

103  
2e



# Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
Y ZOOTECNIA

EVALUACION COMPARATIVA DEL EFECTO CICATRIZANTE DE  
UN PREPARADO A BASE DE PROPOLEO - BACITRACINA.

## T E S I S

Que para obtener el Título de  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

presenta

**DAVID GUEVARA GONZALEZ**



Asesores: M.V.Z. HECTOR SUMANO LOPEZ  
M.V.Z. LUIS OCAMPO CAMBEROS

México, D. F.

1988



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

P A G I N A

RESUMEN	1
I. INTRODUCCION	3
II. MATERIAL Y METODO	9
III. RESULTADOS	12
IV. DISCUSION	17
V. LITERATURA	25

## RESUMEN.

La evaluación comparativa del efecto cicatrizante de un preparado a base de propóleo-bacitracina, se llevó a cabo - en el Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se utilizaron 120 ratas de ambos sexos de la cepa -- Wistar, divididas en cuatro grupos. Se les anestesió con éter hasta el plano quirúrgico (III), y a dos grupos se les hizo -- una incisión de dos milímetros de profundidad aproximadamente y dos centímetros de largo, y se les inoculó 0.1 ml. de Pseudo-mona aeuroginosa ( $1^{\circ}10^8$ ), estandarizada de acuerdo con el método convencional de Davis Dubelco.

A los otros dos grupos se les anestesió de la misma - forma y se les hizo una quemadura con hierro candente en el dorso de aproximadamente 1.5 cm. de diámetro y se les inoculó Pseu-domona aeuroginosa ( $1^{\circ}10^8$ ).

Se emplearon tres tratamientos para observar la evolu- ción de la cicatrización: Propóleo, Propóleo-Bacitracina y Baci- tracina sola, y se incluyó un grupo testigo no tratado.

Diez animales de cada grupo se sometieron a la deter- minación post mortem de fuerza de tensión de la herida, se mues- trearon para tipificación y cuantificación de los microorganismos encontrados en el tejido lesionado.

A cinco ratas de cada grupo se les realizó estudio his  
topatológico, para evaluar el proceso de cicatrización de la he-  
rida.

Los reusltados obtenidos en este trabajo revelan que -  
el Propóleo aplicado a las heridas infectadas y quemaduras infec  
tadas, fue eficaz.

"EVALUACION COMPARATIVA DEL EFECTO CICATRIZANTE DE UN  
PREPARADO A BASE DE PROPOLED - BACITRACINA".

I.- INTRODUCCION.

Se ha demostrado que el crecimiento excesivo de ciertas bacterias y la acumulación de sus metabolitos dentro de las heridas, pueden causar una inhibición de la cicatrización, por lo que durante años se han utilizado diversos desinfectantes para disminuir la contaminación bacteriana de heridas abiertas y suturadas y facilitar la cicatrización [11,19].

Para prevenir el crecimiento de microorganismos, en las heridas, se han usado sustancias bactericidas, antisépticos cutáneos, tales como soluciones yodadas, preparados diversos de metales pesados (plata, mercurio), etc., ya que teóricamente disminuyen el tiempo de cicatrización y aumentan la llamada "fuerza de resistencia de la herida" [4].

Así pues, en primera instancia parecería factible asumir que la existencia de heridas de difícil cicatrización, puede resolverse con la aplicación de antisépticos cutáneos [2,7].

Empero, esto no resulta cierto en todos los casos, especialmente en heridas situadas en el abdomen que, por el contacto con la cama o tierra, tienden a infectarse más fácilmente a pesar de la presencia de un antiséptico [3].

Las alternativas de protección de heridas con vendajes, apósitos, etc., tampoco resuelven todos los casos e incluso llegan a empeorar [5,11]. Para el clínico, resulta evidente la falta de alternativas, fuera de la aplicación de antisépticos y vendajes. Esto ha inducido a varios investigadores a buscar nuevos métodos en la cicatrización tales como la aplicación de enzimas [13], el desarrollo de preparaciones con colágena [23], e incluso la aplicación de preparados con miel de abeja o productos colaterales [22].

