 8 días fue significativamente mejor con el tratamiento de miel de *T. angustula* ( $0.42 \pm 0.19$  cm), por que la longitud de la herida sin cicatrizar fue menor, a su vez el cicatrizante comercial ( $0.76 \pm 0.38$  cm) superó a la miel de *A. mellifera* ( $1.16 \pm 0.18$  cm) y esta al testigo ( $1.2 \pm 0.21$  cm). Ningún tratamiento cicatrizó completamente a los 8 días. El *Streptococcus* sp resultó ser resistente a las mieles de ambas especies y con respecto al cicatrizante comercial presentó una sensibilidad alta e intermedia. Según el análisis de costos el tratamiento con miel de abeja melífera es de menor precio seguido del tratamiento con miel de abeja sin agujón y del cicatrizante comercial.

## ÍNDICE

AUTORIDADES.....	i
HOJA DE FIRMAS.....	ii
RESUMEN.....	iv
AGRADECIMIENTOS	
DEDICATORIA	
INDICE GENERAL.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	11
2.1. GENERALIDADES DE LAS ABEJAS.....	11
2.1.1. Taxonomía .....	11
2.1.2. Abejas melíferas .....	12
2.1.3. Elaboración y almacenamiento de miel.....	13
2.1.4. Composición química de la miel de la abeja melífera .....	13
2.1.5. Propiedades medicinales de la miel de abeja melífera .....	14
2.1.5.1. Flavonoides y sus propiedades .....	15
2.1.6. Abejas sin aguijón .....	16
2.1.7. Generalidades de <i>Tetragonisca angustula</i> .....	16
2.1.8. Elaboración y almacenamiento de miel de abejas sin aguijón.....	17
2.1.9. Composición química de las abejas sin aguijón .....	17
2.1.10. Propiedades medicinales de la miel de abejas sin aguijón.....	18
2.1.11. Antioxidantes .....	19
2.2. GENERALIDADES DE LOS CONEJOS .....	19
2.3. LA PIEL.....	20
2.3.1. Epidermis.....	20

2.3.2. Dermis .....	21
2.3.3. Tejido subcutáneo .....	21
2.4. HERIDAS .....	21
2.4.1. Heridas incisas .....	22
2.5. CICATRIZACIÓN.....	22
2.5.1. Principios generales de la cicatrización de heridas .....	22
2.5.1.1. Cicatrización por primera intención.....	24
2.5.1.2. Cicatrización por segunda intención .....	24
2.6. CICATRIZANTES COMERCIALES .....	25
2.6.1. Gentamicina .....	25
2.6.2. Farmacocinética.....	25
2.6.3. Usos.....	26
2.6.4. Dosis .....	26
3. METODOLOGÍA .....	27
3.1. LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	27
3.2. DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	27
3.3. FACTORES CLIMÁTICOS .....	27
3.4. CARACTERÍSTICAS DE LOS CONEJOS DE LA INVESTIGACIÓN .....	28
3.5. INSTALACIÓN Y EQUIPO .....	28
3.6. ALIMENTACIÓN Y SUMINISTRO DE AGUA.....	28
3.7. MANEJO .....	29
3.8. METODOLOGÍA DE LABORATORIO .....	29
3.8.1. Identificación de bacterias .....	30
3.8.2. Prueba de sensibilidad bacteriana .....	30
3.9. COMPARACION ECONOMICA.....	31
3.10. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA .....	31
3.10.1. Factor en estudio .....	32
3.10.2. Variables.....	32
3.10.3. Modelo estadístico .....	33
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	34
4.1. CICATRIZACIÓN .....	34
4.2. INFECCIÓN .....	36
4.3. SENSIBILIDAD BACTERIANA .....	38
4.4. COSTOS DE PRODUCCIÓN Y APLICACIÓN .....	39

5. CONCLUSIONES.....	40
6. RECOMENDACIONES .....	41
7. BIBLIOGRAFÍA.....	42
8. ANEXOS.....	46

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Comparación de los tratamientos en el proceso de cicatrización.....	35
Cuadro 2. Comparación de costos de los productos aplicados.....	39
Cuadro A-1. Características físicas y químicas de la miel de <i>T. angustula</i> .....	47
Cuadro A- 2. Temperatura ambiental y humedad relativa durante la investigación.....	48
Cuadro A-3 Longitud de la herida sin cicatrizar (Centímetros).....	48
Cuadro A-4. Parámetros de cicatrización de heridas.....	49
Cuadro A-5 Temperatura rectal.....	50
Cuadro A-6. Sensibilidad bacteriana, primer hisopado.....	51
Cuadro A-7. Sensibilidad Bacteriana, segundo hisopado.....	54
Cuadro A-8. Formato de resultados de laboratorio.....	57
Cuadro A-9. Lisado de flora en la Estacion Experimental y de Practicas de la Facultad de Ciencias Agronómicas.....	58



## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Falta de cicatrización (centímetros) luego de 8 días.....	35
Figura 2. Presencia de bacterias en el primer hisopado.....	37
Figura 3. Presencia de bacterias en el segundo hisopado.....	37
Figura A-1. Extracción de miel de <i>T. angustula</i> .....	62
Figura A-2. Aplicación de miel de <i>T. angustula</i> .....	62
Figura A-3. Aplicación de miel de <i>A. mellifera</i> .....	63
Figura A-4. Aplicación de cicatrizante comercial.....	63
Figura A-5. Toma de muestras para el laboratorio.....	64
Figura A-6. Cajas de petri con bacterias en incubadora.....	64

## 1. INTRODUCCION

La miel de abejas sin aguijón es un producto al que se le atribuyen muchas propiedades medicinales, pero estas no han sido evaluadas en El Salvador por medio de investigaciones científicas que nos provean información precisa sobre estas. Además en los animales suceden heridas accidentales (por peleas entre ellos, defectos de la jaulas, etc), o la realización de heridas quirúrgicas que nos permiten la eliminación de procesos tumorales existentes.

Por esta razón se evaluó el uso de la miel de chumelo (*Tetragonisca angustula*) como coadyuvante en el proceso de cicatrización de heridas en conejos. Además se comparó el tiempo de cicatrización de primera intención (días) y el tamaño (centímetros) de heridas en conejos de diferentes edades, el efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano in Vitro y se realizó una comparación económica del uso de miel de abeja sin aguijón con respecto a la miel de abeja melífera y al cicatrizante comercial. Esto aumentaría la demanda de la miel mejorando los ingresos de los meliponicultores, además de proveer un producto de uso veterinario, sin procesos químicos artificiales, y que no tendría efectos adversos en las heridas de los conejos.

Las abejas sin aguijón recogen el néctar de las flores y lo transforman en miel, en forma parecida a como lo hace la abeja melífera. La calidad de la miel depende de la especie de abeja sin aguijón que la ha producido y de las plantas que han suministrado el néctar. La miel de abejas sin aguijón se utiliza para propósitos medicinales pero también como una fuente de alimento. Al parecer, estas mieles tienen en la cualidad de curar la catarata del ojo, las infecciones, el dolor de garganta y úlceras estomacales, entre otros. Estas mieles tienen un sabor ácido con un mayor contenido de agua pero su constitución y características van a depender, en gran medida, de la floración del lugar.

## 2. REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1. Generalidades de las abejas

En el planeta existen cerca de 20,000 especies de abejas, de muy variada morfología, tamaño y forma de vida. Sin embargo, una característica en común es que todas son visitantes de las flores, en las cuales colectan néctar o polen como fuente de energía y proteínas. La mayoría tienen una vida solitaria mientras que otras muestran en mayor o menor grado una organización social ya que viven en colonias. Dentro de las abejas sociales está el grupo de las abejas sin aguijón, el cual es muy importante y rico en especies (Aguilar Monge, 1998). Además dentro de este grupo también existen las abejas melíferas las cuales son parte importante de la producción apícola mundial porque existen en todas partes del mundo

#### 2.1.1. Taxonomía

Los grupos taxonómicos principales de las abejas son:

Reino: Animal

Filum: Artropoda

Clase: Insectos

Orden: Himenópteros

Superfamilia: Apoidea

Familia: Apidae

Subfamilia: Apinae

Tribu: Apini

Subfamilia: Meliponinae

Tribu: Meliponini

Tribu: Trigonini

Tribu: Lestrimelittini

Los artrópodos son animales invertebrados con patas articuladas. Los insectos son artrópodos con tres pares de patas y cuerpo dividido en cabeza, torax y abdomen. Los Himenópteros son insectos con metamorfosis completa (posee estado de pupa en el cual la larva se transforma en un adulto), cuyos adultos poseen normalmente dos pares de alas membranosas. Los insectos de la superfamilia Apoidea son las abejas que normalmente poseen aguijón y que se alimentan esencialmente con miel y polen. Las superfamilia Apoidea se dividen en once familias taxonómicas, una de las cuales, la familia Apidae, comprende a las abejas que poseen canasta de polen (corbícula) en las tibias del tercer par de patas o patas traseras (Molina Pardo, 1989)

La familia Apidae se divide en cuatro subfamilias taxonómicas:

a) Subfamilia Euglosinae

Son abejorros solitarios cuyas formas adultas poseen pocos pelos, colores frecuentemente vistosos o metálicos y lengua muy larga.

b) Subfamilia Bombinae

Son abejorros sociales con adultos muy pilosos (peludos), de colores no metálicos y que anidan normalmente en pequeñas cavidades en el suelo.

c) Subfamilia Apinae

Son abejas sociales con aguijón que almacenan mieles en panales verticales y en mayores cantidades que los meliponinos

d) Subfamilia Meliponinae

Son abejas sociales sin aguijón, encontradas en regiones tropicales sus colonias almacenan poca cantidad de miel en pequeñas vasijas; sus panales con crías son horizontales. (Molina Pardo, 1989)

### 2.1.2. Abejas melíferas

La subfamilia Apinae comprende la tribu Apini que incluye únicamente el género *Apis*, del cual existen cuatro especies: La abeja melífera gigante (*A. dorsata*), la abeja melífera enana (*A. florea*), la abeja melífera oriental (*A. cercana*) y la abeja melífera occidental (*A. mellifera*).

La colonia se constituye por todas las abejas que habitan un nido silvestre o una colmena y sus miembros son:

- a) Reina: Es la única hembra de la colonia susceptible de ser fecundada. Es la madre de la colonia. Secreta feromonas que consolidan la unión o cohesión de la familia y que controlan ciertos aspectos de la fisiología y comportamiento de las obreras.
- b) Los zánganos: Son machos y provienen de huevos no fertilizados puestos por la reina o, en algunos casos, puestos por obreras. Su función es fecundar a reinas vírgenes. Mueren inmediatamente después de la cópula.
- c) Las obreras: Son hembras no susceptibles a ser fecundadas; si producen huevos dan origen a zánganos. Con excepción de la reproducción sexual, desempeñan todas las labores de la colonia; aproximadamente durante las tres primeras semanas de edad adulta, ejecutan los trabajos requeridos en el interior de la colmena; el resto de sus vidas lo dedican a las labores de campo.

