



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

“EVALUACIÓN TERAPÉUTICA DEL PROPÓLEO
EN DERMATOMICOSIS EQUINA”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

IRIS DEL SOCORRO FLORES RODRÍGUEZ
ASESOR: DR. TONATIUH A. CRUZ SÁNCHEZ

CUAUTITLÁN IZCALLÍ, ESTADO DE MÉXICO

2015





Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: M. en A. ISMAEL HERNANDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos **La Tesis**:

Evaluación terapéutica del propóleo en dermatomicosis equina

Que presenta la pasante: **IRIS DEL SOCORRO FLORES RODRÍGUEZ**
Con número de cuenta: **41004658-4** para obtener el Título de: **Médica Veterinaria Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de marzo de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M.V.Z. José Margarito Rojo López	
VOCAL	M. en A. Liborio Carrillo Miranda	
SECRETARIO	M.V.Z. María de Lourdes Jara Ramirez	
1er SUPLENTE	M.V.Z. Wilfrido Ramirez Valadez	
2do SUPLENTE	M.V.Z. Marcos Javier Sánchez Pérez	

NOTA: Los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).
En caso de que algún miembro del jurado no pueda asistir al examen profesional deberá dar aviso por anticipado al departamento.
(Art 127 REP)
IHM/yrf

Investigación realizada gracias a los Programas de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT 223811-3 titulado *Perspectivas del uso del propóleo en la salud animal* y PAPIIT IT200915 denominado *Desarrollo de productos con propóleo para su uso en la pasteurelisis del conejo, el distemper canino y la otitis canina*.

Agradezco a la DGAPA-UNAM la beca recibida.

Fue realizada en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 4 en las instalaciones del laboratorio 6 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria (UIM)

Agradecimientos:

A mi asesor: Dr. Tonatiuh A. Cruz Sánchez, por su confianza y apoyo desde el primer momento en que acudí a usted. Por siempre ofrecer oportunidades y motivar a los tesisistas. Su paciencia, conocimientos, orientación y valiosísimo tiempo han sido fundamentales para la culminación de este trabajo.

Al Dr. Liborio Carrillo Miranda: gracias a su clase aprendí a amar a las abejas y sus bondades.

Al MVZ. Marco Mendoza Saavedra (Marquitos), a Chayito y a Male, por su paciencia y apoyo durante la capacitación en el laboratorio de Microbiología. Fue poco el tiempo que estuve con ustedes pero en verdad los aprecio mucho como personas, mil gracias por su tiempo y su paciencia.

A todos y cada uno de los profesores que me acompañaron en esta carrera. Cada uno de ustedes me enseñó a aferrarme a mi sueño, a amar mi carrera, de algunos aprendí que la vida no siempre es justa, sobretodo la laboral.

Al Coordinador de la carrera: M. en C. Alan Olazábal Fenochio, por su tolerancia cada semestre que lo molestaba para que subiera mis materias al sistema y por mostrarse siempre amable y disponible.

A cada uno de los profesores que integraron el jurado, por su valioso tiempo, sus observaciones y consejos.

A mi FES-Cuautitlán, por abrirme en dos ocasiones sus puertas, por mostrarme que no es imposible estudiar una carrera, por ofrecer siempre oportunidades y no obstáculos.

A Manuel Rodríguez, mi patroncito, que me permitió trabajar durante los periodos vacacionales, me abrió las puertas y me alentó siempre a salir adelante, muchas gracias Mane.

A mis amigas Steff, Yare, Ely, Beky, Jazz, Euyin y Carito por acompañarme en los diferentes momentos de mi carrera, por hacer más ameno mi paso por la universidad.

Al Grupo Mensaje del Corazón, que me abrió sus puertas, me enseñó el valor de las personas, a no juzgar, a ser más consiente de todo, me enseñó a ser responsable, a cerrar ciclos, a perdonar.

A Marthuchita, por tu incontable apoyo incondicional en estos tiempos, por acompañarme cuando más triste estaba, por mostrarte siempre atenta, por tu tiempo, tu tranquilidad, tus bromas, por enseñarme que hay que dar y hacer todo por los animales. También a tus papás: Marthita y Salvador, gracias por abrirme las puertas de su hogar y mostrarse siempre amables y atentos conmigo y con Ciel, por acogernos y sobrealimentarnos. Por sus valiosos consejos. Por esas mañanas de bailongo y ejercicio.

A Frenchy, mi primer perrito, te prometí desde pequeña estudiar Veterinaria y ser la mejor, a Peque y Pantro. A mis musitas que me acompañan incondicionalmente, a Laurita, Ciel (Mi gordita) y Latika y a todos esos animalitos que han tocado mi vida y que son mi motor, a mis pacientitos y a los pequeños que han sido sacrificados en pro del aprendizaje: chiquitos, no fue en vano, también va para ustedes.

Dedicatoria:

A mis Padres:

Cumplir mi sueño me ha llevado a entender la difícil e incomprensible labor de ser padres. Concluir mis estudios universitarios es una pequeña manera de agradecerles el amor, cuidados y valores que sembraron en mí. En adelante solo les puedo prometer poner en práctica lo que hasta el día de hoy he aprendido y con ello cumplir la ilusión más grande que pudieron tener para mí: mi felicidad y convertirme en una persona de bien.

Papá:

Por sembrar en mí la semilla del estudio. Por cuidarme desde el cielo y mostrarme siempre que estas más cerca de lo que pienso. Por hacerme quien soy. Por heredarme tu fuerza.

Mamá:

Por ser un ejemplo de esfuerzo, mucha paciencia y perseverancia, por su ayuda incondicional aun sin saber que estudié Medicina Veterinaria y Zootecnia. Mamita: espero no te enojas, hoy vas a saber la verdad: estudié lo que siempre me apasionó, mi más grande anhelo, lo que me llena de vida y sin tu apoyo hubiese sido doblemente difícil. Gracias por el apoyo, la amor y confianza que en mí depositaste.

A mi tía Josefina:

Por ser la persona que ha estado conmigo en los momentos más difíciles de mi vida, por comprenderme y haberme dado lo mejor de ti sin esperar nada a cambio. Por siempre alentarme, por confiar en mí y brindarme tu cariño e incitarme a ser mejor. Por ser esa primera persona en acercarme a las terapias alternativas y mostrarme sus beneficios.

A Marinita:

Por mostrarme que la vida es muy corta como para desperdiciarla. Por abrirme los ojos e impulsarme a estudiar lo que siempre me ha apasionado, flaquita, tal como te lo prometí.

Al Gran autor de mi vida:

Dios, por guiarme hasta aquí, gracias padre por no soltarme cuando te he necesitado, por poner en mí camino siempre a las personas correctas, por darme todo lo que tengo, ¿Qué más te puedo pedir si todo me lo has dado?

Índice

Contenido	Página
INTRODUCCIÓN	2
1. LA PIEL.....	2
1.1 Funciones y propiedades de la piel	2
1.2 Estructura de la piel.....	3
1.2.1 Epidermis.....	3
1.2.2 Dermis	3
1.2.3 Hipodermis	3
1.3 Ciclo de crecimiento del pelo.....	4
1.4 Importancia de las afecciones dermatológicas en equinos.....	5
2. MICOSIS SUPERFICIALES	5
2.1 Concepto	5
3. MICOSIS SUPERFICIALES POR DERMATOFITOS.....	7
3.1 Definición.....	7
3.2 Etiología	7
3.3 Patogenia	8
3.4 Factores de virulencia de los dermatofitos	9
3.5 Clasificación de los dermatofitos	9
3.5 Morfología.....	10
3.6 Signos clínicos	11
3.7 Transmisión.....	11
3.8 Diagnóstico	11
3.8.1 Lámpara de Wood	11
3.8.2 Examen directo	12
3.8.3 Cultivo de la muestra.....	12
3.8.4 Técnica de Microcultivo.....	13
4. MICOSIS SUPERFICIALES POR LEVADURAS.....	13
4.1 CANDIDIASIS	13
4.2 Definición.....	14
4.3 Etiología	14
4.4 Patogenia	14
4.5 Factores de virulencia	14
4.6 Diagnóstico de la candidiasis	15
4.6.1 Frotis.....	15
4.6.2 Cultivo	15

4.6.3 Pruebas para identificación de especies	15
5. TRATAMIENTO DE LAS MICOSIS CUTÁNEAS	17
5.1 Tratamiento Tópico	17
5.2 Tratamiento sistémico	18
5.3 Vacunación.....	18
5.4 Desinfección ambiental.....	18
6. PROPÓLEO.....	19
6.1 Generalidades	19
6.2 Antecedentes históricos.....	20
6.3 Características	20
6.4 Composición química.....	20
6.5 Propiedades terapéuticas	21
6.5 Mecanismo de acción antimicrobiana del propóleo.....	22
6.6 Mecanismo de acción antimicótica del propóleo.....	23
6.7 Usos del propóleo en Medicina Veterinaria.....	23
6.8 Uso de propóleo en equinos	24
OBJETIVOS.....	25
HIPÓTESIS.....	26
DISEÑO EXPERIMENTAL	27
MATERIALES Y MÉTODOS	28
Criterios de inclusión de los animales:.....	28
Shampoo y pomada de propóleo	30
Procesamiento de las muestras.....	30
Identificación.....	30
Tratamiento	31
Evaluación.....	31
Comparación	31
RESULTADOS	32
DISCUSIÓN	42
CONCLUSIONES	44
ANEXOS.....	46
Anexo I: Hoja de trabajo.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1: Estructura de la piel de un caballo.....	3
Figura 2: Esquema de las fases del crecimiento del pelo en el equino.....	4
Figura 3: Tipos de conidios para los tres géneros anamorfos.....	10
Figura 4: Cultivo de la muestra del caballo 1 (Sioux) en agar SDA. Colonia blanca algodonosa.....	13
Figura 5: Frotis del cultivo de la muestra del equino 3 (Chunli).....	15
Figura 6: Prueba de tubo germinativo de la muestra del equino 3 (Chunli).....	16
Figura 7: Lagartija momificada con propóleo.....	20
Figura 8: Sioux Esquema mostrando la localización de las lesiones en cabeza.	28
Figura 9: Sheesa, lesiones en ambos lados de la cara.....	28
Figura 10: Chunli: Lesión en la base de la cincha.....	29
Figura 11: Edfu, lesión en el encuentro.....	29
Figura 12: Cielo, lesión en la base de la cincha.....	29
Figura 13: Caso 1, Sioux. Lesión causada por <i>Trichophyton spp</i>	32
Figura 14: Caso 2, Sheesa. Lesiones en cara en lado derecho dadas por <i>Candida spp</i>	33
Figura 15: Lesiones de Sheesa en el lado izquierdo de la cara.....	34
Figura 16: Lesión causada por <i>Candida spp</i> . en la región de la yugular.....	34
Figura 17: Caso 3, Chunli. Imágen mostrando una infección causada por <i>Candida spp</i>	35
Figura 18: Caso 4: Edfu, Macho.....	35
Figura 19: Equino 5: Cielo, hembra.....	35

ÍNDICE DE TABLAS

Contenido	Página
Tabla 1: Hongos que producen micosis cutáneas superficiales.....	6
Tabla 2: Resultados de la observación con KOH y aislamiento.....	32
Tabla 3: Resultados del procesamiento de las muestras (observación directa, aislamiento e identificación).....	37
Tabla 4: Medida de las dimensiones de las lesiones en los equinos antes y después del tratamiento.....	37
Tabla 5: Resumen de los resultados obtenidos de la observación directa, tratamiento, aislamiento y área de las lesiones en los casos tratados...	39

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Contenido	Página
Grafica 1: Comparación del área de las lesiones antes y tras 4 semanas de tratamiento.....	38
Grafica 2: Se muestra comparativamente el tamaño de la lesión antes y al final del tratamiento.....	32
Grafica 3: Comparación de los costos de tratamiento.....	41
Grafica 4: Medida de las dimensiones de las lesiones en los equinos antes y después del tratamiento.....	40

RESUMEN

FLORES RODRÍGUEZ IRIS DEL SOCORRO. Evaluación terapéutica del propóleo en dermatomicosis equina (bajo la dirección del Dr. Tonatiuh A. Cruz Sánchez)

Las micosis cutáneas son infecciones producidas por hongos que afectan a la piel y anexos cutáneos. Los principales agentes implicados son las diferentes especies de dermatofitos y levaduras, afectando a caballos de cualquier edad, raza o sexo. Algunas variedades de éstos logran infectar también a los humanos. Los tratamientos convencionales llegan a ser costosos, prolongados no sin mencionar los efectos secundarios y contraindicaciones que su administración conlleva, por lo que se ha incrementado la tendencia y el interés por implementar alternativas terapéuticas de origen natural. Una de estas alternativas es el propóleo, cuyas propiedades antimicóticas ya han sido estudiadas y probadas en diferentes especies.

En el presente estudio se evaluó la eficacia terapéutica de una pomada y un shampoo con propóleo desarrollados en la FES Cuautitlán para el tratamiento de éste tipo de micosis. Para lo anterior se seleccionaron 5 casos clínicos de caballos con posible dermatomicosis a los que se les realizó un raspado cutáneo de las zonas afectadas y de éstas muestras se realizó observación directa con KOH al 10%, cultivo en medio SDA, agar Micobiotico y Agar Borelli, identificadas posteriormente por microcultivo, tinción azul de algodón y prueba de tubo germinativo, logrando identificar *Trichophyton mentagrophytes* en un caso, *Trichophyton spp.* en otro y *Candida albicans* en los restantes. A estos caballos se les bañó con shampoo a base de propóleo 1 vez por semana y se les aplicó pomada con propóleo en las lesiones 2 a 3 veces por semana, por un lapso de 4 semanas. Se determinó la eficacia de los productos tomando imágenes antes y después del tratamiento y analizándolas con el software Image Pro-Express® mediante la medición de las lesiones. El resultado fue que se registró una reducción del 97 al 99% en el área de las lesiones al finalizar el tratamiento y demostrando en todos los casos la eficacia del uso del propóleo, ofreciendo un panorama muy alentador para su implementación como una alternativa terapéutica natural y sin efectos tóxicos importantes en el tratamiento de micosis cutáneas en caballos, otros animales y en humanos.

INTRODUCCIÓN

1. LA PIEL

La piel es el órgano más grande y visible del cuerpo ya que representa aproximadamente el 15% del peso corporal. Es la barrera anatómica y fisiológica entre el animal y el medio en que se desarrolla (Scott, 2004). La piel del caballo tiene un grosor considerable. Está demostrado que, en comparación con la de otros animales domésticos, la piel del caballo es más gruesa que la del cerdo, cabra y oveja, pero es más delgada que la del ganado vacuno (Taludkar, 1979).

1.1 Funciones y propiedades de la piel

1. Establece una barrera que impide la pérdida de agua, electrolitos y macromoléculas y proporciona soporte interno a varios órganos del cuerpo.
2. Actúa como reservorio de vitaminas, grasas, carbohidratos, electrolitos, agua y proteínas.
3. Constituye una barrera protectora contra agresiones físicas y químicas.
4. Actúa como un órgano sensitivo para el calor, frío, tacto, presión, dolor y prurito.
5. Regula la temperatura corporal a través del manto piloso.
6. Regula la presión sanguínea a través de los cambios en la vasculatura periférica.
7. Produce estructuras queratinizadas como pelo, cascos y la epidermis.
8. Actúa como un órgano secretor y excretor por parte de las glándulas apócrinas y sebáceas que incluyen factores antimicrobianos.
9. Proporciona flexibilidad, elasticidad y rigidez para lograr la forma del cuerpo.
10. Actúa como un órgano de inmunovigilancia por medio de los queratinocitos, los linfocitos y las células de Langerhans.
11. Pigmentación: la formación de melanina, vascularización y keratinización ayudan a determinar el color de la capa y la piel. La pigmentación de la piel ayuda a prevenir el daño por la radiación solar. (Scott, 2004).

1.2 Estructura de la piel

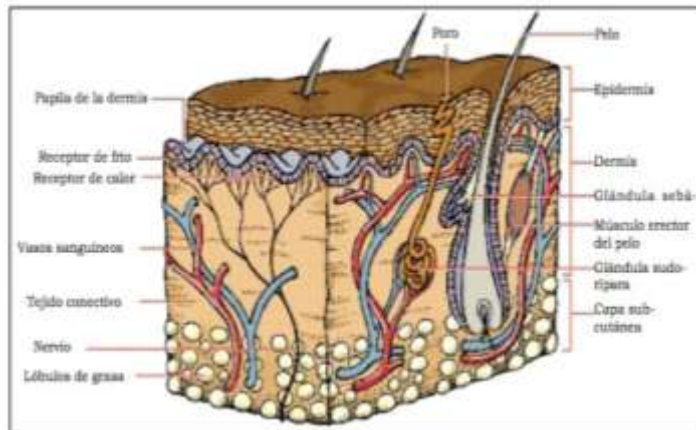


Figura 1: Estructura de la piel de un caballo (Villarino, 2006)

La piel está constituida por tres grandes capas: la epidermis o capa externa, la dermis o capa media y la hipodermis o capa interna. Otros componentes importantes son los anexos de la piel como el pelo y cascos, los músculos subcutáneos y la grasa (Merck, 2011).

1.2.1 Epidermis

Con un espesor promedio de 0.053 mm contiene múltiples capas de células y es la capa no vascular más externa de la piel (Taludkar, 1979). Las capas celulares de la epidermis se originan a partir de una capa basal y se modifican a medida que avanzan superficialmente hacia la epidermis, proporcionando la pigmentación, la regulación inmunológica y la percepción táctil. El tiempo promedio para que la epidermis de un caballo sea reemplazada es de 17 días. El proceso de keratinización comienza en el estrato basal donde las células sufren mitosis y migran hacia la superficie a través de los estratos espinoso, granuloso y corneo (Buechner, 2005).

1.2.2 Dermis

En comparación, la dermis es mucho más gruesa. Apoya a la epidermis y proporciona flexibilidad a la piel a través de su composición de tejido conectivo, elastina, colágeno y fibras reticulares que se extienden desde debajo de la membrana basal de la epidermis hasta la hipodermis (Scott, 2004). Además de lo anterior en esta capa se localizan los vasos sanguíneos, nervios, vasos linfáticos, pelo y glándulas sebáceas y sudoríparas, éstas dos últimas son más grandes y numerosas en el caballo en comparación con las de otras especies de grandes animales (Fitzpatrick, 1993).

