

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA



**“EVALUACION DE DOS CONCENTRACIONES DE PROPOLEO
DE ABEJA SIN AGUIJON (*Tetragonisca angustula*) EN EL TRATAMIENTO DE
PAPILOMATOSIS BOVINA”**

ELABORADO POR:
JAIME ERNESTO AYALA MORALES
BEATRIZ CAROLINA GARCIA VALENZUELA
EDWIN ORLANDO GARCIA YANES

PARA OPTAR:
AL TITULO DE LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SAN SALVADOR, DICIEMBRE DE 2008.

T-UES
1312
A 973^{av}
2008

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

M. SC. ING. AGR. RUFINO ANTONIO QUEZADA SÁNCHEZ

SECRETARIO GENERAL:

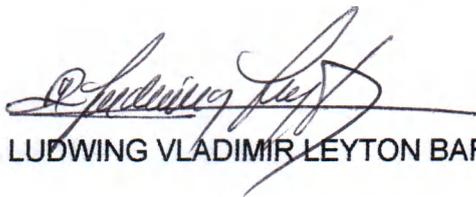
LIC. DOUGLAS ALFARO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS

DECANO: DR. ING. AGR. REYNALDO ADALBERTO LÓPEZ LANDAVERDE

SECRETARIO: M. SC. ING. AGR. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

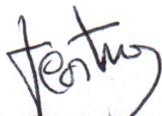


ING. AGR. LUDWING VLADIMIR LEYTON BARRIENTOS

DOCENTES DIRECTORES:



ING. AGR. CARLOS ENRIQUE RUANO IRAHETA



M.V.Z. JORGE ARMANDO CASTRO

RESUMEN.

En la actualidad no se encuentran investigaciones sobre el uso de propóleo de abejas sin aguijón, a pesar de las investigaciones realizadas en el propóleo de *Apis mellifera* que destacan importantes usos terapéuticos en humanos y animales. En esta investigación se evaluó el uso del propóleo de abeja sin aguijón (*Tetragonisca angustula*) en el tratamiento de papilomatosis bovina, aplicando dos concentraciones de propóleo (25% y 50%) y dos testigos relativos (alcohol etílico 70% y producto comercial a base de Clorobutanol). El objetivo de la investigación fue determinar cuál tratamiento de propóleo eliminaba las verrugas causadas por el papiloma bovino. Los tratamientos se administraron vía parenteral (subcutáneo) en la verruga más prominente, en un área establecida de 3 cm de radio. Las verrugas tratadas se midieron con un pie de rey y se encontraban en los rangos de 0.1- 3.0 cm. Durante la investigación se realizaron cortes histológicos de muestras de papiloma antes de la aplicación de los tratamientos para evidenciar la presencia del virus del papiloma bovino.

La metodología estadística que se utilizó fue bloques al azar con una prueba de contrastes ortogonales, contando con un total de 24 unidades experimentales que se encontraron distribuidas en 6 localidades de 4 animales por hacienda. Cada localidad fue tomada como un bloque y se observó diariamente por un tiempo establecido de 15 días. Los parámetros de evaluación fueron: tamaño de la verruga (ancho y alto), eliminación de la verruga luego de los tratamientos, tiempo de eliminación de la verruga luego de los tratamientos (días), efectos secundarios luego de la aplicación de los tratamientos (irritación e inflamación), aspecto de la verruga (forma de coliflor o lisas), consistencia de la verruga (dura o blanda) e identificación de virus de papiloma bovino (cortes histológicos).

Los resultados fueron: el ancho de la verruga fue estadísticamente similar entre todos los tratamientos y en cambio, la altura fue significativamente diferente ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos de propóleo (tratamientos 1 y 2). El tratamiento de propóleo al 50% eliminó la mayoría de las verrugas (4 de 6 casos), en comparación con el de propóleo al 25%, que solo eliminó 1 de 6 casos y el resto de tratamientos no eliminaron ni una en los 15 días de evaluación. El tratamiento que causó mayor inflamación fue el propóleo al 25%. El aspecto y consistencia que predominaron fueron forma de coliflor y consistencia duras.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS TODO PODEROSO

Por darnos la fuerza y perseverancia durante el desarrollo del trabajo y así lograr el objetivo de ser profesionales.

A LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Por la formación académica durante todos los años de estudio.

A NUESTROS ASESORES

Ing. Agr. Carlos Enrique Ruano Iraheta y M.V.Z. Jorge Armando Castro por apoyarnos y ayudarnos en esta investigación.

A los propietarios de las ganaderías que nos permitieron hacer uso de sus animales para realizar la investigación.

A los meliponicultores de La Palma por su colaboración al momento de la extracción del propóleo.

DEDICATORIA

A DIOS:

Por darme la fuerza, la sabiduría y estar siempre conmigo para terminar mis estudios profesionales.

A MI PAPA (Q.D.D.G.):

José Ayala, por su ejemplo de vida.

A MI MAMA:

Jesús Morales de Ayala, por su apoyo incondicional en todo momento.

A MIS HERMANOS Y DEMAS FAMILIA.

Por su apoyo brindado en mis estudios.

A MIS AMIGOS.

Por haberme brindado su sincera amistad en el transcurso de mi carrera.

JAIME ERNESTO AYALA MORALES.

DEDICATORIA

A DIOS:

Por haberme acompañado en todo momento y darme la fuerza necesaria para terminar mi carrera.

A MIS PADRES:

Ruth Esthela Valenzuela de García y Julio César García Merino, por brindarme su amor y su apoyo incondicional en todo momento de mi vida y transcurso de mi carrera profesional.

A MI HERMANO:

César Eduardo García Valenzuela, por su apoyo y consejos.

A MI ABUELITA (Q.D.D.G.):

Virginia Valenzuela, por su compañía y apoyo en mi vida.

A MI NOVIO:

Francisco Aguilera, por haberme brindado su ayuda y apoyo en todo momento.

A MIS AMIGOS:

Héctor, Jaime, Glenda, Nidia, Baudilio, Edwin, Cecilia, Esteban, Doris, Ing. Mena, Dra. de Vásquez (Q.D.D.G.) y demás familia y personas que me ayudaron, apoyaron y guiaron en el transcurso de mi carrera.

BEATRIZ CAROLINA GARCIA VALENZUELA.

DEDICATORIA

A DIOS:

Por haberme dado la fortaleza en todos mis estudios.

A MIS PADRES:

Miriam Yanes y Francisco García, por su apoyo.

A la Dra. Ana Cecilia Cornejo Chicas (Q.D.D.G.):

Por el apoyo dado en su último año de vida.

A Adalberto González Chicas (Q.D.D.G.):

Por el ejemplo dado con su vida.

EDWIN ORLANDO GARCIA YANES.

INDICE

CONTENIDO	Paginas
RESUMEN	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vi
INDICE DE CUADROS	vi
INDICE DE FIGURAS.....	vii
INDICE DE ANEXOS	viii
1. INTRODUCCION	1
2. MARCO TEORICO	2
2.1. PAPILOMATOSIS BOVINA	2
2.1.1. Definición	2
2.1.2. Tipos de papilomas	2
2.1.3. Etiología	2
2.1.4. Sinónimos	3
2.1.5. Transmisión	3
2.1.6. Patogenia	4
2.1.7. Manifestaciones clínicas	4
2.1.8. Patología clínica	5
2.1.9. Diagnóstico	6
2.1.10. Inmunidad	6
2.1.10.1. Anticuerpos	6
2.1.10.2. Inmunización de los animales	6
2.1.10.3. Apoptosis	7
2.1.11. Tratamientos	7
2.1.11.1. Tratamiento quirúrgico de papilomas bovino	7
2.1.11.2. Tratamiento a partir de vacunas autógenas	8
2.1.11.3. Tratamiento a base de autohemoterapia	8
2.1.11.4. Tratamiento a base de Clorobutanol	8
2.1.12. Control y prevención	8
2.2. PROPOLEO	9
2.2.1. Origen del propóleo <i>Apis mellifera</i> (Apinae)	9
2.2.2. Definición del propóleo de abeja sin agujón (Meliponinae)	9

2.2.3. Sinónimos	9
2.2.4. Recolección del propóleo por parte de las abejas	10
2.2.5. Recolección del propóleo por parte del hombre	11
2.2.6. Características físicas del propóleo de abejas sin aguijón (<i>Melipona colimana</i>)	12
2.2.7. Composición Química del propóleo de <i>Tetragonisca angustula</i>	12
2.2.7.1. Ácidos orgánicos	13
2.2.7.2. Aldehídos	13
2.2.7.3. Flavonoides	13
2.2.7.4. Alcoholes	14
2.2.7.5. Terpenoides y otros compuestos	14
2.2.7.6. Minerales	14
2.2.7.7. Vitaminas	14
2.2.8. Efectos biológicos del propóleo de <i>Tetragonisca angustula</i>	14
2.2.9. Forma de presentación del propóleo	15
2.2.9.1. Extracto alcohólico	15
2.2.9.2. Extracto blando	16
2.2.9.3. Propóleo en polvo	16
2.2.9.4. Extracto graso	16
2.2.10. Especificaciones de calidad del propóleo.....	16
3. METODOLOGIA	18
3.1. LOCALIZACIÓN	18
3.2. DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	18
3.3. MATERIALES	19
3.4. EQUIPO	19
3.5. METODOLOGIA DE CAMPO	19
3.5.1. Descripción del material inoculado	19
3.5.2. Descripción de fase pre-experimental	20
3.5.3. Descripción de la fase experimental	20
3.6. UNIDADES EXPERIMENTALES	21
3.6.1. Tratamientos	21
3.6.2. Factor en estudio	21
3.6.3. Parámetros de evaluación	21

3.6.4. Análisis estadístico	22
3.6.4.1 Modelo y prueba estadística	22
3.7. METODOLOGIA DE LABORATORIO	22
3.8. COMPARACION ECONOMICA	23
4. RESULTADOS Y DISCUSION	24
4.1. Tamaño de la verruga (ancho)	24
4.2. Tamaño de la verruga (altura)	24
4.3. Efectos secundarios luego de la aplicación de los tratamientos (irritación e inflamación).	26
4.4. Eliminación de la verruga luego de los tratamientos	26
4.5. Tiempo de eliminación de la verruga luego de los tratamientos (días)	27
4.6. Identificación de virus de papiloma bovino (cortes histológicos)	27
4.7. Comparación económica	28
5. CONCLUSIONES	29
6. RECOMENDACIONES	30
7. BIBLIOGRAFIA	31
8. ANEXOS	36

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Páginas
1	Tipos del virus del papiloma bovino	3
2	Eliminación de las verrugas luego de los tratamientos (vacas) .	26
3	Costos por tratamientos	28
A-1	Comparación de los componentes del propóleo de <i>Apis mellifera</i> y <i>Tetragonisca angustula</i>	37
A-2	Pesos del procesamiento de propóleo para obtención de la solución alcohólica al 50%	39
A-3	Promedio de datos por tratamiento y bloque de ancho de la verruga (cm)	39
A-4	Análisis de varianza del ancho de la verruga	40
A-5	Promedio de datos por tratamientos y bloque de tamaño de la verruga (altura)	40
A-6	Análisis de varianza de la altura de la verruga	40
A-7	Coefficientes de la prueba de contrastes ortogonales de tamaño de la verruga (altura)	41
A-8	Análisis de varianza para contrastes ortogonales de tamaño de la verruga (altura)	41
A-9	Promedio de datos por tratamientos y bloques de efectos secundarios (inflamación) luego de la aplicación de los tratamiento (cm)	42
A-10	Análisis de varianza de inflamación de la verruga	42
A-11	Coefficientes de la prueba de contrastes ortogonales y de efectos secundarios luego de la aplicación de los tratamientos (inflamación)	42
A-12	Análisis de varianza de contrastes ortogonales de efectos secundarios luego de la aplicación de los tratamientos (inflamación)	43
A-13	Tiempo promedio (días) de eliminación de la verruga luego de los tratamientos	43
A-14	Consistencia de las verrugas (dura o blanda)	44
A-15	Forma de las verrugas (coliflor, lisa, abotonadas, etc)	44

INDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Páginas.
1	Promedio de tamaño de la verruga (ancho) por tratamiento (cm)	24
2	Promedio de tamaño de la verruga (altura) por tratamiento (cm)	25
A-1	Mapa satelital del Rancho Alex Tejada, en el departamento de Chalatenango	48
A-2	Mapa satelital de la Granja Los Maldonados, en el departamento de Chalatenango	48
A-3	Mapa satelital de la Granja Esperanza, en el departamento de La Paz	49
A-4	Mapa satelital de la Escuela Nacional de Agricultura (ENA), en el departamento de La Libertad	49
A-5	Mapa satelital de Finca "San Ramón", en el departamento de Chalatenango	50
A-6	Mapa satelital de Granja Mardonio, en el departamento de La Paz	50
A-7	Tratamiento de propóleo al 50% en día inicial (a), y tratamiento de propóleo 50% en día que eliminó la verruga (b)	51
A-8	Tratamiento de propóleo al 25% al quinceavo día de observación	51
A-9	Procesamiento de la solución alcohólica de propóleo (troceado)	52
A-10	Materiales utilizados para la obtención de la solución alcohólica de propóleo al 50%	52
A-11	Frascos con propóleo al 50%	52

INDICE DE ANEXOS

Anexo	Título	Páginas.
A-1	Identificación de virus de papiloma bovino (cortes histológicos)...	45
A-2	Identificación de virus de papiloma bovino (cortes histológicos)...	46
A-3	Cultivo bacteriológico	47

1. INTRODUCCION.

Tanto en la mayoría de ganaderías del medio, así como en el resto del mundo, no se le confiere la debida importancia a la papilomatosis bovina, ya que no se trata de una enfermedad fulminante ni frecuentemente mortal. Sin embargo cualquiera que sea el nivel y grado de afección, ello implica una fuente de infección para el resto del hato o de ganaderías vecinas, redundando en pérdidas económicas para el propietario.