### 2.1.3. Elaboración y almacenamiento de miel

Para producir la miel las abejas recolectan el néctar de las flores, lo transforman y combinan con sustancias propias y luego lo almacena y dejan madurar en las colmenas (Avalos; *et al*, 2005). Los panales son verticales y cada uno esta elaborado de dos caras opuestas con celdas de cera. Tales celdas sirven para almacenamiento de alimento y el desarrollo de las crías (Ramirez; *et al*, 1995)

### 2.1.4. Composición química de la miel de las abejas melíferas

La miel se compone esencialmente de diferentes azúcares, predominantemente glucosa y fructosa. Además contiene proteínas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgánicos, sustancias minerales, polen y puede contener sacarosa, maltosa, melecitosa y otros oligosacáridos (incluidas las dextrinas), así como los vestigios de hongos, algas, levaduras y otras partículas sólidas, como consecuencia del proceso de obtención de la miel. Los componentes de la miel de abeja melífera

son Agua 17.7%, Fructuosa 40.00%, Glucosa 34.00%, Sacarosa 1.90%, Dextrinas 1.50%, Cenizas (Si,Fe,Cu,Mn,Cl,Ca,K,Na,P,Al,Mg) 0.18% y otras sustancias 4.82%. (Ramirez Arias; *et al*, 2003)

#### 2.1.5. Propiedades medicinales de miel de abeja melífera

La miel es efectiva en el tratamiento de las heridas debido a que es una sustancia no irritante, no toxica, bactericida, nutritiva, auto estéril, de fácil aplicación y más confortable que otras sustancias. En un estudio se demostró que una aplicación de miel en heridas y en cavidades de abscesos incluía las siguientes ventajas: primero, la infección cruzada de las heridas usualmente encontrada en el uso de terapia convencional, fue prevenida ya que la miel forma una barrera mecánica y/o química contra agentes infecciosos; segundo, la aceptación rápida de injertos, en contraste de la aceptación inconsistente de los injertos con aplicación de antibióticos; y en tercero, una duración mas corta de los tratamiento y por consecuencia la hospitalización. La miel también se encontró que es más efectivo como agente antibacterial contra varias cepas de *Pseudomonas* y *Staphylococcus* que algunos antibióticos, entre ellos la gentamicina. (Jeffrey; Echazarreta, 1996)

Existen muchos reportes publicados describiendo la efectividad de la miel en la rápida desaparición de las infecciones en heridas, con ningún efecto adverso de retrasar la cicatrización, sugiere que la miel puede promover activamente la curación. En estudios de laboratorio, se ha demostrado que ésta tiene una amplia acción antimicrobiana contra un amplio espectro de bacterias y hongos. Sin embargo es necesaria más investigación para optimizar el uso efectivo de este agente en la práctica clínica (Molan, 2006).

La miel no produce la deshidratación de los tejidos, gracias a sus efectos osmóticos, sino que dirige los líquidos de la circulación subyacente hacia los tejidos dañados. El efecto osmótico asegura a la herida, el oxígeno y los elementos nutritivos necesarios a los tejidos traumatizados, por medio del flujo linfático que induce. Los componentes de la miel aportan un suplemento de elementos nutritivos, que aumenta la tasa de crecimiento del tejido de granulación. La alta osmolaridad de la miel

protege el tejido cutáneo de la maceración y sus propiedades antibacterianas impiden el crecimiento bacteriano. Su gran viscosidad constituye una barrera protectora contra el riesgo de infección cruzada de las llagas. La miel puede ser un agente antibacteriano potente. Ensayos con mieles dotadas de una actividad antibacteriana mediana mostraron que, incluso diluidas diez veces o incluso más, son capaces de inhibir las especies de bacterias que lo más a menudo infectan las heridas. Otro mecanismo a través del cual la miel elimina la infección de las heridas está representado por su efecto activador del sistema inmune, pues se ha señalado que estimula la producción de los linfocitos B y T activando los leucocitos y neutrófilos. Además, suministra una importante cantidad de glucosa, fundamental para el crecimiento explosivo del número de fagocitos (Valega, O, sf).

La inhibina ha sido descrita tanto como una actividad del peróxido de hidrogeno, como un efecto natural de los flavonoides y ácidos fenolicos originados por las plantas. Los dos orígenes fácilmente identificables de tales componentes son las abejas y la flora. Hay autores que sugieren que tanto la abeja como la planta influyen la actividad de la miel. Los fitoquímicos, incluyendo los flavonoides, son metabolitos secundarios que confieren el color, sabor y defensa contra la infección en las plantas. Los componentes fenolicos y los flavonoides han recibido una gran atención ya que estos son algunos de los antioxidantes que se sabe que están presentes en la miel. (Cooper, *et al*, 2005)

#### 2.1.5.1. Flavonoides y sus propiedades.

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer. Los flavonoides se ubican principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, apareciendo sólo rastros de ellos en las partes de la planta por encima de la superficie del suelo.

(Martínez Flores, *et al*, 2002). Los más comunes en las plantas y en el propóleo son: apigenina, quercetina, kaempferol, pinocembrina, galangina, crisina y hesperidina (Bedascarrasbure, *et al*, 2004). La composición de flavonoides en la miel va a variar de acuerdo al origen floral de la misma (Cuadro A-9)

#### 2.1.6. Abejas sin aguijón

Las abejas sin aguijón tienen una organización social bien definida, es decir viven en colonias permanentes, se reproducen naturalmente mediante enjambres, y habitan en las zonas tropicales del mundo. Recolectan la miel, de la misma forma que las abejas melíferas, con la diferencia que es almacenada en depósitos diferentes. (Ramírez; Ortiz, 1995)

Las abejas nativas sin aguijón forman colonias permanentes, constituidas por una reina, obreras y zánganos. Existen alrededor de 400 especies y están distribuidas en las regiones tropicales del mundo. (Aguilar Monge, 2001).

Las abejas sin aguijón se caracterizan principalmente por tener aguijón reducido, alas con venación débil o reducida, alas anteriores con las celdas marginales, submarginales y segunda mediana abiertas, alas posteriores con el lóbulo yugal muy desarrollado, grupos de pelos fuertes en la parte apical de la tibia posterior, uñas simples en sus patas y ojos compuestos sin pelos (Ramírez; Ortiz, 1995) ; además construyen nidos muy característicos para albergar su cría con entradas generalmente conspicuas, las cuales, en algunos casos, sirven para identificar especies. (Nates-Parra, 2001)

#### 2.1.7. Generalidades de *Tetragonisca angustula*

Estas abejas tienen integumento amarillo y negro, un cuerpo muy esbelto y la longitud del cuerpo entre 4.4 a 4.7 mm. Presentan integumento amarillo en el pronoto, escutelo, patas y metasoma. Tienen marcas amarilla en la carita y los lados del escuto. Sus mandíbulas, clípeo y escapos de color amarillo intenso. El área paraocular presenta un dibujo amarillo que alcanza en nivel superior del clípeo, pero



que se une a éste solo hasta el orificio tentorial. El escutelo es negro con líneas amarillas laterales. Sus antenas son hialinas con venas café. Las tibias posteriores tienen forma de raqueta con una corbícula muy pequeña en el quinto distal. Los basitarsos posteriores tienen un área sedosa que cubre casi la mitad de la superficie interna. El metasoma es alargado y digitiforme. (Ayala Barajas, 1992)

#### 2.1.8. Elaboración y almacenamiento de miel de abejas sin aguijón

El procesamiento del néctar en las abejas sin aguijón generalmente es similar al de las abejas melíferas. Sin embargo hay importantes diferencias entre *A. mellifera* y las abejas sin aguijón con respecto al almacenamiento de alimento y arquitectura del nido. La miel de abejas sin aguijón no es almacenada en pequeñas celdas en panales como en *Apis*, pero almacena la miel en depósitos (o potes) agrupados alrededor de la cría. Estos depósitos y otras estructuras del nido son típicamente construidos de un material llamado cerumen, que es una mezcla de cera de abeja y resinas de las plantas. El cerumen no se derrite tan fácilmente como la cera pura en altas temperaturas y la incorporación de resinas de las plantas provee sustancias orgánicas las cuales se cree que poseen propiedades antibióticas. (Bruijn; Sommeijer, 1997)

#### 2.1.9. Composición química de miel de abeja sin aguijón

Los resultados obtenidos de un estudio realizado en El Salvador sobre las características fisicoquímicas de miel de abejas sin aguijón (Alarcón; Ibáñez, 2008) demostraron que la miel de *T. angustula* (chumelo) en las pruebas de azúcares reductores ( $59.48 \pm 4.31\%$ ), acidez libre ( $118.47 \pm 29.48$  meq/kg), humedad ( $25.77 \pm 2.65\%$ ) e hidrometilfurfural ( $151.25 \pm 76.16$ mgHMF/kg de miel) sobrepasaron los límites establecidos por la norma salvadoreña NSO67.19.01:04 "miel de abeja, especificaciones", encontrándose diferencia significativa en la prueba de humedad y acidez libre, sin embargo, las pruebas de sacarosa ( $2.92 \pm 1.01\%$ ), conductividad eléctrica ( $52.06 \pm 22.76$ uS/cm), sólidos insolubles ( $0.0070 \pm 0.0032\%$ ) y cenizas ( $0.2781 \pm 0.019\%$ ) se encuentran dentro de las especificaciones para la miel de *Apis mellifera* (Cuadro A-1)

#### 2.1.10. Propiedades medicinales de miel de abeja sin aguijón

Las abejas sin aguijón recogen el néctar de las flores y lo transforman en miel, en forma parecida a como lo hace la abeja melífera. La calidad de la miel depende de la especie de abeja sin aguijón que la ha producido y de las plantas que han suministrado el néctar. En la antigua farmacopea maya se usaba sola o mezclada con diversas sustancias como medicamento en afecciones de la nariz, oídos, garganta y pulmones; en las heridas, la disentería, para aliviar la constipación y en forma de fomentos aplicados sobre quemaduras (Espina; Ordetx, 1981).

Las mieles de las abejas sin aguijón tienen mayor actividad antibacterial que las mieles de las abejas melíferas (*Apis mellifera*), en especial contra el *Staphylococcus aureus*. Se les utiliza para propósitos medicinales pero también como una fuente de alimento. Al parecer, estas mieles tienen la cualidad de curar la catarata del ojo, las infecciones, el dolor de garganta y úlceras estomacales, entre otros. Estas mieles tienen un sabor ácido con un mayor contenido de agua pero su constitución y características van a depender, en gran medida, de la floración del lugar. Estas abejas procesan la miel a partir del néctar de las plantas nativas del trópico. (Aguilar Monge, 2001)

En un estudio realizado por Bruijn y Sommeijer sobre la composición y propiedades de las mieles de abejas sin aguijón se reportó que las muestras de miel presentaron inhibición de crecimiento para las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*, *Echerichia coli* B, *E. coli* k12 y *Bacillus cereus*. También se encontró que tanto *E.coli* como *S. aureus* presentaron un crecimiento cuando una pequeña cantidad de miel de abeja sin aguijón fue adicionada pero estas bacterias fueron incapaces de sobrevivir luego de unas horas en los medios de cultivo. La miel pura de abejas sin aguijón presentó un efecto bactericida con las especies mencionadas. Mientras que el bacilo aislado previamente de la miel de abejas sin aguijón sobrevivió al medio en que se adiciono la miel. (Bruijn; Sommeijer, 1997)

Un estudio realizado para investigar y comparar la diferencia en la actividad antimicrobiana de la miel producida por *A. mellifera* y las abejas sin aguijón, *T.*

*angustula*, de Costa Rica. Se demostró que no hubo diferencia en la actividad de las mieles de las dos especies ya mencionadas contra las 5 bacterias en estudio, a saber *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, y dos levaduras, *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans*. La miel de diferentes regiones fitogeográficas demostró tener una actividad antimicrobiana diferente y la susceptibilidad a las levaduras a las mieles fue mayor que en las bacterias. (Demera; Angert, 2003)

#### 2.1.11. Antioxidantes

Se aplica a cualquier sustancia que en bajas concentraciones comparadas a las de un sustrato oxidable pueden retrasar o prevenir la oxidación de ese sustrato incluyendo varios tipos de moléculas encontradas en los seres vivos. Los antioxidantes naturales pueden ser compuestos fenolicos (flavonoides, acidos fenolicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminos); Así como vitaminas (acido ascorbicos, carotenoides, tocoferol). En la miel se ha encontrado un contenido significativo de los antioxidantes medido como la capacidad de la miel para limpiar los radicales libres. También tiene el potencial de ejercer una acción antioxidante por la inhibición de la formación de los radicales libres gracias a la acción de los flavonoides y otros polifenoles como los ácidos fenolicos. La fracción antioxidante soluble en agua contiene crisina, quercitina, kaomferol, galangina, ponobasksina, pinocebrina, adicionales a la vitamina c y la catalasa, los cuales crean un sistema antioxidante único en la miel. Un estudio realizado con tres muestras de miel de *A. mellifera*, y dos muestras de abejas sin aguijón de *M. favosa* y de *T. angustula*, además de una miel artificial que sirvió como control, demostró que todas las mieles genuinas producidas por abejas de los géneros *Apis*, *Melipona* y *Tetragonisca* fueron mejores antioxidantes que la miel artificial. Dos mieles de *Apis* fueron menos antioxidantes que las mieles de *Melipona* y de *Tetragonisca* y otra miel de *Apis* fue más antioxidante que la miel de *Melipona* pero menos antioxidante que la miel de *Tetragonisca*. (Rodríguez; *et al*, 2007)

#### 2.2. Generalidades de los conejos

Pertenecen a la familia Leporidae, dentro del orden de los Lagomorfos. El nombre científico del conejo común es de la especie *Oryctolagus cuniculus*. Son mamíferos que se caracterizan por su cuerpo recubierto de pelaje denso y suave, orejas largas y carecen de cola, o si la tienen, tiende a ser muy corta. Ponen crías sin pelo y con los ojos cerrados, además son animales que viven en madrigueras formando colonias. Presentan una hendidura en el labio superior. Poseen cinco dedos con garras. Las extremidades posteriores son más largas que las anteriores y están adaptadas para la carrera. Poseen un oído y un olfato bien desarrollados, que los protegen frente a los depredadores (Enciclopedia Microsoft® Encarta®, 2007)

El desarrollo del sistema inmune del conejo, y en particular de las células B, se puede dividir en tres etapas. La primera etapa, fetal y neonatal, consiste en una linfopoyesis que creará el repertorio linfocitario neonatal y se lleva a cabo en el hígado y la médula principalmente. La segunda fase consiste en la creación de un repertorio primario de anticuerpos entre las semanas 3 y 8 de vida del animal por medio de la proliferación y diversificación de los linfocitos del GALT. La última etapa corresponde a la formación de un segundo repertorio de anticuerpos en la edad adulta del animal, que se trataría principalmente de la proliferación de células B en los órganos linfoides secundarios (Knight; Crane, 1994).

