



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

“EMPLEO DE PROPÓLEOS COMO BACTERICIDA EN EL
CONTROL DE *Escherichia coli* Y *Salmonella sp.* EN OVEJAS
RAMBOUILLET”

TESIS DE GRADO
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
INGENIERO ZOOTECNISTA

EDWIN GERMÁN CARRILLO CÁCERES

RIOBAMBA – ECUADOR

2006

Esta tesis fue aprobada por el siguiente tribunal.

Ing. MC. Julio Enrique Usca Méndez.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. MC. César Iván Flores Mancheno.
DIRECTOR

Ing. MC. Luís Alberto Peña Serrano.
BIOMETRISTA

Dra. Georgina Hipátia Moreno Andrade.
ASESORA

Riobamba, 30 noviembre 2006

AGRADECIMIENTO

“El éxito no es obra de una sola persona”, por eso quiero plasmar mi agradecimiento a DIOS quien me a ayudado a lo largo de toda mi vida.

Así como también a todas las personas que de una u otra forma han colaborado para que este momento tan importante de mi existencia sea hoy una realidad. En especial a Dawn Shaw.

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico al Padre Eterno que se ha mostrado en los momentos más difíciles de mi vida.

A mis padres Carlos Carrillo y María Cáceres; a mis hermanas, María Fernanda y Maritza del Pilar por su amor incondicional.

CONTENIDO

	Página
Lista de Cuadros	vii
Lista de Gráficos	viii
Lista de Anexos	ix
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	3
A. EL PROPÓLEOS	3
1. <u>Definición</u>	3
2. <u>Recolección</u>	4
3. <u>Métodos de cosecha</u>	5
a. Método artesanal o método de raspado	5
b. Métodos técnicos (internos y externos)	6
4. <u>Limpieza, almacenamiento y conservación</u>	7
a. Limpieza	7
b. Almacenamiento	7
c. Conservación	8
B. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PROPÓLEOS	8
C. PROPIEDADES DE LOS PROPÓLEOS	11
1. <u>Propiedades fisicoquímicas</u>	12
2. <u>Propiedades terapéuticas</u>	12
3. <u>Propiedades bacteriostáticas y bactericidas</u>	14
4. <u>Propiedades fúngicas</u>	14
5. <u>Propiedades anestésicas</u>	15
6. <u>Propiedades cicatrizantes</u>	15
7. <u>Propiedades antioxidantes</u>	15
D. USOS DEL PROPÓLEOS	15
1. <u>Industria alimentaria</u>	16
2. <u>Medicina humana y veterinaria</u>	16
3. <u>Agricultura</u>	17
4. <u>General</u>	17
E. VALOR TERAPÉUTICO DEL PROPÓLEOS	17
F. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS OVINOS	18
1. <u>Sistemas de explotación</u>	18
2. <u>Alimentación</u>	19

3.	<u>Características productivas</u>	20
G.	BACTERIOLOGÍA	20
1.	<u>Definición de Bacteriología</u>	20
2.	<u>Las Enterobacterias</u>	21
a.	Subdivisión taxonómica del grupo entérico	21
3.	<u>Coliformes (<i>Escherichia coli</i>)</u>	22
4.	<u>Salmonelosis</u>	24
a.	Etiología	24
b.	Síntomas	25
c.	Diagnóstico	25
d.	Profilaxis, control y tratamiento	25
III.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	26
A.	LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	26
B.	UNIDADES EXPERIMENTALES	26
C.	INSTALACIONES, EQUIPOS Y MATERIALES	27
1.	<u>De campo</u>	27
2.	<u>De laboratorio</u>	27
a.	Equipos	27
b.	Materiales	27
c.	Reactivos	28
D.	TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	28
E.	MEDICIONES EXPERIMENTALES	29
F.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBA DE SIGNIFICACIÓN	29
G.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	30
1.	<u>De campo</u>	30
2.	<u>Preparación del jarabe de propóleos</u>	31
3.	<u>Trabajo de laboratorio</u>	32
4.	<u>Metodología de evaluación</u>	33
IV.	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	34
A.	CONTROL DE ESCHERICHIA COLI	34
1.	<u>Porcentaje de animales infestados</u>	34
2.	<u>Carga bacteriana</u>	36
3.	<u>Efectividad</u>	42
B.	CONTROL DE SALMONELLA SP	42
1.	<u>Porcentaje de animales infestados</u>	42

2. <u>Efectividad</u>	46
C. COMPORTAMIENTO DE LOS PESOS DE LOS ANIMALES	49
D. ANÁLISIS ECONÓMICO	52
V. <u>CONCLUSIONES</u>	54
VI. <u>RECOMENDACIONES</u>	55
VII. <u>LITERATURA CITADA</u>	56
ANEXOS	60

LISTA DE CUADROS

Nº		Página
1.	COMPOSICIÓN DEL PROPÓLEOS	9
2.	FLAVONOIDES PRESENTES EN EL PROPÓLEOS	9
3.	CONDICIONES METEOROLÓGICAS DE LA ZONA DE TUNSHI, CANTÓN RIOBAMBA, PROVINCIA DE CHIMBORAZO	26
4.	ESQUEMA DEL EXPERIMENTO	29
5.	ESQUEMA DEL ADEVA	30
6.	EFECTO DE DIFERENTES DOSIS DE JARABE DE PROPÓLEOS EN EL CONTROL DE <i>Escherichia coli</i> EN OVEJAS RAMBOUILLET	35
7.	EVOLUCIÓN DE LA CARGA BACTERIANA DE <i>Escherichia coli</i> EN OVEJAS RAMBOUILLET POR EFECTO DE DIFERENTES DOSIS DE JARABE DE PROPÓLEOS	39
8.	PORCENTAJE DE FECTIVIDAD DEL JARABE DE PROPÓLEOS EN EL CONTROL DE <i>Escherichia coli</i> EN OVEJAS RAMBOUILLET	43
9.	EFECTO DE DIFERENTES DOSIS DE JARABE DE PROPÓLEOS EN EL CONTROL DE <i>Salmonella sp</i> EN OVEJAS RAMBOUILLET	45
10.	PORCENTAJE DE FECTIVIDAD DEL JARABE DE PROPÓLEOS EN EL CONTROL DE <i>Salmonella sp</i> EN OVEJAS RAMBOUILLET	48
11.	COMPORTAMIENTO DE LOS PESOS EN OVEJAS RAMBOUILLET QUE RECIBIERON DIFERENTES DOSIS DE JARABE DE PROPÓLEOS COMO BACTERICIDA PARA EL CONTROL DE <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella sp</i>	51
12.	ANÁLISIS ECONÓMICO DE LA OBTENCIÓN Y DOSIFICACIÓN DEL JARABE DE PROPÓLEOS COMO BACTERICIDA PARA EL CONTROL DE <i>Escherichia coli</i> Y <i>Salmonella sp</i>	53

LISTA DE GRÁFICOS

Nº		Página
1.	Efecto de diferentes dosis de jarabe de propóleos en ovejas Rambouillet en el control de la infestación con <i>Escherichia coli</i> en 75 días de evaluación	37
2.	Efecto de diferentes dosis de jarabe de propóleos en ovejas Rambouillet en la carga bacteriana de <i>Escherichia coli</i> (UFC/g) en 75 días de evaluación	41
3.	Comportamiento de la efectividad (%) de diferentes dosis de jarabe de propóleos en ovejas Rambouillet en el control de <i>Escherichia coli</i> en 75 días de evaluación	44
4.	Efecto de diferentes dosis de jarabe de propóleos en ovejas Rambouillet en el control de la infestación con <i>Salmonella sp</i> en 90 días de evaluación	47
5.	Comportamiento de la efectividad (%) de diferentes dosis de jarabe de propóleos en ovejas Rambouillet en el control de <i>Salmonella sp</i> en 75 días de evaluación	50

LISTA DE ANEXOS

Nº

1. Resultados experimentales de la presencia de bacterias de *Escherichia coli* y *Salmonella sp* en ovejas Rambouillet que recibieron diferentes dosis de jarabe de propóleos
2. Análisis estadísticos de las cargas bacterianas de *Escherichia coli* registradas en ovejas Rambouillet por efecto de la aplicación de diferentes dosis de jarabe de propóleos
3. Análisis estadístico a través de la prueba de X^2 (Chi cuadrado) de la presencia inicial de *E. coli* en ovejas Rambouillet por efecto del suministro de diferentes dosis de jarabe de propóleos
4. Análisis estadístico a través de la prueba de X^2 (Chi cuadrado) de la presencia de *E. coli* a los 15 días postaplicación de diferentes dosis de jarabe de propóleos en ovejas Rambouillet
5. Análisis estadístico a través de la prueba de X^2 (Chi cuadrado) de la presencia de *E. coli* a los 30 días postaplicación de diferentes dosis de jarabe de propóleos en ovejas Rambouillet
6. Análisis estadístico a través de la prueba de X^2 (Chi cuadrado) de la presencia de *E. coli* a los 45 días postaplicación de diferentes dosis de jarabe de propóleos en ovejas Rambouillet
7. Análisis estadístico a través de la prueba de X^2 (Chi cuadrado) de la presencia de *E. coli* a los 60 días postaplicación de diferentes dosis de jarabe de propóleos en ovejas Rambouillet
8. Análisis estadístico a través de la prueba de X^2 (Chi cuadrado) de la presencia de *E. coli* a los 75 días postaplicación de diferentes dosis de jarabe de propóleos en ovejas Rambouillet
9. Análisis estadísticos de los pesos en ovejas Rambouillet por efecto de la aplicación de diferentes dosis de jarabe de propóleos

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas que enfrenta la producción pecuaria en el Ecuador, es la presencia de bacterias o microorganismos patógenas que afectan la producción animal, si este problema lo trasladamos a la explotación de ovinos en forma específica, se advierte que el problema se agrava por las condiciones en las que se desarrollan, por cuanto generalmente están en manos de los campesinos, los mismos que la catalogan como una forma de obtención de dinero de tipo marginal, lo que hace que los productores no lleven un control sanitario adecuado, sea por desconocimiento o descuido.

Los microorganismos patógenos afectan al hospedador de diversas maneras, dependiendo de la forma en que obtienen sus alimentos. En general, los animales jóvenes son más susceptibles al ataque de las bacterias, pudiendo incluso ocasionarles la muerte. Entre los principales microorganismos se cuenta la presencia de *Escherichia coli*, que es una bacteria que habita normalmente en el intestino del hombre y animales de sangre caliente, y desempeña un importante papel en la fisiología del intestino. La distribución en el ambiente está determinada por su presencia en el intestino, por ser un habitante regular y normal del intestino se usa desde hace un siglo como "el mejor" indicador de contaminación de los alimentos y del agua de bebida con materia fecal, no dejando de tener importancia la *Salmonella sp.*

Uno de los tratamientos alternativos para impedir la proliferación de estas bacterias puede ser el empleo del propóleos, que es un producto natural que desde tiempos remotos ha venido siendo utilizado como un poderoso medicamento o como protector de la colmena de las abejas, su uso ha sido muy diverso debido a muchas de sus propiedades, pero lamentablemente no se ha estudiado a este como se debería ser, debido a la falta de importancia que se le ha dado a este subproducto, así como el desconocimiento de sus propiedades, no se han realizado enfoques lo suficientemente convincentes como para industrializar al propóleos y demostrar sus cualidades y beneficios, a pesar de que las cualidades terapéuticas del propóleos son conocidas hace tiempos remotos así como: En Egipto, algunos milenios antes de Cristo, el propóleos ya era

utilizado por lo sacerdotes en cuyas manos se hallaba la medicina, la química y el arte de la momificación de cadáveres. Su máximo empleo se dio durante la guerra de los Boers, en África del Sur, alrededor de 1900 en el tratamiento de heridas infectadas así como cicatrizantes (<http://www.apinet>, 2001).