Indudablemente, el tratamiento de heridas, sobre todo si se encuentran infectadas, ha sido preocupación constante de muchos investigadores [8]. La contaminación origina una infección que se inicia aproximadamente 10 horas después de la contaminación inicial [13]. Dentro del acto quirúrgico, el desarrollo de la infección suele tener diversos orígenes, siendo más comunes las contaminaciones transmitidas por el cirujano, instrumental quirúrgico, mobiliario o las corrientes de aire que depositan bacterias en el paciente [20]. Otra causa de infecciones es el exceso de manipulación de los tejidos, incluso desde el inicio de la intervención, es frecuente que la incisión no se lleve a cabo en un solo acto y la repetición de ésta maniobra produce irritación, coágulos sanguíneos o presencia de tejido necrosado que más adelante facilitará la infección y provocará inflamación y retraso en la cicatrización, existiendo mayor actividad celular y sanguínea en la zona afectada [10,18].

La frecuencia de las infecciones cutáneas de la cirugía, sobre todo en medicina veterinaria, ha llevado a algunos investigadores a realizar trabajos para evaluar la eficacia de la medicina tradicional [12]. Esta forma de la medicina constituye una parte real e indivisible de la cultura popular; su presencia y ancestral práctica no deben escapar al análisis de la realidad médica de nuestro país [19]. Sobre todo si se toma en cuenta -- que el valor de los medicamentos producidos en todo el mundo en 1977 (excluida China y los países socialistas de la Europa Oriental), ascendió aproximadamente a 48,000 millones de dólares. Así pues, al mundo en desarrollo le correspondió únicamente la quinta parte de esta producción y más de la mitad de esta fracción se concentró en tres países a saber: Brasil, India y México [16].

En la mayoría de los países en desarrollo falta una industria química básica y la producción farmacéutica se limita a la formulación y envasado. Es quizá por esta dependencia, que la investigación hacia lo que es la medicina tradicional puede aportar a la farmacología de hoy nuevas alternativas más económicas y que permitan una menor dependencia. Es por eso que resulta básica y necesaria para nuestro país. Tal es el caso del uso del propóleo para el tratamiento de cicatrización en heridas [19].

El propóleo es una sustancia gomosa que las abejas -- utilizan para pegar las partes de su colmena, para reforzar los panales y sellar orificios. El propóleo está hecho a partir de

resinas colectadas de los árboles a las que las abejas adicionan cera y secreciones salivales. El color del propóleo varía del amarillo verdoso al café obscuro dependiendo de la fuente de su colección o de su tiempo. Posee un olor agradable y es difícil de quitar cuando se impregna a la piel. Su composición química es muy compleja y contiene una mezcla de resina y bálsamos, cera, yemas, flores de plantas, y polen, todas estas enriquecidas con fermentos y sometidas a una fermentación ácido-láctica en el tubo digestivo de las abejas, también contiene aceites esenciales, taninos, pequeñas cantidades de hierro, calcio, magnesio, etc. El polen que contiene se caracteriza por la riqueza en las vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C, E y provitamina A [21].

Tiene un amplio espectro de actividad biológica: es bacteriostático, bactericida, analgésico local, antitóxico, antiviral, fungicida, fungistático, antiflogístico, dermatoplástico y desinfectante. La lista de sus propiedades se explica, debido a la gran diversidad de sus componentes, que también incluyen aldehídos aromáticos, alcoholes aromáticos, ácidos, flavones, flavonoides y numerosos microelementos [14].

En nuestros días los antibióticos son aplicados extensivamente en la terapia local o sistémica de procesos infecciosos, pero con la desventaja de que los microorganismos crean resistencia, y además puede llegar a haber sensibilización por parte de los pacientes. Este es otro de los aspectos interesantes del Propóleo, ya que se ha visto que no crea ni resistencia ni sensibilización, a la vez es atóxico [22].

Kivalkina y Budarkova [14] durante los tratamientos -- con propóleo establecieron un título cuatro veces más alto de antituerpos y una intensa reacción plasmática en comparación con otros tratamientos antibacterianos.

Las formas bajo las cuales se emplea el propóleo, son variables, extractos a base de alcohol y agua, ungüentos con jalea de petrolato y lanolina, pasta, emulsiones, etc. [8].

Desde 1976 en Rusia se usan extractos de propóleo al - 20-30% de agua-alcohol, en el tratamiento de heridas supurantes de laceración o contusión, flegmones y abscesos de tejido subcutáneo [8]. También se utiliza en dermatología, en pediatría, - otorrinolaringología, gastroenterología y odontología [6].

Por estos antecedentes, es que se cree conveniente estudiar las propiedades regenerativas y estimulantes de la reparación de heridas por parte del propóleo [21] ya que presenta - un amplio espectro antibacteriano.