### 2.3. La piel

Representa el límite anatómico y órgano principal de comunicación entre el animal y su medio ambiente. Es el órgano corporal más extenso, comprendiendo del 12 al 14% del peso corporal del animal, dependiendo de la edad. En los animales la piel produce unas formaciones especiales contra la pérdida de calor, que son los pelos, las cerdas y las plumas. Estas producciones cutáneas son extraordinariamente heterogéneas según las especies animales. Las formas y el color del revestimiento piloso se adapta muchas veces al medio circundante, variando su espesor y consistencia en el transcurso del año. (Frandsen; Spurgeon, 1995)

#### 2.3.1. Epidermis

La epidermis consta de los siguientes estratos: Estrato o capa basal que está constituida por una sola cubierta de células piramidales, cubicas o cilíndricas, esta población celular progenitora descansa sobre la membrana basal. El estrato espinoso, que tiene células que se tiñen con palidez y tienden a aplanarse conforme se aproximan a la superficie. Estrato granuloso, que puede estar formado por varias capas de células o es posible que no exista. Las células granulosas fusiformes contienen gránulos queratohialinos basofilos, mismos que son precursores de la queratina. Estrato lúcido, no constituye una característica típica de la epidermis de los animales domésticos. Cuando existe (cojinete digital canino, epidermis nasal, de las pezuñas, mamas), las células son aplanadas, dicho estrato es una capa de células muertas o a punto de morir con núcleos imperceptibles o inexistentes. Estrato córneo, se encuentra bien desarrollado y está constituido por células muertas unidas estrechamente, en regiones que se considera tiene alto grado de tonificación (Gürtler, 1979)

### 2.3.2. Dermis

Bajo la epidermis se encuentra la dermis, constituida por el estrato papilar y el estrato reticular. Es una capa vascularizada de origen mesenquimatoso, también llamada Corion. En la dermis se ramifican las arterias, venas, capilares, vasos linfáticos y fibras nerviosas sensitivas (Gürtler, 1979)

### 2.3.3. Tejido subcutáneo

Este sirve como depósito de grasa, que puede alcanzar en algunos animales extraordinario espesor. La capa adiposa constituye tanto para los casos sanguíneos y linfáticos como para los nervios una protección cierta y, por añadidura, actúa como almohadilla elástica contra las presiones externas. El tejido subcutáneo corresponde a la aponeurosis superficial y en ocasiones también se le llama hipodermis aunque no es parte de la piel. (Gürtler, 1979)

### 2.4. Heridas

De acuerdo a la terminología médica, las heridas son toda solución de continuidad en la cubierta cutánea, en la que con frecuencia se produce una simultánea o diferida pérdida de sustancias, por la acción de diversos agentes causantes y que puede extenderse a los tejidos y órganos subyacentes. Las diferentes heridas tienen a su vez una clasificación definida, pudiendo ser: escoriación, heridas punzantes, heridas por proyectiles, heridas venenosas y heridas incisivas (Valer; Repetto, 2008).

#### 2.4.1. Heridas incisivas

Se denomina a las soluciones de continuidad nítidas, como son las heridas quirúrgicas, de bordes regulares y bien delimitados. En la herida incisa encontramos dos dimensiones: Extensión y profundidad. La longitud del corte en estas heridas en su superficie supera la profundidad de su penetración. Sus bordes son limpios, con mínima desvitalización de los tejidos y están bien irrigados. La separación de sus bordes será mayor, cuanto más perpendicular sea el corte a las líneas de Langer, a lo largo de los cuales la movilidad de la piel sobre los planos profundos es menor. Ejemplo: Herida producida por navaja, bisturí, etc. (Valer; Repetto, 2008)

#### 2.5. Cicatrización

La cicatrización de las heridas es la restauración de la continuidad anatómica normal en una zona en la que se ha producido una alteración del tejido. La comprensión del proceso normal de cicatrización de las heridas es esencial para tomar decisiones correctas en el tratamiento de éstas. La utilización correcta de los principios en el tratamiento de las heridas ayudara a evitar un cierre prematuro de las heridas y sus complicaciones potenciales.

##### 2.5.1. Principios generales de la cicatrización de heridas

Aunque existen muchos tipos de heridas, la mayoría experimentan estadios similares en la cicatrización. La duración de cualquier estadio variará según el tipo de herida, el tratamiento, la microbiología y otros factores fisiológicos. Existen cuatro estadios principales de cicatrización de las heridas después de producirse una herida que afecte a todo el grosor de la piel.

La **inflamación** es el primer estadio de cicatrización de las heridas y se puede dividir en dos fases. Durante la fase inicial, se produce una vasoconstricción inmediata para controlar la hemorragia seguida de una vasodilatación a los pocos minutos. Durante la segunda fase, las células se adhieren al endotelio vascular. En 30 minutos, los leucocitos migran a través de la membrana basal vascular hacia el interior de la herida recién creada. Inicialmente, los neutrófilos mueren y los monocitos se convierten en el tipo de célula predominante en la herida.

El **desbridamiento** es el segundo estadio de la cicatrización de la herida. Aunque los neutrófilos fagocitan las bacterias, los monocitos, más que los neutrófilos, se consideran esenciales para la cicatrización de la herida. Después de la migración fuera de los vasos sanguíneos, los monocitos se consideran macrófagos, los cuales en ese momento fagocitan los restos necróticos. Los macrófagos también atraen a las células mesenquimatosas mediante un mecanismo indefinido. Por último, las células mononucleares se unen para formar células gigantes multinucleadas en la inflamación crónica. Los linfocitos también pueden estar presente en la herida y contribuir a la respuesta inmunológica contra los restos extraños.

La **reparación** es el tercer estadio en la cicatrización de la herida. Ésta comprende las fases de proliferación fibroblástica, capilar y epitelial. Durante el estadio de reparación, las células mesenquimatosas se transforman en fibroblastos, los cuales dejan filamentos de fibrina que actuaran como estructura para la migración celular. En una herida sana, los fibroblastos empiezan a aparecer, aproximadamente, a los 3 días después de una lesión inicial. Estos fibroblastos secretan inicialmente una sustancia fundamental y más tarde colágeno. La secreción precoz del colágeno provoca un crecimiento rápido inicial de la fuerza de la herida. La fuerza de la herida se continúa incrementando más lentamente a medida que las fibras de colágeno se reorganizan según el estrés de la herida. En la mayoría de los tejidos, la zona de la herida nunca recupera su fuerza original.

El suministro sanguíneo de la herida se distribuye mediante los capilares migratorios. El centro de la herida es una zona de baja presión de oxígeno hacia la cual migrarán los capilares, siguiendo el gradiente de oxígeno. Debido a la necesidad de oxígeno, la actividad fibroblástica depende del grado de desarrollo capilar.

Mientras los capilares y fibroblastos proliferan, se producen tejido de granulación. Debido a la extensa invasión capilar, el tejido de granulación es muy friable y resistente a la infección.

La migración de células epiteliales empieza a las pocas horas de producirse la herida inicial. Las células epiteliales basales se aplanan y migran hacia la herida abierta. Una teoría sugiere que estas células se deslizan a través del defecto en pequeños grupos, mientras que otra afirma que las células “dan saltos de rana” unas encima de las otras para cubrir el defecto. Se desconoce el estímulo para la migración celular. Las células epiteliales migratorias secretan mediadores, como los factores transformadores del crecimiento  $\alpha$  y  $\beta$ , que intensifican el cierre de la herida. Aunque las células epiteliales migran en direcciones aleatorias, la migración se detiene cuando se realiza el contacto con otras células epiteliales en cualquier punto de toda su superficie. Las células epiteliales migran a través de la herida abierta y pueden cubrir una incisión quirúrgica en 48 horas. En una herida abierta, las células epiteliales deben tener un lecho sano de tejido de granulación para atravesarlo. La epitelización se retarda en una herida desecada.

La **maduración** es el estadio final de la cicatrización de una herida. Durante este periodo, las fibras de colágeno recién formadas y los fibroblastos se empiezan a reorganizar a lo largo de las líneas de tensión. Las fibras que presentan una orientación no funcional se sustituyen por fibras funcionales. Este proceso permite que la fuerza de la herida se incremente lentamente durante un largo periodo de tiempo (hasta 2 años). La mayoría de heridas permanecerán de un 15 a un 20% más débil que el tejido original. (Aiello. *et al*, 2000)

#### 2.5.1.1. Cicatrización por primera intención

Coincide con heridas quirúrgicas limpias, se cierran por medio de suturas que aproximan bordes idénticos teniendo el cuidado de no dejar espacios anatómicos muertos entre los tejidos. Este proceso permite que quede una mínima cicatriz y dentro del término de 8 días. Si bien se refiere generalmente en términos quirúrgicos, se aplica a todo proceso de cicatrización (Valer; Repetto, 2008).



### 2.5.1.2. Cicatrización por segunda intención

Son heridas abiertas sin suturas con supuración y drenaje en las que se produce un hueco para llenarlo con tejido de granulación a partir de los fibroblastos. Existe la posibilidad de infección ya que es un proceso lento y hay pérdida de tejidos. (Valer; Repetto, 2008)

## 2.6. Cicatrizantes comerciales

Los cicatrizantes son productos muy utilizados en la medicina veterinaria ya que los animales son inquietos y es difícil evitar que estos se lastimen. La mayoría de productos cicatrizantes en el mercado poseen un antibiótico en su formulación, además de otros productos como esteroides o antimicóticos, esto es debido a que la presencia de bacterias en una herida retrasa el cierre de la misma.