En general, la afección más común es a nivel de piel, existiendo desde unas pocas bubas hasta casos graves con cientos de ellos; se trata de una afección neoplásica benigna de origen viral, autolimitante, a menudo de regresión espontánea, pero en forma predecible. Las pérdidas más notorias en casos de afecciones distribuidas en todo el cuerpo, son a nivel de peleterías, por la devaluación que sufren las pieles de dichos animales y la dificultad de venta del ejemplar en pie, particularmente aquellos de razas puras. Los animales con lesiones extensas, están expuestos a sufrir traumatización de bubas que pueden complicarse con infecciones secundarias. En hatos lecheros, los papilomas de cierta variedad, afectan la ubre y en especial los pezones, dificultando el ordeño, la lactancia y reduciendo así la producción láctea.

El propóleo es una sustancia resinosa, balsámica, de color verde pardo, castaño o incluso negro, dependiendo de su origen botánico. Dentro de las investigaciones realizadas del propóleo se muestra que contiene elementos muy interesantes, principalmente flavonoides, fenoles, algunos elementos traza y algunos ácidos potentes; los cuales otorgan propiedades al propóleo, que permite brindar considerables valores terapéuticos en el organismo animal y humano.

Dentro de los tratamientos existentes de la papilomatosis bovina se conocen variedad de métodos de curación, reportados en su mayoría de casos aislados, sin mayor cuantificación ni control. Por lo tanto por medio de esta investigación, se pretende aportar un tratamiento alternativo acerca del uso del propóleo de abeja sin aguijón (*Tetragonisca angustula*) inyectado en la base de las verrugas, con el propósito de eliminarlas.

2. MARCO TEORICO.

2.1. PAPILOMATOSIS BOVINA.

2.1.1. Definición.

La palabra papiloma se deriva de "papilla" = tetilla y "oma" = tumor, que probablemente se origino de la observación de alguna buba en forma de pezón. Las bubas o papilomas en efecto son tumores epiteliales benignos de la piel y de la membrana mucosa escamosa estratificada (Aiello *et al.*, 2000) y epidermis (Blood *et al.* 1983).

Respecto a forma, las verrugas poseen un aspecto de aplanadas, redondas o botonosas, filiformes o digitadas, hasta aquellas en forma de coliflor. Su tamaño varía desde milímetros hasta grandes masas de varios centímetros de espesor. Su color, generalmente es rosáceo, grisáceo o negruzco, dependiendo de la coloración de la piel en que se localiza y la edad del papiloma en sí. Su textura puede ser lisa, rugosa o espinosa, granulosa y su consistencia puede ser blanda o dura y cornificada, generalmente en casos de papilas filiformes, dependiendo de la edad y este puede ser ancho en el caso de los papilomas en coliflor o en las filiformes (Hagan y Bruner, 1961).

2.1.2. Tipos de papilomas.

Los papilomas pueden ser divididos en dos tipos: fibrosos y escamosos. Los fibrosos están compuestos mayormente de un núcleo de tejido conectivo maduro cubierto por epitelio que es moderadamente acotónico. Ellos pueden formar prominencias o pequeñas proyecciones nodulares o bien ser filiformes como papilas individuales. Los papilomas escamosos son similares en aspecto a las verrugas infecciosas, siendo caracterizadas por marcada hiperplasia epidermal, pero los cambios oncolíticos de las verrugas jóvenes no están presentes (Solis, 1986).

2.1.3. Etiología.

Etiológicamente los papilomas no son uniformes. Los apéndices de la piel y aquellos escamosos tienen apéndices secretorios, que probablemente son congénitos. Algunos papilomas escamosos son verrugas irreconocidas y el restante son probablemente el resultado de irritación o inflamación (Trigo, 1998).

La papilomatosis cutánea bovina la origina un virus perteneciente a la familia *Papovaviridae* y genero *Papillomavirus*. Por su ácido nucleico pertenece al grupo de virus DNA, siendo el peso molecular de 5×10^6 daltons. Posee doble hélice y es de naturaleza cíclica. Su forma es icosaédrica, con 72 capsómeros en cápsidos icosaédricos; su genoma es invariable de una sola molécula y el virión mide 55 milímetros (Andrewes *et al*, 1978).

El virus de la papilomatosis bovina no posee envoltura y se multiplica en el núcleo, es relativamente inactivo in vitro. Resistente al cloroformo, estable en presencia de éter y a ph bajo; permanece vivo durante 180 días a -70° C y 90 días a 4° C (Andrewes *et al.*, 1978).

Se han reportado la existencia de 5 diferentes tipos de virus del papiloma bovino, de manera que se puede clasificar de acuerdo a su efecto, tal como se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tipos del virus del papiloma bovino.

Tipo de virus	Peso molecular $\times 10^6$ daltons	Huésped	Nivel afección	Histología
VPB - 1	5.0	Bovino	Piel	Fibropapiloma
VPB - 2	5.0	Bovino	Piel	Fibropapiloma
VPB - 3	4.5	Bovino	Piel	Papiloma
VPB - 4	4.5	Bovino	Tracto alimenticio	Papiloma
VPB - 5	5.1	Bovino	Pezones	Papiloma

Fuente: Solis (1986).

2.1.4. Sinónimos.

Los sinónimos que recibe el papiloma bovino son: papiloma, verruga, verruga común, verruga vulgaris, buba y mora (Blood y Studdert, 1988).

2.1.5. Transmisión.

La transmisión de la papilomatosis puede ser por contacto directo, objetos inanimados (instrumentos de tatuaje, agujas hipodérmicas). Es frecuente observar racimos de bubas alrededor de marcas de tatuaje, a lo largo de rozaduras de alambre espigado, en los ollares de varios animales del mismo hato, entre otros. También se sabe de contaminación por artrópodos, coito (en caso de fibropapilomas en áreas genitales), inyección intradérmica de

una suspensión de tejido verrucoso. Las lesiones dérmicas favorecen la infección (Andrewes *et al.*, 1978).

2.1.6. Patogenia.

La infección producida por el virus de la papilomatosis en las células epiteliales, resulta en hiperplasia de las células en el estrato espinoso (acantosis). Estas células muestran un incremento del tamaño y número de desmosomas y tonofibrillas, mientras que otras células epiteliales muestran cambios degenerativos con pérdidas de tonofibrillas, separación de desmosomas, atipia nuclear focal y vacuolización citoplasmática. Estos cambios son más pronunciados en los estratos superiores del epitelio. En el estrato granuloso, es evidente la degeneración nuclear, con la marginación y condensación de cromatina. Por medio de estudios al microscopio electrónico, se han detectado viriones en formación cristalina en el núcleo de células degeneradas, en el estrato queratinizante. Los fibropapilomas exhiben una combinación de este efecto y el del fibroma; el epitelio que recubre, exhibe acantosis leve (Trigo, 1998).

De los estudios de infectividad realizados por Blood *et al.* (1983), la primera reacción de la piel, es estimulación fibroblástica en la dermis, acompañada por una respuesta inflamatoria con congestión, edema e infiltración leucocitaria. Alrededor de una semana después de la infección, la reacción inflamatoria se calma, pero la estimulación fibroblástica continúa seguida por invasión del estrato papilar de la dermis, por fibroblastos. El epitelio cobertor del área de la hiperplasia dérmica empieza a proliferar y muestra acantosis e hiperqueratosis. Al infectar el virus el estrato basal celular del epitelio, causa degeneración de algunas células, mientras otras son estimuladas al crecimiento excesivo, dando así lugar a la formación de la buba. Por su parte Solís (1986) menciona, que la cantidad de virus es mayor en relación directa a la edad avanzada de la buba.

2.1.7. Manifestaciones clínicas.

Las bubas aparecen en cualquier lugar de la piel, usualmente en la cabeza, cerca o junto a los ojos, ollares, maxilares, cuello, región escapular, ombligo y otras áreas corporales, más que en las extremidades. También es frecuente encontrar numerosos papilomas en las orejas de bovinos jóvenes. Otras regiones comúnmente afectadas son: glándula mamaria (en especial pezones), esófago, rumen, áreas anogenitales, vejiga urinaria en vacas (Blood *et al.*, 1983).

La extensión y duración de la papilomatosis en un animal depende del área afectada y dosis del virus, así como el grado de susceptibilidad, estado nutricional y edad del bovino en cuestión (Solis, 1986).

En bovinos, ocurre la curación espontánea de la papilomatosis, pero puede persistir por 5 a 6 meses, y rara vez hasta 18 meses; registrándose consecuentemente la alteración grave del estado general del animal y se vuelve problema cuando la infección es en un grupo grande de ganado joven susceptible. La persistencia de los papilomas puede deberse a una deficiencia inmunológica del animal (Solis, 1986).

2.1.8. Patología clínica.

Rara vez se emplean biopsias para confirmar el diagnóstico, pero de ser necesario se basa en la estructura histológica de las lesiones, que es bastante simple (Aiello *et al.*, 2000).

Las papilas dérmicas están traccionadas hacia fuera dentro de largas y delgadas hebras, simples o ramificadas y éstas están cubiertas por epidermis engrosada que madura en la secuencia regular de los estratos basal al superficial. La proliferación del epitelio es muy marcada sobre la parte alta de las papilas y aquí es incompleta la queratinización, las células retienen su núcleo. Característicamente, en las porciones externas del estrato granuloso, sufren degeneración celular, células individuales y pequeños grupos de ellas. Estas células se ven aisladas por el quiebre o ruptura de los puentes intercelulares y su citoplasma se vuelve vacuolado o bien están ausente los gránulos queratohialinohomogéneos y acidófilos (Blood *et al.*, 1983).

En una proporción de células en el estrato granuloso, las masas granulares que están considerados cuerpos de inclusión, pueden encontrarse en el núcleo y a veces fuera de las membranas. Las inclusiones son pequeñas y acidófilas, aunque a veces levemente basófilas; el núcleo huésped es vesicular pero usualmente contiene masas obvias de cromatina (Blood *et al.*, 1983).

Los cuerpos de inclusión mencionados, autoinoculabilidad, transmisibilidad por filtrados, la ocurrencia de brotes de bubas entre bovinos, así como la alta susceptibilidad de jóvenes más que adultos y la refractoriedad, constituyen la evidencia para una causa viral de las bubas (Trigo, 1998).

2.1.9. Diagnóstico.

El diagnóstico se realiza por observación clínica, existe cierta dificultad para diagnosticar. También puede aislarse el virus en embrión de pollo, o bien emplearse métodos histopatológicos (Andrewes *et al.*, 1978).

2.1.10. Inmunidad.

Los bovinos responden inmunológicamente a la infección con el virus del papiloma bovino. El componente humoral de esta respuesta se mide por pruebas de neutralización en el ganado vacuno y en animales de experimentación y mediante las pruebas de fijación de complemento y de agar-gel precipitación. Las inoculaciones repetidas de virus del papiloma bovino producen una resistencia a la infección, pero a veces, el ganado vacuno no infectado puede experimentar una re-infección. Pueden encontrarse anticuerpos precipitantes en la mayoría de los casos de enfermedad natural y en los casos experimentales. En la reparación de las verrugas intervienen reacciones inmunes implicadas en la protección frente a la reinfección (Solis, 1986). Duncan *et al* (1975) indicaron que algunos casos de papilomatosis persistente generalizada pueden relacionarse con un déficit del componente mediado por células del sistema inmune.

2.1.10.1. Anticuerpos.

Las inmunoglobulinas o anticuerpos son glucoproteínas producidas por las células plasmáticas, las cuales interactúan de manera específica contra agentes invasores que causan enfermedades. Las síntesis de anticuerpos involucra la diferenciación irreversible del linfocito específico en célula plasmática. Una célula plasmática produce anticuerpos de una sola especificidad. Existe una gran diversidad de especificaciones en el conjunto de los anticuerpos de un individuo determinado. La población total de inmunoglobulinas distintas que una persona produce es conocida como el repertorio de anticuerpos (Barrett, 1972).

2.1.10.2. Inmunización de los animales.

En esencia, cualquier sustancia puede producir una respuesta inmunológica, lo cual incluye alguna sustancia hipotética sintetizada en el laboratorio que no exista en la naturaleza. Esto es posible debido a la diversidad de la respuesta inmunológica, incluso la respuesta a un solo antígeno es diversa, es decir se generan diferentes anticuerpos contra diferentes regiones de la arquitectura del antígeno, llamadas antígenos. Cualquier antígeno debe inyectarse puro a los animales, para así evitar la competición entre los diferentes antígenos

para la producción de anticuerpos, así como la producción de hibridomas que secretan anticuerpos contra antígenos no deseados (Barrett, 1972).