Según varios estudios, el extracto de propóleos tiene efectos bactericidas (que destruye las bacterias) y bacteriostáticas (se aplica a las sustancias que impiden o inhiben la multiplicación y el desarrollo de las bacterias), sin equivalentes entre las sustancias naturales con acción farmacodinámica conocidas hasta el día de hoy. El propóleos es uno de los productos apícolas de mayor eficacia en lo que concierne a los principios activos transmitidos de la planta al hombre, ya que puede controlar el desarrollo de al menos 30 cepas microbianas, las propiedades antimicrobianas del propóleos son principalmente debidas al contenido en flavonoides.

Por lo anotado, se plantearon los siguientes objetivos:

- Emplear el propóleos como bactericida en el control de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* en ovejas Rambouillet.
- Controlar *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* en ovinos hembras adultas con el uso de propóleos en diferentes dosis (2.0 ml, 4.0 ml y 6.0 ml por cada 15 kilos de peso vivo) en ovejas Rambouillet..
- Establecer la dosis adecuada propóleos para el control de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* en ovejas Rambouillet.
- Determinar el costo por dosis del producto aplicado

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A. EL PROPÓLEOS

1. Definición

Janin, A y Nimo, M (2002), indican que el término propóleos proviene del griego Propolis: Pro: "delante" o "en defensa de" y Polis: "ciudad". Esto es, "delante de la ciudad" (o de la colmena). Esta denominación no es para nada casual dado que las abejas colocan el propóleos, principalmente, en la entrada de la colmena para que con sus propiedades antibióticas impida la entrada de bacterias y otros agentes invasores que pueden transformarse en un peligro para la comunidad. Por tanto, el propóleos es una sustancia resinosa, balsámica y gomosa, de consistencia viscosa, producida por las abejas a partir de resinas vegetales recogidas de las plantas, que la transportan al interior de la colmena, modificándola en parte con sus secreciones (ceras y secreciones salivares). Su color varía de verde pardo, castaño hasta casi negro, dependiendo de su origen botánico. La cantidad de propóleos producida por la colmena depende del tipo de abeja y de la vegetación. De acuerdo a algunos estudios realizados, en las principales zonas de producción se pueden obtener rendimientos de 300 gramos anuales por colmena.

En <http://www.estarinformado.com.ar> (2003), se reporta que el propóleos es una gomo-resina, de composición compleja, de color verde pardo, castaño, rojizo e incluso puede ser casi negro (dependiendo de su origen botánico).

Maidana, J, Rodríguez, M y Chazarreta, A (2003), señalan que el propóleos es una sustancia elaborada por un grupo especializado de individuos de la colonia de abejas. Los miembros de este grupo, recolectan varios productos biológicos, existentes en las yemas y ramas jóvenes de los árboles, así como en el pecíolo de las hojas. Las abejas realizan estas operaciones en los días calurosos, con temperaturas superiores a 20°C y entre las 10 a 15 horas aproximadamente.

Maidana, J y Chaillou, L (2004), indicaron que el propóleos, elaborado por la

abeja a partir de resinas vegetales, es un valioso producto apícola por las numerosas propiedades del mismo: bacteriostático, bactericida, fungistático, fungicida, antiviral, citotóxico, anestésico, antioxidante, antitumoral, antiinflamatorio, etc. Estas propiedades, científicamente comprobadas en ensayos de laboratorio y clínicos, han transformado a este noble producto en el "oro púrpura de las abejas", y es por lo tanto, muy requerido por diferentes países del mundo, especialmente Alemania, Francia y Japón.

La cantidad de propóleos que produce una colmena depende del comportamiento pecoreador (de recolección) de resinas de la colonia y de la vegetación circundante. La *Apis mellifera* recoge la mayor cantidad de resinas de brotes de árboles, principalmente álamo, sauce, coníferas (ciprés, pino, thuya) pero también se destacan especies autóctonas de nuestro monte indígena como anacagüita, algarrobo, jarilla, acacia, entre otras (<http://www.estarinformado.com.ar>, 2003)

2. Recolección

La recolección responde a un patrón específico de forrajeo, las pecoreadoras extraen el propóleos de las yemas valiéndose de sus mandíbulas y con ayuda del primer par de patas. La secreción de las glándulas mandibulares (ácido 10-hidroxidecenoico) permite el ablandamiento para triturarlo y transportarlo a las cestillas. Al ingresar a la colmena, se dirigen inmediatamente al lugar donde éste es requerido y permanecen quietas, permitiendo a las abejas propolizadoras, tomar algunas partículas de la sustancia, comprimirlas y agregarles cera para proceder al propolizado (<http://www.estarinformado.com.ar>, 2003).

El propóleos de primera calidad debe presentarse como un material suelto en escamas o trozos quebradizos, de aspecto brillante, con un color que se puede variar del rojo al marrón oscuro gris. Para obtener propóleos en estas condiciones debe extraerse maduro (al quebrarlos, el corte debe ser brillante y no opaco), no debe extraerse cuando es plástico y/o gomoso, ya sea por la alta temperatura ambiental o por inmaduro. La experiencia aconseja la limpieza de las colmenas en los meses fríos, en esta época es más fácil cosecharlo limpio, pues ha madurado y no es pegajoso. Una vez cosechado, separar el polvo, colocarlo sobre un papel

y con una pinza sacar todas las impurezas posibles. Se debe cuidar muy bien que no tengan arena. En la actualidad a fin de obtener propóleos puros, se coloca en la parte superior de las colmenas, entre el alza y la entretapa, una malla plástica; allí deposita el propóleos la abeja. Luego esta malla es colocada 12 horas en el congelador de una heladera, se la retira y se la arquea, desprendiéndose así el propóleos puro (Bianchi, E. 1996).

3. Métodos de cosecha

Los métodos de obtención actuales permiten reducir el contenido excesivo de cera e incrementar notablemente la proporción de otros agentes como los flavonoides, polifenoles y componentes aromáticos. Las propiedades del propóleos tan importantes para la colmena se hacen extensibles a las personas que lo utilizan como alimento complementario (<http://www.elgranero>, 2001).

a. Método artesanal o método de raspado

Para un adecuado raspado, retirar las alzas y cuadros al preparar las colmenas para la invernada, ya que aprovechamos ese momento para confinar la colonia al menor espacio posible y el material excedente será transportado al taller del apicultor. Además en esa época la temperatura baja facilita la separación del propóleos de la madera y el estado rígido de la resina limita la posible contaminación con trozos de madera, abejas y otros contaminantes macroscópicos. Es recomendable utilizar una espátula de acero inoxidable, sin mucho filo para reducir el riesgo de arrastrar virutas de maderas. Cuidar de no raspar donde haya pintura sobre la madera, pues ésta es uno de los mayores responsables de la contaminación del propóleos y es fácilmente detectable. Se debe realizar el raspado del propóleos que se encuentra en las superficies interiores de la colmena: tapa, cuadros y cajas, desechando el que se encuentra en el fondo, pues generalmente está muy contaminado. La recolección se debe realizar con las manos y espátula libres de restos de miel, tierra o cualquier otra sustancia que pueda contaminarlo. Durante la cosecha, el propóleos no debe exponerse a la incidencia directa de los rayos solares, evitándose su almacenamiento cerca de fuentes de calor como el ahumador. No debe mezclarse

con la cera que se encuentra en la tapa, entre los marcos y sobre ellos. Siempre debe tratarse de evitarse que el propóleo se compacte. Para lograrlo, el propóleo recolectado no se debe comprimir con las manos para formar pelotas, por el contrario, se debe mantener en formas de escamas y/o trozos sueltos. Los propóleos procedentes de diferentes zonas de recolección no se deben mezclar. Los medios de transporte para trasladar la producción de propóleos deben estar limpios, secos, libres de combustibles u otras sustancias tóxicas que le impregnan olores y sabores extraños que afectan la calidad del propóleo. Si las colmenas que fueron utilizadas para obtener propóleos se desean utilizar para realizar trashumancia hacia otra zona de recolección, se debe raspar todo el propóleo en las partes interiores de la colmena inmediatamente antes o después de que ésta se efectúe (<http://www.estarinformado.com.ar>, 2003).

b. Métodos técnicos (internos y externos)

Dentro de los métodos técnicos se tienen:

- Mallas matrizadas de diferentes procedencias (brasileñas, alemanas y otras).
- Mallas de tejido mosquitero plástico.

Independientemente del proceso que se utilice para la recolección: raspado, uso de mallas plásticas y del tipo de producto a entregar: natural o en forma de extractos, es fundamental que sea de buena calidad. En todas las etapas del manipuleo, 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 (<http://www.apinet>, 2001).

Además, luego de la recolección y transporte para la planta de proceso, es importante realizar las siguientes tareas:

- Procesado a la sombra, para favorecer las etapas posteriores

- Limpieza manual o mecánica de las posibles impurezas
- Refrigeración a -20°C durante 72 horas para eliminar larvas y huevos.
- Almacenamiento en lugar fresco y seco, en recipientes bien cerrados.
- Cuando se va a comercializar al estado natural, es necesario efectuar una clasificación por tamaño de gránulos, a través de un proceso de tamizado.

4. Limpieza, almacenamiento y conservación

a. Limpieza

El primer paso luego de obtenido el propóleos es la limpieza del mismo con una pinza, cuidando de retirar contaminantes macroscópicos como abejas, trozos de madera, pasto, etc. Cuidar de retirar aquellos trozos de propóleos que puedan venir con pintura adherida, ya que ésta es una de las principales fuentes de contaminación. Es útil disponer de una bandeja apropiada para depositar el propóleos, mientras se procede a su inspección. Es conveniente que la bandeja sea de pocos centímetros de altura, de material plástico o de madera, que esté ubicada sobre una mesa, apropiadamente iluminada para que el operario trabaje cómodamente (<http://www.estarinformado.com.ar>, 2003).

b. Almacenamiento

Para que las propiedades del propóleos recogido no se pierdan o alteren, es recomendable acopiarlo en bolsas de plástico transparentes, hasta que se entregue para su utilización. Se debe tener la precaución de no almacenar grandes volúmenes, para evitar que se compacte desmereciendo significativamente la calidad del producto. Es prudente guardar estas bolsas dentro de cajas de cartón, madera o un recipiente apropiado que lo proteja de las altas temperaturas y en especial de la luz. Otra posibilidad sería conservarlo en frascos de vidrio de color ámbar. El almacenamiento se realizará en locales limpios, libres de roedores y plagas, secos, ventilados, separándolo del piso y de las paredes. Nunca se debe almacenar el propóleos a la intemperie, ni cerca de fuentes de contaminación como son las acumulaciones de panales viejos o material apícola en desuso (<http://www.estarinformado.com.ar>, 2003).

c. Conservación

En general, si el propóleo recolectado se va a almacenar por largo tiempo, se debe conservar sometiéndolo a temperaturas que oscilen entre -10° y -20°C durante 48 horas. Se pueden utilizar los freezer de uso doméstico, siendo recomendables los de cuatro estrellas o tropicales. Una vez retirado del mismo, no se debe dejar expuesto al aire ya que tiende a condensar la humedad ambiente. Es conveniente cubrirlo con un plástico hasta que alcance la temperatura del lugar donde se conservará. Si por alguna razón, se detectan fragmentos de propóleos atacados por polilla, el mismo se debe separar inmediatamente y destruirlo. Posteriormente se debe inspeccionar el resto de las muestras para descubrir y eliminar en caso necesario cualquier otro foco de contaminación. A modo de seguridad, la muestra que presentó polillas se somete a congelamiento utilizando las condiciones previamente establecidas (<http://www.estarinformado.com.ar>, 2003).

B. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PROPÓLEOS

Ariel, D (1980), reportó que la composición química del propóleos es: Resinas y bálsamos 55%, cera 30%, aceites aromáticos volátiles 10% y polen 5%. Se han identificado más de 160 compuestos, de los cuales un 50% son compuestos fenólicos, a los cuales se les atribuye acción farmacológica. Las sustancias más específicas son: bioflavonoides, bálsamos, ceras vegetales, aceites esenciales, ácidos aromáticos, vitaminas y oligoelementos (hierro, cobre, zinc). Existe otro grupo de compuestos y elementos minerales que se encuentran como trazas que resultan de fundamental importancia en la actividad biológica del propóleos y en el metabolismo celular, destacándose la pro vitamina A y algunas vitaminas del complejo B, en especial B3 o nicotinamida, además de lactonas, polisacáridos, aminoácidos y otras sustancias aun no identificadas.