### 2.6.1. Gentamicina

Es un aminoglucósido que se produce de la *Micromonospora purpurea*. Es útil contra una gran variedad de bacterias, entre las cuales destacan *E.coli*, especies de *Proteus*, *Rhodococcus equi*, *Staphylococcus aureus*, especies de *Pseudomonas* de *Klebsiella* y de *Pasteurella*. A pesar de su eficacia in vitro, no tiene acción importante contra especies de *Mycoplasma*. (Sumano; Ocampo, 2001)

### 2.6.2. Farmacocinética

A pesar de que la gentamicina tiene una distribución moderada o baja, su gran potencia la ha constituido como opción para una amplia gama de infecciones desde las gastroenteritis bacterianas, hasta las neumonías en caballos y aun para las infecciones oculares. Se absorbe bien en los sitios de aplicación y brinda biodisponibilidades superiores a 90%< más aun se absorbe en útero para generar valores séricos y tisulares importantes, así como residuales en leche por un tiempo aun no bien determinado, que varía entre los 4 y 13 ordeños. La gentamicina tiene

una notable distribución hacia vías urinarias y, por tanto, se le usa contra infecciones a este nivel. (Sumano; Ocampo, 2001)

Se elimina principalmente por filtración glomerular (85%) pero, al igual que todos los aminoglucósidos, tienen una eliminación en tres fases por su fijación a riñón, y una vida media de eliminación muy prolongada. (Sumano; Ocampo, 2001)

### 2.6.3. Usos

Se utiliza en gran cantidad de procesos infecciosos, incluyendo infecciones de vías urinarias y respiratorias como neumonías por *Rhodococcus equi*, junto con penicilina G y ampicilina. Se ha utilizado en el tratamiento de infecciones peritoneales, aunque su eficacia se ve disminuida en función del alto índice de ionización en pH ácido. Se le utiliza en el tratamiento de las diarreas de varias especies, sobre todo en becerros y lechones, a pesar de que se ha documentado que puede generar rápidamente la aparición de resistencias bacterianas. En equinos se ha usado además en gran variedad de infecciones bacterianas, incluyendo otitis no crónicas, conjuntivitis, artritis séptica e infecciones de vías urinarias. (Sumano; Ocampo, 2001)

### 2.6.4. Dosis

La dosis de la gentamicina varía según su vía de administración, pudiendo ser, vías tópicas, subcutáneas o intramusculares. La dosis para una vía tópica es cubrir la herida con la crema realizando esto 3 veces al día. La dosis para la vía subcutánea e intramuscular es la misma 2-4 mg/kg de peso vivo cada 8 horas.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Localización de la investigación

La investigación se llevó a cabo en el Módulo Avícola de la Estación Experimental y de Practicas de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, la cual está localizada en San Luis Talpa, municipio del departamento de La Paz, cantón Talcualuya. Las coordenadas geográficas son N13°28' 28.8" W 089°05'48.4".

#### 3.2. Duración de la investigación

La investigación tuvo una duración de 70 días, iniciando el 23 de julio y finalizando el 3 de octubre. Durante este periodo se realizó una fase pre-experimental que tuvo una duración de 60 días y la fase experimental que duró 10 días.

En la fase pre-experimental se realizó la extracción de miel de *T. angustula*, de una colmena silvestre encontrada en una puerta en las instalaciones de la Estación Experimental y de Practicas de la Facultad de Ciencias Agronómicas. También en este lugar se obtuvo la miel de *A. mellifera*, extraída por estudiantes de la Facultad de Ciencias Agronómicas. Además se realizó limpieza y desinfección de la galera en la cual se llevó a cabo la investigación. La limpieza consistió en remoción de escombros, eliminación de telarañas, lavado del piso y jaulas, reparación y reubicación de las jaulas. Para la desinfección se utilizó detergente, para lavar el piso y las jaulas, éstas últimas se flamearon para quitar todos los pelos de los conejos que habían estado allí previamente. Se roció lejía con una bomba aspersora para dejar toda el área lo más desinfectada posible y como último paso se procedió a calentar las jaulas y el piso de la galera, la cual se dejó una semana cerrada evitando así una recontaminación por personas ajenas a la investigación. Luego de esto se llevaron los conejos, se colocaron en jaulas individuales y se mantuvieron durante 30 días más para su ambientación y homogenización de pesos.

#### 3.3. Factores climáticos

La temperatura anual en la Estación Experimental es de 26.5 ° C y una humedad relativa anual de 73%. Durante la investigación, del día 23 de septiembre al 3 de octubre, hubo una temperatura máxima promedio de 31.67 ±0.56 °C, una temperatura mínima promedio de 22.56 ±0.24 °C y humedad relativa promedio de 87.88± 2.07%. Los datos de

temperatura y humedad relativa diaria durante la investigación se presentan en anexos (cuadro A-2)

### 3.4. Características de los conejos de la investigación

Los conejos utilizados en la investigación eran una mezcla de raza neozelandés, 7/8, con raza California, 1/8. Las edades al inicio de la investigación, en la fase pre-experimental, eran 28, 35, 42, 49 y 56 días. Su peso promedio según las edades era 327.75 gramos, 729.6 gramos, 807.12 gramos, 957.6 gramos y 1018 gramos, respectivamente. Al inicio de la fase experimental las edades de los conejos eran de 74, 81, 88, 95 y 102 días, con un peso promedio de 1618.8, 1687.2, 1738.5, 1653 gramos, respectivamente.

### 3.5. Instalación y equipo

La investigación se llevó a cabo en una galera de dos aguas con una altura máxima de 3.59 mts y una altura mínima de 2.86 mts, un ancho de 8.20 mts y un largo de 15.20 mts. La galera tenía un pretil de 50 cm, además un piso de cemento y paredes de malla de gallinero con orificios de 5cm de diámetro. Dentro de esta galera se encontraban 5 jaulas de madera de 1.14 mts de alto, 1.38 mts de ancho y 93 cms de profundidad, cubiertas con malla de gallinero con orificios de 1 cm de alto y 2 cm de ancho. Las jaulas tenían cuatro compartimientos de 36 cms de alto, 30 cms de ancho y 93 cms de profundidad. Cada compartimiento tenía un bebedero plástico con capacidad para 400 ml y un comedero plástico con capacidad de 285 gramos (10 onzas) de alimento.

### 3.6. Alimentación y suministro de agua

Los conejos en estudio estaban divididos en bloques de diferentes edades, razón por la cual el alimento se administró según la edad. A los conejos de 28 días se les proporcionaba 85.5 gramos de alimento, a los de 35 días se les proporcionaba 114 gramos de alimento, a los 42 días se les proporcionaba 142.5 gramos de alimento, a los de 49 días se les proporcionaba 171 gramos de alimento y a los de 56 días se les proporcionaba 199.5

gramos de alimento. En la medida que los conejos fueron creciendo se aumento 28.5 gramos (1 onza) de alimento por conejo por semana.

El suministro de agua fue a libre consumo, y se les proporciono dos veces al día 400 ml haciendo un total de 800 ml.

### 3.7. Manejo

Una vez realizada la limpieza y desinfección se procedió a colocar los conejos en jaulas individuales formando bloques, divididos según la edad. Cada bloque tenía cuatro conejos, formando cinco bloques en total. Los cuales se mantuvieron durante un periodo de un mes para su adaptación al clima.

Luego de este periodo se procedió a la fase experimental en la cual se realizó una herida de 2 centímetros de largo y 1 milímetro de profundidad en la piel previamente rasurada en cada conejo. Esta herida se realizó en la cabeza, en la zona frontal y media, entre las orejas. A partir de un absceso encontrado en piel de un conejo se tomó una muestra para realizar la identificación y el antibiograma, la bacteria fue identificada como *Streptococcus* sp. Luego en la herida se inoculó con un hisopo estéril estas bacterias tomando del cultivo las colonias más fuertes que eran las más visibles macroscópicamente. Durante un periodo de 2 días se permitió la multiplicación de la bacteria en la herida, comprobando su crecimiento con la toma de un hisopado como muestra para análisis de laboratorio. Ya con la muestra extraída se procedió a azarizar los tratamientos, procurando que cada uno de los conejos tuviera las mismas condiciones. Después se aplicaron de forma tópica los diferentes tratamientos correspondientes, siendo estos T1: miel de chumelo (*Tetragonisca angustula*), T2: miel de abeja melífera (*Apis mellifera*), T3: cicatrizante comercial, a base de gentamicina, y un testigo (To) en el que no se aplicó ningún tipo de tratamiento. Estos tratamientos se aplicaron una vez al día durante 8 días. El último día de la aplicación de los tratamientos se tomó un segundo hisopado para comprobar la presencia o ausencia de la bacteria, previamente inoculada, en la herida.

Durante los 8 días de la aplicación de los tratamientos se tomaron constantes fisiológicas para llevar un registro de los cambios que se presentaron en cada animal. Además se tomó el peso de los animales al inicio y al final de la investigación.

### 3.8. Metodología de laboratorio

Esta parte se llevo a cabo con la colaboración de un laboratorio veterinario, lugar en el cual se realizaron todas las pruebas para la verificación de la presencia de las bacterias en las heridas, y los antibiogramas para saber la resistencia o sensibilidad de las bacterias a los tratamientos en estudio. Se realizaron 2 hisopados por conejo para el análisis, haciendo un total de 40 muestras. Estos hisopados fueron tomados en diferentes ocasiones, el primero dos días después de la inoculación de la bacteria (al momento de iniciar la aplicación de tratamientos), y el segundo el ultimo de la de la aplicación de los tratamientos.

#### 3.8.1. Identificación de bacterias

La identificación bacteriana se realizó luego de haber tomado los hisopados de las heridas después de 48 horas de inoculación de las bacterias. Los hisopos previamente identificados se llevaron al laboratorio y acá fueron marcados según un código establecido y este va en concordancia con la identificación de cada muestra para evitar confusión al momento de realizar las pruebas y la presentación de resultados. La identificación de las muestras consistió en marcar el medio de transporte con la letra T (tratamiento) y B (bloque).

Con una parte de la muestra se realizó un examen directo, el cual consistió en hacer una fijación en un portaobjetos y luego hacer una tinción de gram lo cual permitió saber si eran bacterias gran positivas o gran negativas y además permitió la observación de la morfología y agrupación de las bacterias.

Con el resto de la muestra se realizó una siembra de dos medios de cultivos diferentes que son Agar sangre, este es un medio de cultivo nutritivo enriquecido que permite el crecimiento de muchas bacterias y nos permite observar reacciones hemolíticas de las bacterias que hemos sembrado, y Agar Mc Conkey, es un medio selectivo que contiene sales biliares y cristal violeta que inhiben al crecimiento de bacterias no entéricas. Estas placas, previamente inoculadas, se incubaron a una temperatura de 35° C durante 24 horas para luego realizar una lectura de los resultados y esto permitió saber si las bacterias encontradas en la herida eran las que se habían inoculado o si había presencia de otras.

### 3.8.2. Prueba de sensibilidad bacteriana

Se tomó parte de las colonias que habían crecido en el cultivo anterior y se volvió a sembrar en un agar Mueller Hinton, este es un medio recomendado por la FDA (Food and Drug Administration) para la prueba de sensibilidad a antibacterianos por el método de difusión en agar, en este medio se hizo lo posible para que no quedara ninguna parte de la placa que no tuviera bacterias presentes, y luego se incubó a 35°C durante 24 horas para permitir el crecimiento bacteriano. Luego de esto se colocaron discos de celulosa previamente secados e impregnados de miel de chumelo y miel de abeja. Además de estos también se colocaron discos de diferentes antibióticos comerciales para saber la bacteria era resistente o sensible a los tratamientos. Los discos de antibióticos que se aplicaron fueron gentamicina, amikacina, trimetropin sulfa, amoxicilina + ácido clavulánico, enrofloxacin y cefalexina. Para saber si la bacteria fue sensible a los tratamientos se observó un halo de sensibilidad que debe tener un mínimo de 11 mm de diámetro, y si no presentaba halo fue por que la bacteria resultó ser resistente a los tratamientos.

### 3.9. Comparación económica

Esta se realizó pesando, en una balanza analítica, la cantidad diaria del producto que se aplicó de cada tratamiento, para obtener la cantidad en gramos que se utilizó. Con ese peso se realizó un cálculo del valor de la cantidad de producto que se aplicó, y en base al costo por ml se determinó así el costo por tratamiento por conejo a diario (Cuadro 2). Este precio luego fue multiplicado por los ocho días de aplicación y así se obtuvo el precio del tratamiento por conejo durante la investigación.

### 3.10. Metodología estadística

El diseño estadístico que se utilizó en la investigación fue bloques completamente al azar (Nuila, J.A; 1990). Se formaron 5 bloques de 4 conejos, en los cuales cada bloque era una edad diferente. En cada bloque estaban presentes los cuatro tratamientos:

To= testigo absoluto (ningún tipo de tratamiento)

T1= miel de chumelo 0.25 ml (5 gotas)

T2= miel de abeja melífera 0.25 ml (5 gotas)

T3= cicatrizante comercial a base de gentamicina

La prueba estadística utilizada fue contrastes ortogonales porque permitió hacer las comparaciones del efecto de cada producto en la cicatrización de las heridas.