1.2.3 Hipodermis

También conocida como subcutis es la capa sobre la que descansa la dermis, misma que la une con los músculos y huesos. Está formada por tejido conectivo laxo infiltrado por

cantidades variables de células adiposas que proveen de energía, protección, soporte y aislamiento térmico (Leach, 1999; Dyce, 2007).

1.3 Ciclo de crecimiento del pelo

El pelo no crece constantemente, sino que lo hace en ciclos (Figura 2). La duración relativa de las fases del ciclo varía con la edad del animal, la región anatómica, la raza y el sexo y puede ser modificada por una variedad de factores fisiológicos y patológicos (Scott, 2001; Ebling, 1965). Entender el ciclo del pelo ayuda a comprender como se adquieren algunas de las principales micosis cutáneas (Carlotti, 2002).

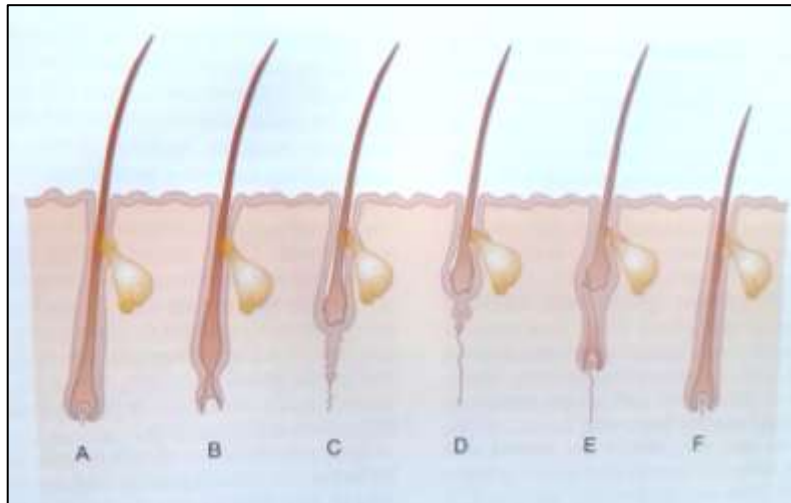


Figura 2: Esquema de las fases del crecimiento del pelo en el equino (Scott, 2004)

El esquema anterior ejemplifica cada una de éstas fases:

- A) **Fase anágena (o de crecimiento):** el pelo se produce por mitosis en células de la papila dérmica.
- B) **Fase catágena temprana (o de reposo):** es un estadio transicional donde el bulbo piloso se contrae y el pelo de éste folículo se convierte en un “bastón”.
- C) **Fase catágena:** El folículo distal se vuelve grueso y arrugado y empuja el pelo hacia fuera.
- D) **Fase telógena (o de renovación):** La papila dérmica se separa y un cordón epitelial se acorta para formar un germen secundario.
- E) **Fase anágena temprana:** el germen secundario crece hacia abajo para cerrar la papila dérmica y se forma un nuevo bulbo piloso. El pelo en “bastón” se pierde.
- F) **Fase anágena:** el pelo se alarga a medida que continúa el crecimiento.

1.4 Importancia de las afecciones dermatológicas en equinos

En la práctica veterinaria las afecciones dermatológicas en equinos son frecuentes e importantes, ya que después de los perros y gatos, los caballos son los animales que presentan con mayor frecuencia este tipo de problemas. (Hutchins, 1960).

Se ha señalado que entre las enfermedades dermatológicas equinas más comunes se encuentran la dermatofitosis, dermatofilosis, fotodermatitis, reacciones de hipersensibilidad a insectos, oncocercosis, granulomas eosinofílicos, papilomas, sarcoides urticaria y “seborreas nutricionales”. Aunado a lo anterior un estudio retrospectivo realizado en el Colegio de Medicina Veterinaria de la Universidad de Cornell por un lapso de 21 años (1979-2000) mostró que la segunda dermatosis equina más frecuente es la dermatofitosis (Scott, 2004).

Las micosis cutáneas tienen una gran importancia en veterinaria debido al carácter zoonótico de la mayoría de éstos procesos, posibilidad de contagio entre los mismos animales y a otras especies, la molestia que generan en el animal, deprecian la estética de la piel, además de los gastos que implica su tratamiento (Pérez, 2000).

Desde el punto de vista económico, aunque la enfermedad no causa la muerte de los animales, si se producen pérdidas considerables teniendo en cuenta los gastos por tratamiento dada en ocasiones la extensión de las lesiones (para el caso del tratamiento tópico) y el tamaño del animal (tratamiento sistémico), la frecuencia del tratamiento, las medidas de saneamiento y otros utilizados en la recuperación o prevención de los animales.

2. MICOSIS SUPERFICIALES

2.1 Concepto

Las micosis superficiales o micosis cutáneas son infecciones producidas por diferentes variedades de hongos que comprometen las capas superficiales de la piel, el pelo y las uñas o cascos. Los microorganismos pueden ser dermatofitos como *Microsporium*, *Trichophyton* y *Epidermophyton* que son queratinofílicos. Sin embargo, otros hongos como *Candida* (*Monilia*), *Malassezia* (*Pityrosporum*) y *Trichosporon* (piedra) también pueden producir micosis superficiales (Scott, 2004).

Es importante recalcar la diferencia entre una dermatomicosis y una dermatofitosis:

Una dermatomicosis es una infección micótica del pelo, las uñas o la piel, causada por un hongo NO dermatofito, es decir, no clasificado en los géneros *Microsporium*, *Trichophyton* o *Epidermophyton*, mientras que una dermatofitosis es una infección de los tejidos

queratinizados, el pelo y el estrato córneo causada por especies de *Microsporum*, *Trichophyton* o *Epidermophyton*. Estos organismos (los dermatofitos) son hongos con capacidad de invadir los tejidos queratinizados y mantenerse en ellos. La dermatofitosis y la dermatomicosis son entidades clínicas diferentes (Scott, 2004).

Tabla 1. Hongos que producen micosis cutáneas superficiales	
Dermatofitos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Microsporum</i> spp. • <i>Trichophyton</i> spp. • <i>Epidermophyton floccosum</i>
No dermatofitos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Candida</i> sp. • <i>Pityrosporum orbiculare</i> (<i>Malassezia furfur</i>) • <i>Exophiala werneckii</i> • <i>Piedraia hortae</i> • <i>Trichosporon beigeli</i> • <i>Nattrassia mangiferae</i> (<i>Hendersonula toruloidea</i>) • <i>Scopulariopsis brevicaulis</i>

(Foster, 2004)

La mayoría de los hongos que desarrollan micosis cutáneas suele ser saprofitos del individuo, lo que significa que conviven con el ser humano sin causar ninguna enfermedad. En determinadas condiciones pueden comportarse como patógenos, con lo que se produciría una infección (Bofill *et al.*, 1996).

2.2 Sinopsis Histórica

Aunque el hombre y los animales compartieron los mismos ecosistemas durante la prehistoria, probablemente las zoonosis micóticas cobran importancia cuando los humanos domesticaron animales o aprenden a utilizar los productos de ellos a gran escala. Sin embargo, no existen registros antropológicos que permitan conocer cuáles infecciones fúngicas presentaron los primeros pobladores humanos durante la prehistoria.

De acuerdo a la hipótesis de Donald Greer, las micosis aparecen en la era Cenozoica, es decir, hace aproximadamente 65 millones de años, cuando los continentes habían tomado su posición actual, los dinosaurios (fauna de la era Mesozoica) habían desaparecido y aparecen los mamíferos con piel de características similares a la de los animales de la actualidad formada en una proporción importante por diversos tipos de queratinas. Entonces, probablemente las primeras micosis fueron en realidad zoonosis y mucho tiempo después los primeros homínidos presentaron infecciones (Méndez, 2014).

En el caso de las dermatofitosis, estas fueron descritas por los griegos y los romanos; los primeros les llamaron herpes por su forma circular y los segundos, *tinea*, que significa larva o polilla, término que fue introducido por Félix Cassius en el siglo V; sin embargo, se creía que estos padecimientos eran causados por insectos o gusanos, de hecho, el término en inglés ringworm (anillo–gusano) es un ejemplo de la fusión del aspecto clínico y la etiología confusa (Bonifaz, 2012).

Sin embargo, los estudios científicos y comprobados comenzaron hasta el siglo XIX con los trabajos de Remark, cuya particularidad es que sus investigaciones se basaron en la autoexperimentación, pues él mismo se inoculó directamente las costras de sus pacientes sin éxito, pues la infección no se reprodujo en él. Debido a su origen judío y que el antisemitismo era común a principios del siglo XIX, estos trabajos no fueron divulgados sino hasta 1839 por Schoelein (Bonifaz, 2012).

Tiempo después Gruby realizó una serie de estudios, dentro de los que sobresalen el aislamiento de *Candida albicans*, el descubrimiento de diversos dermatofitos, la creación del género *Microsporum*. En 1845, Malsten creó el género *Trichophyton* y descubrió las especies *T. mentagrophytes* y *T. tonsurans*. Hasta 1907 Sabouraud, quien fuera discípulo de Pasteur creó el género *Epidermophyton*. Dividió a los dermatofitos en cuatro géneros: *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton* y *Achorion*. Años más tarde éste último fue eliminado del género por Langeron y Milochevitch. Para 1934 Emmons estableció las reglas “botánicas” de nomenclatura y taxonomía de los dermatofitos, quedando éstos incluidos en los tres géneros conocidos hasta la actualidad (Bonifaz, 2012).

3. MICOSIS SUPERFICIALES POR DERMATOFITOS

3.1 Definición

Como ya se mencionó, dermatofitosis es una infección micótica de la piel y sus anexos, causada por un grupo de hongos filamentosos denominados dermatofitos, los cuales afectan a especies como el ser humano, caballos, perros, gatos, bovinos, ovinos, caprinos, cerdos, roedores, conejos y aves, entre otros (Bonifaz, 2012).

3.2 Etiología

Los dermatofitos son hongos filamentosos potencialmente patógenos para el hombre y los animales, poseen gran capacidad de adaptación a las condiciones ambientales más diversas y tienen especial afinidad para vivir en las estructuras queratinizadas, por lo que reciben el nombre de hongos queratinofílicos (Larrondo, 2001). Son un grupo extenso y homogéneo de hongos con características taxonómicas, antigénicas, fisiológicas y patogénicas similares, distinguiéndose entre sí por sus características macroscópicas y microscópicas, así como sus propiedades enzimáticas y nutricionales (Bonifaz, 2012;

Arenas, 2011; Ochaita, 2003; Elewski, 1993). Se clasifican en tres géneros: 1) *Trichophyton*; 2) *Microsporum*, y 3) *Epidermophyton* (Arenas, 2011).

Algunas especies de los géneros *Microsporum* y *Trichophyton* son patógenas tanto para animales como para humanos, mientras que el género *Epidermophyton* principalmente afecta a estos últimos (Cutsem, 1991; Chatterjee, 1988). Todos los dermatofitos fueron clasificados formalmente como miembros del *Phylum Deuteromycota (Fungi imperfecti)*, Familia *Arthrodermatacea*. En su estado teleomorfo o estado perfecto, *Microsporum* y *Trichophyton* pertenecen al género *Arthroderma*, mientras el estado perfecto de *Epidermophyton* aún se desconoce (Anaissie, 2008)

Trichophyton equinum es la causa más común de dermatofitosis equina de todo el mundo (Sellon, 2007). Otros dermatofitos aislados con menor frecuencia comprenden *T. mentagrophytes*, *T. verrucosum*, *M. equinum* y *M. gypseum*. Las causas raras de dermatofitosis equina incluyen *M. canis* y *Keratinomyces ajelloi*. Los aislados extremadamente raros comprenden *T. tonsurans*, *T. rubrum*, *M. nanum*, *M. audouinii*, *M. cookei*, *T. terrestre*, *T. schloenleinii*, *M. distortum* y *Epidermophyton floccosum*. En raras oportunidades las infecciones se deben a más de un dermatofito (Scott, 2004)

3.3 Patogenia

Cuando un dermatofito entra en contacto con la piel de un animal sano, lo primero que puede ocurrir es que sea eliminado de ésta por factores mecánicos o que no sea capaz de establecerse al ser incapaz de competir con la flora bacteriana normal o en su defecto que se pueda establecer pero no cause enfermedad y por ultimo puede ser que sea capaz de establecerse en la piel y produzca la enfermedad clínica, lo cual indica una pobre respuesta inmunológica (Biberstein, 1990).

Para que se establezca la infección existe cierta dependencia de la susceptibilidad del hospedador (factores fisiológicos, edad, pobre respuesta inmune) así como la cantidad del inóculo y del agente causal (Segundo, 2004).

La colonización comienza cuando una conidia entra por un defecto o alteración en el estrato corneo, lo que parece ser un factor facilitador importante de la penetración e invasión de los folículos pilosos que se encuentran en etapa de anagén. El túbulo germina y se desarrolla formando un micelio ramificado entre el epitelio cornificado y unas cuantas porciones del micelio se diferencian en artroconidias. Los hongos ectótrix producen masas de artrosporas sobre la superficie de los tallos pilosos, pero esto no ocurre con los hongos endótrix (Segundo, 2004).

Otro autor menciona que las hifas fúngicas invaden el folículo piloso, proliferan sobre la superficie del pelo y migran hacia abajo (en dirección proximal) hasta el bulbo piloso; durante la migración, el hongo produce sus propias enzimas queratinolíticas (queratinasas)

que permiten la penetración de la cutícula pilosa y el crecimiento dentro del tallo piloso hasta la zona queratogena. En éste momento, el hongo establece un equilibrio entre su crecimiento proximal y la producción de queratina o es expulsado (Weitzman, 1995).

En ocasiones, la resolución espontánea tiene lugar cuando el pelo infectado ingresa en la fase de telogén, pues en este momento la producción de queratina disminuye y se detiene; como la supervivencia del dermatofito requiere pelo en crecimiento activo, el crecimiento del hongo también se torna más lento y se detiene. Las artrosporas infecciosas pueden mantenerse en el tallo piloso, pero la reinfección de ese folículo piloso en particular no tiene lugar hasta que reingresa a la fase de anágena (Pascoe, 1974).

3.4 Factores de virulencia de los dermatofitos

Los dermatofitos cuentan con un arsenal de atributos virulentos que hacen factible su infección (Burmester, 2011). Ésta se caracteriza por tres etapas: adhesión, invasión y crecimiento.

Lo que sucede primero es la adhesión, la cual logran los dermatofitos gracias a glicoproteínas que contienen mananos en su pared celular, mismos que disminuyen las respuestas inmunitarias celulares e inhiben de manera indirecta la renovación del estrato córneo. Esto podía predisponer al animal a sufrir infecciones persistentes o recurrentes (Dahl, 1993).

Luego ocurre la germinación dos a tres horas post-adhesión. Esto va seguido de la penetración de hifas para evitar que estas sean descamadas con el epitelio. Una vez instalados, los dermatofitos deben encontrar nutrientes para crecer y esto lo logran gracias a enzimas como permeasas y enzimas de la pared celular, así como otras enzimas hidrolíticas como nucleasas, lipasas, proteasas no específicas y queratinasas (Hay, 2006).

3.5 Clasificación de los dermatofitos

Dada su afinidad por un tipo de sustrato, los dermatofitos se clasifican como:

- Zoofílicos (aquellos que principalmente se encuentran en animales pero que pueden ser transmitidos a humanos), tal es el caso de *Microsporum canis*, *M. nanum*, *M. gallinae*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. equinum* y *T. verrucosum*.
- Antropofílicos (encontrados principalmente en humanos y que raramente se pueden transmitir a animales), como *Microsporum audouinii*, *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, *T. violaceum*, *T. concentricum* y *E. floccosum*.
- Geofílicos (localizados principalmente en el suelo y que se asocian a la descomposición de pelo, plumas, cascos, pezuñas y otros recursos de queratina;

estos infectan tanto a animales como humanos. Ejemplo de ellos son *Microsporum gypseum* y *T. terrestre*. (Bonifaz, 2010).

Se sabe que casi todos los dermatofitos tienen como reservorio el suelo, pero a pesar de esto, éste sistema de clasificación continúa usándose como fuente de infección (Scott, 2004).

3.5 Morfología

En cuanto a su morfología todos los dermatofitos producen hifas septadas, a las que colectivamente se les llama micelio. Las unidades de reproducción asexual llamadas conidias se encuentran en el micelio aéreo; estas unidades pueden ser de dos tipos: macroconidias cuando miden 100µm de largo o microconidias cuando miden menos de 10µm en cualquier dimensión (Scott, 2004; Pascoe, 1976; Allejo, 1974).

La forma, tamaño, estructura y arreglo de las conidias se emplea como un criterio de identificación, así también algunas estructuras que permiten identificar y clasificar a los dermatofitos es la presencia de espirales, nódulos o clamidoconidias en las hifas. En el hospedador las estructuras que pueden observarse son delgados filamentos y arthroconidias (otro tipo de unidad reproductiva asexual) (Weitzman, 1995; Cabañes, 1997).

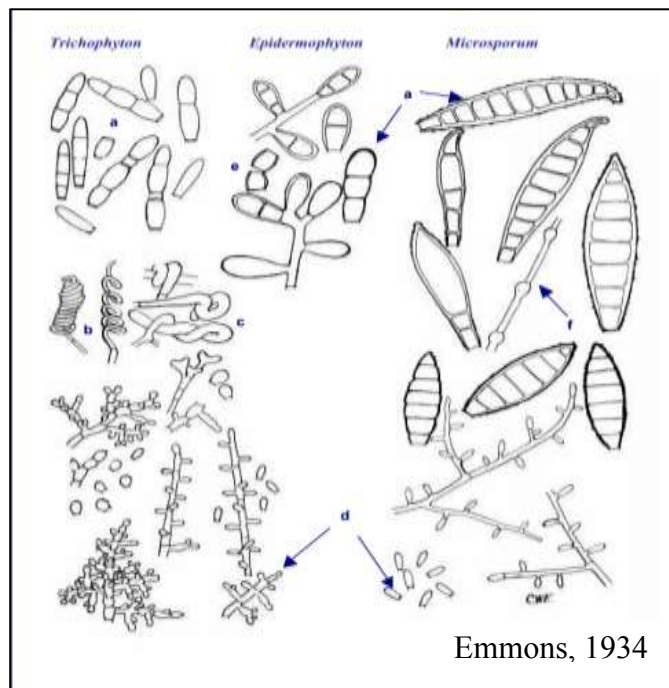


Figura 3: Tipos de conidias para los tres géneros anamorfos. a) macroconidias; b) hifas espiraladas; c) cuerpos nodulares; d) microconidias; e) arthroconidias; f) hifas en raqueta.