2.1.10.3. Apoptosis.

La apoptosis es un proceso dependiente de energía diseñado de manera específica para desactivar células y eliminarlas. La muerte celular programada es un proceso fisiológico necesario para el funcionamiento normal del organismo, ésta suele reflejarse a través de cambios característicos en la estructura celular, que en su conjunto reciben el nombre de apoptosis. La apoptosis es la ruta celular alternativa, es decir, a falta de crecimiento de factores que mantengan la célula viva esta muere por apoptosis (Montaño, 2005).

La necrosis es un proceso pasivo y accidental, que es resultado de un progresivo deterioro en el orden estructural y funcional de la célula, posterior a daño irreversible, la mayor parte se causa por cambios en el micro-ambiente celular como isquemia, temperaturas extremas, traumatismo químico o mecánico, hormonas, citocinas, la radiación, agentes quimioterapéuticos, bacterias invasoras o toxinas, entre otros (Montaño, 2005). La necrosis es el tipo de muerte celular más común debido a estímulos exógenos.

Dependiendo de la intensidad y la duración del estímulo, la rapidez del proceso de muerte y la extensión de la disminución del ATP que padezcan las células se expresa en el tipo de muerte celular, ya sea la necrosis o apoptosis (Montaño, 2005).

La atrofia representa una reducción en los componentes estructurales de la célula. A pesar que las células atroficas pueden presentar una función disminuida, estas son viables. La apoptosis puede ser inducida por las mismas señales que causan atrofia y en consecuencia puede contribuir a la pérdida de masa orgánica. La atrofia patológica es en múltiples maneras similar a la involución, se implica a la delección celular por medio de apoptosis (Montaño, 2005).

2.1.11. Tratamientos.

2.1.11.1. Tratamiento quirúrgico de papilomas bovino.

Los papilomas pequeños pueden ser arrancados o quirúrgicamente removidos. Estas remociones como resultado inmediato, hacen que el virus penetre a la circulación y estimulan al animal para que incremente la inmunidad contra el virus del papiloma bovino

(en etapas tempranas del desarrollo del papiloma puede aumentar el tamaño de las residuales y prolongar el curso de la enfermedad, por lo que se recomienda tratar la base de los papilomas con ácido acético o yodo) (Hagan y Bruner, 1961).

2.1.11.2. Tratamiento a partir de vacunas autógenas.

Otra medida de tratamiento son las vacunas autógenas preparadas con tejido de verrugas del animal afectado (100 a 250 grs), estas son maceradas, homogenizadas y suspendidas en solución salina normal, a razón de 5 ml de solución por gramo de material y se adiciona formalina para un 0.4 % del volumen total). Puede ser inyectada subcutáneamente aunque se obtienen mejores resultados por inyección intradérmica. Se recomienda la aplicación de 4 dosis de 10 ml de vacuna, por vía subcutánea o intradérmica con intervalos de 8 días aproximadamente (Aiello *et al.*, 2000). Por su parte Solis (1986) menciona que las vacunas elaboradas a partir de tejidos infecciosos confieren una inmunidad satisfactoria y pueden utilizarse de manera preventiva en aquellas zonas donde la enfermedad es de carácter enzoótico.

2.1.11.3. Tratamiento a base de autohemoterapia.

También la autohemoterapia es una práctica llevada a cabo para el tratamiento de papilomatosis bovina, consiste en extraer 10 ml de sangre de la vena yugular y aplicarla inmediatamente por vía intramuscular, este proceso se repite 4 veces con intervalos de 8 días y para alcanzar una efectividad del 80 % se requiere hasta de 20 semanas para surtir efecto (Blood *et al.*, 1983).

2.1.11.4. Tratamiento a base de Clorobutanol.

Otra medida de tratamiento consiste en la aplicación del producto comercial a base de Clorobutanol a una concentración de 5gr., aplicado vía subcutánea, observando eficacia en un período de 15–60 días post-aplicación (Blood *et al.*, 1983).

2.1.12. Control y prevención.

Los animales afectados deberán aislarse de los susceptibles, aunque por el largo período de incubación, pueden haber sido expuestos antes de manifestar la enfermedad. Deberán desinfectarse agujas hipodérmicos, fierros de tatuaje, materiales quirúrgicos, entre otros, con soluciones antivirales; con el objetivo de prevenir infestaciones (Aiello *et al.*, 2000).

2.2. PROPOLEO.

2.2.1. Origen del propóleo *Apis mellifera* (Apinae).

Actualmente con la tecnología y científicos aplicados al estudio y la investigación apícola, se puede afirmar que el propóleo en su primera etapa es de origen vegetal. Este se encuentra bajo una película protectora, recubriendo los brotes de las plantas en el momento que estas eclosionan, fundamentalmente en las yemas de los álamos (*Pópulos* spp.), pinos (*Pinus* spp.), sauces (*Salix* spp.), entre otros. Debido a que las abejas recolectan el propóleo de diferentes fuentes, la composición química del propóleo varía según la disponibilidad de las variedades vegetales y las condiciones ambientales que estas encuentren al momento de la recolección (González, 2003).

2.2.2. Definición del propóleo de abeja sin aguijón (Meliponinae).

El término propóleo proviene del griego propolis (“pro”: delante o en defensa de, y “polis”: ciudad: delante de la ciudad, es decir, de la colmena) y es utilizado en su acepción original, sin mutación alguna en casi todas las lenguas indoeuropeas; y en español es denominado “propóleos” (Bedascarrasbure, 2005). El propóleo es una sustancia resinosa, balsámica, gomosa, de consistencia viscosa y color verde pardo, castaño, rojo o incluso casi negro (dependiendo de su origen botánico), sabor acre frecuentemente amargo, y olor agradable y dulce, de manera que cuando se quema exhala una fragancia de resina aromática (González y Bernal, 1997). Según Ramírez (1995), López *et al.* (2006) y Roubik (2006), el propóleo es utilizado por las abejas para diversos fines tales como tapar grietas o quebraduras del lugar que alberga la familia; reducir al mínimo el tamaño de las piqueras, evitando la entrada del frío, depredadores y visitas indeseables; tapizar el interior de las celdillas previo a la puesta de la reina, así como sellarlas, manteniéndolas libres de agentes microbianos; evitar las vibraciones al ubicarse las colmenas en lugares expuestos a corrientes de aire, amortiguando de este modo los sonidos intensos; embalsamar para momificar y aislar los restos de animales en el interior de la colmena, cuando resulten grandes y pesado expulsarlos; fijar los panales verticales en la base de la entretapa y embadurnar las paredes interiores de la colmena para evitar así el frío durante el invierno y el calor excesivo en el verano, al cumplir una función de aislante térmico.

2.2.3. Sinónimos.

Los sinónimos que recibe el propóleo son: cola de abeja y cera negra de las abejas (González, 2003).

2.2.4. Recolección del propóleo por parte de las abejas.

Primeramente hay que considerar que la cantidad de propóleo que producen una colmena dependerá de la raza de abeja. Se ha observado que las colmenas situadas en los bosques o al lado de ríos, donde hay árboles que contienen más propóleo que las situadas en zonas llanas. La cantidad media que se puede producir por la colmena al año oscila entre 150 y 300 gramos, aunque las cifras varían según las condiciones del clima entre 30 y 450 gramos (González, 2003).

El proceso de recolección comienza en el momento en el que la abeja encuentra el propóleo en el brote y lo desprende valiéndose de sus mandíbulas y sus patas. En el tiempo frío, la resina se encuentra más dura y la recolección se vuelve más difícil para la abeja, aquí es cuando la abeja utiliza sus glándulas mandibulares para lograr el ablandamiento del mismo (Prost, 1989).

En algunas ocasiones se ha visto a las abejas recogiendo propóleo de los pinos y de otras fuentes, de manera que obtienen su carga de trozos de resinas que aparecen sobre la corteza de los árboles, tanto en el tronco como en las ramas. La abeja se posa cerca del trozo de resina y con las mandíbulas rompe y desprende un pedacito que a causa de su pegajosidad, se estira formando una hebra que finalmente se separa del trozo original. La hebra es sacada de las mandíbulas con las uñas del segundo par de patas y luego es llevada hacia atrás y depositada en las cestillas del polen. Con la cara interna del metatarso de las patas de en medio, la abeja empuja la hebra de resina a su posición adecuada y la moldea en forma de una pelotita de polen. Esta operación se repite varias veces hasta que haya un trozo bastante grande de propóleo adherido a cada cestilla. Después de tomar cada hebra y depositarla en la cestilla, la obrera levanta el vuelo por un rato y al cabo de unos segundos vuelve al sitio primitivo, donde continúa su labor de cargar las cestilla con propóleo (Witherell, 1975).

Al regresar a la colmena la abeja acopiadora de propóleo nunca dispone por si misma de su carga sino que tiene que ser ayudada por sus compañeras. Las abejas de la colmena rompen y desprenden con sus mandíbulas el trozo de propóleo, procediendo como las acopiadoras cuando arrancan las hebras de la corteza de los árboles. La tarea de extraer el propóleo de las cestillas exige un considerable esfuerzo, tanto de las abejas cargadas como de las domesticas de la colmena. Estas se agarran fuertemente con las patas a la superficie

donde están paradas, mientras introducen sus mandíbulas en el propóleo luego tiran con tanta fuerza que a veces la abeja copiadora pierde su habilidad y es desplazada del lugar. Después de sacar el propóleo de las acopiadoras, las abejas de la colmena lo llevan en sus mandíbulas al lugar donde hace falta y lo aplican con las mismas piezas bucales. Las abejas no usan la lengua para la recolección y aplicación de propóleo. Las enzimas de su boca participan también en la operación para evitar su adherencia. Si el material no es bastante maleable, la abeja recolectora se instala en la piquera, donde espera que el calor del sol ablande la carga y pueda desprenderse mejor de ella. Los vuelos que realiza la abeja desde la colmena a la planta portadora de resina duran de 15 a 20 minutos y la época de máxima recolección tiene lugar en el verano (Biesmeijer, 1997).

La temperatura desempeña un papel importante en el proceso de recolección de propóleo. Las altas temperaturas ablandan siempre las sustancias cerosas y resinosas, volviéndolas más plásticas y naturalmente más fácil de acopiar y manipular. Las abejas recolectoras de propóleo no se ven en las primeras horas de la mañana, sino que aparecen hasta horas de la mañana tales como las diez, aumentando su número constantemente, a medida que avanza el día y asciende la temperatura. Hacia la tarde su número va mermando, hasta no haber ninguna al aproximarse la noche (Ramírez, 1995).

2.2.5. Recolección del propóleo por parte del hombre.

La cantidad de propóleo que puede producir una colmena es de 150 a 300 gramos (González, 2003). La recolección se hace por medio de las siguientes técnicas descritas por Castañeda (1988): con una espátula, dependiendo el propóleo de aquella zona donde se encuentra adherido (tales como ángulos, marcos, piezas metálicas y piqueras) y no se recomienda usar cuchillo ya que pueden desprender astillas de madera. Otra forma de recoger el propóleo consiste en colocar sobre los cuadros de la colmena una varilla de plástico o una lámina metálica perforada, que rápidamente será propolizada por las abejas, siendo el propóleo obtenido fácilmente rápido, y para facilitar su recolección se introduce la parrilla en el congelador hasta que quede rígido y así se desprenderá con más facilidad.

El recoger el propóleo no significa para el apicultor ninguna baja de rendimiento en la miel, la cera, la jalea real o el polen. El propóleo debe considerarse como un producto más de la colmena para obtener un nuevo ingreso (Ramírez, 1995).

El propóleo recolectado generalmente es bastante impuro y tiene que ser purificado antes de cualquier uso terapéutico. Por lo tanto, independientemente del proceso que se utilice para la colección, ya sea raspado, uso de mallas plásticas y del producto a entregar: natural o en forma de extracto; es fundamental que sea de buena calidad. En todas las etapas de la manipulación, desde la recolección hasta el procesamiento se deben observar rigurosas medidas de higiene, para que se eviten contaminaciones y pérdida de valor comercial. Entre las contaminaciones más importantes encontramos: arena, hojas, abejas muertas, astillas de madera y restos de pintura. Es importante que el raspado se efectúe a la sombra, evitando la exposición innecesaria del producto al sol (Harnaj, 1974).

2.2.6. Características físicas del propóleo de abejas sin aguijón (*Melipona colimana*).

La consistencia del propóleo varía con la temperatura, es duro y friable a los 15° C, se hace blando y maleable alrededor de los 30° C y pegajoso o viscoso a temperatura más elevadas; puede fundirse a los 60 – 70° C por término medio; pero el punto de fusión puede alcanzar los 100° C su forma corresponde a una masa sólida de color variable que va de amarillo pálido a marrón oscuro, casi negro o pardo. Su sabor a menudo es agrio pudiendo cambiar a amargo. El propóleo es insoluble en agua pero es parcialmente soluble en la acetona, el alcohol, el amoníaco, la bencina, el cloroformo, el éter, el tricloroetileno, entre otros. Y solo una mezcla adecuada de diferentes disolventes permite disolver la casi totalidad de sus componentes (López *et al.*, 2006).