Sin embargo, es quizá necesario evaluar si la mezcla de una fracción del propóleo más bacitracina alivia heridas preestablecidas causadas por una cepa patógena de Pseudomona aeurogínosa con el fin de inferir indirectamente, si la actividad antibiótica del propóleo solo es suficiente o no y si la bacitracina puede por si sola inducir los mismos efectos que el propóleo.

HIPOTESIS.

La mezcla de propóleo-bacitracina incrementa la "fuerza de tensión de la herida" y estimula la cicatrización en heridas con una infección ya establecida por Pseudomona aeruginosa.

## II.- MATERIAL Y METODO.

Se utilizaron 120 ratas de ambos sexos de la cepa Wistar, con un rango de 300 a 400 gramos de peso, divididos en cuatro grupos de 30 animales cada uno. Se les alojó en forma separada, se les administró alimento y agua ad libitum.

A dos grupos de ratas se les anestesió con éter hasta el plano quirúrgico y se les hizo una incisión (de 2mm. de profundidad aproximadamente y dos centímetros de largo) (fig. 1) inmediatamente después se les inoculó con 0.1 ml. de Pseudomona aeuroginosa ( $1 \times 10^8$ ), estandarizada de acuerdo con el método convencional de Davis Dubelco [9].

A los otros dos grupos se les anestesió con éter hasta el plano quirúrgico (III) y se les produjo una quemadura con hierro candente sobre el dorso de aproximadamente 1.5 centímetros de diámetro, el hierro fué previamente calentado hasta 140 grados centígrados en aceite y se colocó en la piel por espacio de tres segundos (fig. 3); inmediatamente después se les inoculó 0.1 ml. de Pseudomona aeuroginosa ( $1 \times 10^8$ ).

Se emplearon tres diferentes tratamientos para observar la evolución de la cicatrización: Propóleo, propóleo-bacitracina, bacitracina sola y además se incluyó un grupo testigo no tratado.

Cada uno de los grupos constó de 30 ratas; a 15 de cada grupo se les practicó una incisión, y a las otras 15 se les quemó.

Los animales se empezaron a tratar a los 3 días después de la inoculación, el tratamiento se aplicó durante 15 días. A 10 animales de cada grupo se les sometió posteriormente a la determinación post mortem de la fuerza de tensión de la herida, (al cabo de 18 días de iniciado el experimento) al abrir la herida se les muestreó para la tipificación y cuantificación de los microorganismos encontrados en el tejido lesionado. A 5 ratas de cada grupo, se les sacrificó también a los 18 días para realizar el estudio histopatológico para evaluar el proceso de cicatrización de la herida.

La cohesión de la herida se evaluó midiendo la fuerza requerida para la separación de los bordes de la misma, de acuerdo con el método descrito por Worlasky y Prudden [24], quienes idearon un aparato que permite la aplicación de una fuerza creciente (tensión) sobre la herida, utilizando un recipiente que cuelga de polea. El aumento de tensión se logra agregando agua destilada, gota a gota sobre un recipiente en un sistema de poleas, de manera que al llegar a un peso suficiente, pueda abrir la herida, ambos extremos jalan los bordes. En ambos bordes de la herida, los hilos de nylon que transmiten la tensión, quedan sujetos mediante grapas.

Los registros de la fuerza necesaria para separar los bordes de la herida entre los dos grupos se sometieron a un análisis de varianza [10], desglosado en el diagrama de esquema 1.

Para el estudio histopatológico se fijó la piel lesionada en una solución de formol al 10% durante 48 horas. Las muestras se procesaron conforme al método de rutina para inclusión en parafina. Se obtuvieron cortes de 4 micras de grosor y se tiñeron tanto con hematoxilina y eosina, como con la técnica tricrómica de Masson y Gram [15]. Se obtuvieron tres muestras de cada animal, y los cortes se efectuaron, dos en los extremos y uno en el centro de la incisión.

La preparación de la mezcla propóleo-bacitracina se muestra en el esquema 4.

Las muestras para el examen bacteriológico se tomaron con una sola cara de un isopo estéril, frotando su superficie dos veces contra la herida recién abierta después de la prueba de tensión de herida. Se llevó a cabo un cultivo en agar sangre tendiente a determinar el número de bacterias formadoras de colonias y la existencia de cultivos puros (Pseudomona aeuroginosa) o mixtos (con colonias distintas a la típica forma de las de Pseudomona aeuroginosa).