Según Bankova, V y col. (1988), los flavonoides, constituyentes principales de resinas y bálsamos, representan el 35% de los compuestos del propóleos del sur de Bulgaria, con la siguiente composición: pinocembrina 21,4%; galangina 5%; crisina 4.8%; quercetina 2,2% y tectocrisina I, 1 %. Los análisis realizados por

Belestrieri, F y Marini, D (1987) sobre muestras de propóleos rumanos, dan en porcentaje los siguientes valores: aceites esenciales: 6,5; resinas y bálsamos: 51.3%; ceras: 34.7%; polen: 3.5% y otros constituyentes: 4%. Para estos autores, los constituyentes mayoritarios del propóleos son de naturaleza fenólica (principalmente flavonoides), y no contienen proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, hormonas ni vitaminas.

Según Philippe, J (1990), la composición química del propóleos varía fuertemente según su proveniencia y puede ser como la siguiente:

Cuadro 1. COMPOSICIÓN DEL PROPÓLEOS

COMPONENTE	CANTIDAD
Ceras	30%
Resinas y bálsamos	55%
Aceites esenciales	10%
Polen	5%

Fuente: Philippe, J (1990).

Según Bankova, V (2000), señala que los flavonoides, son los constituyentes principales de resinas y bálsamos, se encuentran presentes en los propóleos y entre los más conocidos están los siguientes:

Cuadro 2. FLAVONOIDES PRESENTES EN EL PROPÓLEOS

FLAVONOIDES	CANTIDAD
Pinocembrina	21,4%
Galanzina	5%
Crisina	4,8%
Quercitina	2,2%
Tectocrisina	1,1%

FUENTE: Bankova, V (2000).

En Cuba existen más de 10 tipos diferentes de propóleos, cuya composición fenólica tiene el enorme rango de 0,1 al 15%, como ácido gálico y que contienen

de 7 al 70 % de sólidos solubles, sin que por ello dejen de ser excelentes por sus propiedades medicinales (Asis, M. 1991).

Según Bianchi, E (1996), a diferencia de otros productos del panal, el propóleo no contiene ni lípidos, ni proteínas ni sustancias hormonales, ni vitaminas. Pero contiene en gran proporción un mayor número de sustancias minerales y de oligoelementos (un 5%) que juegan un papel de gran importancia en numerosos metabolismos celulares como son: aluminio, bario, calcio, cromo, cobalto, cobre, estaño, hierro, manganeso, níquel, plomo, silicio, estroncio, titanio, vanadio y zinc. Entre los principales componentes figuran los flavonoides, los cuales entre otras funciones, desarrollan una acción directa sobre los capilares sanguíneos, potencian la actividad del ácido ascórbico y disminuye la inflamación. No obstante, en el propóleo hay sustancias que todavía no están determinadas, y que son importantes por las propiedades y efectos biológicos de cada elemento.

<http://www.notiabeja.com> (2000), reporta que los propóleos es un conjunto de sustancias resinosas, gomosas y balsámicas, de consistencia viscosa, obtenidas por las abejas, de algunas especies vegetales, principalmente de árboles, básicamente se compone de un 50 a 55 % de resinas y bálsamos, 30 a 40 % de cera de abeja, 5 a 10 % de aceites esenciales o volátiles, 5 % de polen y 5% de materiales diversos (orgánicos y minerales). Se han identificado más de 160 compuestos, de los cuales un 50% son compuestos fenólicos, a los cuales se les atribuye acción farmacológica. Los principales fenoles identificados son: flavonoides, ácidos aromáticos y sus ésteres, aldehídos aromáticos, cumarinas, triglicéridos fenólicos. La composición del propóleo depende de las fuentes vegetales disponibles por las abejas en su zona de recolección y de la función específica que se necesita dentro de la colonia.

De acuerdo a Salamanca, G, Ramírez, C y Pubiano, L (2002), los propóleos, por su consistencia y tipos de componentes, pueden clasificarse dentro de los grupos de naturaleza fluida como los bálsamos que son de consistencia densa, poco volátiles y con frecuencia sufren reacciones de polimerización y las oleorresinas que llevan asociado el aroma de las plantas, siendo semisólidas y de consistencia cauchosa. Un análisis primario de cualquier muestra de propóleos permitirá

determinar la presencia de cera (20-30%). Por raspado se presenta mayor cantidad de resinas y bálsamos aromáticos (40-50%), aceites esenciales (5-10%), polen (4-5%) y mezclas mecánicas (10-30%).

Maidana, J, Rodríguez, M y Chazarreta, A (2003), manifiestan que en el Departamento Capital de la Provincia de Santiago del Estero (Argentina) al efectuar la determinación de fenoles totales en propóleos de los apiarios existentes en dicha zona, encontró que el contenido de fenoles varían dentro de un rango muy amplio de 0 al 30%, las resinas totales entre 41 a 70 % e índices de oxidación entre 0.02 a 6 minutos.

C. PROPIEDADES DE LOS PROPÓLEOS

Janin, A y Nimo, M (2002), reportan que entre el 1º y el 2 de septiembre del 2002, se llevó a cabo en Buenos Aires el Primer Congreso Internacional de Propóleos, organizado en forma conjunta por el Programa de Desarrollo Apícola (PROAPI-INTA), la empresa Reino S.A. y la SAGPyA a través del Programa Miel 2000. Participaron del mismo más de 750 personas relacionadas con la apicultura y la comunidad médica, provenientes de más de 10 provincias argentinas y de países tales como El Salvador, Colombia, Brasil, Estados Unidos, Egipto, Japón y Uruguay, entre otros. Durante el Congreso se trataron las distintas propiedades que poseen los propóleos, desde su capacidad antimicrobiana, cicatrizante y antiinflamatoria hasta su propiedad antioxidante, inmunoestimulante y citotóxica, además de los usos que se le dan en el área de la alimentación, la medicina y la cosmética. También se analizaron las alentadoras perspectivas que presenta el mercado internacional para su comercialización, y los avances y estudios que se están desarrollando para determinar las características físicas químicas por regiones, y las mejores técnicas para su recolección. La reunión permitió concluir con fundamento que la explotación apícola amplía cada vez en mayor medida su abanico de posibilidades productivas ya que no solo puede obtenerse miel sino también tal es el caso de la jalea real, el polen, la cera, la apitoxina, los servicios de polinización, nómina a la que se suma cada vez con mayores perspectivas el propóleos. Las propiedades con las que cuenta el propóleos son numerosas y diversas. Su principal uso se da en la rama medicinal (se estiman a nivel mundial

19 propiedades terapéuticas) pero también se lo utiliza mucho en cosmética y en la industria alimentaria. Las propiedades fundamentales con respecto a su actividad biológica son:

- Antimicrobiana (bacteriana, micótica y viral).
- Inmunoestimulante.
- Cicatrizante, anestésica y antiinflamatoria.
- Vasoprotectora.
- Antiparasitaria.
- Antitumoral y radioprotectora.
- Antioxidante.
- Antifúngica.
- Fitoinhibidora.
- Regeneradora de los tejidos.

1. Propiedades fisicoquímicas

El propóleo presenta una consistencia variable, dependiendo de su origen y de la temperatura. Hasta los 15°C es duro y se torna más maleable a medida que aumenta la temperatura. Su punto de fusión varía entre 60 a 70°C, llegando en algunos casos hasta 100°C. Su color también es variable, de amarillo claro a marrón oscuro, pasando por una gran cantidad de tonos castaños. Dependiendo del origen vegetal puede presentar color pardo a negro. Su olor también es muy variable, generalmente es agradable, y en algunos casos recuerda a su origen vegetal, mientras que en otros casos posee olor predominante a cera (<http://www.apinet>, 2001).

Tiene efectos antiproteolíticos, proceso por el cual las proteínas se hidrolizan y desdoblán bajo la influencia de ciertos agentes químicos (Maidana, J, Rodríguez, M y Chazarreta, A. 2003).

2. Propiedades terapéuticas

Los flavonoides absorben radiación electromagnética y de esta forma representan

una protección natural para las plantas contra la radiación del sol. Esto explica el efecto protector sobre la piel de ciertos preparados en base a los propóleos. En términos de acción farmacológica, los principales constituyentes del propóleos son los compuestos fenólicos. En la naturaleza podemos encontrar diversos tipos de compuestos fenólicos entre los que se pueden citar los ácidos fenólicos (benzóico, caféico, felúlico y cinámico) y los flavonoides. Algunos compuestos fenólicos de origen vegetal resultan familiares, al menos en su acción organoléptica, por ejemplo la vainilla, el anetol y el eugenol (<http://www.notiabeja.com>. 2000).

Dadas estas propiedades, existen medicamentos a base de propóleos para el tratamiento de quemaduras y llagas, dermatosis, faringitis, rinitis, traqueitis, gingivitis, prostatitis, infecciones de las vías urinarias y úlceras, así como antiséptico y bactericida bucal. En medicina veterinaria es utilizado para cicatrizar heridas, tratamiento de abscesos, quemaduras y dermatosis. La farmacopea actual menciona su uso como hipocolesterolemiante o reductor de la tasa de colesterol en sangre por el hecho de disminuir la absorción de las grasas a nivel intestinal (Maidana, J, Rodríguez, M y Chazarreta, A, 2003).

Kain, G y Steinberg, G (2004), indican que en estudios previos se ha demostrado la actividad antibacterial del propóleos sobre bacterias orales en Vivo e In Vitro.

- IN VITRO: el efecto antibacterial del propóleos contra *Streptococcus sobrinus* 6715 (*S. sobrinus*) se determinó usando el MIC agar ensayo. Propóleos de soluciones (0,8% - 0,0002%) se incubaron con *S. sobrinus*. Las diluciones de seriales de cada concentración estaban dispuestas y platearon sobre trypticase agar. El efecto antibacterial del propóleos es medido por la enumeración de la colonia que forma las unidades sobre el plato. Los resultados indican que el Propóleos tiene efecto bacteriológico en concentraciones mayor de 0,2% de propóleos.
- IN VIVO: El antibacterial afecto del propóleos se probó, sobre voluntarios humanos. Diez voluntarios enjuagaron su boca con 1,5 cc de 0, 2 %. cc de propóleos solución. La antibacterial actividad del propóleos se avaluó

plateando muestreos salivales sobre trycase soy agar (bacterias totales) y mitls salivarius bacitracin para la enumeración de *Streptococci mutans*. Los muestreos salivales se tomaron antes de enjuagar, a los 10 minutos y a los 60 minutos después del enjuague. Una significativa reducción del 65 % (desde básica) en el Streptococci de conteos se midió a los 10 minutos después de la aplicación del propóleos. Esta reducción se mantuvo pareja después de una hora (60 % la reducción). Una reducción similar se registro para conteos bacteriológicos totales.

3. Propiedades bacteriostáticas y bactericidas

Según estudios de Lavie, P (1988), el extracto de propóleos tiene efectos bacteriostáticos al menos sobre 30 cepas microbianas. Para Mirzoeva, O y Calder, P (1996), las propiedades antimicrobianas del propóleos son principalmente debidas al contenido en flavonoides, principalmente pinocembrina, galangina y pinobanksina, entre otros.

Según Bianchi, E (1996), las propiedades bacteriostáticas y bactericidas fueron demostradas principalmente sobre ciertos estafilococos, estreptococos y salmonellas, sobre *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris* y *Escherichia coli*. Estas propiedades antimicrobianas parecen ser directamente proporcionales a su concentración y esta relacionada con el ácido benzoico y otros.

El propóleos tiene propiedades bactericidas (que destruye las bacterias) y bacteriostáticas (se aplica a las sustancias que impiden o inhiben la multiplicación y el desarrollo de las bacterias), sin equivalentes entre las sustancias naturales con acción farmacodinámica conocidas hasta el día de hoy. El propóleos es uno de los productos apícolas de mayor eficacia en lo que concierne a los principios activos transmitidos de la planta al hombre (Maidana, J, Rodríguez, M y Chazarreta, A. 2003).