### 3.10.1. Factor en estudio

En esta investigación el factor estudiado fue el proceso de cicatrización usando la miel de chumelo (*T. angustula*), miel de abeja melífera (*A. mellifera*), un cicatrizante comercial a base de gentamicina. Todos estos fueron utilizados como coadyuvantes en el proceso de la cicatrización.

### 3.10.2. Variables

Se evaluaron las siguientes variables:

1. La cicatrización, la cual se midió por medio de la observación clínica diaria de cada una de las heridas realizadas en base al criterio de 8 días como el límite entre la cicatrización de primera y segunda intención (con un rango de 8 a 10 días). Tomando en cuenta el color de la piel (mediante observación clínica de la herida al momento final de la investigación), la presencia de inflamación, la falta de cicatrización de los bordes (centímetros) y tiempo de cicatrización (días).
2. La presencia o ausencia de infección se realizó tomando a diario las constantes fisiológicas del animal, a saber, temperatura (mayor de 40°C), frecuencia cardíaca (mayor de 325 latidos/minuto) y frecuencia respiratoria (mayor de 60 respiraciones/minuto). Algún incremento de estos parámetros habría indicado una posible infección. Además se observó la presencia de pus en la herida y detección de olor característico en este proceso.
3. Sensibilidad de las bacterias a la miel, esto se observó al realizar la prueba de sensibilidad en el laboratorio, colocando discos de celulosa



impregnados de miel de chumelo, miel de abeja y un disco de gentamicina. La sensibilidad o resistencia de las bacterias a los tratamientos se observó al poder identificar en las placas con las bacterias halos de sensibilidad. La presencia de estos halos significaba sensibilidad de la bacteria al producto y la ausencia de estos significó resistencia de la bacteria al producto.

4. Costos del producto (USD). Para la realización de este parámetro se tomó en cuenta el costo del producto y el costo de aplicación del mismo. Para este parámetro solo se estableció el costo de cada uno de los tratamientos, debido a que el beneficio no se pudo cuantificar monetariamente y esto imposibilitó realizar la relación costo-beneficio de cada uno de los tratamientos

### 3.10.3. Modelo estadístico

El modelo estadístico para este diseño es:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \epsilon_{ij} \quad i=1, \dots, t = 1, \dots, b$$

$\mu$       Media general

$T_i$       Efecto del i-esimo tratamiento

$\beta_j$       Efecto del j-esimo bloque

$\epsilon_{ij}$       Error experimental del tratamiento i en el bloque j.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Cicatrización

Según el análisis estadístico realizado para esta variable hubo diferencia significativa entre los tratamientos ( $p \leq 0.05$ ) y al aplicar la prueba de contrastes ortogonales se comprobó que el mejor tratamiento fue la miel de *T. angustula* por que el proceso de cicatrización fue superior al resto de tratamientos (Cuadro1) por que la longitud de la herida sin cicatrizar fue menor ( $0.42 \pm 0.19$  centímetros). Al comparar la cantidad de heridas cicatrizadas por cada tratamiento, se demostró que la miel de *T. angustula* y el cicatrizante comercial fueron mejores que el resto de tratamientos (Cuadro A-3). Esto probablemente este relacionado con los flavonoides presentes en la miel, ya que Muñoz y Copaja (2006) demostraron la presencia de derivados de flavonoides de polen-néctar, y además flavonoides de propóleos, que también estaban presentes en muestras de miel. El contenido de flavonoides en la miel de *T. angustula* podría ser mayor que en la miel de *A. mellifera*, por que según Bruijn y Sommeijer (1997) la miel de abejas sin aguijón es almacenada dentro de la colmena en potes elaborados con resinas y cera. Estas resinas provienen de algunas plantas que contienen fitoquímicos, incluyendo los flavonoides, son metabolitos secundarios que confieren el color, sabor y defensa contra la infección (Cooper, *et al.* 2005). Los flavonoides podrían favorecer histológicamente al ocurrir un incremento de la cantidad de fibroblastos maduros, que sintetizan fibras de colágeno, orientadas en forma paralela. Además la inhibición de la degranulación de células cebadas contribuye a la reducción del exudado inflamatorio. También ocurre un incremento del índice mitótico en el extracto basal de la epidermis y un aumento de la queratinización. (Ponce De Leon. 1991). Por su parte Rodríguez, *et al* (2007) afirmaron que la miel de *T. angustula* contiene mayor cantidad de antioxidantes que la miel de *A. mellifera*. Eso es debido a la alta cantidad de flavonoides que la miel de *T. angustula* posee.

La edad no tuvo efecto significativo en el proceso de cicatrización ya que las edades que se evaluaron fueron arriba de 60 días, ya que para esta edad ya ha superado la segunda etapa del desarrollo del sistema inmune (Knight; Crane 1994), además la diferencia de la falta de cicatrización entre los conejos de cada bloque fue mínima (Figura 1)

Cuadro 1. Comparación de los tratamientos en el proceso de cicatrización a los 8 días

Tratamientos	Parámetros de cicatrización		
	Color de piel	Presencia de inflamación	Promedio de falta de cicatrización de bordes (cm)
Testigo	Rojiza	Si	1.2±0.21 d
Miel de <i>T. angustula</i>	Rosa pálido	No	0.42±0.19 a
Miel de <i>A. mellifera</i>	Rojiza	Si	1.16±0.18 c
Cicatrizante comercial	Rosa pálido	No	0.76±0.38 b

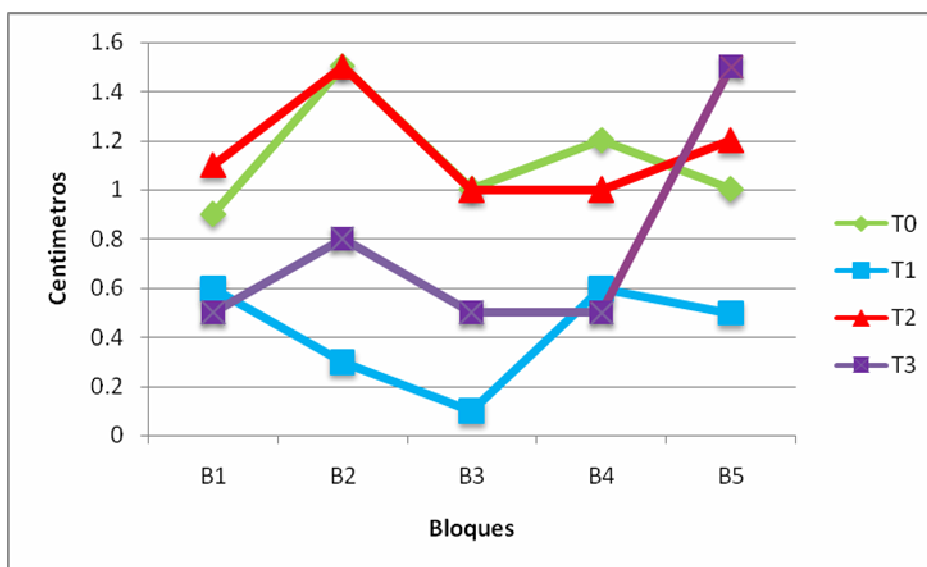


Figura 1. Falta de cicatrización (centímetros) luego de 8 días de la realización de heridas

La coloración de las heridas en la cuales se aplicó miel de *T. angustula* y a las que se le aplicó cicatrizante comercial fueron rosa pálido, demostrando que la regeneración de la piel

había sido mejor que en los tratamientos de miel de *A. mellifera* y el testigo quienes presentaron una coloración rojiza en las heridas.

Solamente se presentó inflamación marcada en las heridas tratadas con miel de *A. mellifera* y a las que no se aplicó ningún tratamiento. Estas heridas se observaron rojizas, calientes al tacto, con consistencia tumefacta y dolor a la palpación. La inflamación es habitual en casi todas las enfermedades que implican un daño microbiológico, químico o físico a tejidos vivos, y sus principales signos son: el calor, el enrojecimiento, el dolor, la tumefacción y la pérdida de función. La inflamación puede definirse como la respuesta microcirculatoria al daño presentando vasodilatación arteriolar, el aumento de la permeabilidad de las vénulas, la formación de líquido edematoso y el desplazamiento de leucocitos al lugar de la lesión. El resultado deseable de este proceso, que al menos inicialmente es de naturaleza protectora y homeostática es aislar y destruir al agente lesivo y resolver el daño inflamatorio, de manera que se restaure plenamente las condiciones normales del tejido. (Aiello. *et al.* 2000)

Con respecto al tiempo de cicatrización, ningún tratamiento cicatrizó completamente a los 8 días ya que las heridas con mayor grado de cicatrización presentaron una longitud inferior o igual a 0.5 centímetros abiertos, siendo estas las heridas tratadas con miel de *T. angustula* y las tratadas con el cicatrizante comercial, mientras que las heridas a las cuales se les aplicó miel de *A. mellifera* y a las que no se les aplicó ningún tratamiento, el proceso de cicatrización fue más lento manteniendo las heridas con mayor longitud y por lo tanto alargando el periodo de cicatrización.

#### 4.2 . Infección

En el primer hisopado se identificó *Streptococcus* sp que fue la bacteria inoculada el día que se realizaron las heridas. Esta bacteria se presentó en 16 de los 20 conejos y de los 4 conejos restantes, 3 no presentaron *Streptococcus* sp, pero presentaron contaminación de *Enterobacter rubidae* y solo 1 no presentó ninguna infección bacteriana en la herida (Figura 2). De los conejos tratados con miel de *T. angustula* 4, presentaron *Streptococcus* sp y solo 1 presentó *Enterobacter rubidae*. Los tratados con miel de *A. mellifera*, fueron iguales a los resultados de *T. angustula*. De los conejos tratados con cicatrizante comercial, 3 presentaron

*Streptococcus* sp, uno presentó *Enterobacter rubidae* y uno no presentó ninguna bacteria. En el testigo todos los conejos estaban infectados con *Streptococcus* sp.

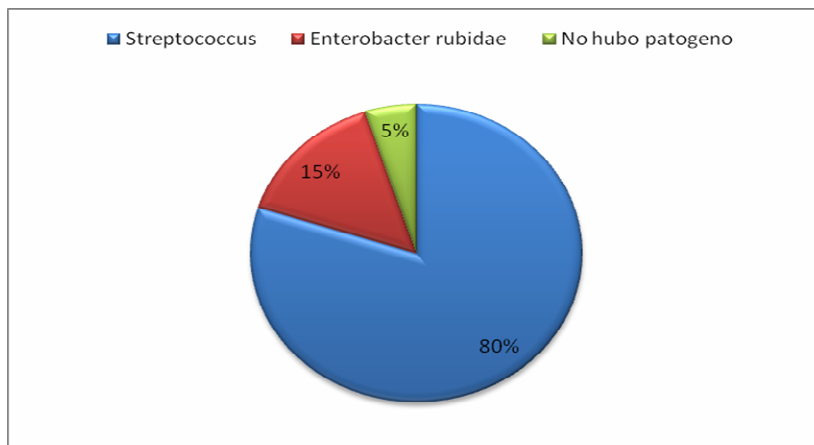


Figura 2. Presencia de bacterias en el primer hisopado

En el segundo hisopado 12 de los 20 conejos presentaron *Streptococcus* sp, 5 estaban infectados por *Enterobacter rubidae*, 2 no presentaron ningún tipo de infección y 1 conejo infectado de *Escherichia coli* que es una bacteria de la flora normal del intestino (Figura 3). De los conejos tratados con miel de *T. angustula*, 3 presentaron *Streptococcus* sp y 2 de ellos estaban contaminados con *Enterobacter rubidae*. En *A. mellifera* los resultados fueron los mismos del primer hisopado. Para cicatrizante comercial, 3 presentaron *Streptococcus* sp y los otros 2 no presentaron ninguna bacteria. Para el testigo 2 conejos presentaron *Streptococcus* sp, 2 estaban contaminados con *Enterobacter rubidae* y uno con *E. coli*.