2.2.7. Composición Química del propóleo de *Tetragonisca angustula*.

Los conceptos de Propóleo son aplicados de la misma manera, sin distinciones de *Apis mellifera* o *Tetragonisca angustula* debido a la similitud en sus componentes. Según González (1997), la composición de los propóleos varían según el origen vegetal, aunque están presentes en él numerosas sustancias de modo constante y relativamente estable, y que condicionan sus propiedades físico-químicas y biológicas.

Investigaciones realizadas en Brasil por Pereira *et al.*, 2002, tomando muestras de propóleos *Apis mellifera* y *Tetragonisca angustula* se verificó que no hay diferencia estadística significativa, es decir que son consideradas similares en composición y actividad antimicrobiana y antiviral (Cuadro A-1).

El propóleo tiene más de 160 componentes identificados (Fierro, 2005). Entre los componentes químicos que caracterizan el propóleo de *Tetragonisca angustula* se encuentran:

2.2.7.1. Ácidos orgánicos.

Tales como ácido benzoico, ácido gálico, ácidos fenoles, ácido caseico, ácido dinámico, ácido fenilico, ácido insofenilico, ácido p-cumanirico (Medellín *et al.*, 2007), ácido butírico, ácido acético, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido isobutírico, ácido mirístico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido dihidroxicinámico, ácido cinámico, ácido cafeico (Pereira *et al.*, 2002).

2.2.7.2. Aldehídos.

Estos tienen su origen en las yemas vegetales, tales como benzaldehído, protocatechualdehído, p-hidroxibenzaldehído, vanilina, isovanilina, aldehído caprónico, hex-2-enal (González y Bernal, 1997; Pereira *et al.*, 2002).

2.2.7.3. Flavonoides.

Los flavonoides son abundantes en las células y en la fotosíntesis de las plantas, por lo tanto se producen ampliamente en el reino vegetal y debido a sus componentes químicos posee funciones terapéuticas importantes (Fierro, 2000). Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen a los organismos humano y animal, del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioleta, la contaminación ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, y otros. Se encuentran ampliamente distribuidas en plantas, tallos, flores, verduras y frutos. Contienen en su estructura química compuestos que le confieren una gran capacidad antioxidante. Sus propiedades anti-radicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidróxilo y superóxido, especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la cadena de peroxidación lipídica, y se ha descrito su capacidad de modificar la síntesis de eicosanoides (con respuestas anti-inflamatorias), de prevenir la agregación plaquetaria (efectos anti-trombóticos) y de proteger las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación (Martínez *et al.*, 2002).

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos, compuesto por dos anillos de fenilos ligados a través de un anillo heterocíclico. La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las

diferentes partes de la estructura química (Martínez *et al.*, 2002). Según Pelaez (2001), en función de sus características estructurales se pueden clasificar en: flavonas (acacetina, crisina amarilla, pectolinarigenina, tectorisina), flavonoles (galangina, izaquina, kaemperido, quercetina, ramnicitrina), flavononas (pinostrovina, sakuranetina) y flavononoles (pinobanksina).

2.2.7.4. Alcoholes.

Alfa y beta glicerofosfato provienen del metabolismo de la abeja, tales como alcohol cinámico (Medellín *et al.*, 2007), hidroquinona, metanol benceno, alcohol prenil, isobutenol, beta-glicerofosfato, alfa-glicerofosfato, glicerol (Pereira *et al.*, 2002) y alcohol cinámico (González y Bernal, 1997).

2.2.7.5. Terpenoides y otros compuestos.

Son parte responsables del olor de los propóleos, entre los que se encuentra cimeno, limoneno, alfa-copaeno, estireno, lupeol y lupenone (Pereira *et al.*, 2002), 1,8-cineole, sesquiterpene alcohol y sesquiterpene diol (González, 1997). Según investigaciones realizadas por Pereira *et al.* (2002), los triterpenos conforman >35% del total de la composición extraída del propóleo de *Apis mellifera* y *Tetragonisca angustula* (tomando como total de propóleo analizado 3gr).

2.2.7.6. Minerales.

Tales como aluminio, plata, bario, boro, cromo, bismuto, calcio, cobalto, cobre, estaño, hierro, magnesio, manganeso, molibdeno, níquel, plata, plomo, silicio, selenio, estroncio, titanio, vanadio, zinc. En el propóleo han sido detectados cobre y manganeso en niveles 26.8 y 40 miligramos/kg (Pelaez, 2001).

2.2.7.7. Vitaminas.

Provitamina A, vitamina B3 y otras del grupo B. Se han encontrado cantidades variables de vitaminas A, B1, B2, B6, C, E, ácidos nicotínico y ácido pantoténico (Pelaez, 2001).

2.2.8. Efectos biológicos del propóleo de *Tetragonisca angustula*.

Los efectos de mayor interés, gracias a los cuales el propóleo ha obtenido valor terapéutico son: actividad antimicrobiana (bacteriana, micótica y viral) (Bankova y Popova, 2007), actividad antiparasitaria, actividad anti-inflamatoria (cicatrizante y anestésico local)

(Menezes, 2005; Pelaez, 2001), actividad antioxidante, actividad antitumoral y radioprotectora (Menezes, 2005), actividad vasoprotectora, actividad inmunomoduladora (González, 1997; Medellín *et al.*, 2007), actividad antibiótica de amplio espectro, actividad de desinfectante y antiséptica (Fierro, 2000), actividad contra las células leucémicas, actividad anti-microbacterias tuberculosas, actividad antiproteolisis, actividad contra *Trichomonas* (*T. vaginalis*, *T. gallinae*, *T. microti*), actividad de regeneración de epitelio y endotelios (González, 2003), disminuye el nivel de colesterol alto en sangre, disminuye la presión alta en los ojos (glaucoma), disminuye la fragilidad capilar, disminuye la permeabilidad de los capilares a través del incremento de su fuerza, disminuye la secreción gástrica a través de la incrementación de la actividad histaminopexica (Medellín *et al.*, 2007) , incrementa la resistencia del cuerpo a enfermedades infecciosas (intensifica la fagocitosis), actividad mineralizante y nutritiva, previene y disminuye la insuficiencia pulmonar, promueve la elaboración de colágeno y elastina, ejerce acción antiulcerosa (Cushnie y Lamb, 2005)); activa los macrófagos, induce la citocinesis e inhibe el crecimiento de células tumorales del intestino grueso (Pelaez, 2001); tiene efecto anti-alérgico generales a través de su actividad histaminopexica, incrementando la habilidad de la sangre para bloquear la histamina (Medellín *et al.*, 2007).

2.2.9. Forma de presentación del propóleo.

El propóleo es un producto de las abejas, que puede ser usado en diferentes preparaciones. El hecho que sus sustancias activas pueden ser extractadas usando alcohol, grasas y aun agua, presentan un amplio campo de experimentos y pruebas, las cuales pueden ser según Castañeda (1988): extracto acuoso, extracto graso, tintura de propóleo, enjuague bucal, cápsulas, gotas para los ojos, polvo de propóleo crudo, inhalaciones, propóleo en miel, spray, extracto blando de propóleo, emplastos, ungüentos y cremas.

Entre los estudios sobre propóleo, las preparaciones que se reportan son:

2.2.9.1. Extracto alcohólico: no existen procedimientos definidos acerca de la metodología a utilizar, tiempo necesario para la extracción, concentración ideal, etc. Tanto del propóleo como del alcohol a utilizar. De acuerdo a la información relevada en Guatemala, se observa que la concentración de propóleo oscila entre el 10 y 30%, que el disolvente más utilizado es el alcohol etílico en concentraciones desde el 70 al 100% y que en la etapa de extracción se puede emplear alcohol a 80° C durante 24 horas o bien efectuarla a temperatura ambiente

durante 20 días o más. En el caso de formulaciones comerciales las imprecisiones pueden resultar mayores (Castañeda, 1988).

2.2.9.2. Extracto blando: es la manera ideal de utilizar el propóleo en formulaciones, pues se parte siempre de una base conocida (Castañeda, 1988).

2.2.9.3. Propóleo en polvo: el propóleo también puede ser empleado en polvo, en presentaciones en cápsulas y otras aplicaciones afines (Castañeda, 1988).

2.2.9.4. Extracto graso: esta es la preparación más conocida entre los apiterapistas rusos, la cuál ha sido usada contra la tuberculosis (Castañeda, 1988).

2.2.10. Especificaciones de calidad del propóleo.

Para establecer patrones de calidad adecuados para el propóleo, no basta evaluar los aspectos físicos u organolépticos (visual, consistencia, sabor, origen, color, u olor), sino que es fundamental cuantificar los principios activos para poder tener parámetros de comparación entre los diferentes tipos de propóleo (González, 2003).

El objetivo de las normas salvadoreñas obligatorias de calidad de propóleo crudo destinado para la comercialización NSO. 65.19.02:03 CONACYT, tienen como objetivo establecer la identidad y los requisitos mínimos de calidad que debe cumplir el propóleo crudo. Definiendo el propóleo o própolis como un producto originado de sustancias resinosas, gomosas y balsámicas, colectadas por abejas melíferas, de brotes y exudaciones de corteza, hojas y otras partes de las plantas, a las cuales las abejas agregan secreciones salivales y cera para la elaboración final del propóleo. La clasificación se divide de acuerdo a su origen en botánico (especificando la especie o tipo de vegetación predominante en el área de pecoreo), geográfico (ya sea por la zona, altura a nivel del mar, lugar o localidad) y color (uniforme en su presentación). Su composición proviene de cera de abejas melíferas, resinas, productos balsámicos, aceites esenciales, polen y micro elementos (IPFSAPH, 2003).

Según IPFSAPH (2003), los requisitos principales para su comercialización comprenden características sensoriales (tales como olor, este debe ser característico balsámico y resinoso dependiendo de su origen botánico, pudiendo variar de leve a intenso; color

amarillo, café, verde, gris y otros, variando tonalidad conforme a su origen botánico; sabor de suave balsámico a fuerte y picante, dependiendo de su origen botánico; consistencia varía de gomoso y pegajoso, hasta duro y poroso dependiendo de la temperatura y contenido de cera), requisitos de calidad físico-químicos (humedad máximo 8%, mezclas mecánicas de residuo insoluble en etanol máximo 30%, cera máximo 30%, índice de oxidación máximo 22 segundos e impurezas máximo 5%), requisito de calidad físico-químicos recomendados (compuesto fenólicos de reacción positiva, flavonoides de reacción positiva y solubilidad en etanol 30-35%) y control de calidad microbiológico (recuento de bacterias mesofilas UFC/g<10,000, coliformes fecales UFC/g=0, coliformes totales UFC/g<100, *Staphylococcus aureus* UFC/g=100 y hongos UFC/g=1-100).

No se permite la utilización de cualquier tipo de aditivos en el propóleo. Tampoco la contaminación por medio de la presencia de sustancias agroquímicas y el contenido del plomo (Pb) no excederá de 5 ppm. Las condiciones de higiene deben estar de acuerdo a las Buenas Prácticas de Manufacturas (BPM) para la cosecha y el almacenamiento de propóleo crudo (IPFSAPH, 2003).

En el apartado de control de calidad, en el análisis organoléptico se utilizará la terminología siguiente: aspecto como masa redonda con brillo, masa irregular con poco brillo, trozos irregulares opacos, trozos irregulares con brillo y polvo o granulado; consistencia como muy blanda, blanda, poco blanda, dura; olor como inodoro, resinoso, resinoso suave, resinoso aromático, resinoso muy aromático; sabores como picante, dulce, amargo e insípido; los colores se consideran el color predominante de la mezcla tal como se menciona anteriormente (IPFSAPH, 2003).

3. METODOLOGIA.

3.1. LOCALIZACIÓN.

La investigación se realizó en las siguientes localidades:

- 1) Rancho Alex Tejada, ubicado en el km 62 carretera al municipio de Nueva Concepción caserío el Rancho Luna del departamento de Chalatenango (14°06'01.79"N y 89°13'19.79"O) a 325 msnm, cuyo propietario es el Sr. José Alexander Tejada (Figura A-1).
- 2) Granja Los Maldonados, ubicado en el municipio de Tejutla desvío San José cantón Agua Escondida del departamento de Chalatenango (14°06'31.23"N y 89°09'0.23"O) a 325 msnm, cuyo propietario es el Sr. Omar Arturo Maldonado (Figura A-2).
- 3) Granja Esperanza, ubicado en el cantón San Antonio carretera antigua Zacatecoluca municipio de Cuyulitán km 28 ½ del departamento de La Paz (13°31'42.84"N y 89°05'20.15"O) a 380 msnm, cuya propietaria es la Sra. Reina Esperanza (Figura A-3).
- 4) Escuela Nacional de Agricultura (ENA), situado en km 33 ½ carretera a Santa Ana del departamento de La Libertad (13°48'17.5"N y 89°24'19.78"O) a 460 msnm, cuyo responsable es el agrónomo Félix Pérez (Figura A-4).
- 5) Finca "San Ramón", ubicado en carretera a San Miguel de Mercedes km 15 ½ del departamento de Chalatenango (14°00'08.78"N y 88°56'05.88"O) a 472 msnm, cuyo propietario es el Sr. Ramón Alfredo Ramírez Orellana (Figura A-5).
- 6) Granja Mardonio, ubicado en el municipio del Pedregal del departamento de La Paz (13°30'09.33"N y 88°55'26.83"O) a 220 msnm, cuyo propietario es el Sr. Mardonio (Figura A-6).