4. Propiedades fúngicas

Actúa sobre algunas especies de hongos que pueden provocar afecciones

parasitarias o micosis, y que están en relación al contenido de propóleos con el ácido caféico y otros. La *Apis mellífera* dispone de un total de siete tipos de antibióticos: una sustancia que protege el cuerpo de la abeja, la miel, la jalea real, el polen, el propóleos, el veneno y la cera (Bianchi, E. 1996).

5. Propiedades anestésicas

Son muy notables y están ligadas a su contenido en aceites volátiles o esenciales. Según varios autores, a estas propiedades se les otorga efectos superiores a los de la cocaína y novocaína (Bianchi, E. 1996).

6. Propiedades cicatrizantes

Es muy considerable, pues estimula y favorece la regeneración de los tejidos. Actualmente algunos países, utilizan el propóleos para las afecciones bucofaríngeas y dentales, debido a su acción cicatrizante y antibiótica (Bianchi, E. 1996).

7. Propiedades antioxidantes

Poseen una importante acción antioxidante comparable a la vitamina E, minimizando la peroxidación lipídica y el efecto de los radicales libres. El interés en los flavonoides de los propóleos se debe a que evidentemente ellos son parte responsable de la actividad fisiológica del mismo. Desde este punto de vista, en principio, los más interesantes de identificar y cuantificar son: quercitina, Kaempferol, Naringenina, Acacetina, Apigenina, Pinocembrina y Galangina. Actuando en forma sinérgica con los anteriores se encuentran los siguientes compuestos fenólicos: ácido caféico, ácido ferúlico, ácido cinámico (<http://www.notiabeja.com>, 2000).

D. USOS DEL PROPÓLEOS

Janin, A y Nimo, M (2002), indican que las propias abejas determinan las funciones del propóleos en la colmena de acuerdo a sus necesidades. Lo utilizan

por sus cualidades antisépticas y desinfectantes para el tapizado interior de las celdillas que albergarán los huevos y larvas; por su consistencia y propiedad aislante, para rellenar grietas y agujeros, así como para revestir el interior de la colmena a fin de disminuir corrientes de aire, temperatura y vibraciones. Lo utilizan, también, para "embalsamar" a los intrusos que ingresan a la colmena (lauchas o culebras, por ejemplo) y evitar así su putrefacción. Mezclado con ceras, tierra, arena y restos vegetales, lo emplean para "achicar" el tamaño de la entrada de la colmena (piquera) bloqueando el ingreso de indeseables o protegiendo la ciudad en caso de clima frío o mucho viento. A continuación se detallan los usos más sobresalientes aplicables en variadas industrias:

1. Industria alimentaria

En muchos países, se lo utiliza como aditivo por sus propiedades antioxidantes y antisépticas. Unas gotas de solución de propóleos incluidas en productos envasados o en alimentos frescos, pueden prolongar entre dos y tres veces su vida útil. Esto ha sido comprobado en experiencias realizadas con pescados congelados, grasas y aceites y podrían extenderse a otra clase de alimentos tales como carne vacuna, cordero, cerdo, pollo, fruta, etc. Es muy útil, además, para mejorar la calidad del ron y otras bebidas alcohólicas. En algunos países, se han efectuado estudios con resultados positivos para conservar el mango semielaborado con propóleos (Janin, A y Nimo, M. 2002).

2. Medicina humana y veterinaria

La referencia histórica más lejana data del antiguo Egipto, donde fue utilizado en las mezclas para embalsar los cuerpos de los faraones. Mencionado también en la Biblia como "bálsamo o resina", fue aplicado a distintos usos por casi todas las civilizaciones: china, hindú, romana, persa, etc. Aristóteles se refería a él como el remedio para las infecciones de la piel y las llagas y el famoso médico y filósofo persa Avicena, en el siglo XI, expresaba: "tiene la cualidad de eliminar las puntas de flechas y las espinas; vivifica, limpia fácilmente y ablanda fuertemente". También los incas lo utilizaban cuando se presentaba un cuadro de infecciones. Su máximo empleo se dio durante la guerra de los Bóers, en África del Sur,

alrededor de 1900 en el tratamiento de heridas infectadas y como sustancia cicatrizante. Ya en nuestro siglo, su mayor uso se produjo durante la Segunda Guerra Mundial para el tratamiento de heridas, también como cicatrizante (Janin, A y Nimo, M. 2002).

3. Agricultura

Las propiedades bacteriostáticas, bactericidas y desinfectantes se extienden también a la protección de las plantas por lo cual tiene una gran aplicación en los tejidos lesionados por causas accidentales o por injertos. También demuestra ser un exitoso fungicida, antiviral y estimulante del crecimiento de la vegetación y es eficaz contra el mildiu y la sarna. Según ensayos realizados en otros países, se ha comprobado que inhibe el virus del mosaico del pepino, el virus de las manchas y de necrosis del tabaco. Como fitoinhibidor, para evitar el brotado de papas; las experiencias se realizaron también en lechuga, colza y girasol. En apicultura, se utiliza una solución alcohólica de propóleos para atraer enjambres naturales. Es conveniente su uso para proteger los materiales apícolas y barnizar colmenas para mantener su higiene y sanidad (Janin, A y Nimo, M. 2002).

4. General

Hay diversas experiencias en el mundo con respecto a la utilización del propóleos en la elaboración de barnices y pinturas destinado a proteger muebles y otros objetos de maderas. En regiones de climas muy fríos, se lo ha aplicado como barniz en trineos para evitar su deterioro por nieve o frío intenso. También, como anticorrosivo de objetos de metales preciosos (láminas de oro, plata) y de otros metales así como en la protección de cueros, pieles y zapatos contra los insectos y la humedad o para teñirlos (Janin, A y Nimo, M. 2002).

E. VALOR TERAPÉUTICO DEL PROPÓLEOS

El crecimiento de varias capas de *Mycobacterium* patógenos, así como de varias especies de *Mycobacterium* saprofitos fueron inhibidos por extractos alcohólicos del propóleos (Henderson, A. 1989).

Ciertas fracciones del propóleo contienen una sustancia capaz de inhibir in Vitro el crecimiento de *Bacillus tuberculosis*. El extracto de propóleo tiene efectos bacteriostáticos sobre al menos treinta cepas microbianas, inhibe el desarrollo de numerosas bacterias gram positivas. En triptosa que contienen 0,5 mg de propóleo/ml, *Streptococcus viridans* y *Streptococcus agalactiae*, son inhibidas completamente (Asis, M. 1989).

La acción antimicrobiana de extractos de etanol de muestras de propóleo de 18 regiones diferentes de la Unión Soviética, y mostró que esta acción varía con el origen del propóleo. Diluidos des 60 mg/lit hasta 1 g/lit en el agar de placas petri, estos extractos inhibieron el desarrollo de *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*, a una concentración de 125 a 500 mg/lit según el origen del propóleo (Smith, R. 1992).

Los extractos del propóleo tratados con agua a 80°C o alcohol etílico a 96°C, inhiben el crecimiento de *Staphylococcus aereus*, *Staphylococcus str. Oxford*, *Streptococcus sp A y B*, *Proteus rettgeri*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus circus*, *Literia monocytogenes*, *Erysipelotfrix insidiosa*, *Corynebacterium equi*, *Pasteurella multocida* y *Clostridium perfringes*. La actividad bacteriostática se manifiesta con un pH entre 6 y 6,9. Estos extractos fueron eficaces contra once de estas bacterias que 0,04 U.I. de penicilina/ml, pero no inhibieron el crecimiento de *Escherichia coli* (Grecianu, A and Enciu, V. 1996).

F. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS OVINOS

1. Sistemas de explotación

Según Peña, L (2002), en la producción ovina existen 3 sistemas de explotación:

- Sistema extensivo: Antitécnico, actualmente se lo viene utilizando por ser el más barato, están pastoreando libremente en grandes áreas y duermen en talanqueras; las talanqueras son corrales portátiles de 3 m de largo por 1.20 de altura; es conveniente que se realice el ovino nocturno contra predadores; en este sistema la capacidad de carga animal es de 30 ovinos/ha; en donde

se ha obtenido una buena performance debiendo anotarse que es un pastoreo rotativo para permitir la recuperación del pastizal y romper el ciclo de algunos parásitos.

- Sistema mixto: Consiste en combinar el pastoreo más la estabulación, animales que estén en el último tercio de gestación; hembra que están pariendo deben también ser estabuladas otros animales que deben ser estabulados son aquellas que van a sufrir el proceso de esquila; animales enfermos hasta su recuperación.
- Sistema intensivo o estabulación: Se emplea para animales de cabaña o plantel que son lo mejor de lo mejor, puros por pedigrí; son de alta selección por lo tanto requieren de alta calidad alimenticia, cuidados sanitarios y de un manejo de acuerdo a su condición genética; los animales que deben estar en cría intensiva o estabulación son aquellos que están siendo preparados para exposición.

2. Alimentación

Consumen el 10% de su peso corporal, un ovino prefiere pastos finos y cortos, consumen casi toda clase de gramíneas y leguminosas. Tienen por costumbre pastorear caminando y otros en un solo lugar, cuando los potreros están formados por muchas leguminosas no es conveniente soltarlos al potrero en las primeras horas de la mañana (Peña, L. 2002).

En la actualidad la mayor parte de los ovinos son alimentados con pastos naturales como stipas, llantén, kikuyo, etc. que se caracterizan por su bajo contenido de proteína y alto contenido de celulosa y hemicelulosa, además no se administra minerales ni vitaminas. Por otro lado el agua de bebida que reciben proviene de charcos que comúnmente existen en los sitios de pastoreo, que por naturaleza son aguas contaminadas.

En estas condiciones los animales están sobreviviendo, debido al manejo alimenticio que reciben, y producto de ello presentan un peso de 2,5 kg al

nacimiento, 12,6 kg al destete y 25,7 kg en adulto, adicional a estos parámetros presentan menor desarrollo, una pobre producción de lana, pubertad tardía, celos silentes y una cría/ parto / año (Ortiz, P. 2002).

3. Características productivas

Entre las principales características productivas de los ovinos, Peña, L (2002) reporta los siguientes:

- **Peso vivo:** Los ovinos criollos en el país tienen un peso vivo promedio que fluctúa entre 20 a 30 Kg. En cambio los ovinos adultos Rambouillet, Corriedale y otros razas están entre los 35 a 70 Kg
- **Incremento de peso diario:** La ganancia de peso/día en animales que son alimentados en pradera nativa están en el rango de 60 a 140 g/día. En cambio aquellos animales que son alimentados en pradera mejorada la ganancia de cada día es de 120 a 210 g/día.
- **Rendimiento de carcasa:** El rango de rendimiento de carcasa ovina está entre 45 a 50% con un medio óptimo de 49%. En cambio las razas cárnicas como la Suffolk superan ampliamente este margen llegando a 60%.
- **Peso de la carcasa:** El peso de la carcasa ovina fluctúa entre 9 kilos medios en las explotaciones deficientes y 18 kilos medios en explotaciones deficientes; siendo el medio nacional de 10 kilos.

G. BACTERIOLOGÍA

1. Definición de Bacteriología

Fesquet, J (1987), manifiesta que, las bacterias son microorganismos capaces de resistir temperaturas muy bajas y otras condiciones adversas del medio, merced a su particularidad que tienen muchas de ellas de formar esporas que les permiten vivir en vida latente durante largos periodos.

De acuerdo a Gillies, R y Dodds, T (1985), toda bacteria está limitada por una pared semirrígida, esta pared celular no es esencial para la supervivencia de la

bacteria y su contenido interno puede ser mantenido con un control cuidadoso del ambiente. Inmediatamente más adentro de la pared celular se encuentra la pared citoplasmática compuesta esencialmente de lipoproteínas las cuales tienen una muy selectiva absorción de nutrientes y excreción de productos de deshecho está membrana junto con la pared celular es probablemente la encargada de determinar la respuesta en la reacción a la tinsión de Gram.