3.6 Signos clínicos

Algunos pacientes pueden desarrollar la lesión anular clásica con curación central y pápulas y costras foliculares finas en la periferia. El prurito suele ser mínimo o ausente, pero si es intenso sugiere la presencia de ectoparásitos o alergia. Además, la dermatofitosis se puede complicar con infección bacteriana secundaria (por lo general estafilocócica) (Moriello, 1998; Burkhart, 1999).

Las lesiones suelen ser múltiples y pueden tener distribución muy asimétrica o más o menos simétrica. Rara vez se observan lesiones solitarias. La dermatosis generalizada es poco frecuente y suele afectar a caballos o potros inmunosuprimidos. Las dermatofitosis también se pueden manifestar como una descamación multifocal a generalizada (“seborrea seca”) con solo áreas irregulares poco definidas de pérdida de pelo o alopecia extensa bien delimitada (Scott, 2004).

3.7 Transmisión

Los dermatofitos se transmiten mediante el contacto con pelo y escamas infectados o con elementos micóticos presentes sobre animales, en el medio ambiente o sobre fómites. Los cepillos, peines, almohazas, rasuradoras, camas, mantas, vehículos de transporte y otros materiales asociados con el acicalamiento, movimiento y alojamiento de los equinos son fuentes potenciales de infección y reinfección.

Las fuentes de infección por *M. equinum* o *M. canis* suelen ser un caballo o un gato infectados, respectivamente. Las infecciones por especies de *Trichophyton* se adquieren de manera directa o indirecta mediante la exposición a huéspedes que actúan como reservorios típicos, que se pueden determinar mediante la identificación específica de las especies o subespecies micóticas. Como ejemplo, la mayor parte de las infecciones causadas por *T. mentagrophytes* se asocian con la exposición a roedores o a su medio ambiente inmediato. Los tallos pilosos que contienen artrosporas infecciosas pueden mantener su infectividad en el medio ambiente durante varios meses a años (Scott, 2004).

3.8 Diagnóstico

La anamnesis puede tener valor limitado a menos que la exposición sea conocida. Esto se debe a que la dermatofitosis presenta un cuadro clínico muy variable y el periodo de incubación varía desde 6 días a 6 semanas. Es preciso determinar el número, los tipos y las fuentes de animales en contacto (Connole, 1984; Moretti, 1998).

3.8.1 Lámpara de Wood

Para realizar esta prueba el animal se debe colocar en una habitación a oscuras y examinar bajo la luz de la lámpara de Wood. La piel normal muestra una coloración azul, pero el pelo invadido por *M. canis* o *M. equinum* expuestos a la luz ultravioleta emiten fluorescencia verde amarillenta en el 30 a 80% de los casos. La fluorescencia se debe a los

metabolitos de triptófano que produce el hongo. La fluorescencia no se observa en escamas o costras ni en cultivos de dermatofitos.

Diferentes factores influyen sobre la fluorescencia, como la aplicación de yodo, el jabón, el petróleo y otras medicaciones pueden emitir fluorescencia y producir reacciones falsas positivas.

Las causas más comunes de dermatofitosis equina son *T. equinum*, *T. mentagrophytes*, *T. verrucosum* y *M. gypseum*, que no producen fluorescencia, por lo tanto, la lámpara de Wood rara vez se usa en caballos (Scott, 2004).

3.8.2 Examen directo

Es el medio de montaje de las muestras clínicas más universalmente aceptado. Permite clarificar todo tipo de muestras clínicas con abundantes células y restos celulares y observar las estructuras fúngicas. El KOH en concentración del 10 al 20% disuelve más rápidamente los elementos celulares que los hongos (protegidos por la pared celular). La técnica se describe a detalle en el **Anexo II** (López, 2012).

Como la mayor parte de las infecciones en animales se deben a dermatofitos ectótrix, el aclaramiento del pelo no es tan necesario como lo es para las infecciones en humanos.

Con ésta técnica se pueden observar microconidios fuera del pelo. En el caso de las escamas se pueden ver filamentos largos y delgados, sin embargo no podremos ver macroconidios, cuya visualización resulta fundamental para la identificación del dermatofito (Bonifaz, 2012).

Si no se utiliza con colorantes, las preparaciones deben estudiarse con un microscopio de contraste de fases o, en su defecto, con uno convencional diafragmando el condensador para aumentar el contraste. Los inconvenientes de las soluciones de KOH son, entre otros, que su reacción con el material clínico puede crear unos artefactos que pueden parecerse a los hongos, con lo que se hace necesaria cierta experiencia en el observador; el carácter corrosivo del KOH en el equipo y la facilidad de aparición, con el tiempo, de cristales que dificultan la observación. (Llovo, 2007; Bonifaz, 2012; López, 2012).

3.8.3 Cultivo de la muestra

La piel y el pelo de los caballos son unos verdaderos reservorios de hongos y bacterias saprófitas y por ello es esencial limpiar la piel y pelo antes de obtener las muestras para cultivo. Esto se puede realizar mediante la higienización delicada de la zona usando alcohol al 70% y dejando secar (Scott, 2004).

El diagnóstico definitivo de las infecciones por dermatofitos se apoya sólo en las características macroscópicas, microscópicas y fisiológicas del microorganismo. Para

conocerlas, las muestras deben cultivarse en medios apropiados para el crecimiento de éstos hongos. Se emplea el agar dextrosa de Sabouraud, siendo el más utilizado. Se disponen de variantes del medio Sabouraud estandarizados que contiene antibióticos que ayudan a prevenir el crecimiento de hongos saprobios o bacterias. El cultivo debe realizarse en un ambiente de temperatura de 28° C por un promedio de 15 días. Se conocen otros medios de cultivo que son específicos para inducir la esporulación y evidenciar la producción de pigmento y de este modo facilitar la identificación de la especie, como el medio Lactrimel o Borelli, (Bonifaz, 2012; López, 2012) cuya preparación se describe en el **Anexo II**.

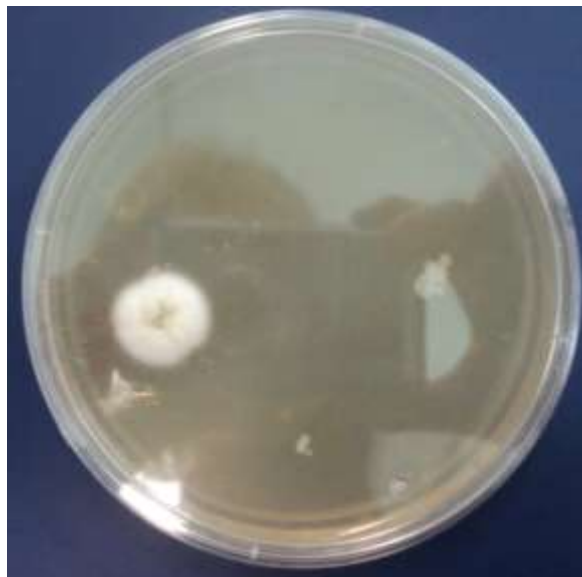


Foto: MVZ. Iris Flores.

Figura 4: Cultivo de la muestra del caballo 1 (Sioux) en agar SDA. Colonia blanca algodonosa. Imagen tomada en el Laboratorio 6 de Microbiología de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la FES-Cuautitlán, UNAM.

3.8.4 Técnica de Microcultivo

Es un estudio de gran utilidad para el estudio de hongos filamentosos, con aplicaciones diversas, por ejemplo: identificación taxonómica, obtención de material para microscopía, elaboración de preparaciones permanentes, como apoyo para identificaciones diferenciales (López, 2012). La descripción de la técnica se describe en el **Anexo II**.

4. MICOSIS SUPERFICIALES POR LEVADURAS

4.1 CANDIDIASIS

Desde hace años se usa la denominación de “oportunistas” para referirse a un grupo de hongos que viven normalmente en humanos y que tienen la capacidad de aumentar en cantidad y transformarse en patógenos bajo determinadas condiciones del huésped. Los de mayor importancia en dermatología son: *Candida* spp. y *Malassezia* spp.; éstas forman

parte de la microbiota, se pueden aislar en pacientes normales y la infección es de origen endógeno (Gubelin, 2011).

4.2 Definición

También llamada candidosis es la micosis oportunista más frecuente. Es una infección aguda o crónica de las mucosas, piel, uñas o tejidos profundos causada por levaduras del género *Candida spp.* Las candidosis de mucosas y piel son las más frecuentes, mientras que las sistémicas son de evolución aguda o crónica y generalmente severa. Puede tener diferentes presentaciones: localizadas, diseminadas o profundas, cuadros sistémicos u otros en que lo más relevante es la respuesta alérgica (Gubelin, 2011; López *et al.*, 2012).

4.3 Etiología

Los agentes patógenos son levaduras del género *Candida*. Existen aproximadamente 200 especies de *Candida*; sin embargo, son menos de 20 las especies asociadas a infecciones en mamíferos. La especie que con mayor frecuencia se relaciona con patologías cutáneas es *C. albicans*, (López *et al.*, 2012). Las especies de *Candida* son habitantes normales de la mucosa alimentaria, respiratoria superior y genital de los mamíferos y llegan a causar infecciones oportunistas de la piel, las áreas mucocutáneas y el conducto auditivo externo (Scott *et al.*, 2001).

4.4 Patogenia

Los factores que perturban la microflora normal de la piel, las áreas mucocutáneas y el conducto auditivo externo como lo puede ser una antibioterapia prolongada o aquellos que alteren las barreras cutáneas o mucosas normales (rozaduras por fricción, quemaduras, humedad, catéteres) proveen una vía de entrada para las especies de *Candida*. Una vez que estas levaduras se encuentran dentro del organismo, la diseminación de la infección se correlaciona con la inmunocompetencia y la función de los neutrófilos. Las especies de *Candida* producen proteinasas ácidas, queratinasas (degradan el estrato córneo) y fosfolipasas (penetran los tejidos) (Scott *et al.*, 2001).

4.5 Factores de virulencia

Son muchos los factores que contribuyen a la virulencia de *C. albicans*. Las adhesinas que se localizan en la superficie celular promueven la unión y posiblemente la penetración al tejido del hospedador. Las proteinasas, lipasas y fosfolipasas secretadas proporcionan los nutrientes que la célula necesita y promueven la invasión. Las transiciones morfológicas entre levaduras y pseudohifas o hifas promueven la diseminación y penetración de las células de *C. albicans*. Un factor más es la formación de biopelículas (Calderone, 2001).

4.6 Diagnóstico de la candidiasis

Existen varios métodos para su diagnóstico, sin embargo se recomienda llevar a cabo una combinación de dichos métodos para lograr la identificación de la especie.

4.6.1 Frotis

Con excepción de las escamas de piel y uñas, con cualquiera de los especímenes se puede realizar un frotis, el cual se tiñe con la técnica de Gram (descrita en el **Anexo II**), observándose claramente las levaduras redondas o alargadas, con o sin filamentos, todas grampositivas (Bonifaz, 2012; López, 2012)

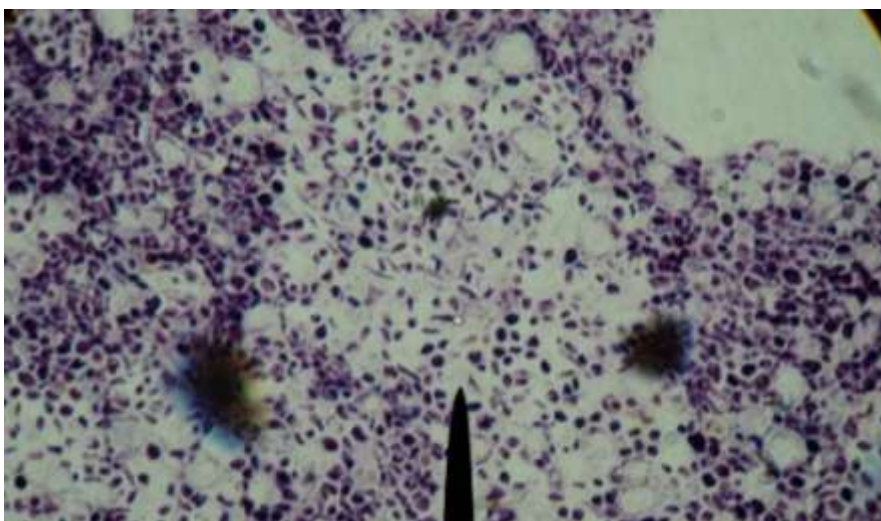


Foto: MVZ. Iris Flores.

Figura 5: Frotis del cultivo de la muestra del equino 3 (Chunli). Se observan abundantes estructuras levaduriformes a la tinción de Gram, 40x. Imagen tomada en el Laboratorio 6 de Microbiología de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la FES-Cuautitlán, UNAM.

4.6.2 Cultivo

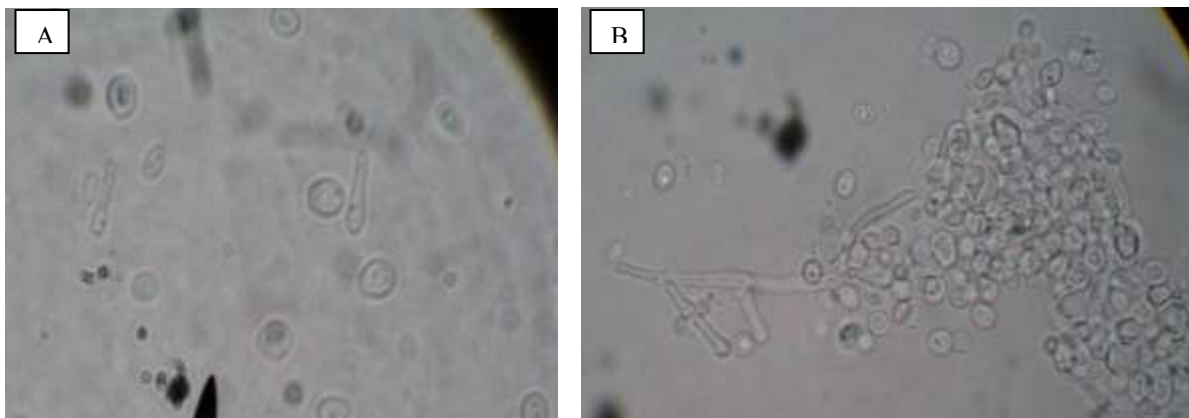
Las candidas crecen en agar SDA a 25-30° C durante 5 días, periodo durante el cual se desarrollan colonias cremosas blanco-amarillentas, lustrosas, poco elevadas y con bordes bien definidos (López, 2012).

Para que el cultivo tenga valor diagnóstico, debido al carácter comensal de *Candida*, se deberá aislar la levadura en un mínimo de tres muestras consecutivas y en forma abundante cuando el producto biológico proceda de la piel, las uñas, las mucosas, el tracto respiratorio y el digestivo (López, 2012).

4.6.3 Pruebas para identificación de especies

Filamentación en suero (o prueba de tubo germinativo): Esta prueba se basa en la formación rápida de pseudomicelio. Es la prueba que inicia el proceso de identificación de

una levadura. Solamente *C. albicans* y *C. dubliniensis* producen abundantes tubos germinativos (más del 50%) cuando se siembra una asada del cultivo en estudio en 0.5 ml de suero humano o de conejo. Se incuba a 37°C por al menos 2 horas (López, 2012) y se hace lectura al microscopio. La técnica se describe en el **Anexo II**.



Fotos: MVZ. Iris Flores.

Figura 6: Prueba de tubo germinativo de la muestra del equino 3 (Chunli). A) a las 3 horas de incubación; B) a las 18 horas. 100x. Imagen tomada en el Laboratorio 6 de Microbiología de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la FES-Cuautitlán, UNAM.

Medios de cultivo cromógenos: son medios nutritivos para aislar y diferenciar levaduras a partir de especímenes clínicos por el color de la morfología colonial. El fundamento es la capacidad de las especies de hidrolizar diferentes sustratos cromógenos. Los medios pueden ser caseros como el agar BIGGY (Bismuth-Glucose-Glycine-Yeast) o agar Pagano-Levin, pero actualmente el comercio ofrece marcas como CHROMagar® Candida, el chromID® Candida o CandiSelect® han sido ampliamente validados. Estos contienen sustratos cromogénicos y provee una identificación presuntiva de manera rápida de las principales especies de importancia médica *incluyendo C. albicans, C. tropicalis* y *C. krusei*, sin embargo, hay que resaltar que diversos autores recomiendan practicar pruebas fenotípicas adicionales para la confirmación de estas especies (Pemán, 2001, López, 2012).

Se cuenta también con otros métodos, los cuales varían en tiempo de ensayo, especificidad, sensibilidad, costos, etcétera (Guelfand, 2003). Varios sistemas miniaturizados, estandarizados y automatizados existen en el mercado, como, API 32C (bioMérieux, Francia), Rapid Yeast Identification Panel *MicroScan*® (Dade Behring), Sistema Vitek (bioMérieux, Francia), entre otros, con la finalidad de simplificar y acelerar la identificación de los hongos. No obstante, estos poseen elevados precios, elemento que limita su uso en la rutina del laboratorio clínico (Sader, 1999).

5. TRATAMIENTO DE LAS MICOSIS CUTÁNEAS

5.1 Tratamiento Tópico

Existe una amplia variedad de antimicóticos en cremas y lociones para usar sobre lesiones focales que se aplican cada 12 horas, pero ninguno de estos productos tiene ventajas notorias sobre otros. El mecanismo de acción de los antimicóticos en general actúa sobre la síntesis del Ergosterol, uno de los componentes esenciales de la membrana celular de los hongos y levaduras, produciendo cambios irreversibles en su estructura.

Para las lesiones localizadas, el rasurado, secado y los agentes antimicóticos tópicos suelen ser eficaces. Los de mayor utilidad comprenden los azoles (miconazol al 2%, clotrimazol al 1%, imidazol) cuya aplicación se recomienda cada 12 horas (Austin, 1976); anfotericina B al 3%, yodo, cloro y violeta de genciana. Estos agentes se deben aplicar 2 a 3 veces al día hasta la curación completa de las lesiones (1 a 4 semanas) (Scott et al., 2001).