3.2. DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.

La investigación tuvo una duración total de cuatro meses comprendidos entre Julio a Octubre del año 2008 divididos de la siguiente manera: la fase de recolección de propóleo y elaboración de solución alcohólica de propóleo tuvo una duración de un mes y medio, la fase pre-experimental tuvo una duración de 15 días en la que se realizaron dos aplicaciones, la fase experimental tuvo una duración de 15 días y la fase de laboratorio que consistió en el análisis de muestras histopatológicas tuvo una duración de 20 días.

3.3. MATERIALES.

Los materiales utilizados durante la investigación fueron: propóleo de *Tetragonisca angustula*, bolsas plásticas, espátula, alcohol etílico al 70%, agua destilada, tamices 250 micrones, recipiente oscuro, agitadores magnéticos, recipiente para almacenar la solución alcohólica de propóleo de 500 ml, recipientes para transportar las verrugas de 10 ml, jeringas de plástico desechables tuberculinas, jeringas de plástico desechables de 3 ml calibre 23Gx1", pie de rey, algodón, alcohol 90°, guantes desechables, beaker 25 ml, hojas de bisturí No. 21, mango de bisturí No. 4, formalina al 10%, solución yodada, producto comercial a base de Clorobutanol.

3.4. EQUIPO.

El equipo utilizado durante la investigación fue: Hot play con agitador, refrigeradora, balanza semi-analítica y cámara fotográfica.

3.5. METODOLOGIA DE CAMPO.

3.5.1. Descripción del material inoculado.

La recolección del propóleo se llevó a cabo en el Departamento de Chalatenango de los cantones del Gramal y el Jardín, en donde se obtuvo el propóleo de los meliponicultores de la zona. El procesamiento del propóleo para obtención de la solución se realizó en el Laboratorio de Palinología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la siguiente manera:

- 1) Selección del propóleo.
- 2) Limpieza y homogenización del propóleo.
- 3) Congelación del propóleo para facilitar la manipulación del propóleo, esto por las características físicas del mismo.
- 4) Pesado del propóleo en balanza semianalítica (gr.), el peso estuvo determinado por la cantidad que se logró recolectar de propóleo (Cuadro A-2).
- 5) Una vez pesado el propóleo se mezcló con igual cantidad de peso de alcohol etílico al 70% en balanza semianalítica (gr.), y de esta forma se obtuvo una relación peso-peso que tendrá una concentración de propóleo del 50% formado la tintura de propóleo (Cuadro A-2).
- 6) Una vez congelado el propóleo se procedió a trocearlo en pedazos pequeños.
- 7) Mezcla del propóleo y alcohol etílico al 70% en un recipiente protegido de los rayos solares.
- 8) Se agitó la mezcla de 3-4 veces al día, por un tiempo de 10 días.

- 9) Luego se dejó reposar la mezcla por un tiempo de 30 días en refrigeración, para lograr la sedimentación de los sólidos y así facilitar la decantación.
- 10) Luego de transcurridos los 30 días en refrigeración, se separaron los sólidos de líquidos por decantación y se filtró la solución decantada con tamices 250 micrones. Se obtuvo un total 10.3 ml de solución alcohólica de propóleo 50%.
- 11) Luego se realizaron las diluciones de Propóleo en concentraciones de 50% y 25% de abeja sin aguijón. Estas se realizaron de la siguiente manera:
 - *Concentración al 50%:* se tomó 1 ml de la tintura de propóleo y se aplicó en la verruga.
 - *Concentración al 25%:* de la concentración al 50% se tomó 0.5 ml y se mezcló con 0.5 ml de agua destilada y de esta manera se aplicó en la verruga.

3.5.2. Descripción de fase pre-experimental.

Se realizó una prueba pre-experimental en donde se seleccionaron dos animales con Papilomatosis bovina a los cuales se le inocularon 1 ml de solución de tintura de propóleo de abeja sin aguijón (*Tetragonisca angustula*) vía subcutánea en la base de la verruga a una concentración de 50%. Esta prueba pre-experimental se realizó con el objetivo de observar el efecto del propóleo en la eliminación de las mismas. Las verrugas a las que se les aplicaron las inoculaciones de la solución de tintura de propóleo de abeja sin aguijón (*Tetragonisca angustula*) se eliminaron al sexto día luego de la aplicación. Este resultado dió la pauta para la realización de la investigación.

3.5.3. Descripción de la fase experimental.

En la fase de campo experimental, los tratamientos se administraron vía parenteral (subcutáneo) en la base de la verruga; al momento de la aplicación se delimitó una zona con un radio de 3 cm que presentaba papilomas, esto, con el objetivo de mantener la misma uniformidad sobre el área donde se aplicaron los tratamientos. El criterio de delimitación de la zona de aplicación de los tratamientos dependió del área más afectada de papilomatosis que presentaba el animal; dentro del área delimitada, la verruga a la que se le aplicó el tratamiento fue la verruga más prominente (una), que se encontraba entre un rango de 0.1 - 5.0 cm. Todas las mediciones fueron realizadas con un pie de rey.

Los efectos secundarios se compararon entre tratamientos para determinar cual de todos ellos causa mayores efectos secundarios (irritación e inflamación), los cuales se midieron de acuerdo al ancho y altura del área inflamada con el instrumento de pie de rey.

Luego de ser aplicados los tratamientos, los animales continuaron con el manejo habitual en cada localidad, y fueron supervisados diariamente hasta el momento en que se eliminaron las verrugas y por un tiempo estimado de 15 días que duraba la fase de campo experimental.

3.6. UNIDADES EXPERIMENTALES.

Para la investigación se utilizaron un total de 24 unidades experimentales. Cada localidad fue tomada como un bloque, por lo tanto se evaluaron 6 bloques experimentales conformados por 4 tratamientos cada bloque (dos tratamientos en estudio y dos testigos relativos), en terneros menores de dos años de genética criolla.

3.6.1. Tratamientos.

Los tratamientos que se evaluaron son:

T1: se administró una dosificación de 1 ml de una solución de propóleo a una concentración al 25%.

T2: se administró una dosificación de 1 ml de una solución de propóleo a una concentración al 50%.

T3: se administró una dosificación de 1 ml de alcohol etílico al 70%.

T4: se administró el producto comercial a base de Clorobutanol a una concentración de 5.0 g.

3.6.2. Factor en estudio.

El factor en estudio consiste en la evaluación de soluciones de propóleo (25% y 50%) de *Tetragonisca angustula* para el control de papilomatosis bovina.

3.6.3. Parámetros de evaluación.

Los parámetros que se evaluaron fueron: tamaño de la verruga (ancho y alto), efectos secundarios luego de la aplicación de los tratamientos (irritación e inflamación), eliminación de las verrugas luego de la aplicación de los tratamientos, tiempo de eliminación de la verruga luego de los tratamientos (días) e identificación de virus de papiloma bovino (cortes histológicos).

3.6.4. Análisis estadístico.

El diseño estadístico utilizado en la investigación fue bloques completamente al azar; se utilizó cuando las unidades experimentales pueden agruparse de acuerdo a ciertas características, que en esta investigación se refirió al lugar en estudio. Cualquier factor que afecte la variable de respuesta y que varíe entre unidades experimentales aumentará la varianza del error experimental y disminuirá la precisión de las comparaciones.

El diseño implica que en cada bloque hay una sola observación de cada tratamiento. Se supone que los efectos de tratamientos y bloques son aditivos, la aditividad significa que no hay interacción entre tratamientos y bloques; es decir, la relación entre los tratamientos es la misma en cada uno de los bloques con un nivel de significancia del 5%.

3.6.4.1 Modelo y prueba estadística.

Para el análisis de los datos obtenidos se usó la prueba de contrastes ortogonales con el objetivo de comparar los efectos de los tratamientos aplicados en cada bloque, permitiendo la eliminación de los efectos de bloque de la comparación entre tratamientos.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

En donde:

Y_{ij} : variables observable.

μ : parámetro, media general.

τ_i : efecto relativo del i-ésimo tratamiento.

β_j : efecto relativo del j-ésimo bloque.

ε_{ij} : error experimental.

3.7. METODOLOGIA DE LABORATORIO.

En la fase de laboratorio únicamente en la localidad del Rancho Alex Tejada debido a que los animales presentaban mayor cantidad de verrugas; se tomaron un total de cuatro muestras de verrugas de papiloma bovino antes de la aplicación de los tratamientos, las muestras fueron enviadas en frascos con formalina al 10% debidamente identificadas como "biopsia de piel" con el mismo tipo de lesión al Laboratorio de Patología de Guatemala (A-1 y A-2).

Se enviaron un total de 4 muestras, realizándose 22 cortes seriados a las cuales se les efectuaron los cortes histológicos con la técnica hematosilina eosina y luego se llevó a cabo su lectura histológica respectiva. Es decir, se tomó una muestra de cada tratamiento de la granja Alex Tejada antes de la aplicación de los tratamientos para evidenciar el virus del papiloma bovino.

También se realizó una prueba adicional de laboratorio, la cuál consistió en un cultivo de la secreción ocasionada por la inflamación de la verruga luego de la aplicación de los tratamientos de propóleo, con el objetivo de determinar si el líquido contenido en el área inflamada era de origen bacteriano (A-3).

3.8. COMPARACION ECONOMICA.

Se realizó una comparación de costos para cada tratamiento, los cuales fueron: costos del producto y costos de aplicación. Para la obtención de los costos por ml de cada tratamiento se realizaron los siguientes cálculos: en el caso del propóleo, se tomaron los insumos de éste y los diluyentes, dividiendo la cantidad de costos unitarios del propóleo entre la solución total de propóleo. Con respecto al alcohol etílico 70% se dividió el costo de litro entre los mililitros de alcohol (litro). En el caso del producto comercial a base de Clorobutanol se dividió el costo del producto entre la solución total que contiene el frasco. El costo de mano de obra se adicionó a los costos por ml, tomando un valor estimado por aplicación del producto en cada animal.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Tamaño de la verruga (ancho).

Se demostró estadísticamente que no hay diferencia significativa entre los 4 tratamientos que se evaluaron (Figura 1 y Cuadro A-3 y A-4), por lo tanto ninguno de los tratamientos en estudio afectó a las verrugas con respecto a la variable anchura, es decir no hubo disminución debido a que el proceso de eliminación de la verruga es súbito. Esto posiblemente estuvo influenciado por el necrosamiento de la base de la verruga ocasionada por el traumatismo químico de los tratamientos (aplicación vía parenteral); tal como en investigaciones realizadas por Montaña (2005) que afirma, la necrosis es un proceso pasivo y accidental del orden estructural y funcional de las células causadas por daños externos.

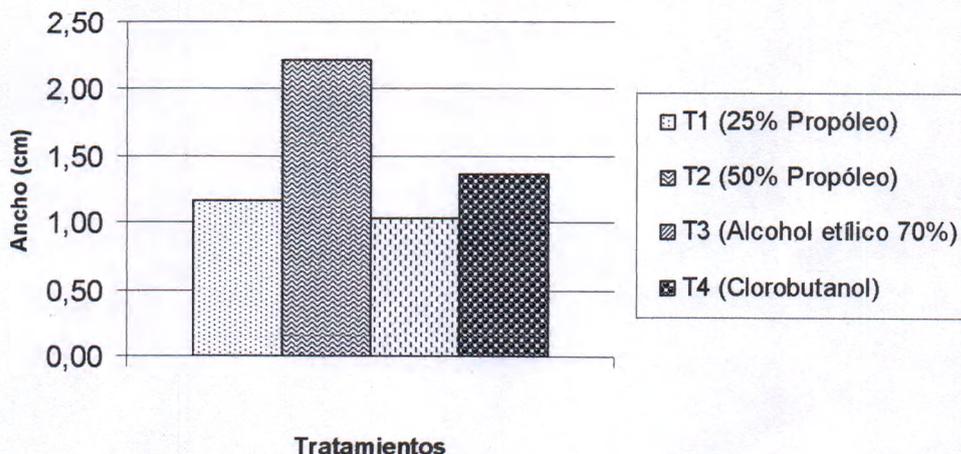


Figura 1. Promedio de tamaño de la verruga (ancho) por tratamiento (cm).

4.2. Tamaño de la verruga (altura).

Se demostró estadísticamente ($P \leq 0.05$) que de los cuatro tratamientos en estudio, solamente los tratamientos 1 y 2 presentaron diferencias significativas (Figura 2 y Cuadro A-5 y A-6) en la disminución de la altura de las verrugas, por lo tanto los tratamientos 3 y 4 no causan efecto en la disminución. El tratamiento 2 es el que posee mayor efecto en la disminución de la altura de las verrugas evaluadas, en comparación con el tratamiento 1 (Cuadro A-7 y A-8). Esto posiblemente estuvo influenciado por el necrosamiento de la base de la verruga, de manera que la irrigación sanguínea se interrumpe y el crecimiento patológico de las células se afecta (apoptosis) y por ésta razón disminuye, tal como lo afirma Montaña (2005)

detallando que la necrosis es el tipo de muerte celular más común debido a estímulos exógenos y a falta de crecimiento de factores que mantengan la célula viva esta muere por apoptosis.