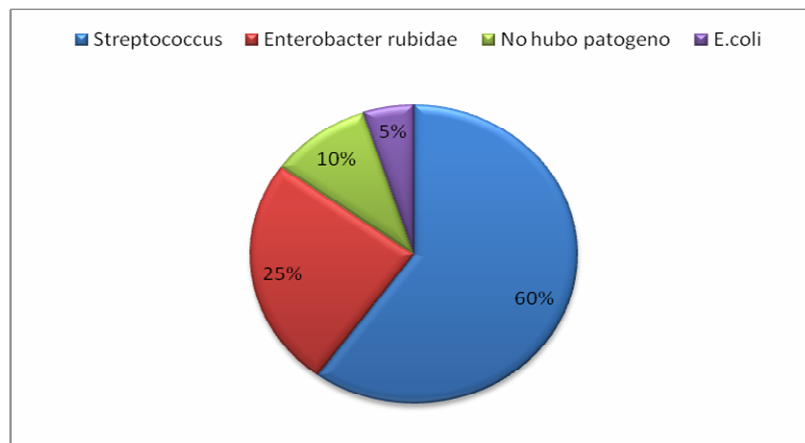


Figura 3. Presencia de bacterias en el segundo hisopado

Las heridas de algunos conejos se contaminaron con sus heces fecales, por lo tanto hubo presencia de *Enterobacter rubidae* y *E. coli* (que se encuentran en el intestino de los animales) en las pruebas de laboratorio

Hubo una variación en la temperatura rectal de los animales durante la investigación siendo su temperatura máxima para *T. angustula* 41.1 °C, para *A. mellifera* 41.2°C, para el cicatrizante comercia 41.9°C y para el testigo 41°C . Según Aiello, *et al* (2000) la temperatura rectal normal del conejo es de 39.5°C demostrando una clara diferencia, siendo mayores las obtenidas en la investigación. Esta variación se debió a una infección generalizada que se observó en todos los conejos, la cual se presentó en forma de abscesos localizados en el área de la cara. Estos abscesos no afectaron el proceso de cicatrización de las heridas. Las temperaturas elevadas se mantuvieron durante los primeros días y luego fueron descendiendo hasta llegar a los parámetros considerados normales (Cuadro A-5). Al comparar las temperaturas réctales promedio por tratamiento durante los 8 días del periodo experimental, se observó similitud y todos sobrepasaron levemente la temperatura normal.

#### 4.3. Sensibilidad bacteriana

Todas las bacterias resultaron ser resistentes tanto a la miel de *T. angustula* como a la miel de *A. mellifera*. Mientras que las bacterias resultaron altamente sensibles al cicatrizante comercial excepto en una muestra del primer análisis de laboratorio, en el cual el *Streptococcus* sp resultó ser resistente al cicatrizante comercial. (Cuadro A-6)

En el segundo antibiograma fue similar al primero ya que las diferentes bacterias resultaron ser resistentes a las mieles en estudio, mientras que para el cicatrizante comercial las bacterias presentaron una sensibilidad intermedia solo en dos casos y en el resto su sensibilidad fue alta. (Cuadro A-7)

Probablemente el origen floral de la miel influyó sobre las propiedades antibióticas de ambas mieles, como lo reporta Demera y Angert (2003), que las mieles de *A. mellifera* y *T. angustula* presentaron diferente actividad antimicrobiana y susceptibilidad por la influencia de las regiones fitogeográficas. Molan (1999), también coincidió al afirmar que muestras de miel

provenientes de la misma especie de abeja, varían en su efecto bacteriostático o bactericida, de acuerdo al origen floral del cual provienen.

Grajales, et al (2001) por su parte determinó que las cepas de *Streptococcus β-hemolitico* resultaron ser sensibles a la miel de *T. angustula*, inclusive en diferentes concentraciones (10, 15, 20, 25 y 30%). Además se confirmó en este estudio que las mieles de *Apis mellifera*, *Scaptotrigona mexicana*, *Tetragonisca angustula*, *Melipona beecheii* y *Melipona solani*, presentaron un efecto bactericida al 25 y 30% de concentración. Probablemente estos resultados están relacionados con la fuente floral de la que provenía la miel, al igual que su efecto osmótico, la acidez, el peróxido de hidrogeno y otros factores fitoquímicos de las mieles.

#### 4.4 . Costos de producción y aplicación

Los precios de los diferentes productos aplicados fueron: \$3.50 por 750ml de miel de *A. mellifera*, \$ 2.50 por 10ml de miel de *T. angustula* y \$ 13.21 por 15 gramos de gentamicina.

El costo total del tratamiento con miel de *A. mellifera* fue menor que los otros tratamientos utilizados, ya que por un volumen relativamente mayor se pueden obtener un mayor número de dosis para curaciones. El precio por el tratamiento durante 8 días por conejo fue de \$0.008; mientras que la miel de *T. angustula* es más cara por la poca cantidad que estas producen, de manera que por \$0.25 se puede tratar un conejo durante 8 días; la gentamicina con un precio de \$ 0.47 por tratamiento de 8 días por conejo, resultó ser el producto más caro. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de costos de los productos aplicados.

Producto	Cantidad aplicada por conejo por día		Costo por conejo (\$)	
	Mililitros	Gramos	Día	Tratamiento
Miel de <i>T. aungustula</i>	2.0/ml	0.173	0.03	0.25
Miel de <i>A. mellifera</i>	2.0/ml	0.319	0.001	0.008
Cicatrizante comercial	-	0.067	0.059	0.47



## 5. CONCLUSIONES

- 1- El proceso de cicatrización a los 8 días fue significativamente mejor con el tratamiento de miel de *T. angustula*, por que la longitud sin cicatrizar fue menor, a su vez el cicatrizante comercial demostró ser mejor a la miel de *A. mellifera* y esta a su vez superó al testigo.
- 2- Ningún tratamiento cicatrizó completamente a los 8 días, pero las heridas tratadas con miel de *T. angustula* y las tratadas con el cicatrizante comercial fueron las mas cercanas a una cicatrización total.
- 3- El *Streptococcus* sp resultó ser resistente a las mieles de ambas especies y con respecto al cicatrizante comercial presentó una sensibilidad alta e intermedia.
- 4- Según las pruebas de sensibilidad bacteriana se demostró que la cicatrización no fue influenciada por las propiedades antibióticas de la miel.
- 5- Según el análisis de costos el tratamiento con miel de *A. mellifera* es de menor precio seguido del tratamiento con miel de abeja sin aguijón y del cicatrizante comercial.

## 6. RECOMENDACIONES

- 1- Aplicar la miel de *T. angustula* en heridas superficiales en la piel de los conejos.
- 2- Realizar investigaciones utilizando miel de *T. angustula* como coadyuvante de la cicatrización en procesos quirúrgicos.
- 3- Evaluar el proceso de cicatrización con el uso de miel de *T. angustula* y *A. mellifera* hasta quince días.
- 4- Investigar la composición de flavonoides en las mieles de abeja sin aguijón.
- 5- Evaluar las propiedades antibióticas de miel de *T. angustula* y *A. mellifera* que procedan de flora de otras zonas geográficas de El Salvador.
- 6- Realizar investigaciones sobre los efectos antibióticos de la miel en otro género de bacterias que se ubican en la flora normal de la piel.
- 7- Evaluar las propiedades terapéuticas de miel de otras especies de abejas sin aguijón y sus posibles usos en medicina veterinaria.

## 7. BIBLIOGRAFIA

Aguilar Monje, I. 2001. ¿Cómo criar abejas sin aguijón?. Universidad Nacional de Costa Rica. 1 ed. San José, C.R. p 9, 10.

Aguilar Monje, I. 2005. El potencial de las abejas nativas sin aguijón: aspectos biológicos, ecológicos, manejo y perspectivas. 3º Taller Regional de Apicultura y Meliponicultura. ES. p 25.

Aguilar Monje, I. 1998. Perspectivas para el desarrollo de apicultura regional. 2º Taller Regional de Apicultura y Meliponicultura. Heredia, C.R. p 11.

Aiello, S. *et al.* 2000. El manual Merck de Veterinaria. Trad. A. Abecia *et al.* 5 ed. Barcelona, España. Océano Grupo Editorial, S.A. p 2558.

Alarcón, RC; Ibáñez, LC. 2008. Características fisicoquímicas de la miel producida por las especies de abejas sin aguijón *Melipona beecheii* (jicota) y *Tetragonisca angustula* (chumelo) de la zona norte del departamento de Chalatenango. Tesis Lic. San Salvador, SV: UES. p 150.

Avalos, H; *et al.* 2005. Manual de buenas practicas apícolas para la producción de miel de abejas. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuario (OIRSA). San Salvador, S.V. p 4.

Ayala Barajas, R. 1992. Revisión de las abejas sin aguijón en México (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). México D.F. p 45.

Bedascarrasbure, E. *et al.* 2004. Contenido de fenoles y flavonoides del propoleo argentino. Acta Farm. Bonaerense 23 (3): 369-72.

Biesmeijer, JC. 1997. "Abejas sin aguijón. Su biología y la organización de la colmena". Universidad de Utrecht, Holanda. p 11, 12.

Bruijn, L.L.M; Sommeijer, MJ. 1997. The composition and properties of honeys of stingless bees (*Melipona*). Utrecht. Holanda. Nectar. 156 p.

Cooper, R. *et al.* 2005. Honey: a modern wound management product. Chapter 2 The antimicrobial activity of honey. Aberdeen: wound UK 26- 27 p.

Demera, J.H.; Angert, E.R. 2004. Comparison of the antimicrobial activity of honey produced by *Tetragonisca angustula* (Meliponinae) and *Apis mellifera* from different phytogeographic regions of Costa Rica. *Apidologie* 35 (2004) 411–417.

Espinosa, D; Ordetx, G. *Apicultura tropical*. 1981. 2º Ed. Costa Rica. Editorial tecnológica. 69-79 p.

Enciclopedia Microsoft® Encarta®. 2007. E.E.U.U. Microsoft Corporation. CD-ROOM

Frandsen, RD; Spurgeon, TL. 1995. *Anatomía y fisiología de los animales domésticos*. Trad. Víctor Octavio Fuentes Hernández e Ignacio Sánchez Herrera. 5 ed. México D.F. Interamericana. 198-201 p.

Grajales, J. *et al.* 2001. Características físicas, químicas y efecto microbiológico de mieles de meliponinos y *A. mellifera* de la región Soconusco, Chiapas. In Segundo seminario mexicano sobre abejas sin aguijón. Universidad autónoma de Yucatán facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Mérida Yucatán. p 64.

Gürtler, H; *et al.* 1979. *Fisiología veterinaria*. Ed por Erich Kolb. 2 ed. Zaragoza, Es, Acribia. V.2. 658-659 p.

Jeffrey, AE; Echazarreta, C.M. 1996. Medical uses of honey. *Revista Biomed*. No 7:43-49. 44-45 p.

Knight, KL; Crane, MA. (1994) *Advance Immunology*. 56:179-218.

Martinez Flores, S. *et al.* 2002 Los flavonoides propiedades y acciones antioxidantes. *Nutricion hospitalaria*. XVII (6): 271-278.

Molan, P. sf. The evidence supporting the use of honey as a wound dressing. (en línea)  
Consultado 1 abril de 2008. Disponible en <http://ijl.sagepub.com/cgi/content/refs/5/1/40>.

Molan, P 2001. Why honey effective as a medicine. The scientific explanation of its effects.  
Bee world. 82:22-40.

Molina Pardo, A. 1989. La abeja melífera su aguijón y su veneno. Programa regional para el  
manejo y control de la abeja africanizada. OIRSA. SV. p 19, 20.

Muñoz, O. *et al.* 2006. Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e  
índice antioxidante. Quim nova, 30 (4): 840-851.

Nates-Parra, G. 2001. Las Abejas sin Aguijón (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) de  
Colombia. Biota colombiana 2(3): 233.