En caballos con compromiso cutáneo multifocal o generalizado, se indican baños con antimicóticos. Los baños permiten tratar la superficie corporal completa, reducen la necesidad de friccionar el pelaje y el agente antimicótico se puede dejar secar sobre la piel. Los baños se suelen aplicar durante 5 a 7 días, posteriormente 1 o 2 veces por semana hasta disponer de los resultados del cultivo clínico. La cal sulfurada al 2% y el enilconazol al 0,2% son los agentes más eficaces. Los baños de enilcozanol al 0,2% aplicados 1 o 2 veces por semana son eficaces para el tratamiento de la dermatofitosis equina. (Gupta, 1994).

La naftifina y terbinafina al 1% se unen al estrato córneo y penetran en los folículos pilosos. Su frecuencia de aplicación es cada 12 horas (Zukerman, 1992).

Los shampoos antimicóticos son de gran utilidad para el tratamiento de la dermatitis por *Malassezia* spp. Sin embargo no se recomiendan para el tratamiento de la dermatofitosis por si solos dado que no tienen una suficiente acción residual y una mala aplicación y enjuague puede macerar los pelos frágiles e incrementar la liberación y dispersión de esporas infectantes dentro del pelaje, lo cual eleva la posibilidad de diseminar la infección y el riesgo de infección al humano. No obstante un estudio mostró que la aplicación de un shampoo con clorhexidina al 2% y miconazol al 2%, 2 veces por semana, puede llevar a la resolución de los signos clínicos de dermatofitosis en un plazo de 6 semanas (Gupta, 1994).

Los enjuagues antimicóticos son los productos tópicos con mayor eficacia para el tratamiento de las micosis superficiales diseminadas dada su mayor actividad residual con respecto a los shampoos. Los agentes preferidos son las aplicaciones corporales totales de enilconazol, cada 3 o 4 días o 1 vez por semana (Paterson, 1997) o la cal sulfurada al 2% aplicada 1 o 2 veces por semana para la dermatitis por *Malassezia* spp. y para la dermatofitosis (Scott, 2004)

5.2 Tratamiento sistémico

La griseofulvina ha sido mencionada para el tratamiento sistémico de la dermatofitosis equina, siendo muy variables los protocolos de dosificación y frecuencia de administración. Sin embargo no hay datos publicados sobre la farmacocinética de la griseofulvina en caballos y algunos autores no avalan el uso de los protocolos terapéuticos de griseofulvina para caballos recomendados en la actualidad (Moriello, 1998; Scott, 2004; Hopes, 1981), ya que es un teratógeno potente en perros y gatos y por lo tanto está contraindicada de manera absoluta en animales gestantes. El problema más común en perros, gatos y humanos es el malestar gastrointestinal que se resuelve con la interrupción del tratamiento (Scott et al, 2001).

El ketoconazol, itraconazol y fluconazol son eficaces para el tratamiento de la dermatofitosis, candidiasis, dermatitis por *Malassezia* spp. y otras micosis en humanos, caninos y felinos, pero no están aprobados para usar en caballos en Estados Unidos y su costo sería prohibitivo, además, no hay información disponible acerca de las características farmacocinéticas o la eficacia clínica en caballos

Un estudio reciente muestra el tratamiento sistémico con itraconazol en dosis de 2.6 mg/kg por vía oral cada 12 horas, durante 2 semanas, más nueve días de dexametasona por vía intramuscular en dosis inicial de 0.2 mg/kg durante tres días, dosis media de 0.1 mg/kg durante 3 días y dosis final 0.02 mg/kg por tres días, fue curativa en una yegua atendida en la Universidad Veracruzana (López, 2008).

5.3 Vacunación

Aun no hay disponibles vacunas comerciales antifúngicas para la micosis cutánea equina. No se recomienda el uso de vacunas autógenas debido a la falta de información acerca de su eficacia y a los posibles efectos adversos, incluyendo la formación de abscesos, reacciones de hipersensibilidad, anafilaxia generalizada y muerte (Rees, 2001).

5.4 Desinfección ambiental

La eliminación de las infecciones fúngicas superficiales de la piel en uno o varios caballos del establo requiere la eliminación del microorganismo de los huéspedes infectados y la desinfección del ambiente, para lo cual se sugiere:

1. Aislar todos los caballos afectados de los sanos.
2. Tratar el establo eliminando toda la cama y aplicando una atomización con blanqueador (cloro) en dilución de 1:10 a las superficies expuestas (El cloro de las marcas más comercializadas en México tiene una concentración que va de 5.23 a 6-43%).

3. Se recomienda el uso individual de cepillos y enganches y la desinfección de estos elementos con frecuencia.
4. Desinfectar las mantas 2 veces a la semana o preferentemente no usar mantas o sábanas para no favorecer la diseminación de las lesiones.
5. Es ideal que las personas que manejan animales afectados no manipulen caballos sanos. De no ser esto posible, hay que manejar a los animales sanos en primer lugar y luego a los afectados. Es importante desinfectarse también entre el manejo con un animal y otro, utilizando clorhexidina (Reed, 2005).

6. PROPÓLEO

6.1 Generalidades

La palabra propóleo se deriva del griego *pro* (en defensa de, o delante de) y *polis* (ciudad), es decir, en defensa de la ciudad, designando a la sustancia que recubre la colmena de las abejas *Apis mellifera* cumpliendo funciones de defensa (Palomino et al, 2009). De ahí pasó al latín (*propolis*) con el significado de tapar o alisar. En español es denominado propóleo o propóleos (Asis, 2001).

El propóleo es una mezcla compleja de origen biológico elaborado a partir de resinas, bálsamos y otras exudaciones de las plantas que las abejas *Apis mellifera* recogen y modifican, adicionándoles cera, pólen y enzimas entre otros materiales.

Adicionalmente pueden añadir microelementos del entorno, donde el producto final es de consistencia viscosa, con diferentes tonalidades según su origen, dando como resultado un producto con el fin de proteger la colmena de las adversidades del medio, asegurando estabilidad térmica y protección contra problemas microbiológicos (Hegazi, 2000; Salamanca 2002), ayudando también en la reparación de daños o aberturas en su colmena, en la preparación de los lugares asépticos para uso de la abeja reina y en la momificación de insectos, lagartijas y otros animales invasores, ya que se han encontrado pequeños animales en la colmena en perfecto estado de conservación (Quintero et al, 2011; Mohammadzadeh, 2007).



Foto: M. en A. Liborio Carrillo M.

Figura 7: Lagartija momificada con propóleo encontrada en una colmena en el apierio de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

6.2 Antecedentes históricos

Los egipcios apreciaban sus propiedades antiputrefactivas y lo utilizaban para embalsamar cadáveres, ya que era bien sabido por ellos que las abejas lo empleaban para momificar a los intrusos que por su tamaño y peso no podían ser expulsados de la colmena (Bedascarrasbure, 2001).

Los médicos árabes lo empleaban como antiséptico y cicatrizante de heridas y como un desinfectante para la boca (Asís, 1993). Los soldados del imperio romano llevaban propóleos como un medicamento de emergencia para sanar heridas de guerra (Salatino et al., 2005). Estas aplicaciones se perpetuaron en la Edad Media como un remedio tradicional. Se hace también referencia al propóleo en los textos bíblicos, llamándolo “bálsamo” (Genesis 43: 11) o resina para su uso médico.

A partir de entonces el propóleo se usó por casi todas las civilizaciones (Bansal, 2005).

6.3 Características

Puede adoptar tonalidades de color castaño, marrón, pardo, rojizo y verde, en algunos casos negro, según sea el origen botánico y geográfico (El Hady y Hegazi, 2002; Mohammadzadeh, 2007). Este polímero balsámico resinoso de las abejas contiene fundamentalmente cera y aceites esenciales, siendo una sustancia muy compleja, soluble en alcohol y en solventes como éter, acetona, benceno, tricloroetileno y otros (Salamanca, 2007; Gutiérrez, 2011).

6.4 Composición química

La composición del propóleo varía con las diferentes regiones geográficas y climáticas y sobre todo con las fuentes vegetales, por lo que es en extremo difícil encontrar dos

colmenas que produzcan propóleos iguales aun cuando se localicen dentro de la misma zona geográfica, dado que es elaborada de acuerdo a sus necesidades y fuentes disponibles (Premoli, 2010) En él hay más de 160 componentes identificados: flavononas, dihidroflavononas, derivados del alcohol benzaldehído y ácido benzoico, derivados del alcohol cinámico, cumarinas, triglicéridos fenólicos, otros elementos fenólicos, terpenos, esteroides, ácidos grasos, carbohidratos, polisacáridos, vitaminas y otros compuestos. Los compuestos fenólicos constituyen más del 50% de su peso total (Salamanca, 2007; El Hady y Hegazi, 2002; Farooqui, 2010).

Compuesto en un 50-80% por resinas y bálsamos aromáticos, 4.5-15% de aceites esenciales y otras sustancias volátiles, 12-50% de ceras, 4-10.5% de sustancias tánicas, menos del 15% de impurezas mecánicas, del cual 5-11% es polen (Premoli, 2010).

La prevalencia de flavonoides como la pinocembrina, galangina, pinobanskina y el éter bencil del éster fenetil de ácido caféico entre otros compuestos y derivados del ácido cinámico, a los cuales se les asocia la actividad biológica del propóleo (De castro, 2001).

Las propiedades terapéuticas del propóleo dependen de la calidad de este, así como de las proporciones de sus constituyentes y el sinergismo entre éstos y no solo de una sustancia en particular. Dichos componentes se relacionan con su origen geográfico (Gutiérrez, 2011).

6.5 Propiedades terapéuticas

En los últimos 40 años han surgido numerosas publicaciones describiendo las propiedades curativas del propóleo. Los principales efectos y propiedades biológicas han sido probadas *in vitro* y en animales. El siguiente listado ha sido realizado tomando en consideración el número de publicaciones y la significancia terapéutica de su efecto (Bogdanov, 2014).

- **Antibacteriana** (Banskota, 2001; Burdock, 1998; Lu, 2005; Farooqui, 2010; Kujumgiev, 1999; Marcucci, 1995; Sforcin, 2011).
- **Antiviral** (Banskota, 2001; Burdock, 1998; Lu, 2005; Farooqui, 2010; Kujumgiev, 1999; Marcucci, 1995; Sforcin, 2011).
- **Antifúngica** (Meneses, 2006; Londoño, 2008; Zia, 2009; Banskota, 2001; Burdock, 1998; Lu, 2005; Farooqui, 2010; Kujumgiev, 1999; Marcucci, 1995; Sforcin, 2011).
- **Desparasitante** (De Castro, 1995; Dantas, 2006; Duran, 2008; Ozbilge, 2010; Pontin, 2008; Torres, 1990).
- **Antiulcerosa** (en boca, estómago y piel) (Barbosa, 2003; Chen, 2007; De Barros, 2008; Hsiao, 2007; Ozer, 2004; Pillai, 2010; Sforcin, 2011).
- **Antioxidante** (Banskota, 2000, Burdock, 1998; Farooqui, 2010; Macucci, 1995; Russo, 2002).
- **Protector contra la radiación** (Benkovic, 2009; Orsolich, 2010; Spigoti, 2009)
- **Hepatoprotectora** (Banskota, 2001; Farooqui, 2010).

- **Antitumoral y antimutagénica** (Banskota, 2001; Burdock, 1998; Chen, 2012; Diaz-Carballo, 2008; Huang, 2007; Marcucci, 1995; Orsolic, 2010; Popolo, 2009; Weng, 2007).
- **Anti-angiogénica** (Ahn, 2009; Ait Mouse, 2012; Ali, 2010; Daleprane, 2012; Kumazawa, 2007; Meneghelli, 2013; Orsolic, 2010).
- **Antiinflamatoria** (Almeida, 2002; Borelli, 2002; Bankota, 2001; Khayyal, 1993).
- **Cicatrizante** (Alí, 2012; Berretta, 2012; McLennan, 2008; Pillai, 2010; Sehn, 2010).
- **Inmunoestimulante** (Banskota, 2001; Farooqui, 2010; Orsolic, 2010; Sforcin, 2007).
- **Inmunomoduladora** (Inmunosupresora en enfermedades autoinmunes) (Okamoto, 2012).
- **Musculo contractora en pequeña concentración** (Asafova, 2001; Cicala, 2003; El-Tahir, 1996; Kedzia, 1988).
- **Anti-diabética** (Abo-Salem, 2009; Aoi, 2013; Ikeda, 2011; Kang, 2010; Matsui, 2004; Sforcin, 2011).
- **Cardioprotectora:** antitrombogénica, anti hipertensiva, anti arrítmica (Alyane, 2008; Chen, 2007; Chopra, 1995; Farooqui, 2010; Hsiao, 2007; Huang, 2005; Mishima, 2005; Okutan, 2005; Ozer, 2004).
- **Anestésico local** (Paintz, 1979; Tikhonov, 1998; Tzakoff, 1975)
- **Preservadora de alimentos** (Abdel, 2000; Alí, 2010; Atungulu, 2007; Koc, 2007; Moawad, 2001; Sahinler, 2009).

6.5 Mecanismo de acción antimicrobiana del propóleo

En términos de actividad antioxidante y antimicrobiana los principales constituyentes del propóleo son compuestos **fenólicos** (Kumar et al., 2008). Estos compuestos orgánicos se caracterizan por poseer en su estructura molecular al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos a un grupo funcional hidroxilo, además algunos son clasificados como metabolitos secundarios de las plantas.

Los ácidos fenólicos y flavonoides tienen una variedad muy heterogénea de funciones en las plantas, muchos son productos de defensa ante herbívoros y patógenos; otros proveen soporte mecánico a la planta; otros atraen polinizadores o dispersores de frutos, o actúan como agentes alelopáticos (reducen el crecimiento de plantas competidoras que estén cerca), mientras que algunos de ellos absorben radiación electromagnética en la zona (Kroon y Williamson, 1999; Martínez-Florez et al., 2002), representando una protección natural para las plantas contra la radiación UV del sol, lo cual explica el efecto protector de la oxidación de la piel por ciertos preparados a base de extractos de propóleo; además de la barrera química de defensa contra microorganismos (hongos, bacterias y virus) en las colmenas (Cushnie y Lamb, 2005).

6.6 Mecanismo de acción antimicótica del propóleo.

Las propiedades antimicóticas del propóleo han sido establecidas por numerosos autores, mismas que dependen del origen del propóleo y del solvente usado para su extracción (Lozina, 2005) y luego de considerar a los sesquiterpenos, sobretudo el bisabolol y flavononas –especialmente la pinocembrina- como principales compuestos responsables de ésta actividad (Bogdanov, 2004).

El ácido cinámico y algunos flavonoides son los responsables de desacoplar la transducción de energía de la membrana plasmática inhibiendo la motilidad del agente. Así mismo se ha mencionado que el propóleo desorganiza la membrana citoplasmática, la pared celular y el citoplasma provocando una lisis parcial, acompañada de la inhibición de la síntesis de proteínas (Gutiérrez, 2011).

En lo que se refiere a la galangina, se sabe que provoca un incremento considerable en la pérdida de potasio, lo cual se atribuye al daño causado directamente en la membrana citoplasmática, o bien, podría llevarse a cabo un daño indirecto por un debilitamiento de la pared celular y una lisis como consecuencia de un choque osmótico. Se ha determinado que la quercetina inhibe la ADN girasa de manera paracial (Gutiérrez, 2011).

6.7 Usos del propóleo en Medicina Veterinaria

La aplicación del propóleo en la Medicina Veterinaria se basa en sus propiedades antimicrobianas. Bougdanov en el 2014 realizó una recopilación de los últimos estudios con este compuesto utilizado en animales:

- Mastitis (aplicación de pomada)
- Trastornos ginecológicos (bolos)
- Alimentación de cerdos desnutridos
- Prevención de trastornos gastrointestinales y respiratorios en cerdos.
- Mejora la ganancia de peso y reduce la diarrea en el ganado.
- Previene la fiebre paratífica en patos
- Como anestésico local en procesos quirúrgicos
- Contra la enfermedad de fiebre aftosa en vacas y cerdos
- Contra la neumonía enzótica en cerdos
- Estimula el crecimiento en ovinos, porcinos y bovinos subdesarrollados.

(Bogdanov, 2014)

Del mismo modo (Betancourt, 2014) mencionó las experiencias clínicas y perspectivas del uso de propóleo en perros:

- Neoplasias (Tumor venéreo transmisible, osteosarcoma canino, Síndrome de Cushing).
- Infecciones bacterianas (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. intermedius*, *S. hycus*, especies de *Pseudomonas*, *Proteus* y *E. coli*).

- Otitis canina (*Malassezia pachydermatis*).
- Dermatofitosis.
- Parasitosis (giardiasis y tripanosomiasis).
- Enfermedad periodontal
- Oftalmopatías (blefaritis, conjuntivitis infecciosa, edema corneal, obstrucción de ducto lagrimal keratoconjuntivitis seca, úlceras corneales y glaucoma.
- Hepatopatías (insuficiencia hepática, hepatitis aguda, cirrosis y colestasis)

6.8 Uso de propóleo en equinos

Un estudio realizado en el 2013 evaluó la efectividad del extracto de propóleo comparado con la miel en la cicatrización de heridas por segunda intención en equinos. Dicho trabajo logró demostrar una marcada reducción en las dimensiones de lesiones, así como la formación de costras saludables en las lesiones antiguas en uno de sus grupos experimentales.

Por otro lado, indujeron lesiones en el dorso de 5 burros (tres lesiones por animal), logrando demostrar que la aplicación de propóleo lleva a una cicatrización mayor que la observada tras la aplicación de miel y solución salina, mostrando también según los parámetros histológicos, una moderada a completa formación de tejido de granulación vascular con mayor deposición de fibroblastos y colágeno la invasión celular suave y migración epitelial completa sin infección. En conclusión, el propóleo en comparación con la miel resultó ser un tratamiento beneficioso para tratar heridas equinas antiguas (Abu-Ahmed, 2013).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia del tratamiento tópico con productos a base de propóleo en equinos con posible dermatomicosis.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Obtención de casos clínicos de equinos con posible dermatomicosis.
- 2) Toma de imágenes fotográficas de los casos antes y después del tratamiento.
- 3) Aislamiento e identificación de los agentes involucrados en las lesiones.
- 4) Aplicación del tratamiento a base de pomada y jabón con propóleo en los equinos.
- 5) Realización del análisis de imágenes fotográficas antes y después del tratamiento por medio del programa Image Pro-Express®.
- 6) Evaluación estadística de los resultados obtenidos.
- 7) Comparación de costos del tratamiento con ketoconazol y con productos con propóleo.