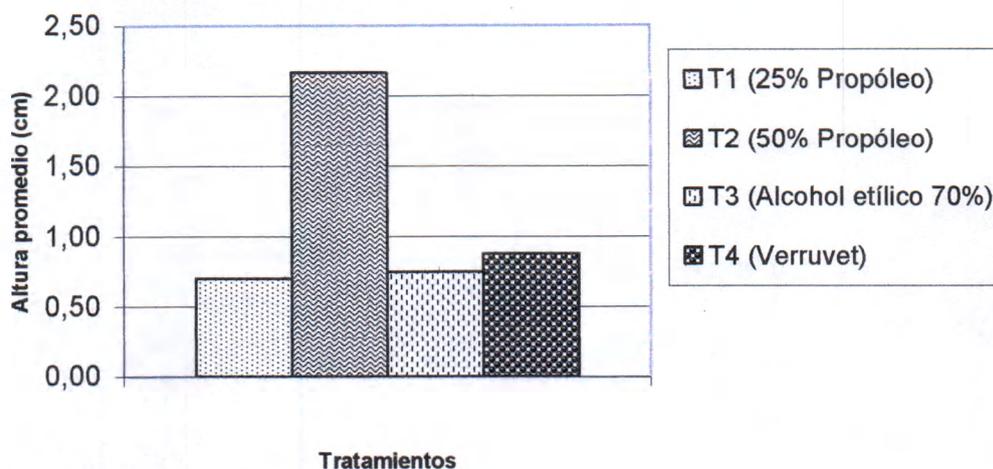


Figura 2. Promedio de tamaño de la verruga (altura) por tratamiento (cm).

Según los resultados obtenidos, del total de veinticuatro animales tratados, veintitrés de éstos presentaban verrugas con consistencia dura y sólo un animal presentaba verruga con consistencia blanda; observándose que la mayor cantidad de verrugas que poseían los animales evaluados, presentaban una consistencia dura (Cuadro A-14). Esto debido posiblemente a la fase de desarrollo en que se encontraba el papiloma; ya que las verrugas con consistencia dura se presentan en la fase final de la enfermedad, en cambio las verrugas con consistencia blanda se presentan en la fase inicial.¹

Según los resultados obtenidos, del total de veinticuatro animales tratados, veintitrés de éstos presentaban verrugas de forma de coliflor, y sólo un animal presentaba verruga de forma lisa; observándose que la mayor cantidad de verrugas que poseían los animales evaluados, presentaban una forma de coliflor (Cuadro A-15). Siendo así, que la misma cantidad que poseía la consistencia dura es la misma cantidad de forma de coliflor; y la misma cantidad que poseía una consistencia blanda es la misma que poseía una forma lisa. Esto posiblemente depende a la fase de desarrollo en que se encuentre el papiloma; ya que las verrugas con forma de coliflor se presentan en la fase final de la enfermedad, en cambio las verrugas con forma lisa se presentan en la fase inicial.¹

¹ Castro, J. 2008. Papilomatosis bovina (entrevista). San Salvador, El Salvador. Universidad de El Salvador.

4.3. Efectos secundarios luego de la aplicación de los tratamientos (irritación e inflamación).

El efecto secundario que se presentó durante la investigación luego de la aplicación de los tratamientos, únicamente fue inflamación. Siendo el tratamiento 1 el que causó mayor grado de inflamación en comparación con los tratamientos 2, 3 y 4 (Cuadro A-9 y A-10). Por lo tanto los tratamientos 1 y 2 son significativos ($P \leq 0.05$) causando mayor efecto en la variable inflamación (Cuadro A-11 y A-12), en cambio los tratamientos 3 y 4 no causaron ningún grado de inflamación; de manera que el tratamiento 1 (con 1.18 cm de diámetro de inflamación) es el que causó mayor grado de inflamación en comparación con el tratamiento 2 (con 1.01 cm de diámetro de inflamación). Esto posiblemente estuvo afectado porque el tratamiento 1 se aplicaba con dilución de agua destilada, contrario al tratamiento 2 que no se aplicaba con dilución; de manera que el cuerpo del animal reconocía el agua destilada como una sustancia extraña y por lo tanto se desencadena una reacción antígeno-anticuerpo, tal como lo afirma Barrett (1972) que cualquier sustancia puede producir una respuesta inmunológica.

4.4. Eliminación de la verruga luego de los tratamientos.

El tratamiento 2 es el que tiene mayor efecto en la eliminación de verrugas, siendo efectivo en cuatro de las seis explotaciones ganaderas en estudio. En cambio el tratamiento 1 produjo eliminación de verrugas solamente en una; por el contrario, los tratamientos 3 y 4 no tuvieron efecto en la eliminación de las verrugas (Cuadro 2). Esto posiblemente, debido a que el tratamiento 2 poseía mayor concentración de propóleo, y por lo tanto mayor cantidad de flavonoides en su contenido, mostrando un mejor efecto en la propiedad antiviral como lo afirmó González (1997), provocando la eliminación de las verrugas. También posiblemente las verrugas se eliminaron debido al necrosamiento de la epidermis, tal como lo afirma Blood *et al.* (1983).

Cuadro 2. Eliminación de las verrugas luego de los tratamientos (vacas).

TRATAMIENTOS							
T1		T2		T3		T4	
SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	5	4	2	0	6	0	6

En donde: "Si"= se eliminaron; "No"= no se eliminaron.

4.5. Tiempo de eliminación de la verruga luego de los tratamientos (días).

Las verrugas del tratamiento 2 se eliminaron con un promedio de siete días; en cambio el tratamiento 1 se eliminó con un promedio de ocho días (Cuadro A-13). Los tratamientos 3 y 4 no eliminaron ninguna verruga en el período de observación. De manera que los tratamientos con propóleo (25% y 50%) demostraron mejor efectividad en el tiempo de eliminación de verrugas, en comparación a estudios realizados por Blood *et al.* (1983) en donde se aplicaron a animales con papilomatosis bovina, vacunas autógenas cuya eliminación fue en un período de 3-6 semanas.

4.6. Identificación de virus de papiloma bovino (cortes histológicos).

Los resultados de los análisis histopatológicos (Figuras A-3 y A-4) realizados a las verrugas de la granja Alex Tejada demostraron en la descripción microscópica: la presencia de un patrón verrucoso con hiperplasia, donde se observa hiperqueratosis y paraqueratosis, moderada acantosis y papilomatosis, células vacuolazas en la parte superior del epitelio, el centro del papiloma fue fibrovascular; infiltrado inflamatorio moderado, en el epitelio se observa marcada vasodilatación y los núcleos de las zonas basal y ensanchada con núcleos hipercromáticos aumentados de tamaño. Resultando un diagnóstico final de todas las muestras que se detalla a continuación: papiloma escamoso, cambio epitelial regenerativo moderados, infiltrado inflamatorio intraepitelial a expensas de eosinófilos y neutrófilos, y sección examinada negativas para malignidad. Por lo tanto se confirmó a través del diagnóstico histopatológico, que las muestras enviadas eran papiloma bovino. Tal como lo afirma Trigo (1998), describiendo que a nivel macroscópico es posible descubrir nódulos, placas de pocos milímetros de diámetro, y hasta formaciones pedunculares (con aspecto de coliflor) de más de 2 cm de diámetro; a nivel microscópico se observa neoplasias epitelial, con formación de papilas, hiperqueratosis, degeneración y vacuolación de las células epidérmicas.

También se realizó un cultivo (Figura A-10) de la secreción ocasionada por la inflamación de la verruga luego de la aplicación de los tratamientos de propóleo, el cuál determinó que la secreción contenida en el área de inflamación no aislaba bacterias patógenas, por lo tanto posiblemente la secreción era debida a una reacción alérgica al propóleo aplicado (50% y 25%).

4.7. Comparación económica.

Se analizaron los costos por cada tratamiento; detallando el costo por ml, costo por aplicación y costos totales por cada tratamiento (Cuadro 3).

Al realizar la comparación de costos por tratamiento con mano de obra, el tratamiento más caro resultó ser tratamiento 4; seguido por el tratamiento 2 con un costo de \$6.31 siendo este tratamiento el más efectivo ya que se aplicó sólo una vez, y por lo tanto el más económico al comparar con los demás tratamientos. El tratamiento más barato fue el alcohol etílico 90°. Al realizar la comparación de costo por tratamiento sin mano de obra estos tienen una disminución de \$5.00 por tratamiento.

Cuadro 3. Costos por tratamientos.

	T1	T2	T3	T4
Tratamientos	(25% Propóleo)	(50% Propóleo)	(Alcohol etílico 70%)	(Clorobutanol) *
Costo por ml (\$)	0.66	1.31	0.0045	0.25 (6 ml)
Costo por aplicación (\$)	5.00	5.00	5.00	5.00
Costos totales por tratamiento (\$)	5.66	6.31	5.0045	6.50

* El tratamiento 4 esta condicionado al peso del animal 1 ml por cada 20 kg de peso vivo, en la investigación se aplicó un promedio de 6 ml de clorobutanol por animal.

5. CONCLUSIONES.

El ancho de la verruga fue estadísticamente similar entre todos los tratamientos y en cambio, la altura fue significativamente diferente entre los tratamientos de propóleo (tratamientos 1 y 2).

El tratamiento que eliminó más verrugas (4) fue el de 50% de propóleo (tratamiento 2), seguido por el de 25% de propóleo (tratamiento 1) que eliminó menos (1) en un rango de 6 a 15 días de observación.

Los tratamientos de alcohol etílico 70% y el producto comercial a base de Clorobutanol no eliminaron verrugas en los 15 días de observación.

Los tratamientos que no causaron inflamación fueron el alcohol etílico 70% y Verruвет a los 15 días de observación; por el contrario los tratamientos del propóleo 25% y 50% causaron mayor grado de inflamación, siendo el tratamiento de propóleo 25% el que causó mayor inflamación a los 15 de observación.

La consistencia predominante de las verrugas fueron duras, presentando en su mayoría forma de coliflor.

El tratamiento más barato con respecto a costo fue alcohol etílico 70% (\$5.0045) seguido del tratamiento de propóleo al 25% (\$5.66), por el contrario el tratamiento más caro fue el producto comercial a base de clorobutanol (\$6.50) seguido por el de propóleo al 50% (\$6.31).

6. RECOMENDACIONES

El tratamiento que se recomienda para el control de la papilomatosis bovina es el de propóleo al 50%.

Se recomienda realizar otras investigaciones con propóleo durante períodos más prolongados a los realizados en esta investigación (hasta los 30 días).

Se recomienda realizar otras investigaciones con distintas concentraciones y cantidades de propóleo de *Apis mellifera* u otras especies de abejas sin aguijón.

Se recomienda realizar otras investigaciones con distintas formas de aplicación (ungüentos) de propóleo de *Tetragonisca angustula* u otras especies de abejas sin aguijón.

Se recomienda realizar otras investigaciones con similares o distintas concentraciones y cantidades de propóleo de *Tetragonisca angustula*, en otras especies animales que presenten papilomatosis.

7. BIBLIOGRAFIA.

1. Aiello, S.; *et al.* 2000. El manual Merck de Veterinaria. Trad. A. Abecia *et al.* 5 ed. Barcelona, España. Océano Grupo Editorial, S.A. 2558 p.
2. Andrewes, C.; Pereira, H.; Wildy, P. 1978. Virus de los vertebrados. 4 ed. Londres, Inglaterra. Bailliere Tindall Editorial. 525 p.
3. Bankova, V.; Popova, M. 2007. Review article propolis of stingless bees: a promising source of biologically active compounds. (en línea). Bulgaria, Sofia. Consultado el 30 de marzo de 2008. Disponible en <http://www.phcogrev.com/issue1/10.pdf>
4. Barrett, J.T. 1972. Inmunología. Trad. R. Folch. D.F. México. Nueva editorial interamericana. 309 p
5. Bedascarrasbure, E. 2005. Caracterización físico-química de propóleo argentinos y sus extractos. (en línea). Proapi Argentina. Consultado el 18 de febrero de 2008. Disponible en http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/propoleos/congreso_internacional_propoleos/c03.pdf
6. Biesmeijer, J.C. 1997. "Abejas sin aguijón. Su biología y la organización de la colmena". Universidad de Utrecht, Holanda. 77 p.
7. Blood, D.C.; Herdenson, J.A; Radosti, O.M. 1983. Medicina Veterinaria. Trad. F. Colchero y J. Roig. 5 ed. D.F., México, Editorial Interamericana. 1191 p.
8. Blood, D.C.; Studdert, V.P. 1988. Diccionario de Veterinaria. Trad. B. Sanz Pérez *et al.* Madrid, España. Editorial Interamericana de España McGraw-Hill. v. 2, 1296 p.
9. Castañeda Matta, D. 1988. Análisis proximal del extracto etanólico de propóleo de abejas. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de ciencias químicas y farmacia. Guatemala, Guatemala. 43 p.