Nuila de Mejía, JA; Mejía Mejía, MA. 1990. Manual de Diseños Experimentales con aplicación  
a Agricultura y Ganadería. Universidad de El Salvador. p 258.

Ponce De León, R; Benítez, P. Estudio morfológico comparativo del efecto de la Propolina, el  
alcohol y el bálsamo de Shostakoski como agentes cicatrizantes. Investigaciones Cubanas  
sobre el Propóleos. Memorias del I Simposio sobre los efectos del propóleos en la salud  
humana y animal. Ed: Asís M. 1991:157-160.

Ramirez Arias, JF; Ortiz Mora, RA. 1995. Crianza de las abejas sin aguijón. Centro de  
investigaciones apícolas tropicales- universidad nacional. Proyecto regional de apicultura y  
meliponicultura. Heredia, CR. p 2.

Ramírez Arias, JF. *et al.* 1995. Apicultura y Meliponicultura. Universidad Nacional de Costa  
Rica, curso apicultura. C.R. p 20.

Ramírez Arias, JF; Calderón Fallas, RA. 2003. Manual de apicultura tomo 1. Heredia, Costa  
Rica. p 50.

Rodríguez, *et al.* 2007. Capacidad antioxidante de mieles Venezolanas de los géneros *Apis*, *Melipona* y *Tetragoisca* evaluadas por tres métodos. INHRR v.38. Nº 2. Caracas. (en línea) <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=50798-0477200700020...>

# 8. ANEXOS

Cuadro A-1. Características físicas y químicas de la miel de *T. angustula*

Determinaciones	<i>Tetragonisca angustula</i>
<b>Características organolépticas</b>	
-Color	Amarillo
-Sabor	Acido, recuerda a fruta
-Aroma	Recuerda a frutas, desagradable
-Consistencia	Fluida sin cristalización
Madurez	
-Azúcares reductores % (g/100 g)	59.48±4.61;(52.97-60.55);4
-Humedad % ( g/100 g)	25.77±2.65;(20.99-25.32);7
-Sacarosa %	2.92±1.01;(1.75-3.5);3
-Conductividad eléctrica (uS/cm)	52.06±22.76;(18.95-78.9);7
Limpieza	
-Sólidos insolubles ( g/100 g)	0.0070±0.0032;(0.0019-0.0099);7
-Cenizas % ( g/100 g )	0.2781±0.019;(0.2910-0.5188);7
Deterioro	
-Fermentación	
-Acidez libre (meq/kg)	118.47±29.48;(78.37-160.64);5
-Frado de frescura	
-Actividad diastàsica	Sin actividad
-Hidrometilfurfural ( mg HMF/ kg )	151.25±76.16;(79.48-245.35);7
Polen	Polen de diferentes flores
Índice de refracción	1.47±0.005;(1.4700-1.4738);7
Rango de valor de pH	3.67±0.18;(3.41-3.8);7
Densidad ( g/ml )	1.3690±0.0217;(1.3601-1.3633);7

Fuente: Alarcón e Ibáñez. (2008)



Cuadro A-2. Temperatura ambiental (°C) y humedad relativa (%) durante la investigación.

Fecha	Temperatura(°C)			Humedad relativa (%)
	Máxima	Media	Mínima	
23/Septiembre	31.5	26.8	22.4	86
24/Septiembre	31.5	26.5	22.4	89
25/Septiembre	32.4	26.9	23.0	88
26/Septiembre	32.8	27.2	22.4	90
27/Septiembre	31.6	27.1	23.0	86
28/Septiembre	31.8	26.1	22.4	87
29/Septiembre	ND	ND	ND	ND
30/Septiembre	ND	ND	ND	ND
1/Octubre	31.0	26.0	22.6	92
2/Octubre	31.0	26.9	22.4	88
3/Octubre	31.6	26.6	22.5	85

ND= Dato no disponible

Cuadro A-3. Longitud de la herida sin cicatrizar (Centímetros).

Tratamientos	Bloques					Total
	B1	B2	B3	B4	B5	
T0	0.9	1.5	1.0	1.2	1.0	5.6
T1	0.6	0.3	0.1	0.6	0.5	2.1
T2	1.1	1.5	1.0	1.0	1.2	5.8
T3	0.5	0.8	0.5	0.5	1.5	3.8

Cuadro A-4 Parámetros de cicatrización de heridas por conejo.

	Tratamientos	Cicatrizó*	No cicatrizó	Completa sin costra	Completa con costra	Con costra	Incompleta sin infección	infectada
Bloque 1	T0	-	X	-	X	-	-	X
	T1	-	X	X	-	-	-	X
	T2	-	X	-	X	-	-	X
	T3	X	-	X	-	-	-	X
Bloque 2	T0	-	X	X	-	-	-	X
	T1	X	-	-	X	-	-	X
	T2	-	X	-	X	-	-	X
	T3	-	X	-	-	X	-	X
Bloque 3	T0	-	X	-	-	X	-	X
	T1	X	-	X	-	-	-	X
	T2	-	X	-	X	-	-	X
	T3	X	-	-	X	-	-	X
Bloque 4	T0	-	X	-	-	-	X	X
	T1	-	X	X	-	-	-	X
	T2	-	X	-	X	-	-	X
	T3	X	-	X	-	-	-	X
Bloque 5	T0	-	X	-	X	-	-	X
	T1	X	-	-	X	-	-	X
	T2	-	X	-	X	-	-	X
	T3	-	X	-	X	-	-	X

\*Se tomó como referencia para determinar si una herida estaba cicatrizada, si esta tenía una longitud  $\leq 0.5$  centímetros abiertos. Los totales de herida cicatrizadas por tratamiento fueron: T0=0 (0%), T1=3 (60%), T2=0 (0%) y T3=3 (60%).

Cuadro A-5 Temperatura rectal por conejo por día (°C)

	Tratamiento	Días							
		1	2	3	4	5	6	7	8
BLOQUE 1	T1	40.9	40.5	40.2	39.9	39.6	39.7	39.6	39.6
	T2	41.0	40.8	40.6	40.0	39.7	39.6	39.5	39.5
	T3	41.3	40.0	39.5	39.4	39.2	39.3	39.5	39.5
	T0	41.0	40.5	40.3	39.5	39.0	39.2	39.5	39.5
BLOQUE 2	T1	41.1	40.8	40.3	40.0	39.6	39.6	39.5	39.5
	T2	41.2	40.7	40.2	39.6	39.6	39.3	39.4	39.5
	T3	40.8	40.5	40.1	39.4	39.0	39.3	39.5	39.5
	T0	40.0	40.1	40.2	40.0	39.7	39.7	39.9	39.9
BLOQUE 3	T1	40.8	40.7	40.5	40.0	39.6	39.8	40.0	40.2
	T2	40.5	40.5	40.4	39.7	39.3	39.3	39.6	40.0
	T3	41.9	40.9	40.4	40.0	39.6	39.3	39.1	39.0
	T0	40.4	40.4	40.6	39.9	39.4	39.7	39.9	40.0
BLOQUE 4	T1	40.4	40.2	40.0	39.5	39.0	39.0	39.1	39.0
	T2	40.5	40.2	40.2	39.9	39.6	39.9	40.0	40.2
	T3	40.2	40.1	40.1	39.7	39.2	39.5	39.8	39.9
	T0	40.7	40.4	40.3	40.3	40.1	40.0	39.9	39.9
BLOQUE 5	T1	40.1	40.1	40.1	39.6	39.1	39.3	39.5	39.6
	T2	40.6	40.6	40.8	39.8	39.9	39.1	39.3	39.5
	T3	40.5	40.6	40.9	40.0	39.5	39.6	39.5	39.5
	T0	40.1	40.3	40.3	39.9	39.6	39.6	39.8	39.8

Promedios por tratamiento: T1= 39.89°C, T2=39.99°C, T3=39.86°C y T0=39.98°C

Cuadro A- 6. Sensibilidad bacteriana, primer hisopado por conejo

	Tratamiento	Bacteria identificada	Sensibilidad bacteriana		
			Sensible	Intermedio	Resistente
BLOQUE 1	T0	<b><i>Estreptococos</i></b>	Amikacina Gentamicina Trimetropim Sulfa Amoxicilina	Cefalexina	Miel Miel de Chumelo
	T1	<b><i>Estreptococos</i></b>	Amikacina Enrofloxacin Gentamicina Trimetropim Sulfa Amoxicilina + Acido y Clavulanico.		Cefalexina Miel Miel de Chumelo
	T2	<b><i>Estreptococos</i></b>	Amikacina Enrofloxacin Amoxicilina + Acido Clavulanico Gentamicina Trimetropim Sulfa	Cefalexina.	Miel Miel de Chumelo
	T3	<b><i>Estreptococos</i></b>	Enrofloxacin Amikacina Gentamicina y Cefalexina.	Trimetropim Sulfa	Miel Miel de Chumelo.
BLOQUE 2	T0	<b><i>Estreptococos</i></b>	Gentamicina Amikacina Amoxicilina + Acido Clavulanico Enrofloxacin Cefalexina		Trimetropim Sulfa Miel Miel de Chumelo
	T1	<b><i>Estreptococos</i></b>	Amikacina Enrofloxacin Trimetropim Sulfa		Ciprofloxacina Amoxicilina Gentamicina Miel Miel de Chumelo

Continua...

	T2	<b><i>Enterobacter rubidae</i></b>	Enrofloxacina Gentamicina Amikacina Trimetropim Sulfa Amoxicilina		Trimetropim Sulfa Cefalexina Amoxicilina Miel Miel de Chumelo
	T3	<b><i>Streptococos</i></b>	Amikacina Cefalexina Enrofloxacina Gentamicina Amoxicilina		Trimetropim Sulfa Miel Miel de Chumelo.
BLOQUE 3	T0	<b><i>Streptococos</i></b>	Gentamicina Enrofloxacina Amikacina Amoxicilin		Trimetropim Sulfa Cefalexina Miel Miel de Chumelo
	T1	<b><i>Streptococos</i></b>	Amikacina Cefalexina Enrofloxacina Gentamicina Trimetropim Sulfa Amoxicilina		Miel Miel de Chumelo.
	T2	<b><i>Streptococos</i></b>	Cefalexina Gentamicina Amoxicilina Trimetropim Sulfa Enrofloxacina Amikacina		Miel Miel de Chumelo.
	T3	<b><i>Enterobacter rubidae</i></b>	Gentamicina Amikacina Enrofloxacina		Cefalexina Amoxicilina Trimetropim Sulfa Miel Miel de Chumelo
	T0	<b><i>Streptococos</i></b>	Enrofloxacina Amikacina Amoxicilina Gentamicina		Trimetropim Sulfa Miel Miel de
BLOQUE 4	T0	<b><i>Streptococos</i></b>	Enrofloxacina Amikacina Amoxicilina Gentamicina		Trimetropim Sulfa Miel Miel de

					Chumelo.
	T1	<b><i>Streptococos</i></b>	Cefalexina Amikacina Amoxicilina Gentamicina Enrofloxacina		Trimetropim Sulfa Miel Miel de Chumelo
	T2	<b><i>Streptococos</i></b>	Amikacina Enrofloxacina Gentamicina		Ciprofloxacina Trimetropim Sulfa Amoxicilina Miel Miel de Chumelo
	T3	<b><i>No se aisló Agente Patógeno</i></b>			
BLOQUE 5	T0	<b><i>Streptococos</i></b>	Gentamicina Enrofloxacina Amoxicilina		Trimetropim Sulfa Cefalexina Miel Miel de Chumelo.
	T1	<b><i>Enterobacter rubidaea</i></b>	Enrofloxacina Amikacina Gentamicina Amoxicilina		Trimetropim Sulfa Cefalexina Miel Miel de Chumelo
	T2	<b><i>Streptococos</i></b>	Amikacina Enrofloxacina Amoxicilina Cefalexina	Trimetropim Sulfa	Miel Miel de Chumelo.
	T3	<b><i>Streptococos</i></b>	Amikacina Enrofloxacina Amoxicilina Gentamicina Enrofloxacina	Trimetropim Sulfa	Miel Miel de Chumelo

Cuadro A-7- Sensibilidad Bacteriana, segundo hisopado por conejo

	Tratamiento	Bacteria identificada	Sensibilidad bacteriana		
			Sensible	Intermedio	Resistente
BLOQUE 1	T0	<i>Streptococos</i>	Gentamicina Amoxicilina Enrofloxacina Amikacina		Cefalexina Trimetropim Sulfa Miel Miel de Chumelo
	T1	<i>Streptococos</i>	Amoxicilina + Acido clavulanico Amikacina Enrofloxacina Gentamicina		Cefalexina Trimetropim Sulfa Miel Miel de Chumelo
	T2	<i>Streptococos</i>	Amoxicilina + Acido clavulanico Enrofloxacina Amikacina. Gentamicina.		Trimetropim Sulfa Cefalexina Miel Miel de Chumelo
	T3	<i>Streptococos</i>	Amoxicilina + Acido clavulanico Gentamicina Amikacina.		Cefalexina Trimetropim Sulfa Enrofloxacina, Miel Miel de Chumelo.
BLOQUE 2	T0	<i>Streptococos</i>	Amoxicilina + Acido Clavulanico Amikacina Gentamicina	Enrofloxacina.	Trimetropim Sulfa Cefalexina Miel Miel de Chumelo
	T1	<i>Enterobacter rubidaea</i>	Amikacina Amoxicilina + Acido clavulanico Enrofloxacina Gentamicina		Trimetropim Sulfa Cefalexina Miel Miel de Chumelo

Continua....