HIPÓTESIS

Mediante la aplicación tópica de productos a base de propóleo se resolverán las infecciones por dermatomicosis en equinos.

JUSTIFICACIÓN

Debido a que ya ha sido probado en innumerables ocasiones y con éxito el uso del propóleo en el tratamiento de las micosis cutáneas en otras especies como bovinos y caninos (Cruz et al. 2014), felinos (Medina, 2002), gallos de pelea (Álvarez, 2001), ajolotes (Nogueira, 2014), peces *Chirostoma* (Vásquez, 2014), tanto en estudios *in vitro* como *in vivo* y debido a que el manejo de las micosis cutáneas suele ser largo, costoso y en muchas ocasiones no se concluye el tratamiento, es necesario brindar una alternativa práctica y eficaz, que proporcione al animal una recuperación completa. Una alternativa que pueda ser aplicada tanto en potros, yeguas gestantes, caballos gerontes y todo tipo de pacientes y cuya aplicación resulte ser práctica, económica, eficaz y que no represente ningún riesgo para el humano ni para el animal.

DISEÑO EXPERIMENTAL



MATERIALES Y MÉTODOS

Criterios de inclusión de los animales:

Fueron seleccionados un total de 5 caballos con edades de entre 2 y 7 años de edad, de raza Pura Sangre y Cuarto de Milla, provenientes de diferentes cuadras y alojados en las instalaciones del Hipódromo de las Américas, sospechosos de presentar una micosis cutánea (lesiones circulares, alopécicas, pelo quebradizo, con o sin bordes eritematosos y/o realzados) sin ningún otro padecimiento clínico que pudiera interferir con los resultados del trabajo. Les fueron cuantificados el número y tamaño de lesiones cutáneas, así como su distribución corporal y anotando dichos datos en la hoja de trabajo que incluyó esquemas representativos de las regiones anatómicas (Anexo 1), realizándose una evaluación antes y después del tratamiento.

Caso 1: Sioux. Equino macho de 5 años de edad, raza cuarto de milla, color alazán hormigo. Presentó una amplia región alopécica que abarcó de la base de la oreja a la quijada y una zona también alopécica en la sien, ambas en el lado derecho (Figura 1)

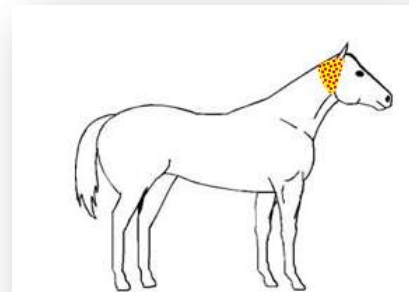


Figura 8: Sioux Esquema mostrando la localización de las lesiones en cabeza.

Caso 2: Sheesa: Yegua de 7 años de edad, raza cuarto de milla, color alazán claro. Mostró múltiples lesiones alopécicas circunscritas en la piel de cara en el lado derecho e izquierdo abarcando desde el párpado inferior y la zona del lagrimal hasta el belfo superior y carrillos y en el cuello del lado izquierdo, abarcando el canal de la yugular. (Figura 2)

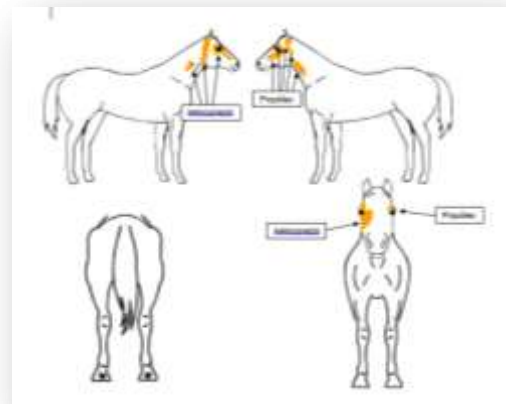


Figura 9: Sheesa, lesiones en ambos lados de la cara.

Caso 3: Chunli: yegua de 2 años, raza Pura Sangre Inglés, color retinto con múltiples zonas alopécicas circunscritas en la región de la base de la cincha (Figura).

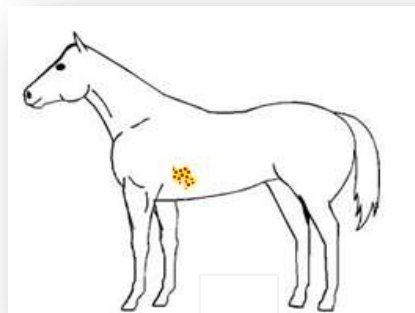


Figura 10: Chunli: Lesión en la base de la cincha.

Caso 4: Edfu: equino macho de 2 años de edad, raza Pura Sangre Inglés, colorado que presento múltiples focos sin pelo, con bordes bien definidos en la región del pecho y encuentro. (Figura 5)

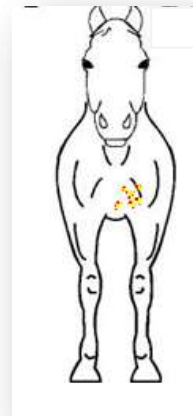


Figura 11: Edfu, lesión en el encuentro

Caso 5: Cielo: Yegua de 2 años de edad, raza Pura Sangre Inglés, colorada que mostro varias zonas alopécicas, con bordes bien definidos, de aproximadamente 2 cm de diámetro cada una, en la región de la base de la cincha (Figura 6)

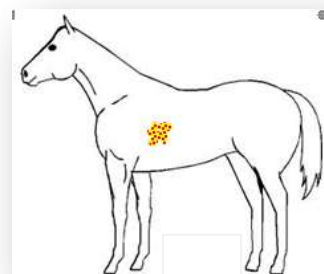


Figura 12: Cielo, lesión en la base de la cincha

Shampoo y pomada de propóleo

Para elaborar estos productos se empleó propóleo del Estado de México, a partir del cual se produjeron en el laboratorio 6 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria.

Procesamiento de las muestras

A los caballos que presentaron las lesiones se les realizó un raspado cutáneo con ayuda de un portaobjetos, obteniendo escamas y pelos. Dichas muestras fueron recolectadas en bolsas de plástico identificadas con el nombre y número de animal y trasladadas al laboratorio 6 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM donde se realizó el siguiente procedimiento:

- a) Observación directa: Se examinaron las muestras colocando en el portaobjetos escamas y pelos y una gota de Hidróxido de Potasio al 10% y dejándolas reposar por 20 minutos lo que favoreció la visualización de estructuras micóticas como artroconidias o hifas y aclaró las estructuras tisulares. Se observaron al microscopio de campo claro en aumento de 40X.
- b) Cultivo de las muestras: las muestras fueron aisladas en medios SDA (Agar dextrosa Sabouraud) que facilita el aislamiento, identificación y mantenimiento de la gran mayoría de los hongos saprobios y patógenos (López, 2012), Agar Micobiotic® que es un agar comercial que contiene sustancias inhibitorias de hongos oportunistas y agar Borelli, usado para favorecer la conidiación y producción de pigmento de los dermatofitos, especialmente de *Microsporum canis* (López, 2012). La siembra se realizó colocando escamas de piel y pelo de las lesiones empleando un asa de cultivo, en 4 puntos diferentes de las cajas. Los medios ya inoculados se incubaron a temperatura de 28°C, siendo revisadas 2 veces por semana durante 4 semanas. Las colonias cuyas características morfológicas, de textura y pigmento compatibles con dermatofitos fueron sembradas en el mismo tipo de medio del que provenían e incubándolas 4 semanas más. Los medio de cultivo que no presentaron crecimiento o mostraron contaminación fueron desechadas.
- c) Purificación: Las cepas se aislaron en agar Dextrosa Sabouraud (SDA) vertido en tubos de ensaye con tapa, previamente esterilizado y gelificado.

Identificación

- a) Microcultivo: de las colonias cuyas características fueron compatibles con dermatofitos, una vez aisladas en cultivo puro se les realizó la técnica del microcultivo descrita por Ridell, sembrándose en agar SDA y dejándolo incubar por una semana a 28°C.

- b) Examen directo con tinción azul de algodón (azul de lactofenol): se depositó una gota de colorante en un portaobjetos y sobre ella un fragmento pequeño del cultivo por estudiar, disgregándolo perfectamente para poder hacer una buena observación. Se colocó un cubreobjetos y se observó al microscopio en objetivo de 40X esta tinción tiñó la pared, lo que permitió visualizar perfectamente las estructuras fúngicas y determinar la especie (López, 2012).
- c) Tinción Gram: A las colonias cuyo crecimiento correspondió a colonias blanco-cremosas (compatibles con *Candida spp.*) se les realizó tinción Gram para visualizar las estructuras levaduriformes.
- d) Prueba de tubo germinativo: Las muestras correspondientes a *Candida spp* se sometieron a la prueba de tubo germinativo o de crecimiento micelial (descrita en el Anexo II) para identificar la especie

Tratamiento

Al primer caballo (Sioux) se le aplicó pomada con ketoconazol en las zonas afectadas; al segundo (Sheesa) se le aplicó en las lesiones del lado derecho de la cara también pomada con ketoconazol y del lado izquierdo se le aplicaron los productos a base de propóleo. A los caballos restantes (Chunli, Edfu y Cielo) también se les realizó un baño con shampoo elaborado a base de propóleo, una vez secos se les aplicó sobre las lesiones pomada también a base de propóleo al 15%, ambos proporcionados por el laboratorio 6 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria ubicada en la FES-Cuautitlán. El baño se realizó una vez por semana, mientras que la pomada fue aplicada de 2 a 3 veces por semana.

Evaluación

Se realizó la toma de imágenes fotográficas de las lesiones, mismas que fueron procesadas en el software Image-Pro Express 4.5, analizando los datos correspondientes a tamaño (área) y distribución de lesiones.

Comparación

Se realizó un gráfico comparativo entre el costo que conllevó cada tratamiento.

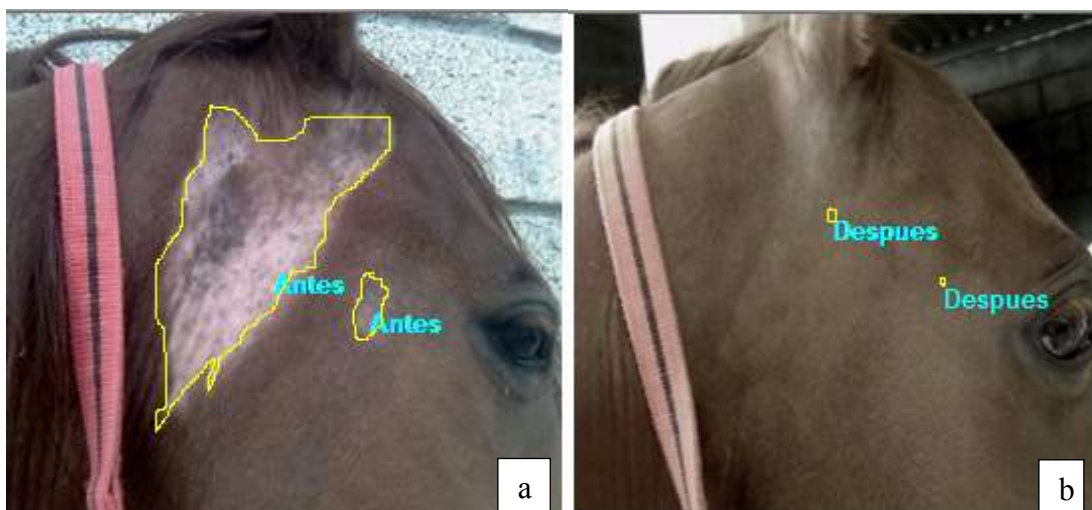
RESULTADOS

1) Obtención de casos clínicos de equinos con posible dermatomicosis

Tabla 1: Resultados de la observación con KOH y aislamiento

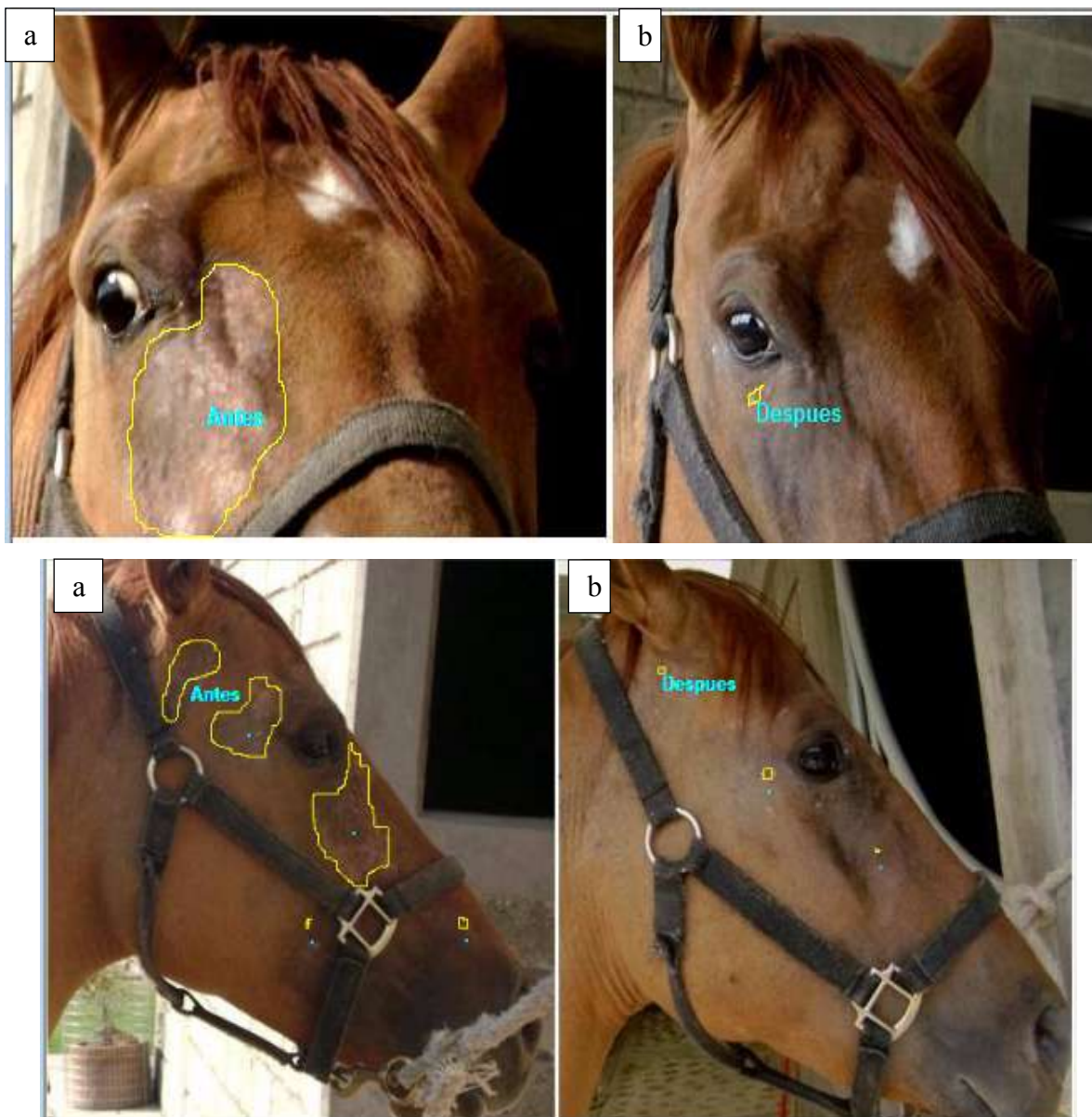
CASO NO.	KOH 10%	AISLAMIENTO
1) Sioux	+	<i>Trichophyton spp</i>
2) Sheesa	-	<i>Candida spp</i>
3) Chunli	-	<i>Candida spp</i>
4) Edfu	-	<i>Candida spp</i>
5) Cielo	+	<i>Trichophyton spp</i>

2) Toma de imágenes fotográficas de los casos antes y después del tratamiento



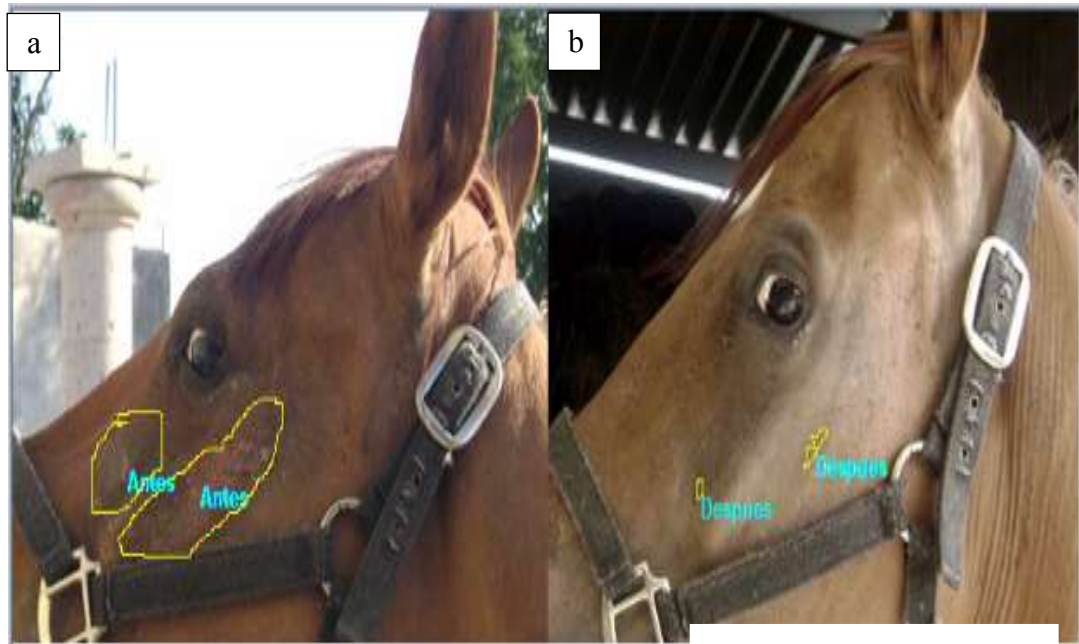
Fotos: MVZ. Maxs Moreno.

Figura 13: Caso 1, Sioux. Lesión causada por *Trichophyton spp.*, tratada con crema de Ketoconazol al 2% (Nizoral®) : a) Zonas mostrando un patrón difuso de alopecia en la sien y base de la oreja; b) la misma zona 4 semanas después completamente curada.