III.- RESULTADOS

Los gramos de tensión de herida obtenidos para heridas y quemaduras se muestran en el cuadro 1 y en el cuadro 2 respectivamente, donde también se resaltan los pasos estadísticos de mayor relevancia. De dichos cuadros se resume que tanto en el caso de las heridas como en el de las quemaduras, los grupos que se trataron con propóleo o con propóleo-bacitracina tuvieron --- fuerzas de cohesión de herida estadísticamente superiores (P) a los grupos tratados con bacitracina y al grupo testigo.

También se encontraron diferencias significativas --- (P 0.5) entre el grupo tratado con propóleo-bacitracina y el tratado únicamente con propóleo, siendo tanto en quemaduras como -- cortadas más fuerte la cohesión en el primer grupo.

CUADRO 1

PRUEBA DE BARTLET PARA HOMOGENEIDAD DE VARIANZA. [24]

Cortadas (en gramos tensión de herida = g)

Testigo contaminado	Propóleo solo	Propóleo bacitracina	Bacitracina sola
1. 224	523	598	420
2. 350	482	958	392
3. 401	601	747	275
4. 201	596	813	382
5. 269	722	852	500
6. 340	633	425	301
7. 493	912	993	219
8. 510	761	834	487
9. 254	471	946	495
10. 447	412	741	298

$$\chi^2 = 54.09$$

El valor se encuentra por debajo del percentil 0.001, por lo tanto hay heterogeneidad de varianza y se hace la prueba F.

F para g de tensión en cortadas.

$F_t = 2.82 < 61794$  por lo tanto, si hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores de g de tensión con los diferentes tratamientos de a cortada.

Se hace t de Dunnett g de tensión, cortada. [14]

$$F_t = 2.46 \begin{cases} < 4.23 \\ > 7.152 \\ > 0.445 \end{cases}$$

Por lo tanto existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de g de tensión de propóleo solo + 261.9g y propóleo-bacitracina + 441.3g.

CUADRO 2

PRUEBA DE BARTLET PARA HOMOGENEIDAD DE VARIANZA

Testigo contaminada	Propóleo solo	Propóleo bacitracina	Bacitracina
302	571	725	418
364	520	1023	429
409	749	1127	312
346	412	909	372
371	809	621	457
305	531	776	372
615	763	829	304
377	1009	805	465
305	513	769	465
500	575	909	485

$n = 10$	10	10	10
$\bar{x} = 379.4$	645.2	849.3	419.4

$$x^2 = 77.157$$

El valor se halla por debajo del percentil 0.001, por lo tanto, hay heterogeneidad de varianzas y de hace F para g de tensión, quemadas.

$$F_t = 2.82 < 316.95$$

Existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de g de tensión con los diferentes tratamientos a quemadas. Se hace t de Dunnett.

t de Dunnett para g de tensión quemadas. [14]

$$F_t = 2.46 \begin{matrix} < & 4.58 \\ < & 8.09 \\ < & .689 \end{matrix}$$

Por lo tanto, hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores de tensión en g (gramo) de propóleo solo + 265.8 g y propóleo-bacitracina + 469.9g. (veáse el cuadro 4).

Los resultados del estudio histopatológico de cuatro series de cortes de piel tratadas con propóleo solo, propóleo-bacitracina, bacitracina sola y sin tratamiento se resumen de la siguiente manera:

**CORTADAS:**

Propóleo solo; epidermis intacta y dermis con una ligera infiltración por células mononucleares y se observan restos de un material aceldillado de coloración verde.

Propóleo bacitracina: epidermis íntegra y dermis seca sin infiltración celular.

Bacitracina: epidermis íntegra y ligera infiltración por polimorfonucleares, neutrófilos en dermis.

Testigo: epidermis íntegra y hay infiltración ligera por polimorfonucleares neutrófilos en dermis, con pequeña área de necrosis licuefactiva.

**QUEMADAS:**

Propóleo solo: epidermis en la que se observan signos de reepitelialización en los bordes de la dermis desnuda, bajo un exudado abundante de tipo fibrinoso, en la dermis se observan formaciones granulomatosas alrededor de restos de un material de color verde, la reacción inflamatoria proliferativa está constituida por monocitos, la necrosis en este caso fue solo de epider

mis y por tanto la evolución es una regeneración.