	T2	<i>Streptococcus</i>	Amoxicilina + Acido clavulanico Amikacina Gentamicina  Enrofloxacin		Trimetropim Sulfa Miel Miel de Chumelo. Cefalexina Amoxicilina
	T3	<i>Escherichia coli</i>	Amikacina Gentamicina Enrofloxacin.		Cefalexina Amoxicilina + Acido clavulanico Trimetropim sulfa Miel Miel de Chumelo
BLOQUE 3	T0	<i>Enterobacter rubidaea</i>	Amoxicilina + Acido clavulanico Enrofloxacin Gentamicina		Miel Miel de Chumelo, Trimetropim Sulfa Cefalexina
	T1	<i>Enterobacter rubidaea</i>	Amoxicilina + Acido clavulanico Gentamicina Enrofloxacin Amikacina		Ciprofloxacina Trimetropim Sulfa Miel Miel de Chumelo
	T2	<i>Streptococcus</i>	Amoxicilina + Acido Clavulanico Gentamicina Enrofloxacin.		Trimetropim Sulfa Miel Miel de Chumelo.
	T3	<i>No se aisló agente Patógeno.</i>			
	T0	<i>Enterobacter rubidaea.</i>	Amoxicilina + Acido Clavulanico Enrofloxacin Gentamicina	Amikacina	Trimetropim Sulfa Cefalexina Miel Miel de Chumelo.
BLOQUE 4	T0	<i>Enterobacter rubidaea.</i>	Amoxicilina + Acido Clavulanico Enrofloxacin Gentamicina	Amikacina	Trimetropim Sulfa Cefalexina Miel Miel de Chumelo.



	T1	<i>Streptococos</i>	Amoxicilina + Acido Clavulanico Amikacina Gentamicina Enrofloxacina.		Cefalexina, Trimetropim Sulfa Miel Miel de Chumelo.
	T2	<i>Streptococos</i>	Enrofloxacina, Amikacina Gentamicina		Cefalexin Trimetropim Sulfa Amoxicilina Miel Miel de Chumelo
	T3	: <i>Streptococos</i>	Amoxicilina , Enrofloxacina Amikacina	Trimetropim Sulfa Gentamicina	Cefalexina Miel Miel de Chumelo
BLOQUE 5	T0	<i>Streptococos</i>	Amoxicilina + Acido Clavulanico Amikacina Enrofloxacina Gentamicina Cefalexina.		Trimetropim Sulfa Miel Miel de chumelo.
	T1	<i>Streptococos</i>	Amoxicilina + Acido clavulanico	Enrofloxacina Gentamicina Amikacina.	Trimetropim Sulfa Cefalexina Miel Miel de Chumelo
	T2	<i>Enterobacter rubidaea</i>	Amoxicilina + Acido clavulanico Amikacina Enrofloxacina Gentamicina		Trimetropim Sulfa Cefalexina Miel Miel de Chumelo.
	T3	<i>No se aisló agente patógeno.</i>			

Cuadro A- 8 Formato de resultados de laboratorio.

REMITIDO :		FECHA: 01/10/2008
MEDICO:	Dr. Andrade Pineda	MUESTRA: Hisopado de Piel
PROPIETARIO:		
<b>LOTE 1</b> <b>C 4 T- 0</b>	RESULTADO:	
	<b>Se Aisló : Estreptococos</b>	
	<b>Sensible:</b> Amikacina, Gentamicina, Trimetropim Sulfa y Amoxicilina	
	<b>Intermedio:</b> Cefalexina	
	<b>Resistente:</b> Miel y Miel de Chumelo.	

Cuadro A-9. Listado de flora en la Estación Experimental y de Practicas de la Facultad de Ciencias Agronómicas que se encuentra en el área de 142 mz aproximadamente:

Nombre Común	Nombre científico
Tihuilote	<i>Cordia alba</i>
Aguacate	<i>Persea americana</i>
Almendro	<i>Terminalia catappa</i>
Caoba	<i>Swietenia humilis</i>
Maquilishuat	<i>Tabebuia rosea</i>
Marañón	<i>Anacardium occidentale</i>
Balsamo	<i>Myroxylon Balsamun</i>
Chilamate	<i>Spium macrocarpum</i>
Conacaste blanco	<i>Albizzia caribaea</i>
Naranja	<i>Citrus sinensis</i>
Madre cacao	<i>Gliricidia sepium</i>
Guarumo	<i>Cecropia peltata</i>
Papaya	<i>Carica papaya</i>
Pito	<i>Erythinaa berteriana</i>
Leucaena	<i>Leucaena salavdorensis</i>
Mangollano	<i>Pithecollubium dulce</i>
Manojo	<i>Manojifera indica</i>
Teca	<i>Teutona grandis</i>
Nance	<i>Byrsonima crassifolia</i>
Pino	<i>Pinus cocarpa</i>
Jocote	<i>Spondias pupurea</i>
Jiote	<i>Bursera simanba</i>
Guayaba	<i>Psidium guajava</i>
Capulin	<i>Muntingia calabura</i>
Arbol de fuego	<i>Delonix regia</i>
Eucalipto	<i>Eucalyptos camaldulensis</i>
Mamon	<i>Melicoca bijuga</i>
Carrto	<i>Pithecollobium samn</i>
Cujin	<i>Inga preussi</i>
Croton	<i>Croton discolor</i>
Croto	<i>Croton rigidus</i>
Pata de cabra	<i>Bauhinia unguolata</i>
Mirto	<i>Muraya paniculada</i>
Tempate	<i>Jatropha curcas</i>
Mirra	<i>Broswalli papyrifera</i>
Limon	<i>Citrus aurantifolia</i>
Coco	<i>Cocos nucifera</i>
Júpiter de java	<i>Lagerstroemia indica</i>
Izcanal	<i>Acacia hinolsii</i>
Chichipince	<i>Hamelia patens</i>
Ixora	<i>Ixora coccinea</i>
Chichicaste	<i>Urera baccifera</i>
Cabo de hacha	<i>Luehea candida</i>
Limoncillo	<i>Colubrina heteroneura</i>
Carao	<i>Cassia gradis</i>

Castaño, bellota	<i>Sterculia apetala</i>
Flor de mayo	<i>Plumeria rubra</i>
Volador, guayabo	<i>Terminalia oblonga</i>
Chipilin	<i>Crotolaria longirostrata</i>
Maicillo	<i>Sorghum vulgare</i>
Escobilla	<i>Sida acuta</i>
Verdolaga	<i>Oleracea portulata</i>
Anona	<i>Anona diversifolia</i>
Almendra de río	<i>Andira intermis</i>
Pasto elegante	<i>Pennisetum purpureum</i>
Campanilla	<i>Ipomea noli</i>
Corruncha	<i>Sciadondendron excelsum</i>
Loroco	<i>Fernaldia pandurata</i>
Zapote	<i>Pouteria sapota</i>
Carilla de mula	<i>Licanea arborea</i>
Izote	<i>Yuca elephantipes</i>
Ceiba	<i>Ceiba tentandra</i>
Ojushte	<i>Brosimum terrabarum</i>
Agua de arra	<i>Xylosma intermedium</i>
Jocote tambor	<i>Spondia purpurea</i>
Hierba de sapo	<i>Melampodium divaricatum</i>
Arrayan	<i>Psidium friedrichsthalianum</i>
Brasil	<i>Sickingia salvadorensis</i>
Flor de perico	<i>Iresine catea</i>
Chilamatio	<i>Euphoria bacatum</i>
Mandarina	<i>Citrus reticulata</i>
Capulamate	<i>Picus obalis</i>
Carambola	<i>Averrhoa carambola</i>
Huevo de gato	<i>Solanum hirtum</i>
Papaturro	<i>Coccoloba caracasana</i>
Morro	<i>Crescentina alata</i>
Laurel	<i>Cordia allidora</i>
Flor barbona	<i>Caesalpinia pulcherrima</i>
Cortes blanco	<i>Tabebuia</i>
Zapatillo de dama	<i>Catasetum integerrimum</i>
Cuenta de agua	<i>Achatocarpus nigricans</i>
Canjuro	<i>Trichilia martiana</i>
Cinco negritos	<i>Lantana camara</i>
Higuero	<i>Resinus communis</i>
Alberja	<i>Cajanus cajan</i>
Hierba mora	<i>Salanum nigrum</i>
Te rosa de vengala	<i>Rosa indica</i>
Quebracho	<i>Lysiloma divaricatum</i>
Espino blanco	<i>Acacia farnesiana</i>
Cordoncillo	<i>Piper tuberculatum</i>
Naranja agrio	<i>Citrus aurantium</i>
Camote	<i>Ipomea batatas</i>
Cojon de puerco o cojon de caballo	<i>Stemmaderia</i>
Molote papaya de montaña	<i>Carica papaya</i>

Clavelon	Hibiscus rosa
Maiz	Zea mays
Pepino	Cucumis sativus
Huilihuiste	Karwiskia calderonii
Cortez negro	Tabebuia chrysantha
Laurel de la india	Picus microcarpo
Chaperno	Lonchocarpus salvadorensis
Tintero, crucito	Gueharda macrosperma
Sanbram, barajo negro	Cassia reticulata
Guacoco	Eugenia aeruginea
Lengua de vaca	Pithecoctenium echinatum
San andres	Tecoma stans
Paraíso	Melia azedarach
Pacun	Sapindus saponaria
Cola de pava	Thouinidium decandrum
Caulote	Guazuma ulmifolia
Lavaplato	Solanum erianthum
Mulato	Triplaris melaenodendron
Palo de hule	Picus elastica
Polvo de queso	Albizia caribaea
Bambu	Bambusa vulgaris
Nacaspilo	Inga vera o inga paterno
Huistomate	Solanum laceolatum
Uva silvestre o uva montes	Vitis tiliaefolia
Tecomasuche	Cochlospermum vitifolium
Matasano	Casimiroa edulis
Tamarindo	Tamarindus indica
Dormilona	Mimosa pudica
Dormilona de playa	Mimosa invisa
Amatio	Rauwolfia tetraphylla
Rama menuda o cerezo	Myrcia splendens
Sincuya, soncayo	Annona purpurea
Zangano	Licania platypus
Cardo santo	Argemene mexicana
Pitoflor o poro gigante	Eritrina poeppigiana
Nispero	Manilkara sapota
Cola de zorrillo	Sansevieria trifasial
Guineo de seda, minimo	Musa paradisiaca
Melina	Gmelina arborea

Figura A-1. Extracción de miel de *T. angustula*



Figura A-2. Aplicación de miel de *T. angustula*



Figura A-3. Aplicación de miel de *A. mellifera*



Figura A-4. Aplicación de cicatrizante comercial





Figura A-5. Toma de muestras para el laboratorio



Figura A-6. Cajas de petri con bacterias en incubadora