10. Cushnie, T.P.T.; Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. (en línea). International Journal of Antimicrobial Agents. Consultado el 30 de marzo de 2008. Disponible en <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857905002554>
11. International portal on food safety, animal and plant health (IPFSAPH). 2003. Acuerdo No. 555-NSO 65.19.02:03 sobre calidad de propóleo crudo. San Salvador. El Salvador. Consultado el 30 de noviembre de 2008. Disponible en <http://www.ipfsaph.org/servlet/CDSServlet?status=ND1jdGh0dHB3d3dmYW9vcmdhb3NpcGZzYXBoaW5mb3JtYXRpb25zb3VyY2VmYW9sZXguRkFPTEVYMDQ5Nzg5JjY9ZW4mMzM9Zm9ybWFsX3RleHQmMzc9aW5mbw~~>
12. Fierro Morales, W. 2000. Evidencia Científica del Propóleo desde el punto de vista Médico. (en línea). Proapi Argentina. Consultado el 25 de febrero de 2008. Disponible en http://www.propoleo.cl/cientificospropolis/walter_fierro.pdf
13. Fierro Morales, W. 2005. Propóleos. (en línea). Proapi Argentina. Consultado el 18 de septiembre de 2008. Disponible en http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/propoleos/congreso_internacional_propoleos/c03.pdf
14. González Guerra, A.; Bernal Méndez, R. 1997. Propóleos un camino hacia la Salud. Habana, Cuba. Editorial Pablo de la Torriente. 119 p.
15. González Nicholson, M.L. 2003. Evaluación de propóleo de abejas melíferas en la cicatrizante y anti-inflamatorio en la castración de lechones. (en línea). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Escuela de Medicina Veterinaria. 50 p.
16. Hagan, W.A.; Bruner, D.W. 1961. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. Trad. J. Santibáñez y J. Urrusti. 2 ed. D.F., México. La Prensa Médica Mexicana. 904 p.
17. Harnaj, V. 1974. Apicultura en zonas de clima frío. Simposio internacional Otaniemi-Helsinki. Finlandia, Rumania. 413 p.

18. López, V.A.; Tapia, G.J.; Macias, M.J.; Chavoya, M.; Blanco, D.; Mercado, A. 2006. Utilización del Geopropóleo de *Melipona Colimana* (Hymenoptera: Meliponini) bajo dos tratamientos (térmico y natural) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. (en línea). Apitec No. 59. Consultado el 11 de febrero de 2008. Disponible en <http://www.apitec.net/pdf/apitec59.pdf>
19. Martínez, S.; González, J.M.; Culebras, J.M.; Tuñón, M.J. 2002 Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. (en línea). Departamento de Fisiología, Universidad de León. León. España. Consultado el 27 de noviembre de 2008. Disponible en http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/propoleos/congreso_internacional_propoleos/c03.pdf
20. Medellín Pico, R.A.; Correa Benítez, A; Pérez, A.M. 2007. Los Beneficios del Propóleo. (en línea). Apitec No. 60. Consultado el 11 de febrero de 2008. Disponible en <http://www.apitec.net/pdf/apitec59.pdf>
21. Montañó Hirose, J.A. 2005. Temas selectos de inmunología veterinaria. D.F. México. Manual modemo. 220 p.
22. Redacción de referencias bibliográficas. (en línea). IICA/CATIE. Turrialba. Costa Rica. Consultado el 11 de febrero de 2008. Disponible en http://biblioteca.catie.ac.cr/normas_de_redaccion.html
23. Menezes, H. 2005. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. (en línea). São Paulo. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Bioquímica e Microbiologia. Consultado el 14 de septiembre de 2008. Disponible en http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V72_3/menezes.PDF
24. Miorin, P.L.; Levy Junior, N.C.; Custodio, A.R.; Bretz, W.A.; Marcucci, M.C. 2003. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. (en línea). Journal of Applied Microbiology.

Consultado el 18 de febrero de 2008. Disponible en <http://www.ingentaconnect.com/content/bsc/jam/2003>

25. Nuila de Mejía, J.A.; Mejía Mejía, M.A. 1990. Manual de Diseños Experimentales con aplicación a Agricultura y Ganadería. Universidad de El Salvador. 258 p.
26. Pareja Iáñez, E. 1998. Cursos de microbiología general: Acción de agentes químicos sobre las bacterias. (en línea). Argentina. Universidad Nacional de Nordeste. Consultado el 15 de noviembre de 2008. Disponible en http://fai.unne.edu.ar/biologia/microgeneral/micro-ianez/19_micro.html
27. Pelaez Alvarez, E.E. 2001. Evaluación de propóleo de abejas melíferas en la cicatrización de heridas de conejos. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Escuela de Medicina Veterinaria. 45 p.
28. Pereira, A.; Bicalholb, B.; Radler, F. 2002. Comparison of propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula*. (en línea). Brazil. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Consultado el 18 de febrero de 2008. Disponible en <http://www.apidologie.org/articles/apido/pdf/2003/03/M3309.pdf>
29. Prost, J.P. 1989. Apicultura. 3 ed. Madrid, España. Editorial Mundi Presa. 726 p.
30. Ramírez Arias. 1995. Crianza de las abejas sin aguijón. CINAT. Universidad Nacional Costa Rica. 22 p.
31. Roubik, D.W. 2006. Apidologie: stingless bee nesting biology. (en línea). Balboa, Panamá. Consultado el 20 de marzo de 2008. Disponible en <http://www.edpsciences.org/apido>
32. Solis Pellicer de Colombi, G.M. 1986. Efectividad de la vacuna antipapilomatosa bovina, producida por embrión de pollo. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Escuela de Medicina Veterinaria. 33 p.

33. Trigo Tavera, F.J. 1998. Patología sistémica veterinaria. D.F., México. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 421 p.
34. Witherell, P.C. 1975. La colmena y la Abeja melífera. Trad. H. de Marx. Montevideo, Uruguay. Editorial Hemisferio Sur. 936 p.

8. ANEXOS

Cuadro A-1. Comparación de los componentes del propóleo de *Apis mellifera* y *Tetragonisca angustula*.

Compound	<i>Apis mellifera</i>			<i>Tetragonisca angustula</i>		
	% of crude extracts					
	DCM	Acetone	Methanol	DCM	Acetone	Methanol
Etylamine		Trace	Trace			Trace
Etyleneglycol		Trace	0.1			
Hydroxybutyric acid (isomer)						Trace
Lactic acid		1.0	0.2		0.2	1.6
Hydroxybutyric acid (isomer)						Trace
Glycolic acid		Trace			Trace	
Butanediol						
Alanine			0.2			
Glycine			Trace			
Hydracrylic acid		Trace			Trace	0.3
Hydroxymethylbutyric acid						Trace
Butanetriol (isomer)						8.4
Butanetriol (isomer)						Trace
Malonic acid					Trace	Trace
Dimethylphenol		Trace				
Valine			0.2			Trace
Glycerol		7.7	7.7		11.2	9.1
Phosphoric acid						1.2
Isoleucine			0.2			
Leucine			Trace			Trace
Proline			0.1			
Succinic acid		0.3	0.4		Trace	4.1
Diidroxipropanoic acid			Trace			0.2
Fumaric acid						0.1
Butanetriol		Trace				
Threonine			Trace			
Hydrocinnamic acid		1.1	0.2		0.2	0.7
Erythritol		1.7	0.4		2.6	6.9
Malic acid			0.3			1.3
Hexanedioic acid			Trace			0.1
Erythrose		4.5	12.1			2.9
5-oxo-proline			Trace			0.1

trihydroxybutyric acid			Trace			
<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	1.0		0.3		0.5	0.4
<i>p</i> -hydroxyphenylacetic acid			Trace			Trace
<i>p</i> -hydroxy-dihydrocinnamic acid	0.6		0.3		0.3	1.2
<i>o</i> -cumaric acid						0.3
Dihydroxybenzoic acid						0.7
Fructose	0.5		7.5			1.3
Tetradecanoic acid	0.2					
Inositol			0.9			
<i>p</i> -coumaric acid	5.3		3.3		2.3	7.8
Hexadecenoic acid	Trace					
Hexadecanoic acid	0.9				0.4	1.9
Ferulic acid	Trace					
Caffeic acid	1.1		0.9		0.5	
Linoleic acid			Trace			Trace
Oleic acid	1.0		Trace			3.7
Octadecanoic acid	0.2		0.3			0.2
Tetracosanoic acid	1.8		0.9		0.7	1.0
Hexacosanoic acid	1.0				Trace	
Lanosterol	1.3					
Octacosanoic acid			0.6		Trace	Trace
Obtusifoliol	0.5			1.3	1.3	
α -amirine	0.4					
β -amirine	1.0	0.6	0.6	1.0	1.2	
Lupenone	3.4	3.2		3.6	3.4	
Cycloartenol	8.0		5.0	8.4		7.3
Lupeol	16.9	12.1		17.3	18.6	
Friedour-7-en-3-one	1.9	2.5		2.4	0.8	
Friedour-7-en-3-ol	3.1			3.2		
β -amirine acetate	3.1		1.3	3.2	1.5	Trace
Lupeol acetate	26.3	14.9	3.8	23.7	20.0	8.2

* Fuente: Pereira, *et al.* (2002).

Cuadro A-2. Pesos del procesamiento de propóleo para obtención de la solución alcohólica al 50%.

Datos	Peso (gramos)
Total de propóleo recolectado	34.3
Bolsa Plástica	1.7
Total de propóleo	36
Beaker de 25 ml	57.8
Alcohol etílico 70%	36
Bolsa Plástica	1.7

Total de solución (propóleo + alcohol etílico 70%) **92.1 ml.**

Cuadro A-3. Promedio de datos por tratamiento y bloque de ancho de la verruga (cm).

	BLOQUES						ΣT^*	M.A. \pm *
	I	II	III	IV	V	VI		
T1	0,60	1,90	0,73	0,90	0,86	2,00	6,99	1,17 \pm 0,56
T2	0,86	3,50	1,53	0,68	5,88	0,85	13,30	2,22 \pm 1,897
T3	2,09	0,20	0,20	0,70	1,03	0,88	6,17	1,03 \pm 0,58
T4	1,20	1,00	1,00	1,50	2,70	0,77	8,17	1,36 \pm 0,64
ΣB^*	4,75	7,67	3,46	3,78	10,47	4,50	34,63	\pm 3,68

* ΣT = sumatoria total de tratamientos; ΣB = sumatoria total de bloques; M.A.= media aritmética; \pm = desviación estándar.

Cuadro A-4. Análisis de varianza del ancho de la verruga.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	F. tab. (0,05)
Tratamientos	3	5,12	1,71	1,38	3,03
Bloques	5	9,41	1,88	1,52	2,62
Error exper.	15	18,56	1,24		
Total	23				

Cuadro A-5. Promedio de datos por tratamientos y bloque de tamaño de la verruga (altura).

BLOQUES								
	I	II	III	IV	V	VI	ΣT^*	M.A. \pm *
T1	0,72	0,60	0,20	1,09	1,06	0,56	4,23	0,70 \pm 0,30
T2	0,94	3,90	1,35	1,18	4,80	0,80	12,97	2,16 \pm 1,571
T3	1,19	0,80	0,75	0,80	0,36	0,62	4,52	0,75 \pm 0,25
T4	0,60	0,80	0,30	1,60	1,73	0,27	5,30	0,88 \pm 0,58
ΣB^*	3,45	6,10	2,60	4,67	7,95	2,25	27,02	\pm 2,70

* ΣT = sumatoria total de tratamientos; ΣB = sumatoria total de bloques; M.A.= media aritmética; \pm = desviación estándar.

Cuadro A-6. Análisis de varianza de la altura de la verruga.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	F. tab. (0,05)
Tratamientos	3	8,69	2,896	3,67	3,03 *
Bloques	5	6,07	1,21	1,53	2,62
Error exper.	15	11,81	0,79		
	23				

* Existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro A-7. Coeficientes de la prueba de contrastes ortogonales de tamaño de la verruga (altura).

Cuadro de Coeficientes								
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	$\sum C_i Y_i$	$(\sum C_i Y_i)^2$	$\sum n C_i$	$(\sum C_i Y_i)^2 / \sum n C_i$
Contrastes	4,23	12,97	4,52	5,3				
C ₁ : T ₁ T ₂ - T ₃ T ₄	(+2)	(+2)	(-2)	(-2)	14,76	217,86	92	2,37
C ₂ : T ₁ - T ₂	(+1)	(-1)	0	0	-8,74	76,39	12	6,37
C ₃ : T ₃ - T ₄	0	0	(+1)	(-1)	-0,78	0,61	12	0,05

Cuadro A-8. Análisis de varianza para contrastes ortogonales de tamaño de la verruga (altura).

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	F. tab. (0,05)
Tratamientos	3	8,69	2,897	3,67	3,03 *
C ₁ : T ₁ T ₂ - T ₃ T ₄	1	2,37	2,37	3,00	4,54
C ₂ : T ₁ - T ₂	1	6,37	6,37	8,06	4,54 *
C ₃ : T ₃ - T ₄	1	0,05	0,05	0,06	4,54
Bloques	5	6,07	1,21	1,53	2,62
Error exper.	15	11,81	0,79		
Total	23				

* Existen diferencias significativas entre los contrastes.

Cuadro A-9. Promedio de datos por tratamientos y bloques de efectos secundarios (inflamación) luego de la aplicación de los tratamientos (cm).