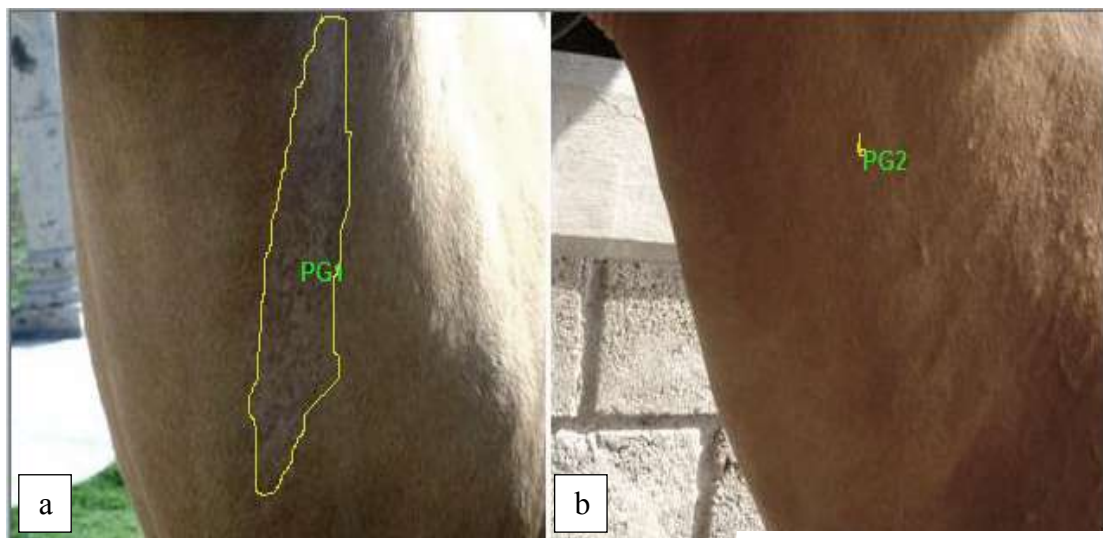
Fotos: MVZ. Maxs Moreno.

Figura 14: Caso 2, Sheesa. Lesiones en cara en lado derecho dadas por *Candida*: a) Zona tratada con crema de ketoconazol al 2%; b) Sheesa 4 semanas después mostrando una ligera hiperpigmentación.



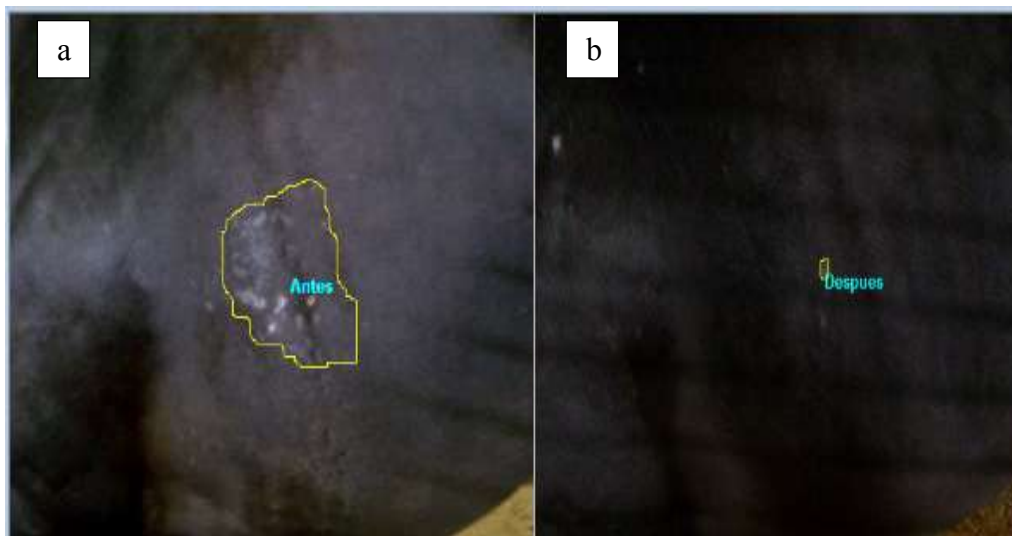
Fotos: MVZ. Maxs Moreno.

Figura 15: Lesiones de Sheesa en el lado izquierdo de la cara: a) zona tratada con pomada y shampoo con propóleo; b) La misma zona 4 semanas después del tratamiento.



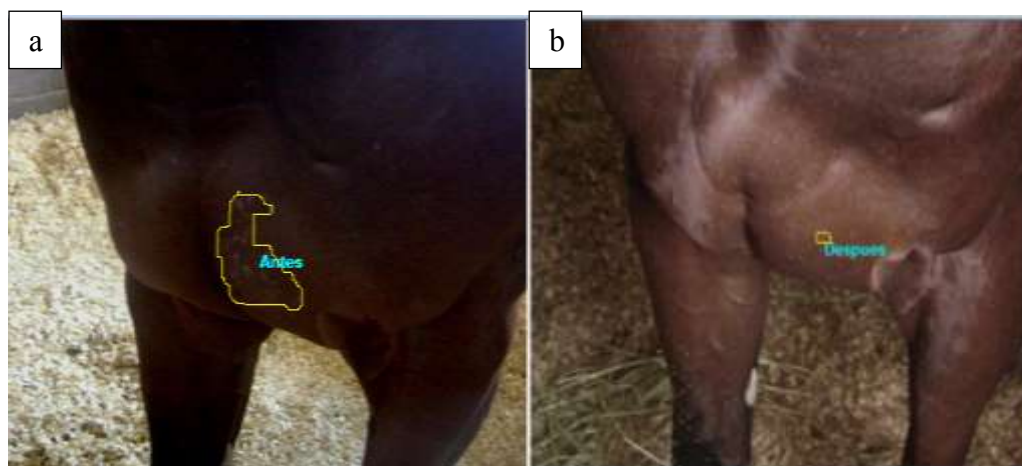
Fotos: MVZ. Maxs Moreno.

Figura 16: a) Lesión causada por *Candida spp* en la región de la yugular; b) 4 semanas después del tratamiento con pomada y shampoo de propóleo.



Fotos: MVZ. Maxs Moreno.

Figura 17: Caso 3, Chunli. Imagen mostrando una infección causada por Candida spp en la región de la cinchera: a) Lesión tratada con pomada y shampoo con propóleo; b) La misma región 4 semanas después mostrando ausencia de lesiones.



Fotos: MVZ. Maxs Moreno.

Figura 18: Caso 4, Edfu, Macho, a) lesiones alopécicas, circunscritas y bien delimitadas en la región del encuentro; a) Lesión tratada que fue tratada con pomada y shampoo con propóleo; b) la misma zona tras 4 semanas de tratamiento.



Fotos: MVZ. Maxs Moreno.

Figura 19: Equino 5, Cielo, hembra. Lesión causada por *Trichophyton*: a) Zonas circulares alopécicas, en la región de la cinchera; la misma zona 4 semanas después del tratamiento

3) Aislamiento e identificación de los agentes involucrados

Tabla 2: Resultados del procesamiento de las muestras (observación directa, aislamiento e identificación).

Equino	KOH 10%	Agente aislado
1) Sioux	+	<i>Trichophyton spp.</i>
2) Sheesa	-	<i>Candida albicans</i>
3) Chunli	-	<i>Candida albicans</i>
4) Edfu	-	<i>Candida albicans</i>
5) Cielo	+	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>

Se puede apreciar que 3 casos corresponden a *Candida albicans* y 2 aislamientos compatibles con hongos dermatofitos clasificados como *Trichophyton spp* y *Trichophyton mentagrophytes* (Tabla 1).

4) Aplicación de tratamiento a base de pomada y jabón

Tabla 3: Medida de las dimensiones de las lesiones en los equinos antes y después del tratamiento. Se Puede observar hasta un 99.18% de reducción en el área de la lesión en zonas tratadas con propóleo.

Equino no.	Área (cm)		Reducción del área de la lesión
	Antes del tratamiento	Después del tratamiento	
1 Sioux	55.27	2.44	95.58%
2 Sheesa	28.57	0.23	99.18%
3 Chunli	55.61	0.58	98.95%
4 Edfu	20.01	0.60	97.05%
5 Cielo	20.17	0.30	98.51%

5) Realización del análisis de imágenes por medio del programa Image Pro-Express®

La gráfica 1 muestra el efecto de los tratamientos en el comportamiento del área de las lesiones. Se observa una disminución significativa en todos los casos,

Gráfica 1: Comparación del área de las lesiones antes y tras 4 semanas de tratamiento.

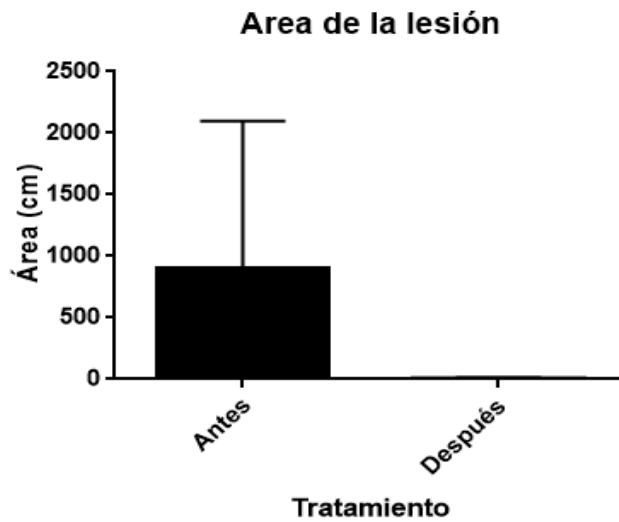


Tabla 4: Resumen de los resultados obtenidos de la observación directa, tratamiento, aislamiento y área de las lesiones en los casos tratados

EQUINO	KOH 15%	TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	ÁREA ANTES(cm)	AREA DESPUÉS(cm)
1) Sioux	(+)	Ketoconazol	<i>Trichophyton spp.</i>	55.27	2.44
2) Sheesa	(-)	(Comparativo) Derecha: Ketoconazol Izquierda: Propóleo	<i>Candida albicans</i>	28.57	0.23
3) Chunli	(-)	Propóleo	<i>Candida albicans</i>	55.61	0.58
4) Edfu	(-)	Propóleo	<i>Candida albicans</i>	20.01	0.60
5) Cielo	(+)	Propóleo	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	20.17	0.30

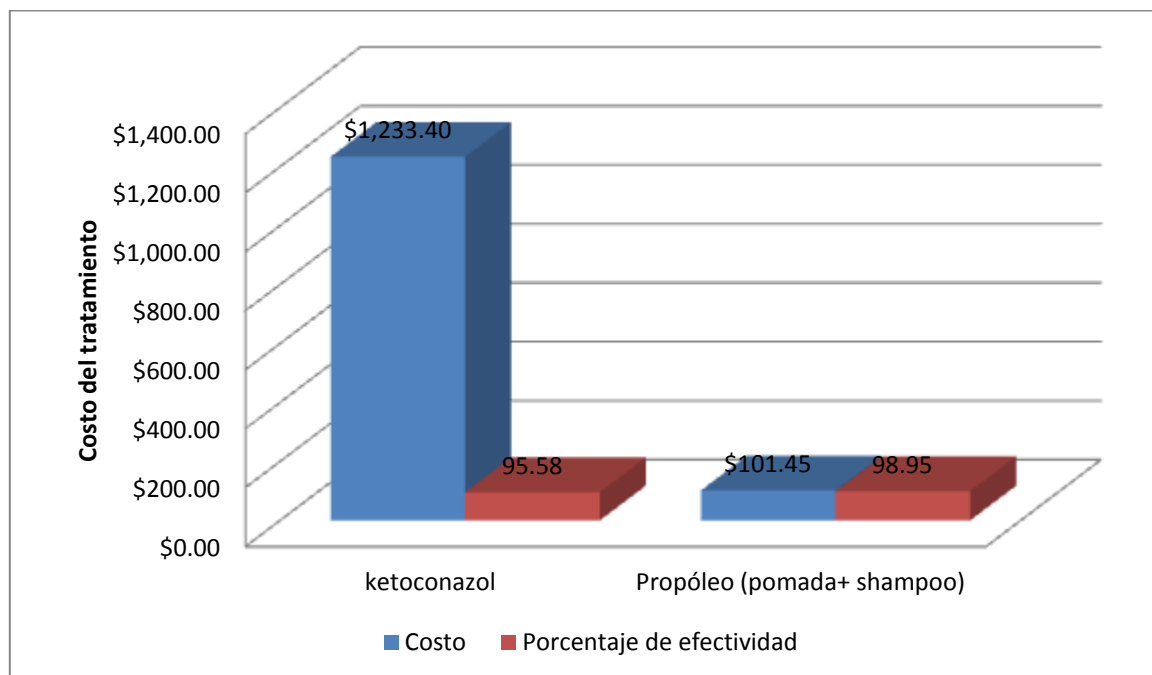
6) Evaluación estadística de los resultados

Al revisar estos datos mediante el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para medir el comportamiento del tamaño de las lesiones que puede observarse en la gráfica 2, donde se obtuvo un valor de $p < 0.001$ indicando que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las áreas de las lesiones antes y después en los equinos tratados, por lo tanto la aplicación tópica de la pomada y el shampoo con propóleo causó un efecto satisfactorio en la resolución de lesiones causadas por hongos en la piel.



Gráfica 2: Se muestra comparativamente el tamaño de la lesión en los equinos antes y después de la aplicación del tratamiento tópico.

7) Comparación de costos del tratamiento con ketoconazol y con productos con propóleo.



Gráfica 3: Comparación de los costos de tratamiento

En la gráfica se puede observar la relación entre el costo- efectividad del tratamiento con propóleo y la crema Nizoral ® al 2%, cuyo costo unitario de \$ 308.35 por envase tubo con 30 g, del cual para el tratamiento de las lesiones en Sioux y Sheesa fueron empleados 4 tubos, mientras que el costo del shampoo con propóleo tubo un precio unitario de \$20.29 por presentación de 250 ml (Cleofas, 2014), del cual se emplearon 4 botellas (\$ 81.16) y un tarro de pomada a base de propóleo con peso y costo aproximados 90 g a \$60 pesos respectivamente, sumando un total de \$101.45 para el tratamiento de los caballos Chunli, Edfu y Cielo y el lado derecho de la cara de Sheesa (Precios al 18 de marzo del 2015).

DISCUSIÓN

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia del tratamiento tópico con productos a base de propóleo en equinos con posible dermatomicosis.

Tras finalizar el presente estudio se pudo comprobar que las lesiones en la piel de los caballos tratados con pomada y shampoo elaborados a base de propóleo mostraron una reducción de hasta un 98.5% en sus dimensiones, mostrando que existen diferencias estadísticamente significativas tras el tratamiento.

Este trabajo se suma a los numerosos estudios que han comprobado que la aplicación de propóleo y diversos compuestos elaborados a base de ésta resina han sido altamente efectivos en el tratamiento de distintas afecciones cutáneas.

Ya trabajos previos muestran que el propóleo tiene actividad antifúngica contra los dermatofitos (Bogdanov, 2014; López, 2012) en caninos, bovinos y conejos. Se ha comprobado su efectividad también en estudios in vitro contra *Trichophyton mentagrophytes*. Sin embargo esta tesis logró demostrar no solo la efectividad del propóleo en el tratamiento de la dermatofitosis por *Trichophyton* en caballos, sino también en infecciones cutáneas causadas por *Candida albicans*, lo que constituye un primer antecedente en nuestro país y el mundo en el tratamiento con una sustancia de origen natural como el propóleo para el tratamiento de infecciones causadas por estos agentes en equinos, ya que un autor (Vallejo, 2008) ya había logrado aislar en equinos dermatofitos como *Trichophyton terrestre*, *Microsporum equinum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton equinum* pero demostró que el tratamiento con extracto de semilla de toronja (*Citrus maxima*) no tuvo efecto significativo sobre estos.

La eficacia del propóleo sobre los caballos infectados por *C. albicans* se debió posiblemente a que éste inhibe el crecimiento, la formación de blastoconidias y la formación de tubo germinativo (importante factor de virulencia de ésta levadura), además de provocar daño a nivel de membrana y pared celular. Estos daños también fueron reportados por Holderna en 1987. De igual modo, Martínez en el 2008 comprobó in vitro que el propóleo a una concentración de 0.3 mg/ml logra la inhibición del crecimiento, cesa la formación de blastoconidias (por lo que la levadura es incapaz de reproducirse) y hay alteraciones a nivel morfológico con daños en pared y membrana celular, incluso a nivel de membrana nuclear.

Se logró observar también una gran sinergia dada entre el shampoo y la pomada con propóleo, ya que entre los componentes del primero hay sustancias tensoactivas (como el lauril sulfato de sodio, las aminas y los polialcoholes y la cocoamidopropil betaína) que se encargan de eliminar las secreciones sudoríparas y sebáceas, las células muertas y la suciedad del ambiente como lo menciona Chávez en el 2013. Una vez eliminados estos elementos, la aplicación de la pomada permite una mayor actividad residual del propóleo en la piel. Un estudio similar fue realizado por Cam en el 2009 en dermatofitosis en bovinos, quien menciona que se obtienen mejores resultados aplicando pomada de propóleo y pomada con ácidos benzoico y salicílico que con el uso de cada sustancia por separado.

De igual modo, este estudio involucró tratamientos tópicos aplicados por un periodo de 4 semanas, siendo práctico en casos donde las lesiones abarcan una gran extensión. Concuerta también con una investigación realizada por Cruz en el 2014, donde revela que lavando las lesiones diariamente con jabón comercial que contenga propóleo y aplicando pomada elaborada también a base de propóleo y verificando a partir de la tercer semana, cada 7 días la evolución, se logra la remisión de las lesiones y el crecimiento del pelo en las zonas afectadas, así como la reducción del prurito que pudiera ser causado por infecciones secundarias y el aumento de tolerancia a la aplicación de la pomada.

En este trabajo también se observó y demostró la capacidad regenerativa y cicatrizante del propóleo sobre las lesiones que fueron tratadas en los caballos, al reducir el diámetro de las placas circulares alopecicas tal como lo demostró Howaida en el 2013, al evaluar la efectividad del propóleo en la regeneración de lesiones antiguas y recientes. En este trabajo se logró constatar que las lesiones ocasionadas por dermatofitos y levaduras desaparecieron tras la aplicación tópica de la pomada y el shampoo con propóleo, asociado esto a sus características antimicrobianas, a los radicales libres y a la estimulación del metabolismo que acelera la regeneración tisular (Castaldo, 2002; Burdock, 1998; Marcucci, 1995).