2. Las Enterobacterias

El descubrimiento de la transferencia de genes, por conjugación y transducción, en el grupo entérico, ha permitido estudiar en detalle a algunos de sus integrantes. Se puede conseguir genóforos híbridos de *E. coli* con especies de salmonella y de shigella, lo cual es indicativo de que estas bacterias comparten un grado notable de homología a nivel genético.

a. Subdivisión taxonómica del grupo entérico

Ponce, F y Luna, G (1994), indican que la composición de bases del DNA, junto con algunos caracteres bioquímicos y fisiológicos, permite el reconocimiento de cuatro subgrupos principales:

- Grupo I: Escherichia-Salmonella-Shigella, los miembros de este grupo son habitantes del tracto intestinal del hombre y otros vertebrados.

- Grupo II: Enterobacter-Serratia-Erwinia Enterobacter aerogenes, el prototipo de este grupo, es común en suelo y agua, y algunas veces aparece en el tracto intestinal. Bacterias similares, distinguibles de E. aerogenes por su inmovilidad permanente y la posesión de cápsulas, aparecen en el tracto respiratorio. Una propiedad bioquímica que distinguen a algunas de las cepas de Enterobacter (aunque no a todas) de otras bacterias entéricas es la capacidad de fijar nitrógeno. Esta propiedad sólo se manifiesta en condiciones anaeróbicas de crecimiento, ya que la nitrogenasa de estas bacterias se desnaturaliza rápidamente por la presencia de oxígeno.

- Grupo III: Proteus: los miembros del grupo Proteus son probablemente habitantes del suelo aunque se les encuentra con particular abundancia en materiales animales en descomposición contenido relativamente bajo en Guanina más Cistina de su DNA, diferencia a la mayor parte de sus especies de los grupos estudiados hasta ahora, al igual que ocurre en las propiedades fisiológicas. Estas incluyen una intensa capacidad proteolítica (la gelatina) y de hidrolización de la urea.
- Grupo IV: Yersinia, el género Yersinia incluye dos o tres especies patógenas de roedores. La Yersinia pestis puede transmitirse por pulgas, a partir de roedores, al hombre; es el agente causal de la peste bubónica, enfermedad que ha aparecido con caracteres epidémicos y mortalidad muy elevada a lo largo de la historia de la humanidad. El contenido en Guanina más Cistina de su DNA es significativamente más bajo que el del grupo Escherichia - Salmonellas - Shigella. Una característica de su cultivo que las distinguen del resto de las enterobacterias en su crecimiento relativamente lento en medios complejos.

3. Coliformes (*Escherichia coli*)

Delaat, A (1980), señala que la *Escherichia coli* es el organismo predominante en casi todos los excrementos. Son bastoncitos gruesos y cortos, se tiñen uniformemente gram negativos. Es aerobio, pero facultativamente anaerobio, se desarrollan bien en medios ordinarios de laboratorio produciendo colonias grandes, húmedas, convexas, enteras, sobre agar sangre en 24 horas. Los límites para el crecimiento óptimo están entre 20°C y 40°C. Puede inhibirse su crecimiento con el verde brillante y con una mezcla de desoxicolato sódico y citrato sódico. En cuanto a las características bioquímicas hay fermentación de glucosa, lactosa, maltosa y varios otros carbohidratos con producción tanto de ácido como de gas. Son bastantes sensibles a casi todos los desinfectantes y en cultivos de caldo se las mata a 60°C en 20 minutos.

Jones, M (1986), indica que el término de mastitis coliforme se usa en todas las enfermedades de los bóvidos provocados por *E. coli*, *Klebsiella* y *Enterobacter*

aerogenos. Cada uno de estos organismos pueden causar mastitis peragudas a veces en forma de brotes, que arrojan grandes pérdidas económicas. Existe una gran cantidad de serotipos de *E. coli*, es así que de 20 a 45 serotipos fueron tipificados, 7 serotipos estaban ampliamente dispersados. La multitud de serotipos de *E. coli* que producen mastitis coliforme es un hecho frecuente, siendo habitual en el medio ambiente que rodea el ganado vacuno lechero estabulado, y que la mastitis se puede producir experimentalmente, mediante la introducción de un número tan bajo como 20 microorganismos dentro de la cisterna del pezón, a través del conducto del pezón. Sin embargo, se desconocen los procesos por los que es producido en condiciones naturales, el *E. coli* no coloniza la piel sana de la ubre en el conducto del pezón.

Frazier, W (1988), señala que los coliformes son bacilos aeróbicos o anaeróbicos facultativos, gram negativos, y no esporulados. Las principales especies de bacterias coliformes son *E. coli* y *Enterobacter aerógenes*. Tienen la capacidad de crecer en diversos sustratos, pueden multiplicarse bien dentro de amplios límites de temperatura entre los 10°C y 46°C, producen considerables cantidades de ácido y gas de los azúcares, dan lugar a sabores desagradables. La propiedad de *E. aerógenes* es de causar mucosidad o viscosidad en los alimentos.

Kleinschroth, E (1991), reporta que los gérmenes coliformes pueden estar presentes en cualquiera de las partes que rodean al animal. Se hallan tanto en el mismo animal (intestino) como en sus alrededores. Una recogida poco higiénica de la lecha suele ir acompañada de una intensa presencia de colibacilos.

Gallegos, C (1997), reporta que el género *Escherichia*, esta ampliamente distribuido en la naturaleza, las bacterias de este género son bacillos Gram (-), habitan el tracto intestinal del hombre y de animales de sangre caliente. Algunos biotipos y serotipos son patógenos para el hombre. Cepas de *E. Coli* que contienen exenterotoxinas y/u otros factores de virulencia incluyendo factores de invasividad y colonización ocasionan enfermedad diarreica. Este grupo incluye una variedad de microorganismos, la mayoría de origen intestinal. En la práctica, muchos de los organismos coliformes son casi siempre del grupo de bacterias

esteritas. El grupo coliforme comprende desde la *Escherichia coli* que es el organismo intestinal más común hasta *Kiebsiella pneumoniae* que es el organismo intestinal menos común. La definición también incluye corrientemente organismo de la especie enterobacter aerógenas generalmente no asociados con el intestino.

Señala además, que las especies más importantes son *Escherichia coli* (origen intestinal) y *Enterobacter aerógenas* (procedencia de los vegetales y suelo, ocasionalmente del intestino). La *Escherichia coli* típica produce mucho ácido de la glucosa, como se detecta con la prueba rojo de metilo, forma indol pero no acetoína, produce CO₂ y H₂ en la proporción 1:1, no puede utilizar citrato como única fuente de carbono. Las *Enterobacter aerógenas* producen menor cantidad de ácido, forma acetoína pero no indo, produce CO₂ y H₂ en la proporción 2:1 y utiliza el citrato como única fuente de carbono. Produce más gas que *E. Coli*, siendo más peligroso como microorganismo que puede originar gas en la leche, quesos y otros alimentos. Las dos especies fermentan los azúcares con formación de ácido láctico, etanol, ácidos acéticos y succínicos, CO₂ y H₂. Otros coliformes presentan características intermedias entre *E. coli* y *E. aerógenas*.

4. Salmonelosis

a. Etiología

Jornet, M y Boullery, S (1986), indican que, la *Salmonella* es la enfermedad más común, causada por diferentes serotipos como *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella enteritidis* y *Salmonella Dublín*. El aislamiento se hace en la sangre de los órganos y heces. Los animales más afectados son: Las madres listas para la monta y las crías recién destetadas. La ingestión de alimentos contaminados en particular verduras frescas y verdes (col) son considerados como el origen más frecuente de introducción y extensión de la bacteria. Esta contaminación de los alimentos se daría más frecuentemente por las heces de roedores silvestres aves y animales de granja.

b. Síntomas

Jornet, M y Boullery, S (1986), manifiestan que en la forma de evolución aguda hay escalofríos, vómitos, luego las heces se ponen diarreicas y más o menos con sangre; la anorexia y enflaquecimiento se instalan rápidamente y el animal muere después de 4 - 5 días y a veces con convulsiones. En la forma de evolución lenta o crónica no se observa ninguna diarrea, pero pierden el apetito, tienen la piel insurta y son apáticos; la evolución demora 2 - 3 semanas, allí los animales pueden mostrar problemas respiratorios (disnea) o parálisis. La muerte viene rápidamente. En ciertos casos, se puede observar la existencia de una conjuntivitis purulenta. Animales aparentemente sanos pueden volverse portadores y eliminar las bacterias de una manera intermitente por las heces.

Richardson, V (1992), señala que, existe una enteritis aguda que puede ser hemorrágica; también pueden existir muertes sin signos de septicemia, abortos, y en casos crónicos pérdida de peso y mal estado, y la enfermedad se difundirá rápidamente entre los animales.

c. Diagnóstico

Jornet, M y Boullery, S (1986), señalan que, la hemocultura permite el aislamiento de Salmonella en los casos agudos, el bazo representa el mejor órgano para el diagnóstico.

d. Profilaxis, control y tratamiento

Jornet, M y Boullery, S (1986), indican que, las vacunas pueden ser eficiente, particularmente; aunque la infección por un serotipo no prohíbe la infección por otros serotipos. Los antibióticos limitan la mortalidad, pero no eliminarían la enfermedad. La prevención es difícil, ya que bastantes especies pueden ser portadores potenciales. Las mejores precauciones a tomar son la distribución de alimentos granulados (balanceados) y la construcción de un local cerrado, protegido contra roedores y aves silvestres.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

El presente trabajo se realizó en la Unidad Ovina-Caprina de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en la Estación Experimental "Tunshi", a 12 Km de la Ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo, con una ubicación geográfica de 20°1 3' de Latitud Sur y 78°53' de Longitud Oeste y a una altura de 2347 m.s.n.m., así como en el Laboratorio de Microbiología de los Alimentos. Las condiciones meteorológicas reinantes en la zona de influencia donde se mantienen a los animales son las siguientes:

Cuadro 3. CONDICIONES METEOROLÓGICAS DE LA ZONA DE TUNSHI, CANTÓN RIOBAMBA, PROVINCIA DE CHIMBORAZO

Parámetros	Años			Promedio
	2003	2004	2005	
Temperatura, °C	12.6	14.7	13.0	13.43
Humedad relativa, %	73.5	70.0	68.4	70.63
Precipitación, mm/año	420.0	410.0	458.8	429.6

FUENTE: Facultad de Recursos Naturales, ESPOCH (2006)

El ensayo tuvo una duración de 120 días (4 meses) distribuidos en la toma de muestras de las heces y en los análisis microbiológicos, por cuanto los mismos se ejecutaron en una forma seriada cada quince días, por la disponibilidad de los animales así como del laboratorio microbiológico, por cuanto se evaluó la presencia de *Escherichia coli* al inicio, a los 15, 30, 45, 60, 75 días y de *Salmonella sp.* hasta los 90 días después de la aplicación de las dosis de propóleos.

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

Las unidades experimentales que conformaron la presente investigación fueron 21 ovejas Rambouillet con un peso promedio de 49.92 kg, de las cuales se tomaron las muestras de las heces para realizar los análisis microbiológicos.

C. INSTALACIONES, EQUIPOS Y MATERIALES

Los materiales, equipos e instalaciones que se utilizaron en el presente trabajo fueron:

1. De campo

- Fundas plásticas
- Marcador
- Vehículo
- Hojas de campo
- Espátula
- Cajas recolectoras
- Pistola dosificadora

2. De laboratorio

a. Equipos

- Microscopio
- Autoclave
- Estufa
- Baño María
- Agitador magnético
- Refrigerador
- Cuenta colonias
- Lámpara de luz ultravioleta

b. Materiales

- Tubos de ensayo
- Pipetas
- Espátulas
- Papel filtro

- Gradillas para tubos
- Placas Petrifilms para:
Escherichia coli
Salmonella sp

c. Reactivos

- Nutrientes Baird-Parker
- Disco reactivo de Nucleasa Termoestable Petrifilm
- Peptona
- Sal tamponada
- Tampón de Butterfield
- Agua de peptona al 0.1 %
- Caldo Letheen.