Propóleo-bacitracina: pérdida de la epidermis en un -- gran espacio, en el que hay un exudado sobrepuesto de tipo fibri noso y dermis con una reacción inflamatoria muy leve, de tipo -- proliferativo, sobre todo alrededor del mismo material de color verde. El desarrollo evolutivo es de una regeneración con encapsulación del cuerpo extraño.

Bacitracina: epidermis con signos de epitelialización marginal y dermis con infiltración ligera por polimorfonucleares neutrófilos.

Testigo: exudado fibrinoso abundante en la zona de desnudación del epitelio epidérmico e infiltración abundante por polimorfonucleares neutrófilos con una amplia zona de necrosis liquiativa, y proliferación del tejido conjuntivo fibroso alrededor de la zona de necrosis.

#### IV. DISCUSION

Los resultados obtenidos en este trabajo revelan, que el propóleo aplicado a las heridas infectadas resulta ser una forma eficaz y económica de proteger las heridas y quemaduras contaminadas. No sólo es más económico dicho método sino que es más eficaz que la aplicación del antibiótico bacitracina. Esta sola comparación, sugiere que los componentes del propóleo tienen por lo menos una acción antimicrobiana comparable a la bacitracina; más componentes adicionales que fomentan la cicatrización o que, en última instancia, no la entorpecen al grado que la bacitracina lo hace.

Sin embargo, el diseño experimental iniciado con esta tesis no revela si la acción antimicrobiana detectada es propia, o es resultado de la facilidad de las defensas propias de los animales experimentales, o de ambas acciones.

Como a menudo sucede con estudios de medicina tradicional, este ensayo reveló un efecto al menos aditivo del propóleo y la bacitracina, en cuanto a la solidez de la cohesión de las heridas. Sin embargo, aún en esos grupos se detectó Pseudomona auroqinosa viable y capaz de formar colonias, esto es indicio de que aún en heridas cerradas se libra una notable batalla en la que los mecanismos de defensa del organismo son clave para la cicatrización total de la herida. Y por otro lado, se puede sugerir que las heridas pueden "cerrar" y cicatrizar aún en presencia de bacterias patógenas.

Lo que revelan que aún en heridas con poblaciones bacterianas mixtas de  $1 \times 10^5$ , la cicatrización se realiza por primera intención.

Los resultados histopatológicos indican que la contaminación experimental no produjo la necrosis licuefactiva que se esperaba en ninguno de los grupos, sin embargo el hecho de haber encontrado una reacción inflamatoria crónica por cuerpo extraño en los casos tratados con propóleo, indica que si bien el efecto del principio activo del propóleo es antimicrobiano y cicatrizante, la presentación es inconveniente por la presencia de un material que al introducirse entre el tejido conjuntivo dérmico, actuó como cuerpo extraño, y estimula una respuesta inflamatoria crónica, pues si bien no impide la cicatrización de primera intención si quedará como formación quística de por vida, por lo que es recomendable hacer una filtración fina del propóleo, para evitar que contenga tejidos vegetales del tipo celulósico inerte como el que fué observado en los cortes histológicos.

Histológicamente hablando no hay una diferencia evolutiva notable entre los tres grupos tratados, por lo que es la prueba irrefutable de la bondad del propóleo.

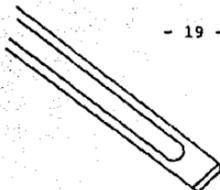


Fig. 1.- Lugar anatómico de la incisión para inocular la Pseudomona aeruginosa.

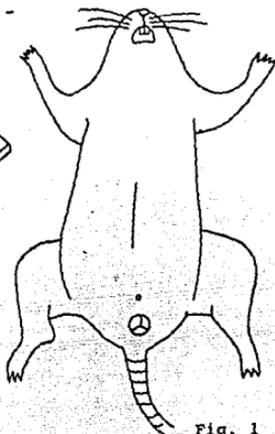


Fig. 1

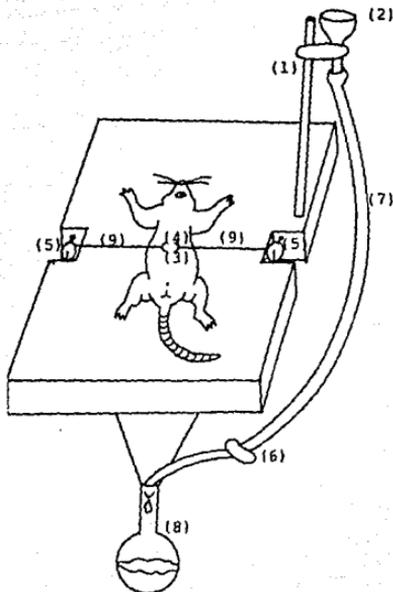


Fig. 2.- Aparato para medir la fuerza de resistencia de la herida.