Esto también podría ser debido a sustancias como el ácido cafeico y al kampferol en el propóleo, que estimulan e inducen la fase de anagén en el pelo como lo demostraron Miyata y Matsuo en el 2014, quienes publicaron un estudio donde se menciona que fueron aplicados estos compuestos extraídos del propóleo en ratones que habían sido afeitados o depilados, comprobando que los ratones que recibían el tratamiento recuperaban el pelo de manera más rápida que los que no lo recibieron debido a que la inducción del anagén ocurre sin anomalías detectables en la conformación de los folículos del pelo. Los autores también observaron que tras la aplicación tópica del producto aumentó el número de células asociadas al crecimiento capilar, además estimula la proliferación de queratinocitos.

En el caso comparativo de Sheesa (caballo número 2) en el que las lesiones en la cara del lado derecho fueron tratadas con crema de Ketoconazol se observó una ligera hiperpigmentación en la zona tras la desaparición de las lesiones, lo que no sucedió en el lado izquierdo, que se trató con la pomada y el shampoo con propóleo, ni en Sioux (caballo número 1) quien únicamente recibió tratamiento con ketoconazol. Esto no ha sido documentado dentro de los efectos adversos de dicha sustancia, lo que se puede considerar como una reacción aislada.

Se demuestra una vez más al propóleo como un agente terapéutico alternativo contra las afecciones micóticas cutáneas que puede ser empleado con seguridad en los pacientes pediátricos, geriátricos y hembras gestantes y en individuos con falla renal y/o hepática lo cual representa una gran ventaja frente a los fármacos convencionales empleados para tratar estos padecimientos, que si bien han mostrado efectividad, los mismos han sido limitados en su uso en este grupo de individuos dada su capacidad hepatotóxica, teratogénica, embriotóxica y múltiples interacciones medicamentosas, como lo mencionan Kaur en el 2008) y Rivas en el 2009.

CONCLUSIONES

Se comprobó la eficacia del tratamiento tópico con pomada y jabón hechos a base de propóleo en los equinos con micosis cutáneas.

Este estudio constituye el primer antecedente del tratamiento con propóleo en micosis cutáneas en equinos.

Se logró demostrar su eficacia frente a *Trichophyton mentagrophytes* y *Candida albicans* sin embargo se sugiere continuar con ésta línea de investigación para conocer su mecanismo de acción sobre otros agentes causantes de micosis cutánea en equinos, así como determinar una dosis terapéutica y en un futuro evaluar su efectividad.

Debe considerarse el uso de compuestos de propóleo como una alternativa natural y eficaz ante los tratamientos antimicóticos farmacéuticos que conllevan diversos efectos colaterales y tóxicos tras su empleo.

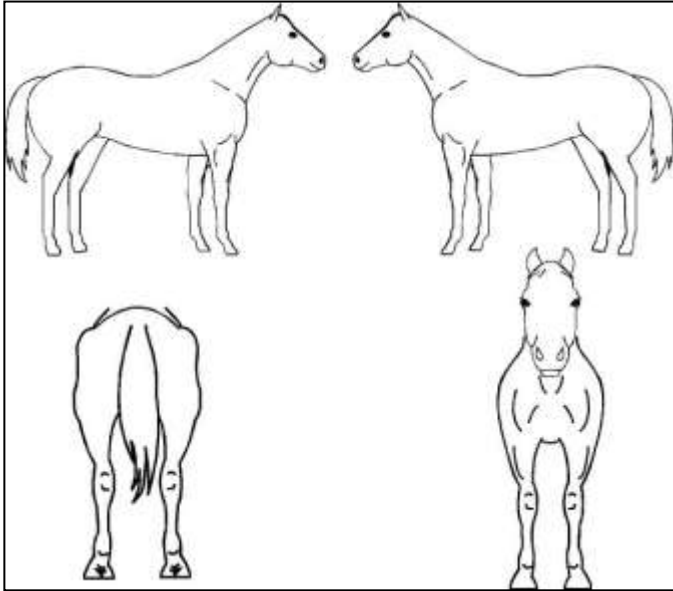
RECOMENDACIONES

Para futuros estudios del efecto del propóleo resultaría recomendable realizar además del aislamiento e identificación de los agentes antes del tratamiento, un aislamiento durante y al finalizar éste, así como un análisis de imagen del daño estructural que pudieran presentar las estructuras fúngicas involucradas

Debido a que la mayoría de los hongos potencialmente patógenos para el hombre y los animales son saprofitos, su aislamiento desde una lesión, no implica necesariamente que sean los responsables del proceso patológico sino que sería conveniente acompañarse de un estudio histopatológico que permita evidenciar la morfología de los elementos micóticos y su relación con las lesiones tisulares, que en ocasiones presentan un patrón típico para algunas especies.

ANEXOS

Anexo I: Hoja de trabajo

IDENTIFICACIÓN	
NOMBRE:	NO.
RAZA:	EDAD:
COLOR:	CUADRA:
SEXO:	TRATAMIENTO:
Dx:	
INICIO DE TRATAMIENTO:	TERMINO DE TRATAMIENTO:
LOCALIZACIÓN DE LAS LESIONES:	
	

Anexo 1: Hoja de trabajo

Anexo II: Técnicas, medios, tinciones y procedimientos.

Técnica de KOH (Observación con Hidróxido de Potasio)

- Colocar una gota de KOH al 10% en el centro de un portaobjetos limpio.
- Poner fragmentos de escamas, uñas o pelo y con una aguja de disección limpia dilacerar la muestra, si es necesario, para obtener una muestra delgada.
- Colocar un cubreobjetos y dejar reposar la preparación por 15 minutos
- Examinar la preparación al microscopio.

Agar Borelli (Lactrimel)

Composición

- | | |
|-----------------------|------------|
| • Harina de trigo | 7 g |
| • Leche descremada en | 7 g |
| • Miel de abeja | 3.5 g |
| • Agar | 7 g |
| • Agua destilada | cbp 500 ml |

Preparación

- Se disuelven en agua destilada los ingredientes.
- Esterilizar a 110° durante 10 minutos.

Indicaciones

- Primoaislamiento, conservación y producción de pigmentos de dermatofitos.

Tinción de Gram

Para las lesiones cuyo crecimiento sea sospechoso de *Candida*:

- Preparar un frotis.
- Fijar el frotis a la flama, cuidando de no calentarlo en exceso.
- Teñir con cristal violeta por 30 segundos.
- Lavar ligeramente con agua destilada.
- Colocar Lugol por 30 segundos.
- Lavar ligeramente con agua.
- Decolorar con acetona no más de 30 segundos.
- Lavar.
- Teñir con safranina por 30 segundos.
- Lavar ligeramente con agua, dejar secar y observar al microscopio.

Técnica de microcultivo

1. Preparar una caja con 30- 35 ml de medio SDA.
2. Cortar un bloque de aproximadamente 1 cm³ del agar.
3. Transferir el bloque de agar a la superficie de un portaobjetos colocado previamente sobre una varilla de vidrio doblada en forma de “v” en una caja de Petri esterilizada.
4. Se inoculan los cuatro lados del bloque de agar con el crecimiento micelial del hongo que se está estudiando.
5. Se coloca un cubreobjetos utilizando unas pinzas previamente flameadas encima del bloque, haciendo una ligera presión.
6. Agregar a la caja de Petri de 10 a 15 ml de agua glicerinada estéril.
7. Sellar la caja de Petri con cinta adhesiva.
8. Incubar a 28° C en estufa bacteriológica de 2 a 15 días (dependiendo del hongo a estudiar).
9. Para examinar se agregan 1 o dos gotas del colorante azul de algodón Lactofenol en un portaobjetos limpio y se coloca el cubreobjetos del microcultivo en el colorante por otro lado. También al portaobjetos del microcultivo se le agrega el colorante y un cubreobjetos limpio.
10. Observar al microscopio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abdel, S., Samiha, M. M. (2000). Effect of the addition of propolis extract as natural antioxidant on the keeping quality of biscuit during storage. *Egyptian Journal of Agricultural Research* 78 (4): 1659-1671.
2. Abo-Salem, O. M., El Edel, R. H., Harisa, G. E. I., El Halawany, N., Ghonaim, M. M. (2009). Experimental Diabetic Nephropathy Can be Prevented by Propolis: Effect on Metabolic Disturbances and Renal Oxidative Parameters. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 22 (2): 205-210.
3. Ahn, M. R., Kunimasa, K., Kumazawa, S., Nakayama, T., Kaji, K., Uto, Y., Hori, H., Nagasawa, H., Ohta, T. (2009). Correlation between antiangiogenic activity and antioxidant activity of various components from propolis. *Molecular Nutrition & Food Research* 53 (5): 643-651.
4. Ali, F. H., Kassem, G. M., Atta-Alla, O. A. (2010). Propolis as a natural decontaminant and antioxidant in fresh oriental sausage. *Veterinaria Italiana* 46 (2): 167-172.
5. Ali, Z. H., Dahmouh, H. M. (2012). Propolis versus Daktarin (R) in mucosal wound healing. *Life Science Journal-Acta Zhengzhou University Overseas*, edition 9 (2): 624-636.
6. Allejo, L. (1974). Natural history of dermatophytes and related fungi. *Mycopatol. Mycol. Appl.* 53: 93- 110.
7. Almeida, E. C. D., Menezes, H. (2002). Anti-inflammatory activity of propolis extracts: a review. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 8 (2): 191-212.
8. Alyane, M., Benguedouar, L., Kebsa, W., Bousenane, H. N., Rouibah, H., Lahouel, M. (2008). Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 21 (3): 201-209.
9. Anaissie, E. J., Mahmoud, G., Kieren, M. P. G., Pappas, P. G. (2008). Fungus Mycosis Study Group. Consultado el 15 de marzo del 2013. Available from: <http://doctorfungus.org/imageban/help.htm>
10. Aoi, W., Hosogi, S., Niisato, N., Yokoyama, N., Hayata, H., Miyazaki, H., Kusuzaki, K., Fukuda, T., Fukui, M., Nakamura, N., Marunaka, Y. (2013). Improvement of insulin resistance, blood pressure and interstitial pH in early developmental stage of insulin resistance in OLETF rats by intake of propolis extracts. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 432: 650- 653.
11. Arenas, R. (2011). *Micología Médica Ilustrada*, 4º Ed. Mc Graw Hill, México.
12. Asafova, N., Orlov, B., Kozin, R. (2001). *Physiologically active bee products* (in Russian). Y.A.Nikolaev Nijnij Novgorod; 360 pp
13. Asís, M. (2001). *Apiterapia para todos. Como usar los siete productos de la colmena para curar*. Ed. Científico Técnica. México. pp 60-96.
14. Atungulu, G., Miura, M., Atungulu, E., Satou, Y., Suzuki, K. (2007). Activity of gaseous phase steam distilled propolis extracts on peroxidation and hydrolysis of rice lipids. *J Food Engin* 80: 850-858.
15. Austin, R. J. (1976). Disseminated mycoses in a horse. *Can Vet J* 17: 86
16. Bansal, V. (2005). Honey, a remedy rediscovered and its therapeutic utility. *Khatmandu Univ Med J.*, 3(3): 305-309.
17. Banskota, A. H., Tezuka, Y., Kadota, S. (2001). Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy Research* 15 (7): 561-571.
18. Barbosa, A. P. M., Gregio, A. M. T., Lima, A. A. S., Ribas, M. O., Pereira, A. C. P., Marques, F. R. (2003). Effect of propolis in buccal ulcers of rats. *Journal of Dental Research* 82: 187.

19. Benkovic, V., Knezevic, A. H., Orsolich, N., Basic, I., Ramic, S., Viculin, T., Knezevic, F., Kopjar, N. (2009). Evaluation of Radioprotective Effects of Propolis and its Flavonoid Constituents: In Vitro Study on Human White Blood Cells. *Phytotherapy Research* 23 (8): 1159-1168.
20. Biberstein, E. L. (1990). *Review of Veterinary Microbiology*. Blackwell Scientific publications, USA.
21. Bedascarrasbure, E., Maldonado, L., Álvarez, A. (2001). El propóleo: un valioso producto de la colmena. *Horizonte agroalimentario* 5: 4-7
22. Berretta, A. A., Nascimento, A., Pmarchetti, J. M. (2012). Propolis Standardized Extract (EPP-AF (R)), an Innovative Chemically and Biologically Reproducible Pharmaceutical Compound for Treating Wounds. *International Journal of Biological Sciences* 8 (4): 512-521.
23. Betancourt, N., García-Contreras, L. and Sánchez, T. (2015). Propolis in Dogs: Clinical Experiences and Perspectives (A Brief Review). *Open Journal of Veterinary Medicine*, 5, 11-17.
24. Bofill, P., Rivas, A., Ramírez, W., Montañez, J. (1996). Dermatomicosis en: *Manual de enfermedades Infecciosas*. T. No. 3, 84-100
25. Bogdanov, S. (2014) Propolis: Composition, Health, Medicine: A Review. *Bee Product Science*, 1-40. Consultado el 1 de marzo del 2014.
<http://www.bee-hexagon.net/files/fileE/Health/PropolisBookReview.pdf>
26. Bonifaz, A. (2012). *Micología Médica Básica*, 4° ed. Editorial Mc Graw Hill, México, 61- 97.
27. Borelli, G. (2002). Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*. Vol.73 Suppl. 1, 53-63.
28. Buechner, V., Manning, T., and Wong, D. (2005). Equine skin: Structure, immunologic function and methods of diagnosing disease, *Vet Learn* 463-472.
29. Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis). *Food and Chemical Toxicology* 36 (4): 347-363.
30. Burkhart, C. G., Burkhart, K. M. (1999). Dermatophytosis in horses treated with terbinafine. *J Equine Vet Sci* 19: 652.
31. Burmester, A., Shelest, E., Glöckner, G., Heddergott, C., Schindler, S., Staib, P., et al. (2011). Comparative and functional genomics provide insights into the pathogenicity of dermatophytic fungi. *Genome Biol* 12(1):R7.
32. Cabañes, F. J., Abarca, M. L., Bragulat, M. R. (1997). Dermatophytes isolated from domestic animals in Barcelona, Spain. *Micopathology* 137: 107-113.
33. Calderone, R. A., Fonzi, W. (2001). Virulence factors of *Candida albicans*, *Trends in Microbiology*, 9(7).
34. Cam, Y., Koc, A., Silici, S., Günes, V., Kasapa, F. (2009). Treatment of dermatophytosis in young cattle with propolis and Whitfield's ointment. *Veterinary Record* 165: 57- 58.
35. Castaldo, S.; Carpasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 73: 1-6.
36. Carlotti, D. N., Pin, D. (2002). *Diagnóstico dermatológico*. Manual de veterinaria. Masson. Barcelona.
37. Chatterjee, A. (1988). *Skin Infections in domestic animals*. 1° ed. Calcuta: Motri Publication.
38. Chavez, J. G. (2013). *Elaboración de Shampoo de romero (Rosmarinum officinalis) con actividad anti Malassezia globosa a escala piloto*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Fac. de Ciencias, Escuela de bioquímica y Farmacia, Ribomba, Ecuador.
39. Chen, C. N., Hsiao, C. J., Lee, S. S., Guh, J. H., Chiang, P. C., Huang, C. C., Huang, W. J. (2012). Chemical modification and anticancer effect of prenylated flavanones from Taiwanese propolis. *Natural Product Research* 26 (2): 116-124.

40. Chen, T. G., Lee, J. J., Lin, K. H., Shen, C. H., Chou, D. S., Sheu, J. R. (2007). Antiplatelet activity of caffeic acid phenethyl ester is mediated through a cyclic GMP-dependent pathway in human platelets. *Chinese Journal of Physiology* 50 (3): 121-126
41. Chopra, S., Pillai, K. K., Husain, S. Z., Giri, D. K. (1995). Propolis protects against doxorubicin-induced myocardial pathology in rats. *Experimental and Molecular Pathology* 62 (3): 190-198.
42. Cicala, C., Morello, S., Iorio, C., Capasso, R., Borrelli, F., Mascolo, N. (2003). Vascular effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on isolated rat thoracic aorta. *Life sciences.Pt.2: Biochemistry, general and molecular biology* 73 (1): 73-80.
43. Cleofas, H.; Cleofas, J.A. (2014). Elaboración y evaluación microbiológica de jabón líquido a base de propóleo para uso medicinal.
44. Connole, M. D., Pascoe, R. R. (1984). Recognition of Trichophyton equinum var equinum infection of horses. *Aust Vet J* 61: 94.
45. Cruz, T., García, P., Zamora, C., Martínez, M., Valencia, V. and Orozco, A. (2014) Use of Propolis for Topical Treatment of Dermatophytosis in Dog. *Open Journal of Veterinary Medicine*, 4, 239-245.
46. Cushnie, T.P.T. y Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26:343-356
47. Cutsem, V. J., Rochette, F. (1991). *Mycoses in domestic animals*. 1° ed. Jansen Research Foundation. USA.
48. Dahl, M V. (1993). Suppression of immunity and inflammation by products produced by dermatophytes. *J Am Acad Dermatol* 28:19.
49. Daleprane, J., Rudnicki, M., Menrad, H., Geis, T., Ikegaki, M., Ong, T., Brüne, B., Abdalla, D. (2012). Suppression of Hypoxia-Inducible Factor-1 α Contributes to the Antiangiogenic Activity of Red Propolis Polyphenols in Human Endothelial Cells. *J.Nutrition* 142: 441- 447.
50. Dantas, F. (2006). Treatment of Trypanosoma cruzi-infected mice with propolis promotes changes in the immune response. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 103, 187–193.
51. De Barros, M. P., Lemos, M., Maistro, E. L., Leite, M. F., Sousa, J. P. B., Bastos, J. K., De Andrade, S. F. (2008). Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids found in Brazilian Green Propolis. *Journal of Ethnopharmacology* 120 (3): 372-377.
52. De Castro, S. L., Higashi, K. O. (1995). Effect of different formulations of propolis on mice infected with Trypanosoma cruzi. *Journal of Ethnopharmacology* 46 (1): 55-58.
53. De Castro, S. L. (2001). Propolis: Biological and Pharmacological Activities. Therapeutic uses of this Bee-Product. *ARBS Ann Rev Biomed Sci* 3:49-83
54. Diaz-Carballo, D., Malak, S., Bardenheuer, W., Freistuehler, M., Reusch, H. P. (2008). The contribution of plukenetione A to the anti-tumoral activity of Cuban propolis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 16 (22): 9635-9643.
55. Duran, G., Duran, N., Culha, G., Ozcan, B., Oztas, H., Ozer, B. (2008). In vitro antileishmanial activity of Adana propolis samples on Leishmania tropica: a preliminary study. *Parasitology Research* 102 (6): 1217-1225.
56. Dyce, k. M. (1996). Anatomía Veterinaria, 2° ed. McGraw-Hill interamericana, México, 2: 53-55
57. Ebling, F. J. (1965). Comparative and evolutionary aspects of hair replacement. In Rook, A. J., Walton, G. S. editors: *Comparative physiology and pathology of the skin*, Blakwell, Oxford.
58. Elewski, B., Hazen, P. (1993). The superficial mycoses and the dermatophytes. Continuing Medical Education, *J Am Acad Dermatol* 21(4):655-673.
59. El Hady F. y A. Hegazi. (2002). Egyptian propolis: 2. Chemical composition, antiviral and antimicrobial activities of east Nile delta propolis. *Z. Naturforsch.*, 57: 386-394