D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

El presente trabajo evaluó el efecto del suministro de jarabe de propóleos en dosis de: 2, 4 y 6 ml por cada 15 kilos de peso vivo, como bactericida en el control de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* en ovejas Rambouillet., por lo que se contó con tres tratamientos experimentales y cada uno con 7 repeticiones, los mismos que fueron distribuidos bajo un diseño completamente al azar y que se ajustaron al siguiente modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

- Y_{ij} = Valor del parámetro en determinación
- μ = Media general
- α_i = Efecto de las dosis de propóleos
- ε_{ij} = Efecto del error experimental

El esquema experimental utilizado fue el siguiente:

Cuadro 4. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO

Dosis de propóleos (por 15 kg de pesos vivo)	Código	Repet.	TUE*	Nº animales/tratamiento
2 ml	OvP2	7	1	7
4 ml	OvP4	7	1	7
6 ml	OvP6	7	1	7
TOTAL				21

TUE*: Tamaño de la Unidad Experimental, 1 en ovejas Rambouillet.

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Los parámetros experimentales que se consideraron fueron los siguientes:

- Animales infestados de *Escherichia coli* al inicio, 15, 30, 45, 60 y 75 días después de la aplicación, porcentaje.
- Cargas bacterianas de *Escherichia coli*, al inicio, 15, 30, 45, 60 y 75 días después de la aplicación, UFC/g heces
- Efectividad del producto en el control de *Escherichia coli*, porcentaje (%).
- Animales infestados con *Salmonella sp.* al inicio, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días después de la aplicación, porcentaje.
- Efectividad del producto para el control de *Salmonella sp.*, %.
- Peso inicial de los animales, kg
- Peso final, kg
- Ganancia de peso, kg
- Costo por dosis de aplicación, dólares

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBA DE SIGNIFICACIÓN

Los resultados experimentales fueron sometidos a las siguientes pruebas:

- Distribución de frecuencias para la incidencia de animales infestados.
- Análisis de varianza para las diferencias (ADEVA) y separación de medias de acuerdo a la prueba de Tukey al nivel de significancia de $P < 0.05$, en las cargas bacterianas de *E. coli* así como para el comportamiento de los pesos.

- Prueba de Chi cuadrado (X^2), para establecer si hubo o no efecto significativo entre las dosis de jarabe de propóleos empleadas
- Estadísticas descriptivas en las que se considera las medidas de tendencia central (media) y dispersión (desviación estándar).

El esquema del análisis de varianza, que se empleó fue el siguiente:

Cuadro 5. ESQUEMA DEL ADEVA

Fuente de varianza	Grados de libertad
Total	(n - 1)
Tratamientos	(t - 1)
Error	(n - 1) - (t - 1)

Mientras que para el análisis de X^2 se utilizó el siguiente propuesto:

$$X^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1. De campo

En la presente investigación se trabajó con 21 ovejas Rambouillet pertenecientes a la Unidad Productiva Ovina - Caprina de la Facultad de Ciencias Pecuarias, las mismas que fueron seleccionadas en base a sus registros reproductivos. De estos animales se obtuvieron las muestras fecales para ser sometidas a los análisis microbiológicos mediante el sistema de placas Petrifilm y Cajas Petri para determinar la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*, respectivamente.

La toma de las muestras se realizó de la siguiente manera: con la mano enfundada, se estimuló la parte terminal superior del recto del animal, para recolectar directamente en la funda las muestras de las heces, las mismas que fueron identificadas de acuerdo al número de muestra y animal correspondiente, para luego ser colocadas en el termo refrigerante para evitar que estas estén expuestas a los

rayos solares y mantenerlas a una temperatura de 5°C durante el traslado al laboratorio de Microbiología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias y sean analizadas máximo en un término de 24 horas.

2. Preparación del jarabe de propóleos

Los propóleos utilizados se adquirieron en los centros apícolas donde se comercializa este producto, para luego realizar la limpieza del mismo con una pinza, cuidando de retirar contaminantes macroscópicos como abejas, trozos de madera, pasto, etc., posteriormente se redujo a polvo fino utilizando un mortero y se colocaron en frascos limpios y secos.

La preparación del jarabe de propóleos se realizó mediante el siguiente procedimiento:

- Para la purificación se introdujo el propóleos en un recipiente, agregándose el agua destilada y el propelin glicol, y colocarlos durante tres días en una estufa a una temperatura de 40°C agitando cada media hora.
- Al cuarto día, la solución se introduce durante 12 horas, aproximadamente, en el congelador de la heladera.
- Luego, filtrar a través de un filtro de tela y lavar el residuo con alcohol etanol; finalmente volver a filtrar con otro filtro de tela.
- Posteriormente a este propóleos se añadió azúcar, disuelta en agua destilada, más la adición de glicerina y benzoato, para a través de calor concentrar esta solución al punto de un líquido acaramelado viscoso, y conservarse en un frasco oscuro y con cierre hermético, en lugar fresco, hasta su utilización.

En la preparación del jarabe de propóleos las cantidades de los ingredientes utilizados para obtener 1000 ml fueron los siguientes:

Azúcar,	1400 g
Agua destilada,	1.0 litro
Glicerina,	70 g
Propóleos,	320 g
Benzoato,	5 g

El jarabe de propóleos se les suministró a las ovejas Rambouillet por vía oral, en las dosis preestablecidas (2, 4 y 6 ml/15 kg de PV), siendo necesario tomar su peso inicial para establecer la cantidad a suministrarles por animal.

3. Trabajo de laboratorio

En el laboratorio se procedió a realizar una esterilización de todos los materiales en autoclave a una temperatura de 120 °C por 20 minutos.

La preparación de los medios de cultivo, la siembra y la lectura se realizó de acuerdo a la guía de cada una de las placas Petrifilm y que se resumen en las siguientes actividades (Whirlpac, 1994):

- Preparar una dilución de 1:10 o mayor de las heces de los ovinos
- Pesar o colocar con la pipeta esta dilución en un tubo de ensayo, añadir la cantidad apropiada de los siguientes diluyentes estériles: Solución amortiguadora de fosfato de Butterfield, agua peptonada al 0.1%, diluyente de sales de peptona, solución salina al 0.85 -0.90 %, caldo lethheen libre de bisulfito o agua destilada.
- Mezclar y homogenizar la muestra de acuerdo al procedimiento estándar, debiendo ajustarse la solución a un pH de 6.5 a 7.5 con NaHO.
- Colocar la placa Petrifilm en una superficie nivelada, Levantar la película superior. Con la pipeta perpendicular a la placa Petrifilm, colocar 1 ml de muestra en el centro de la película inferior.
- Cuidadosamente deslizar la película hacia abajo evitando atrapar burbujas de aire. No dejar caer la película superior.
- Suavemente aplicar presión en el esparcidor para distribuir el inóculo en un área circular antes de que se forme el gel. Esperar por lo menos un minuto para que el gel se solidifique.

- Incubar las placas, con el lado transparente hacia arriba, en pilas de hasta 10 placas. Incubar entre temperaturas de 35 a 37 °C durante dos horas. Después de la incubación, es posible que haya colonias pero que aun no sean visibles en la placa Petrifilm debido a que los indicadores se encuentran en el disco reactivo Petrifilm.
- Transfiera las placas Petrifilm a un incubador con temperatura de 62°C y realizar otra Incubación durante una a 4 horas.
- Con forceps estériles, quitar el disco reactivo redondo del marco cuadrado exterior. Levantar la película superior de la placa Petrifilm y colocar el disco reactivo Petrifilm en la cavidad de la placa. Baje la película superior. Para asegurarse que haya un contacto uniforme del disco reactivo Petrifilm con el gel y para eliminar las burbujas de aire, aplique presión suavemente en toda el área del disco.
- Incubar las placas con los discos reactivos de 1 a 3 horas a 35 – 37 °C.
- Las placas Petrifilm se pueden contar en contador de colonias estándar o en otro amplificador iluminado.

4. Metodología de evaluación

La determinación de los animales infestados con *Escherichia coli* y *Salmonella sp* se realizó mediante los resultados del análisis microbiológico, lo que permitió determinar los animales positivos y negativos, que fueron expresados en porcentaje.

Las cargas bacterianas de *Escherichia coli* y *Salmonella sp*, se realizaron mediante la aplicación de las placas petrifilm, medidas al inicio, a los 15, 30, 45, 60 y 75 días después de la aplicación, para posteriormente identificar el porcentaje de efectividad, relacionando la cantidad encontrada en la evaluación inicial con las del periodo siguiente, para de esta manera poder establecer las curvas de efectividad de las diferentes dosis de propóleos aplicados.

Para establecer los costos por dosis de aplicación, se tomó en consideración los egresos que se efectuaron en la preparación del jarabe, que serán expresadas en dólares por animal.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. CONTROL DE *Escherichia coli*

1. Porcentaje de animales infestados

Al inicio del trabajo, se encontró que el 100 % de ovejas Rambouillet evaluadas presentaron la bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*), las mismas que por efecto de la dosis de propóleos empleadas mostraron comportamientos diferentes como se observa en el cuadro 6, resultados que se analizan de acuerdo a las dosis empleadas.

Al utilizarse 2 ml/15 kg de PV, el efecto bactericida del jarabe de propóleos comenzó a los 30 días postaplicación, por cuanto en este período se registró que el 85.71 % de animales fueron positivos a esta prueba, es decir, se logró reducir la incidencia de *E. coli* en los ovinos en el orden del 14.29 %, y a partir de este período, la presencia de casos positivos fue reduciéndose, a los 45 días se observó el 57.14 % de casos positivos, a los 60 días el 28.57 % y al término de la evaluación (75 días) con apenas el 14.29 % de animales infestados.

La dosis de 4 ml/15 kg de PV, mostró su efecto a partir de los 15 días de aplicación, por cuanto del 100 % de los casos positivos al inicio, se redujeron al 85.71 %, a los 30 días al 71.43 % y a los 45 días al 42.86 %, produciéndose en los animales posiblemente una re infestación entre los 45 y 60 días, por cuanto nuevamente el 100 % de animales dieron positivo a esta prueba, pero a los 75 días se registró una presencia de animales positivos relativamente baja (14.29 %).

Con el suministro de 6 ml/15 kg de PV, se encontró las respuestas menos alentadoras, por cuanto a los 15 días post aplicación, el 100 % de los animales seguían siendo positivos, a los 30 días el número de animales infestados se redujo al 85.71 %, a los 45 días al 57.14 %, a los 60 días nuevamente el 100 % de los animales fueron positivos, reduciéndose ligeramente (85.71 %) a los 75 días post aplicación.

Los comportamientos señalados se resumen en el gráfico 1, de donde se desprende que las mejores respuestas hasta los 45 días post aplicación se consiguieron al utilizarse la dosis de 4 ml/15 kg de PV, en cambio que la aplicación de 2 ml/15 kg de PV, presenta una acción más prolongada, tendiendo a reducir paulatinamente el número de animales infestados, lo que puede deberse a los principales constituyentes del propóleo que son los compuestos fenólicos, que tienen propiedades bactericidas (que destruye las bacterias) y bacteriostáticas (se aplica a las sustancias que impiden o inhiben la multiplicación y el desarrollo de las bacterias), sin equivalentes entre las sustancias naturales con acción farmacodinámica conocidas hasta el día de hoy (Maidana, J, Rodríguez, M y Chazarreta, A. 2003), pero también no es menos cierto lo señalado por Grecianu, A and Enciu, V (1996), quienes indican que los extractos del propóleo tratados con agua a 80°C, inhiben el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus str. Oxford*, *Streptococcus sp A* y *B. Proteus rettgeri*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus circus*, *Listeria monocytogenes*, *Erysipelotfrix insidiosa*, *Corynebacterium equi*, *Pasteurella multocida* y *Clostridium perfringes*, pero no inhibe el crecimiento de *Escherinchia coli*, por lo que se considera que en el presente trabajo, en ninguno de los casos se logró erradicar la *E. coli* en ovejas Rambouillet., más aún si se considera lo que señala Kleinschroth, E (1991), quien reporta que los gérmenes coliformes pueden estar presentes en el mismo animal como en sus alrededores, por lo tanto, esta bacteria se encuentra en el medio ambiente que rodea al animal, así como en las praderas, el agua de bebida e incluso en el aire, a lo que se suma que los ovinos al ser productores de lana, pueden retener estas bacterias en el exterior de la piel (vellón).