- 1.- Objeto fijo.
- 2.- Embudo.
- 3.- Incisión.
- 4.- Grapas.
- 5.- Poleas.
- 6.- Pinzas.
- 7.- Manguera.
- 8.- Colector de agua.
- 9.- Hilo de Nylon.

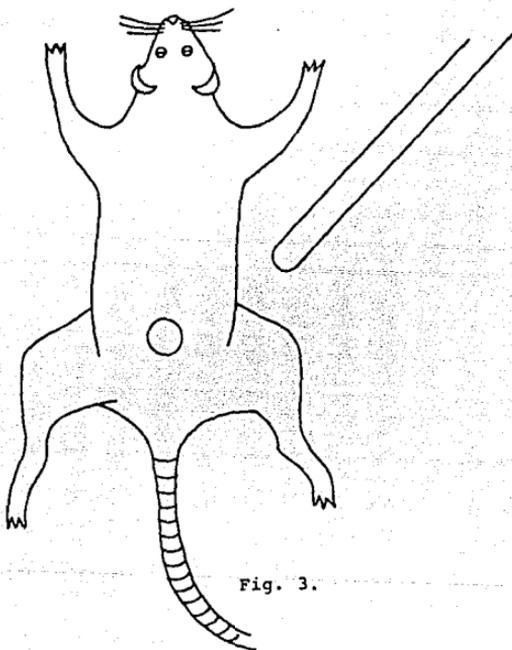
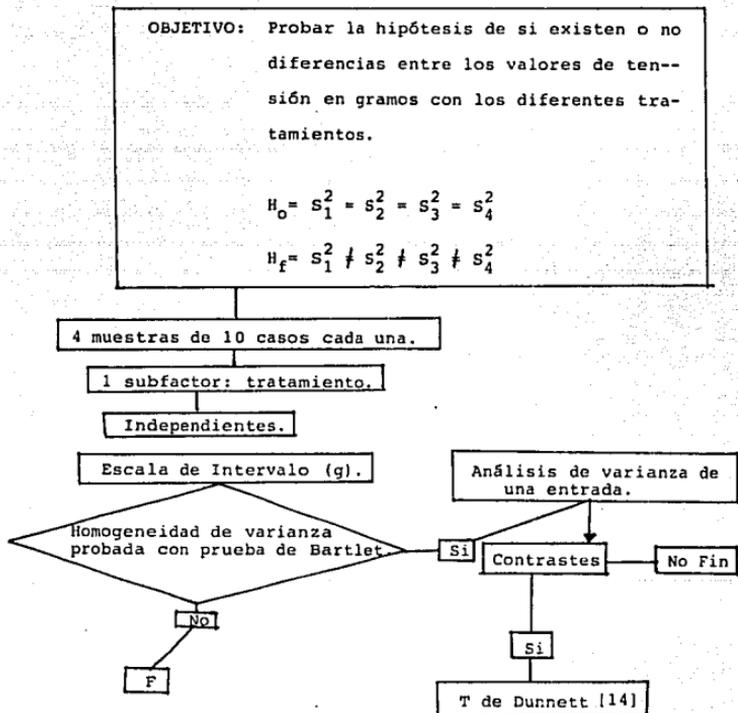