BLOQUES								
	I	II	III	IV	V	VI	ΣT^*	M.A. \pm *
T1	0,78	0,77	2,19	0,00	0,29	3,07	7,10	1,18 \pm 1,09
T2	1,66	2,05	0,00	1,37	0,00	0,96	6,04	1,01 \pm 0,780
T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 \pm 0,00
T4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 \pm 0,00
ΣB^*	2,44	2,82	2,19	1,37	0,29	4,03	13,14	\pm 1,87

* ΣT = sumatoria total de tratamientos; ΣB = sumatoria total de bloques; M.A.= media aritmética; \pm = desviación estándar.

Cuadro A-10. Análisis de varianza de inflamación de la verruga.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	F.tab. (0,05)
Tratamientos	3	7,29	2,43	4,19	3,03 *
Bloques	5	2,04	0,41	0,71	2,62
Error exper.	15	8,74	0,58		
Total	23				

* Existen diferencias significativas entre los tratamientos

Cuadro A-11. Coeficientes de la prueba de contrastes ortogonales y de efectos secundarios luego de la aplicación de los tratamientos (inflamación).

Cuadro de Coeficientes						
	T ₁	T ₂	$\Sigma C_i Y_i$	$(\Sigma C_i Y_i)^2$	$\Sigma n C_i$	$(\Sigma C_i Y_i)^2 / \Sigma n C_i$
Contrastes	7,1	6,04				
C ₁ : T ₁ - T ₂	(+1)	(-1)	1,06	1,12	12	10,71

Cuadro A-12. Análisis de varianza de contrastes ortogonales de efectos secundarios luego de la aplicación de los tratamientos (inflamación).

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	F. tab. (0,05)
Tratamientos	3	7,29	2,43	4,19	3,03
C ₁ : T ₁ - T ₂	1	10,71	10,71	18,47	4,54
Bloques	5	2,04	0,41	0,71	2,62
Error exper.	15	8,74	0,58		
Total	23				

* Existen diferencias significativas entre los contrastes.

Cuadro A-13. Tiempo promedio (días) de eliminación de la verruga luego de los tratamientos.

BLOQUES	TRATAMIENTOS			
	T1	T2	T3	T4
1	0	9	0	0
2	0	0	0	0
3	8	8	0	0
4	0	6	0	0
5	0	5	0	0
6	0	0	0	0
Promedio	8	7	0	0

Cuadro A-14. Consistencia de las verrugas (dura o blanda).

Consistencia	Vacas
Duras	23
Blandas	1
Total	24

Cuadro A-15. Forma de las verrugas (coliflor, lisa, abotonadas, etc).

Consistencia	Vacas
Duras	23
Blandas	1
Total	24



Dra. Elsie de Rodríguez
MEDICO Y CIRUJANO
COLEGIADO No. 3018

LABORATORIO DE PATOLOGIA
6a. Avenida 7-00, 2o. Nivel Zona 10,
PBX: 2380-8160 • Fax: (502) 2332-6175
Teléfono 2232-3232 Y 1700
E-mail: elsiegr@itelgua.com
Guatemala, C. A.

Informe Patológico: S08-V42-45

INFORME DE PATOLOGIA QUIRURGICA

CUATRO VACAS

00 AÑOS

Nombre _____ Edad _____ Sexo M F Teléfono _____

DR. _____ HOSPITAL VETERINARIO

Médico Tratante _____ Hospital - Clínica

BIOPSIA PIEL

ESPECIMEN _____

Fecha de Recibido 08 SEPTIEMBRE 2008 Fecha de Entrega 12 SEPTIEMBRE 2008

SE RECIBEN CUATRO FRASCOS CON FORMALINA IDENTIFICADO COMO BIOPSIA DE PIEL, AREA NO IDENTIFIADA DE CUATRO VACAS, CON EL MISMO TIPO DE LESION, SEGUN REFERENCIA. LA TOTALIDAD SE INCLUYE PARA ESTUDIO.

DESCRIPCION MICROSCOPICA

LOS FRAGMENTOS EXAMINADOS CORRESPONDE A EPITELIO ESCAMOSO EL CUAL PRESENTA UN PATRON VERRUCOSO CON HIPERPLASIA DONDE SE OBSERVA HYPERKERATOSIS Y PARAKERATOSIS, MODERADA ACANTOSIS Y PAPILOMATOSIS, CELULAS VACUOLADAS EN LA PARTE SUPERIOR DEL EPITELIO. EL CENTRO DEL PAPILOMA ES FIBROVASCULAR. INFILTRADO INFLAMATORIO MODERADO, EN EL EPITELIO SE OBSERVA MARCADA VASODILATACION Y LOS NUCLEOS DE LA ZONA BASAL ENSANCHADA CON NUCLEOS HIPERCROMATICOS, AUMENTADOS DE TAMAÑO.

DIAGNOSTICO

- 1-PAPILOMA ESCAMOSO (LESION SIMILAR EN LAS CUATRO VACAS).
- 2-CAMBIOS EPITELIALES REGENERATIVOS MODERADOS.
- 3-INFILTRADO INFLAMATORIO INTRAEPITELIAL A EXPENSAS DE EOSINOFILOS Y NEUTROFILOS.
- 4-SECCIONES EXAMINADAS NEGATIVAS PARA MALIGNIDAD.

NOTA ESTE TIPO DE LESION PUEDE SER DE ORIGEN VIRAL.

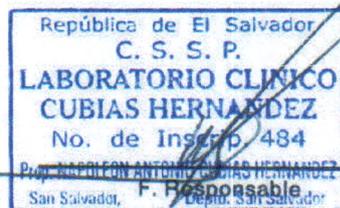
TOTAL DE 22 CORTES SERIADOS A ESTUDIO.

E. Rodríguez
Dra. Elsie de Rodríguez
Médico y Cirujano
Colegiado 3018

A-1. Identificación de virus de papiloma bovino (cortes histológicos).

DIVERSOS	Laboratorio Clínico "CUBIAS HERNANDEZ" ANALISIS CLINICOS 29 C. Ote. y 8a. Av. Norte No. 1616-1 Col. La Rábida, San Salvador Tel.: 2225-6135	HORARIO
Fecha:		6:30 a.m.
23-09-08	Doctor:	a
	Paciente: ESCALERA (Vaca)	6:30 p.m.
	Edad:	SERVICIO A
		DOMICILIO

MUESTRA : SEC. DE ABSCESO DE MANDIBULA
 CULTIVO : NO SE AISLA BACTERIAS PATOGENAS.



A-3. Cultivo bacteriológico.



Figura A-1: Mapa satelital del Rancho Alex Tejada, en el departamento de Chalatenango.



Figura A-2: Mapa satelital de la Granja Los Maldonados, en el departamento de Chalatenango.

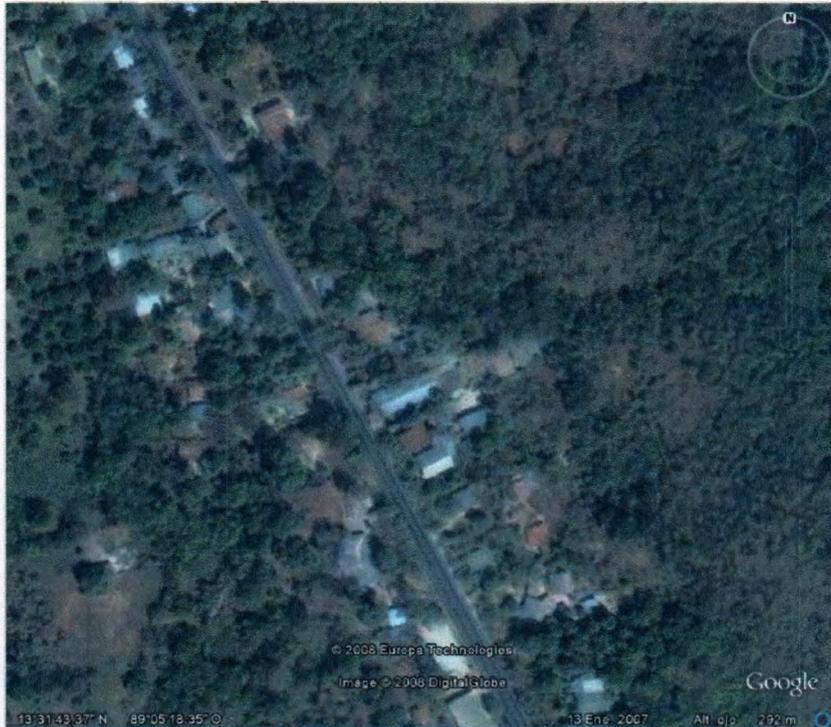


Figura A-3: Mapa satelital de la Granja Esperanza, en el departamento de La Paz.



Figura A-4: Mapa satelital de la Escuela Nacional de Agricultura (ENA), en el departamento de La Libertad.

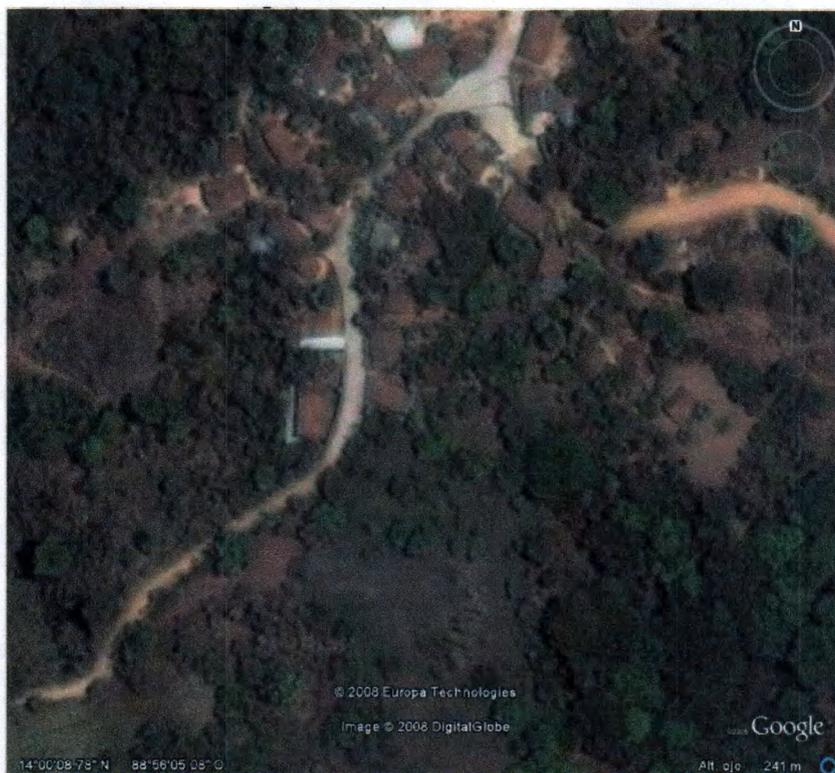


Figura A-5: Mapa satelital de Finca "San Ramón", en el departamento de Chalatenango.

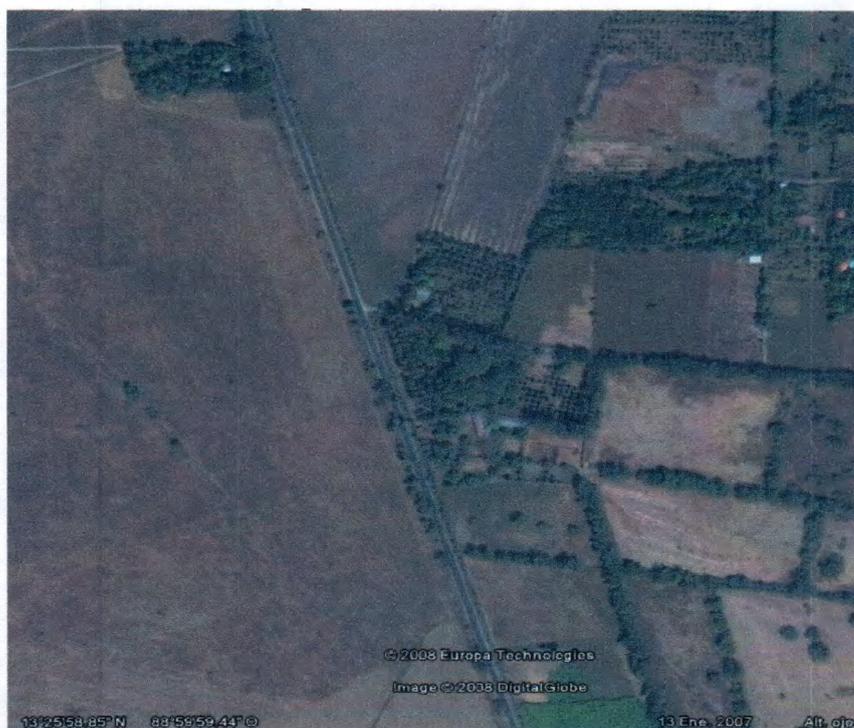


Figura A-6: Mapa satelital de Granja Mardonio, en el departamento de La Paz.



Figuras A-7 (izquierda) tratamiento de propóleo al 50% en día inicial y Figura A-8 (derecha) tratamiento de propóleo 50% en día que eliminó la verruga



Figura A-9. Tratamiento de propóleo al 25% al quinceavo día de observación.



Figura A-10. Procesamiento de la solución alcohólica de propóleo (troceado).



Figura A-11. Materiales utilizados para la obtención de la solución alcohólica de propóleo al 50%.



Figura A-12. Frascos con propóleo al 50%.