2. Carga bacteriana

Las cargas bacterianas de *E. coli* registradas en ovejas Rambouillet. consideradas positivas, registraron que las medias determinadas por efecto de las dosis de jarabe de propóleo suministradas, no fueron diferentes estadísticamente de acuerdo al ADEVA así como a través de la prueba de Chi cuadrado (X^2), aún que a través de esta última se detectó un efecto significativo a los 75 días de evaluación, aunque numéricamente las medias son similares, pero el número de animales positivos es elevada con la aplicación de 6 ml/15 kg de PV, como se ob-

serva en los resultados que se reportan en el cuadro 7, y que se analizan a continuación.

Al suministrarse el jarabe de propóleos en dosis de 2 ml/15 kg de PV, se determinó que de la carga bacteriana inicial de 2.29 ± 2.14 UFC/g de heces, a los 15 días se redujo a 1.29 ± 0.49 UFC/g, de igual manera entre los 30 y 45 días post aplicación que fueron de 1.0 UFC/g, elevándose a 1.50 ± 0.71 UFC/g a los 60 días y reducirse nuevamente a 1.0 UFC/g a los 75 días, notándose adicionalmente que con este tratamiento el número de animales positivos también se reduce paulatinamente, por lo que se considera que esta dosis arrojó las mejores respuestas, que al aplicarse 4 y 6 ml/15 kg de PV, que a pesar de haber presentado menores cargas bacterianas por animal al inicio del estudio (1.57 ± 0.53 UFC/g de heces, en ambos casos), cuando se aplicó 4 ml/15 kg de PV, a los 15 días se registró la presencia de 1.50 ± 0.55 UFC/g, a los 30 días fueron de 1.0 UFC/g, pero a partir de los 45 días a los 60 días estas cargas bacterianas se incrementaron a 1.33 ± 0.58 y 1.43 ± 0.53 UFC/g, respectivamente, siendo notorio además que a los 60 días post aplicación, todos los animales se reinfestaron por lo que se considera que esta dosis tiene una acción moderada hasta los 45 días, ya que los casos positivos fueron de 3 de 7 animales evaluados (47.86 %), aunque a los 75 días el número de casos positivos se redujo al 14.29 % de los animales y con una carga bacteriana de 1.0 UFC/g.

Con el suministro de 6 ml/15 kg PV, a los 15 días posteriores se encontró por animal positivo 1.43 ± 0.53 UFC/g de heces, reduciéndose a los 30 días a 1.0 UFC/g en el 85.71 % de los animales (6 de 7), incrementándose las cargas bacterianas a los 45 días a 1.25 ± 0.50 con el 57.14 % de los animales positivos y a los 60 días fueron de 1.14 ± 0.38 UFC/g en el total de animales evaluados (100 % o las 7 hembras utilizadas), mientras que a los 75 días post aplicación la carga bacteriana se redujo a 1.0 UFC/g, pero en el 85.71 % de los animales evaluados, de ahí que a pesar de que presenta medias iguales en cuanto a la carga bacteriana por animal, esta respuesta sea significativa de acuerdo a la prueba de Chi cuadrado ($X^2 = 10.096$), debido a que el número de casos positivos fueron altos, es decir del 85.71 % de los animales evaluados, mientras que en los otros tratamientos terminaron con el 14.29 % de animales infestados, y siendo única -

mente la dosis de 2 ml/15 kg de PV, que el número de animales positivos se fue reduciendo a través de los diferentes períodos evaluados, mientras que en los tratamientos experimentales, a los 60 días presentaron una reinfestación del 100 % de sus animales.

Resumiendo las respuestas que se reportan en el gráfico 2, de la evolución de las cargas bacterianas por efecto de las dosis de jarabe de propóleos se considera que mejores respuestas se consiguieron con la aplicación de 2 ml/15 kg de PV, ya que su efecto resulta más prolongado llegando hasta los 45 días, donde se registró las menores cantidades, mientras que con dosis de 4 y 6 ml/15 kg de PV, la carga bacteriana se redujo hasta los 30 días, incrementándose las cargas bacterianas de *E. coli* en los períodos posteriores, lo que puede deberse a lo que reportaron Grecianu, A and Enciu, V (1996), quienes indicaron que la actividad bacteriostática del extracto de propóleos es eficaz contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus str. Oxford*, *Streptococcus sp. A y B*, *Proteus rettgeri*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Erysipelothrix insidiosa*, *Corynebacterium equi*, *Pasteurella multocida* y *Clostridium perfringens*, pero no inhiben el crecimiento de *Escherichia coli*, de ahí que posiblemente en el presente trabajo, se registre su presencia en al menos un animal de cada tratamiento considerado, pero que en todo caso se demuestra que las soluciones de propóleos empleadas, presentan un efecto bacteriostático moderado para el control de *E. coli*, y que puede deberse a lo que señalan Maidana, J, Rodríguez, M y Chazarreta, A (2003), quienes indican que el propóleos tiene propiedades bactericidas y bacteriostáticas, sin equivalentes entre las sustancias naturales con acción farmacodinámica conocidas hasta el día de hoy, debido al contenido en flavonoides, principalmente pinocembrina, galangina y pinobanksina, entre otros, que impiden o inhiben la multiplicación y el desarrollo de las bacterias, lo que es corroborado por Maidana, J y Chaillou, L (2004), quienes indicaron que el propóleos, es un valioso producto apícola por las numerosas propiedades del mismo: bacteriostático, bactericida, fungistático, fungicida, antiviral, citotóxico, anestésico, antioxidante, antitumoral, antiinflamatorio, etc. Estas propiedades, científicamente comprobadas en ensayos de laboratorio y clínicos, han transformado a este noble producto en el "oro púrpura de las abejas", y es por lo tanto, muy requerido por diferentes países del mundo.

3. Efectividad

El grado de efectividad del jarabe de propóleos considerándose las diferentes dosis empleadas, se reportan en el cuadro 8 y gráfico 3, donde se observa que la dosis de 2 ml/15 kg de PV, tiene una acción más prolongada que cuando se utiliza mayores cantidades, ya que su acción antimicrobial muestra ser sistemática, es decir, que va teniendo una mayor efectividad a medida que transcurre el tiempo post aplicación, ya que los valores registrados fueron de 14.29, 42.86, 71.43 y 85.71 % de efectividad a los 30, 45, 60 y 75 días, respectivamente; en cambio que los resultados alcanzados con la utilización de 4 ml/15 kg de PV, su acción antibacterial hasta los 45 días post aplicación presentó mejores respuestas (14.29 % a los 15 días, 28.57 % a los 30 días y 57.14 % a los 45 días), pero su acción decae al 0 % a los 60 días, mientras que al emplearse 6 ml/15 kg de PV, los resultados demuestran menores porcentajes de efectividad (14.29 % a los 30 días y 42.86 % a los 45 días), ya que su efecto termina a los 60 días (0 % de efectividad), estos resultados obtenidos se oponen a lo que reportó Bianchi, E (1996), quien señaló, que las propiedades bacteriostáticas y bactericidas parecen ser directamente proporcionales a su concentración, ya que en el presente trabajo, se estableció que la dosis de 2 ml/15 kg de PV tiene una acción más prolongada que la utilización de 4 y 6 ml.

B. CONTROL DE SALMONELLA SP

1. Porcentaje de animales infestados

La presencia de animales infestados con *Salmonella sp.* al inicio del trabajo, fue del 100 % en ovejas Rambouillet que recibirían el jarabe de propóleos en dosis de 2 ml/15 kg PV y del 85.71 % en los animales que se les proporcionó 4 y 6 ml/15 kg PV (cuadro 9), registrándose posteriormente que con las dosis de 2 y 4 ml/15 kg de PV se obtuvo mejores respuestas, en el control de esta bacteria, por cuanto a los 15 días post aplicación la cantidad de animales infestados se redujo al 71.43 % (5 de 7), incrementándose al 85.71 % (6 de 7) a los 30 días, pero a los 45 días su incidencia fue en el orden del 42.86 % de los animales evaluados (3 de 7), y a partir de los 60 hasta los 90 días fue únicamente en un animal, que corres-

ponde al 14.29 % de casos positivos; en cambio que por efecto de la dosis de 6 ml/15 kg de PV, sus resultados obtenidos fueron menos favorables, ya que del 85.71 % de los animales que dieron positivo al inicio del trabajo esta cantidad se mantuvo hasta los 15 días post aplicación, a los 30 días en vez de reducirse su incidencia, esta se incrementó al 100 % en las hembras estudiadas, presentando recién a los 45 días su efecto bactericida en el control de la *Salmonella sp.*, ya que los casos positivos se redujeron al 57.14 % (14.28 % de los animales más que las otras dosis evaluadas); y a partir de los 60 días mantenerse en el 42.86 % (3 de 7 animales) hasta el final del estudio, es decir, su incidencia fue mayor en el 28.57 % que en los otros grupos, ratificándose por consiguiente que el propóleo tiene efectos bactericidas y bacteriostáticos al menos sobre 30 cepas microbianas, debido al contenido en flavonoides, principalmente pinocembrina, galangina y pinobanksina, entre otros (Lavie, P, 1988 y Mirzoeva, O y Calder, P. 1996), presentando en el presente trabajo mejores respuestas con las menores cantidades empleadas (gráfico 4), aunque no se logró eliminar esta bacteria en la totalidad de los animales, pero sus resultados son halagadores, por cuanto en al menos el 85.71 % de ellos se lo logró eliminar e inhibir su desarrollo y crecimiento, por cuanto Jornet, M y Boullery, S (1986), indican que la *Salmonella sp.* es la enfermedad que afectada principalmente a las madres listas para la monta y las crías recién destetadas, debiéndose su contagio a la ingestión de alimentos contaminados, lo cual permite su difusión rápidamente entre los animales.

2. Efectividad

Tomando en consideración el número de animales que presentaron *Salmonella sp.* al inicio del estudio y de los que se registraron durante los diferentes períodos de evaluación, se establece que al emplearse la dosis de 2 ml/15 kg PV, se obtuvo las mejores respuestas (cuadro 10), ya que a los 15 días post aplicación su efectividad fue en el orden del 28.57 %, a los 45 días del 57.14 % y a partir de los 60 días su eficiencia fue del 85.71 %, en cambio con la dosis de 4 ml/15 kg de PV, a los 15 días la efectividad fue de 16.67 %, a los 45 días del 50 % y mantenerse en el 83.33 % a partir de los 60 días hasta el final del estudio.

Respecto al empleo de la dosis de 6 ml/15 kg PV, su efectividad alcanzada no fue la esperada, por cuanto, durante los primeros días no mostró ningún efecto positivo (0.0 % de efectividad), por el contrario, se incremento el número de animales infestados, observándose recién a los 45 días su acción bactericida, ya que se registró una efectividad de apenas el 33.33 % y a partir de los 60 días mantenerse en el 50 % (gráfico 5), notándose en consecuencia que la dosis de 2 ml/15 kg de PV presenta respuestas alentadoras, al momento que se quiera eliminar o controlar esta bacteria, ya que en la actualidad, se hace imprescindible el uso de productos naturales con acción bacteriana, como el propóleos que no produce efectos residuales tóxicos como los productos químicos, que en su mayoría tienen un efecto cancerígeno en la población consumidora de este tipo carne.