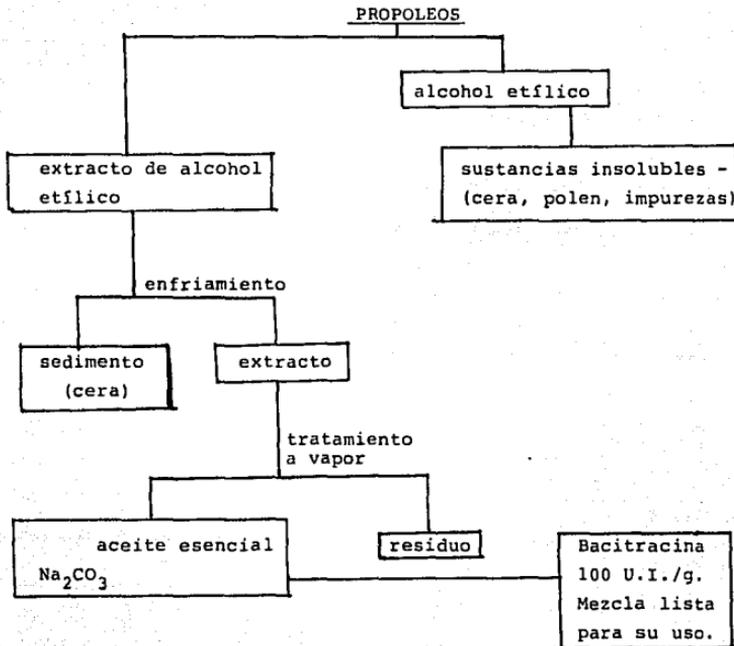
Fig. 3.

Fig. 3.- Inoculación de Pseudomona aeruginosa en el dorso de la rata, donde previamente se hizo una quemadura.

I. DIAGRAMA DE FLUJO DE LAS PRUEBAS ESTADISTICAS  
PARA TENSION EN GRAMOS. (14)



Esquema No. 1.- Método de preparación de la mezcla de propóleo-bacitracina.



Esquema 4

RESULTADOS DE TENSION DE LAS HERIDAS.

Los resultados bacteriológicos se detallan en el cuadro 3, donde se puede apreciar que todos los grupos tratados fueron superiores al testigo en bacteriostasis y que no hubo diferencias significativas entre dichos grupos.

Cuadro No. 3

Detallamiento del número de bacterias formadoras de colonia por muestra y de si el cultivo fue puro (P) o mixto (M).

<u>Caso</u>	<u>Testigo</u>	<u>Propóleo</u>	<u>Propóleo-Bacitracina</u>	<u>Bacitracina</u>
1	In P	10 P	6 M	9 M
2	328 P	2 M	5 M	3 M
3	410 P	1 M	4 M	2 M
4	462 P	cero	3 M	6 M
5	578 P	7 M	cero	cero
6	In P	17 M	cero	15 P
7	In P	1 M	cero	3 M
8	In P	cero	10 M	cero
9	607 P	12 P	7 M	10 P
10	In P	4 M	13 M	3 M

In = Incontables.

Cuadro No. 4.- Comparación de las fuerzas de tensión de las heridas.

Propóleo solo + 265.8 g y propóleo-bacitracina + 469.9 g.

CASO	testigo contaminado c/Pseudomona Aeuroginosa		Propóleo solo		Propóleo bacitracina	
	Cortada	Quemada	Cortada	Quemada	Cortada	Quemada
1	229g.	302	523	571	598	725
2	350g.	364	482	520	958	1023
3	401	409	501	749	747	1127
4	201	346	596	412	813	909
5	269	371	722	809	852	621
6	340	305	633	531	425	776
7	493	515	912	763	993	829
8	510	377	761	1009	834	805
9	254	305	471	513	946	769
10	447	500	412	575	741	909

CASO	Bacitracina	
	Cortada	Quemada
1	420	418
2	275	429
3	382	312
4	382	372
5	500	457
6	301	372
7	219	304
8	487	465
9	495	580
10	298	485

LITERATURA CITADA.

- 1.- Archibald, J.: (Editor) Canine Surgery, Second Archibald Edition American Veterinary Publication Inc. Sta. Bárbara, California, (1975).
- 2.- Athie Athie Arturo: Evaluación del Tiempo de Cicatrización de Cinco Desinfectantes Empleados en la Práctica Médica por el Método de Fuerza de Rompimiento de Herida. Tesis. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., (1983).
- 3.- Block, S.: Historical Review, Desinfection, Sterilization, and Preservation. Edited by: Lawrence, A.C., Block S., 3-8 Ed. Lea Febiger, Philadelphia, (1968).
- 4.- Branemark, I. P., Albrektsson, B., Lindstrom, F. and Lundborg, G.: Local Tissue Effects of Wound Desinfectants. Acta. Chir. Scand. 357: 166-176 (1966).
- 5.- Branemark, I.P., and Ekholm, R.: Tissue Injure Caused by Wound Desinfectants. J. Bone J. Surg., 49 (1): 48-62. (1967).
- 6.- Cizmarik, J.: Empleo del Propóleo en la Medicina Humana. III Symposium Internacional D'Apitherapie. Ed. Institute Internacional de Tecnología y Economía Apícolas Apimondia. 52-89. (1973).
- 7.- Custer, B. A. J.: Studies in the Manegement of the Contaminated Wound. Am. J. Surg., 121: 572-575. (1971).
- 8.- Damyantiev, R., Hekimov, K., Savova, E., Agopian, R.: The Treatment of Suppurative Surgical Wounds With Propolis. Folia-Med, Provddiv. Vol. 24, No. 2: 24-27 (1982).

- 9.- Davis, B. C., Dulbecco, R. Tratado de Microbiología. Ed. Salvat, México, (1975).
- 10.- Dixon y Massey., Introducción al Análisis Estadístico. Editorial Omega. 1958.
- 11.- Evans, L. H.: Wound Healing. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1181. (1973).
- 12.- Geromenus, J. R., Mertz, M. P. and Eaglsten, H. W.: Wound Healing. The Effects of Tropical Antimicrobial Agents. Arch Dermatol. 115 (11): 11311-1314. (1979).
- 13.- González, M., González, L.: Notas Sobre el Uso de las - Plantas Medicinales en las Comunidades Rurales del Estado de Nuevo León, Med. Trad. 3 (10): 23-32 (1980).
- 14.- Hernández, L. O.: Elementos de Probabilidad y Estadística. 1a. Edición, Fondo de Cultura Económica. México. 1979.
- 15.- Holoben, J.: Clinical Experience with a Proteolytic Enzyme, Vet. Med. Small An. Clin., 68: 148-150 (1973).
- 16.- Kivalkina, V. P., Barkov, A. A., Duboenko, J. V., Schmidt E. W., Gibkina, N. I., Talan, V. A. Fraccionamiento de - Propóleos y Estudio de la Actividad Antimicrobiana de las Fracciones. XXV Congreso Internacional de Apicultura. Ed. Instituto Internacional de Tecnología y Economía Apícolas Apimóadia. 231-236. Bucarest. (1978).
- 17.- Lee, G. L.: Manual of Histologic Steaning Methods of the Armed Forces. Institute of Pathology. Sra. Ed. Edited by: The Blakiston Division McGraw Hill Book Co., New York. (1960).

- 18.- Lozoya, X.: Salud, Seguridad Social y Nutrición. Med. Trad. 3 (10): 63-68. (1980).
- 19.- Kistker, L. S. et.al.: Papain Therapy of adhesive processes in the eyes. Vestn. Oftalmal./: 59-62 (1973).
- 20.- MEDOM, Inc.: cicatrización. Reporte de los Laboratorios CYANAMID, CO. Catálogo de la Biblioteca del Congreso, (1971).
- 21.- Pearson, E. S. and Hartley, H. O.: Biometrik A Tables for Statisticians. Volume i: Cambridge University Press. (1958).
- 22.- PNUD: Pnud: Cooperación Económica y Técnica en el Sector Farmacéutico, Med. Trad. 3 (10): 37-41 (1980).
- 23.- Ronald, P. G. and Russel, P.: The Effect of Commonly Used Antiseptics on Wound Healing. Plat. Reconst. Surg. 55 (4): 472-476 (1975).
- 24.- Sidney Siegel. Estadísticas No Paramétrica. Editorial Trillas. pp. 130-137. 1978.
- 25.- Stefanov, V., Ramanov, S.: Estado Radiológico de la Acción del Propóleo sobre el paso del Sulfato de Bário por el Tubo Digestivo. XXV Congreso Internacional de Apicultura. Ed. Instituto Internacional de Tecnología y Economía Avícolas Apimondia. 258-262. Bucarest (1975).
- 26.- Stujko, A., Scheller, S.: Biological Properties and Clinical Application of Propolis. VIII Experimental Observation on the Influence of Ethanol Extract of Propolis (EEP) on the Regeneration of Bone Tissue. Pol. Arzneim Forsch 1978-28-1 (35-37). 1982.

- 27.- Viljanto, J.: Desinfectation of Surgical Wound; Without Inhibition of Normal Wound Healing. Arch. Surg. 115(3) 253-256 (1980).
- 28.- Worlasky, E. and Prudden, F. J.: A New Method of Wound Tensiometry. Arch. Surg. 85(404): 404-409 (1962).