C. COMPORTAMIENTO DE LOS PESOS DE LOS ANIMALES

Los pesos al inicio del experimento en ovejas Rambouillet utilizadas fluctuaron entre 46.69 y 53.29 Kg, con una media general de 49.92 kg, determinándose a los 90 días evaluación, que las dosis empleadas del jarabe de propóleos no influyeron en los pesos finales, ya que estadísticamente no son diferentes (Anexo 9), aunque numéricamente registraron pesos finales de 56.36, 52.00 y 49.14 kg (cuadro 11), en los animales que recibieron 2, 4 y 6 ml/15 kg de PV, en su orden, pero cuyas diferencias se deben a los pesos iniciales con que comenzaron los animales (53.29, 49.79 y 46.69 kg, respectivamente), más no a la acción del propóleos suministrado, por cuanto Janin, A y Nimo, M (2002), indica que este producto se utiliza en muchos países, en la industria alimentaria como aditivo por sus propiedades antioxidantes y antisépticas, atribuyéndole una acción farmacológica, más no un precursor de desarrollo o suplemento alimenticio.

En el mismos sentido, las ganancias de peso de estos animales adultos fueron entre 2.46 y 3.07 kg, que no son diferentes estadísticamente, por lo que el incremento promedio de peso de estos animales fue de 2.81 kg, respuestas que se deben a su individualidad para aprovechar el alimento para su mantenimiento corporal, así como para sus funciones reproductivas, por cuanto los animales utilizados fueron hembras adultas; y la finalidad del trabajo fue establecer la --

acción bactericida del propóleo, por consiguiente su empleo no afectaron las condiciones corporales de los animales, sino que se logró comprobar su acción bactericida y bacteriostática que poseen los propóleos (Grecianu, A and Enciu, V. 1996).

D. ANÁLISIS ECONÓMICO

De acuerdo al análisis económico que se reporta en el cuadro 12, donde se desglosa los costos de producción y las cantidades empleadas en ovejas Rambouillet de acuerdo a su peso, se establece que los menores costos por animal tratado se obtiene al utilizarse la dosis de 2 ml/15 kg de PV, que es de 0.152 USD, alcanzándose con este los mayores porcentajes de efectividad en el control de *E. coli* y *Salmonella sp.* (85.71 %, en ambos casos), seguidos de los animales que recibieron 4 ml/15 kg de PV, cuyo costo por tratamiento es de 0.284 USD pero con efectividades de 85.71 y 83.33 % en el control de *E. coli* y *Salmonella sp.*, mientras que los mayores costos se registraron al emplearse 6 ml/15 kg de PV y que representan 0.40 USD por animal tratado y además con las cuales se observaron los menores índices de efectividad para el control de las bacterias en estudio (14.29 % en la *E. coli* y 50.0 % en la *Salmonella sp.*), considerándose por consiguiente que las mejores respuestas en el control bacteriológico y económico se obtuvieron al utilizar 2 ml/15 kg de PV, costos, que son inferiores incluso si los tratará con productos químicos, los mismos que son elevados y con la ventaja de que los productos naturales no dejan residuos tóxicos.

V. CONCLUSIONES

- El 100 % en ovejas Rambouillet de la Unidad Ovina-Caprina de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, registraron la presencia de *Escherichia coli*, las mismas que al suministrarle jarabe de propóleos como bactericida, se observó que con dosis de 2 ml/15 kg PV su acción fue prolongada, terminando a los 75 días de evaluación con el 14.29 % de casos positivos, mientras que con dosis de 4 y 6 ml/15 kg de PV, la menor presencia de casos positivos fue hasta los 45 días con el 42.86 y 57.14 %, de los animales.
- En la evolución de las cargas bacterianas de los animales positivos, mejores respuestas se consiguieron con la aplicación de 2 ml/15 kg de PV, ya que hasta los 45 días registró menores cantidades, mientras que con dosis de 4 y 6 ml/15 kg de PV, la carga bacteriana se redujo hasta los 30 días, incrementándose en los períodos posteriores.
- En el control de *Salmonella sp.* con dosis de 2 y 4 ml/15 kg de PV, del 100 % de animales infestados se redujo al 14.29 % a los 60 días, manteniéndose este comportamiento hasta los 90 días de evaluación, en cambio con 6 ml/15 kg de PV, el número de casos positivos en vez de reducirse se incremento a los 30 días, mostrando su efecto bacterial entre los 45 y 60 días pero con una considerable cantidad de animales positivos (57.14 y 42.86 %, en su orden).
- El menor costo por animal tratado (0.15 USD) fue con la dosis de 2 ml/15 kg de PV, que a su vez presentaron los mayores índices de efectividad en el control de *E. coli* y *Salmonella sp.* (85.71 %, en ambos casos), en cambio con 6 ml/15 kg de PV los costos fueron mayores (0.40 USD) y con menor efectividad (14.29 % en la *E. coli* y 50.0 % en la *Salmonella sp.*).

VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos bajo las condiciones del presente experimento, se pueden realizar las siguientes conclusiones:

- Emplear el jarabe de propóleos en dosis de 2 ml/15 kg de PV, como bactericida para el control de la incidencia de *E. coli* y *Salmonella sp.* en ovejas Rambouillet, por cuanto con este tratamiento se logró reducir el número de animales positivos, las cargas bacterianas, mejores índices de efectividad y los menores costos por aplicación.
- Emplear el jarabe de propóleos en menores dosis a 2 ml/15 kg de PV, pudiendo ser estas de (0.5, 1 y 1.5) ml/15 de PV, con duraciones mayores a los 90 días en estudio
- Difundir los resultados obtenidos de las bondades bactericidas que posee el propóleos hacia el sector rural, ya que ellos son los principales poseedores de las explotaciones ovinas, a lo que se suma su bajo costo por aplicación, con similares o mejores características terapéuticas que los productos químicos comerciales.
- Continuar con el estudio de los propóleos, para establecer en que trastornos patológicos de diferentes enfermedades de origen bacteriano puedan ser utilizados como tratamientos específicos.

VII. LITERATURA CITADA

1. ARIEL, D. 1980. La miel, El polen y La jalea real. 2a ed. Barcelona, España. Edit. Cedel. pp 10 – 21.
2. ASIS, M. 1989. Composición y usos de la miel, cera, polen, jalea real, propóleos y venenos de las abejas. Los Productos de la colmena. Madrid, España. Edit. Acribia. pp 25-31.
3. ASIS, M. 1991. "Propóleos: El Oro Púrpura de las Abejas". Centro de Información y Documentación Agropecuaria. La Habana, Cuba. Editorial CIDA. pp 26.34.
4. BANKOVA, V, POPOV, S, MANOLOVA, N, MAXIMOVA, V, GEGOUG G, SERKEDJIEVA, J AND AUZUNOV, S. 1988. On the chemical composition of some propolis fractions with antiviral action. Acta Microbiol. Bulg. Página de Internet, archivo pdf.
5. BIANCHI, E. 1996. Propóleos. Preparación de sus derivados y determinación de la calidad. 1a ed. Santiago de Estero, Argentina. Editorial Litográfica Norte. pp 12-18.
6. DELAAT A. 1980.- Microbiología. Ed. 2a ed. México, México. Edt. Interamericana S.A., pp 112, 114 y 116.
7. ECUADOR, ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO (ESPOCH). 2006. Estación Agrometeorológica de la Facultad de Recursos Naturales. Riobamba, Ecuador.
8. FESQUET J. 1987. Bacteriología Veterinaria. 3a ed. Zaragoza España. Edit. Acribia. pp 24.26.
9. FRAZIER W. 1988.- Microbiología de los Alimentos. 3a ed. Zaragoza, España. Edt. Acribia S.A. pp. 60 -68.

10. GALLEGOS, C. 1997. Microbiología de los Alimentos. Riobamba, Ecuador. Edit CRD XEROX. pp 28-31.
11. GILLIES R. y DODDS T. 1985. Bacteriología ilustrada. 2a ed. Lodon, Gram Bretaña. Edit. Endibugh. pp. 25-32
12. GRECIANU, A. AND ENCIU, V. 1996. Activity in vitro of propolis against bacterial strains of animal origin. Brasil. Edit. Institutul Agronomic "Ion Ionescu de la Brad" (Zootehnie. Medicima Veterinara). pp 21-25.
13. HENDERSON, A. 1989. Medicina Veterinaria 6a ed. México D.F. Edit. Interamericano. pp 34-35.
14. <http://www.elgranero>, 2001. Propóleos, propiedades y producción.
15. <http://www.notiabeja.com>. 2000. Los propóleos. SAGAR: Subsecretaria de Agricultura y Ganadería. Dirección General de Ganadería. Programa Nacional para el control de la abeja africana. México, D.F.
16. <http://www.alimentosargentinos.gov.ar>. 2002. Janin, A., Y Nimo, M. En escena, el propóleos. Dirección de Industria Alimentaria S.A.G.P. y A.
17. <http://www.api-guia.com.ar>. 2003. Maidana, J, Rodríguez, M, Y Chazarreta A. Determinación de fenoles totales en propóleos de la provincia de Santiago del Estero.
18. <http://www.api-guia.com.ar>. 2004. Kain, G. Y Steinberg, G. Propóleos. Métodos analíticos para el control de calidad según Norma RST-RSFSR-317-77. Propóleos de Norma Rusa. Requisitos técnicos.
19. <http://www.apinet>. 2001. Productos de la colmena, propóleos.
20. <http://www.Apinet.htm>. 2001. Las abejas y sus productos.

21. <http://www.curandote.com>. 2000. Bankova, V. Control de calidad y normalización del propóleo. Problemas y soluciones.
22. <http://www.estarinformado.com.ar>. 2003. Propóleos: Todo lo referente al tema - Apicultura entre Amigos. Argentina.
23. <http://www.todomiel.com.ar>. 2004. Maidana, J. Y Chaillou, L. Tipificación de Calidad CEDIA para propóleos en bruto. Centro de Investigaciones Apícolas CEDIA, Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Argentina.
24. JONES, M. 1986. Métodos para evaluar la efectividad antimicrobiana. Madrid, España. Edit. Finegold, S.M. pp 12-17.
25. JORNET M. y BOULLERY, S. 1986. Le cobaye, 2a parte; Patalogie, vol. 18, N°96. pp 141 - 154.
26. KLEINSCHROTH, E. 1991. La mastitis, diagnóstico, prevención y tratamiento. Barcelona, España. Edit. Acribia. pp 8-15.
27. LAVIE, P. 1988. Características del Propóleos. In: Propóleos. Bucarest. pp 5 -10. Página de Internet, archivo pdf.
28. MIRZOEVA, O y CALDER, P. 1996. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. Página de Internet, archivo pdf.
29. ORTIZ, P. 2002. Efecto del rumensín (Monensina sodica) en el crecimiento de ovinos criollos. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH. Riobamba, Ecuador. pp 35-41.
30. PEÑA, L. 2002. Anotaciones de la cátedra de Producción ovina. Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH. Riobamba, Ecuador.

31. PHILIPPE, J. 1990. Guía del apicultor. 1a ed.. España. Edit. Ediciones Mundi Prensa. pp 25-29.
32. PONCE, F. Y LUNA, G. 1994. aislamiento, tipificación y antibiogramas de los Principales Géneros de Enterobacterias aislados en cuatro mataderos avícolas del Cantón Quito. Quito, Ecuador. Edit. Universidad Central del Ecuador. pp 14-18.
33. RICHARDSON, V. 1992. Diseases of domestic guineapigs. Blackwell scientific publications. Oxford. pp. 51-53.
34. SALAMANCA, G. G.; RAMÍREZ. C.; RUBIANO. L. 2002. Composición mineral de algunas muestras de propóleos colombiano colectados por *Apis mellifera*. Facultad de Ciencias Básicas - Departamento de Química. Grupo de Investigaciones Mellitopalínológicas. Universidad del Tolima. Ibagué-Colombia. pp 35-56.
35. SMITH, R. 1992. Manual para el control de mastitis. Costa Rica. Edit. Laboratorios Trialba. pp 8-11.
36. WHIRLPAC. 1994. 3M Petrifilm. Folletos divulgativos de las placas de recuento y guías de interpretación.

ANEXOS