60. El-Tahir, K. E. H., El-Sarag, M. S. A., Ageel, A. M. (1996). The pharmacology of honey bee products: 1. Actions of propolis on rat arterial blood pressure, respiratory systems and some smooth muscles. *Saudi Pharmaceutical Journal* 4 (3/4): 157-164.
61. Farooqui, T., Farooqui, A. (2010). Molecular Mechanism Underlying the Therapeutic Activities of Propolis: A Critical Review. *Curr Nutr Food Sci* 6: 188-199.
62. Fitzpatrick, T. B., Eisen, A. Z., Wolf, K. (1993). *Dermatology in general medicine*, 3^o ed, New York, McGraw-Hill.
63. Foster, K.W., Ghannoum, M.A., Elewski, B.E. Epidemiologic surveillance of cutaneous fungal infection in the United States from 1999 to 2002. *J Am Acad Dermatol.* 50: 748-752
64. Ganeser, F. (1993). *Histología*, 2nd ed. Médica Panamericana, Argentina.
65. Gubelin, W., De la Parra, R., Giesen, L. (2011). Micosis superficiales. *Rev. Med. Clin. Condes* 22(6) :804-812.
66. Guelfand, L., Grisolia, P., Bozzano, C., Kaufman, S. (2003). Comparison of methods for the identification of the most common yeasts in the clinical microbiology laboratory. *Rev Argent Microbiol.* 35:49-53.
67. Gupta, A. K. (1994). Antifungal agents. *Part I J Am Acad Dermatol*, 30: 677.
68. Gutiérrez, E. (2011). *Actividad antibacteriana y perfil químico de propóleos mexicanos sobre cepas de Pasteurella multocida aisladas de conejos*. Tesis de maestría, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, México.
69. Hay, R. J. (2006). How do dermatophytes survive in the epidermis? *Curr Opin Infect Dis*; 19(2):125-6.
70. Hegazi, G. H. (2000). Propolis: an review. *Actas del congreso Internacional de propóleos*. Buenos Aires Argentina.
71. Holdema, E., Kedzia, B. (1987). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Herba Pol* 33: 145-151.
72. Hopes, R. (1981). Ringworm in the horse—The clinical picture. *Vet Dermatol News* 6:33.
73. Howaida, A. A., Abdel, R. E. (2013). Evaluation of the effectiveness of propolis compared with honey on second intention wound healing in the equine. *Middle- East Journal of Science Research* 14 (10): 1292-1298.
74. Huang, S. S., Liu, S. M., Lin, S. M., Liao, P. H., Lin, R. H., Chen, Y. C., Chih, C. L., Tsai, S. K. (2005). Antiarrhythmic effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Clinical Biochemistry* 38 (10): 943-947.
75. Huang, W. J., Huang, C. H., Wu, C. L., Lin, J. K., Chen, Y. W., Lin, C. L.; Chuang, S. E., Huang, C. Y., Chen, C. N. (2007). Propolin G, a prenylflavanone, isolated from Taiwanese propolis, induces caspasedependent apoptosis in brain cancer cells. *Journal of agricultural and food chemistry* 55 (18): 7366-7376.
76. Hutchins, D. R. (1960). Skin diseases of the Cattle and Horses in New South Wales, N. Z. *Vet. J.* 8:85.
77. Ikeda, R., Yanagisawa, M., Takahashi, N., Kawada, T., Kumazawa, S., Yamaotsu, N., Nakagome, I., Hirono, S., Tsuda, T., (2011). Brazilian propolis-derived components inhibit TNFalpha-mediated downregulation of adiponectin expression via different mechanisms in 3T3-L1 adipocytes. *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects* 1810 (7): 695-703.
78. Kang, L. J., Lee, H. B., Bae, H. J., Lee, S. G. (2010). Antidiabetic Effect of Propolis: Reduction of Expression of Glucose-6-Phosphatase through Inhibition of Y279 and Y216 Autophosphorylation of GSK-3 alpha/beta in HepG2 cells. *Phytotherapy Research* 24 (10): 1554-1561.
79. Kaur, R., Kashyap, B. Bhalla, P. (2008). Onychomycosis-epidemiology, diagnosis and management. *Indian J Med Microbiol* Apr-Jun; 26(2):108-16
80. Kedzia, B., Iwaszkiewicz, J., Geppert, B. (1988). Pharmacological investigations on ethanolic extract of propolis. *Herba Polonica* 34 (4): 243-253.

81. Khayyal, M. T., El-Ghazaly, M. A., El-Khatib, A. S. (1993). Mechanisms involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. *Drugs Under Experimental and Clinical Research* 19 (5): 197-203.
82. Koc, A. N. Silici, S., Mutlu-Sariguzel, F., Sagdic, O. (2007). Antifungal activity of propolis in four different fruit juices. *Food Technology and Biotechnology* 45 (1): 57-61.
83. Kroon, P.A. y Williamson, G. (1999). Hidroxicinnamates in plants and food: current and future perspective. *Journal of Food Science and Agriculture*. 79: 355-361.
84. Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R. y Popova, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 64, 235-240.
85. Kumar, N., Anmad, K.K.M., Dang, R. y Husain, A. (2008). Antioxidant and antimicrobial activity of propolis from Tamil Nadu zone. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2(12): 361-364
86. Kumazawa, S., Ohta, T., Kaji, K., Nakayama, T. (2007). Antioxidant and antiangiogenic activities of propolis 1. *Yakugaku Zasshi-Journal of the Pharmaceutical Society of Japan* 127: 16-18.
87. Larrondo, R. J., Gonzales, A. R., Hernández, L. M. (2001). Micosis superficiales, dermatofitosis. *Rev Cubana Med Gen Integr* 2477-2512
88. Leach, D. H., Caron, J. P. (1999). Integumentary system, in Aeur, J. A., Stick, J. (eds.): *Equine Surgery*, ed 2°. Philadelphia, W. B. Saunders.
89. Llovo, J., Pontón, J. (2007). Diagnóstico microscópico de las micosis. *Revista Iberoamericana de Micología*, 14^a-1: 14b-14.
90. Londoño, A., Penieres, J., García, C., Carrillo, L., Quintero, M., García, S., Mendoza, M. y Cruz, T. A. (2008). Estudio de la actividad antifúngica de un extracto de propóleo de la abeja *Apis mellifera* proveniente del estado de México. *Tecnología en marcha*, Vol. 21-1, 49-55
91. López, A. (2008). *Dermatofitosis equina*. FMVZ. Universidad Veracruzana, México.
92. López, C. I. (2012). *Evaluación in vitro del efecto del propóleo sobre Microsporium gypseum*. Tesis. FES-Cuautitlán, UNAM. México.
93. López, R. (2012). *Micología médica: procedimientos para el diagnóstico de laboratorio*. 3° ed. Trillas, México.
94. Lozina, L., Boheringer, S. (2005). Acción del propóleos sobre una levadura (*Malassezia pachydermatis*) aislada a partir de otitis externa canina. *Rev Vet* 16: 32-35
95. Lu, L., Chen, Y., Chou, C. (2005). Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 102, 213-220.
96. Marcucci, M. C. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 26: 83-99.
97. Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J.M. y Tuñón, M.J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Revisión. Nutrición Hospitalaria*. 8(6): 271-278.
98. Miyata, S., Matsuo, S. (2004). Stimulatory effect of Brazilian Propolis on Hair Growth through Proliferation of Keratinocytes in Mice. *J Agric Food Chem*, 62 (49) 11854-11861.
99. Matsui, T., Ebuchi, S., Fujise, T., Abesundara, K., Doi, S., Yamada, H., Matusumoto, K. (2004). Strong Antihyperglycemic Effects of Water-Soluble Fraction of Brazilian Propolis and Its Bioactive Constituent, 3,4,5-Tri-O-caffeoylquinic Acid. *Biol.Pharm.Biol.* 27: 1797-1803.
100. McClennan, S. V., Bonner, J., Charlton, A., Lo, L., Yue, D. K., Twigg, S. M. (2008). Propolis improves wound healing in experimental diabetes 198 77604. *Wound Repair and Regeneration* 16 (4): A65
101. Méndez, L. (2014). Importancia de las zoonosis por hongos en las micosis humanas, Departamento de Microbiología y Parasitología-Recursos en Micología, [Online] Disponible en:

<http://www.facmed.unam.mx/deptosmicrobiologia/micologia/zoonosis.html>

102. Meneghelli, C., Joaquim, L. S. D., Felix, G. L. Q., Somensi, A., Tomazzoli, M., Da Silva, D. A., Berti, F. V., Veleirinho, M. B. R., Recouvreux, D. D. S. (2013). Southern Brazilian autumnal propolis shows anti-angiogenic activity: An in vitro and in vivo study. *Microvascular research* 88: 1-11.
103. Meneses, E. (2006). *Actividad antifúngica de propóleos recolectados en el apiario de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín*. Posgrado en Biotecnología. Medellín.
104. Merck. (2000). *El manual Merck de veterinaria*. 5ª ed. Ed. Océano. Barcelona, España. 2455 p.
105. Mishima, S., Yoshida, C., Akino, S., Sakamoto, T. (2005). Antihypertensive effects of Brazilian propolis: Identification of caffeoylquinic acids as constituents involved in the hypotension in spontaneously hypertensive rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 28 (10): 1909-1914.
106. Moawad, A. A., Galal, E. A., Metry, W. A. (2001). Egyptian bee propolis as a natural preservative for ultrafiltered soft cheese, *8th Egyptian Conference for Dairy Science and Technology, held at the International Agriculture Centre, Cairo, Egypt, Egyptian Society of Dairy Science*, 3.Nov.2001-5.Nov.2001: pp 243-255.
107. Mohammadzadeh, S. S., Mohammad, M., Manoochehr, Y., Amanzadeh, S. (2007). Antioxidant power of Iranian propolis extract. *Food Chem.*, 103: 729-733.
108. Moretti, A. et al. (1999). Epidemiological aspects of dermatophyte infection in horses and cattle. *J Vet Med* 45: 205.
109. Moriello, K.A. (1998). *Diseases of the skin*. In: Reed SM, Bayly WM (eds): *Equine Internal Medicine*. W. B. Saunders Co, Philadelphia, pp. 513
110. Ochaita, P. L. (2003). *Micosis superficiales cutáneas. en Dermatología texto y atlas, 3ra*. Ed. Madrid. Ed. Meditecnica S.A.103-128
111. Okamoto, Y., Tanaka, M., Fukui, T., Masuzawa, T. (2012). Brazilian propolis inhibits the differentiation of Th17 cells by inhibition of interleukin-6-induced phosphorylation of signal transducer and activator of transcription. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 34 (5): 803-809.
112. Okutan, H., Ozcelik, N., Yilmaz, H. R., Uz, E. (2005). Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat heart. *Clinical Biochemistry* 38 (2): 191-196.
113. Orsolic, N. (2010) A review of propolis antitumour action in vivo and in vitro. *JAAS* 2 (1): 1-20.
114. Ozbilge, H., Kaya, E. G., Albayrak, S., Silici, S. (2010). Anti-leishmanial activities of ethanolic extract of Kayseri propolis. *African Journal of Microbiology Research* 4 (7): 556-560.
115. Ozer, M. K., Parlakpınar, H., Acet, A. (2004). Reduction of ischemia-reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Clinical Biochemistry* 37 (8): 702-705.
116. Paintz, M., Metzner, J. (1979). Efecto anestésico local de propóleos y algunos ingredientes. *Farmacia* 34: 839-841
117. Palomino, G. Lady, R., García, P. (2009). Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquía (Colombia). *Vitae* 16 (3): 388-395
118. Pascoe, R. R. (1974). Dermatomycosis due to *Microsporum gypseum* in horses. *Aus Vet J* 50:380.
119. Pascoe, R. R. (1976). Studies on the prevalence of ringworm among horses in racing and breeding stable. *Australian Vet. J.* 419- 421
120. Paterson, S. (1997). Dermatophytosis in 25 horses—a protocol of treatment using topical therapy. *Equine Vet Educ* 9: 171
121. Pemán, J., Martín-Mazuelos, E., Rubio-Calvo, M. C. (Ed.) (2001). *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología*

Médica (1.a ed.). Bilbao, Revista Iberoamericana de Micología

122. Pérez, J., Carrasco, L. (2000). Diagnóstico histopatológico de micosis en patología veterinaria. *Rev Iberoam Micol*, vol. 17: 18-22
123. Pillai, S. I., Palsamy, P., Subramanian, S., Kandaswamy, M. (2010). Wound healing properties of Indian propolis studied on excision wound-induced rats. *Pharmaceutical Biology* 48 (11): 1198-1206.
124. Pontin, K., Filho, A. A. D. S., Santos, F. F., Silva, M. L. A. E., Cunha, W. R., Nanayakkara, N. P. D., Bastos, J. K., De Albuquerque, S. (2008). In vitro and in vivo antileishmanial activities of a Brazilian green propolis extract. *Parasitology Research* 103 (3): 487-492.
125. Popolo, A., Piccinelli, L. A., Morello, S., Cuesta-Rubio, O., Sorrentino, R., Rastrelli, L., Pinto, A. (2009). Antiproliferative Activity of Brown Cuban Propolis Extract on Human Breast Cancer Cells. *Natural Product Communications* 4 (12): 1711-1716.
126. Premoli, G., Laguado, P., Díaz, N. (2010). Uso del propóleo en odontología. *Acta odontológica venezolana*, 48(2): 1-13
127. Quintero, M. Londoño, A., Soto, C., García, C., Carrillo, L., Penieres, J., Cruz, T. (2011). Structural and genetic alterations of fungal cells caused by mexican propolis. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. A. Méndez-Vilas (Ed.). Vol. 3 :1068-1073.
128. Reed, S. M. (2005). *Medicina interna equina*, 2° Ed. Vol. 1, Intermédica, Buenos Aires.
129. Rees, C. A. (2001). Response to immunotherapy in six related horses with urticaria secondary to atopy, *J Am Vet Med Assoc* 218(5):753-755
130. Rivas, G., Cardona, N. (2009). Antimicóticos de uso sistémico: ¿Con que opciones terapéuticas contamos? *CES Medicina* vol. 23, núm.1, enero-junio. Pp.61-76. Colombia
131. Russo, A. (2002). Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenyl ethyl ester and galangin. *Fitoterapia*, Vol. 73 Suppl. 1 S21-S29.
132. Sader, H. S., Miranda, E. A. (1999). *Limitações dos métodos automatizados em Microbiologia; São Paulo: Jornada de Iniciação Científica, 4, Botucatu, PEM - UNIFESP, Anais. p.14-6.*
133. Sahinler, N., Gul, A., Copur, G. (2009). Chemical Composition and Preservative Effect of Thrkish Propolis on Egg Quality Durig Storage. *Asian Journal of Chemistry* 21 (3): 1877-1886.
134. Salamanca, G., Correa, I. (2007). Perfil de flavonoides e índices de oxidación de algunos propóleos colombianos. *Zootecnia trop.* 25(2) :95-102
135. Salamanca, G. G. (2002). *Orígen, naturaleza y características de los propóleos. Seminario Americano de Apicultura. Memorias. Tuxtla Gutiérrez, México.*
136. Salatino, A., Teixeira, E., Negri, G. y Message, D. (2005). Origin and chemical variation of Brazilian propolis. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 2, 33-38
137. Scott, D. W, et al (2001). *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*, 6th ed. W. B. Saunders Co, Philadelphia.
138. Scott, D. W., Miller, W. H. (2004). *Dermatología Equina*. 1° ed. Buenos Aires: Inter- Médica.
139. Segundo, Z.C., Martínez, A., Arenas, R., Fernández, R. (2004). Dermatomicosis por *Microsporum canis* en humanos y animales. *Rev Iberoam Micol*; 21: 39-41
140. Sehn, E., Hernandez, L; Franco, S. L., Goncalves, C. C. M., Baesso, M. L. (2009). Dynamics of reepithelialisation and penetration rate of a bee propolis formulation during cutaneous wounds healing. *Analytica Chimica Acta* 635 (1): 115-120.
141. Sellon, D. C., Long, M. T. (2007). *Equine infectious diseases*. Saunders- Elsevier.
142. Senczek, D. et al. (1999). Characterization of *Malassezia* species by means of phenotypic

- characteristics and detection of electrophoretic caryotypes by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). *Mycoses* 42:409.
- 143.**Sforcin, J. M. (2007). Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology* 113 (1): 1-14.
- 144.**Sforcin, J. M., Bankova, V. (2011). Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *J Ethnopharmacol* 133: 253-260.
- 145.**Spigoti, G., Tsutsumi, S., Bertolini, P., Opkazaki, K. (2009). Protective effect of propolis on radiationinduced chromosomal damage on chinese hamster ovary cells, *Internatonal Nuclear Atlantic Conference*, ABEN, Rio de Janeiro, 29.Oct.
- 146.**Taludkar, A. H., Calhoun, M. L., and Stinson, A. W. (1979). Sweat Glands of the Horse: A Histologyc Study. *American Journal of Veterinary Research* 31: 1751.
- 147.**Tikhonov, A. I., Yarnich, T. G., Cernich, V. P., Zupanetz, I., Tichonov, C. A. (1998). *Theory and practice of the production of medical preparations on the basis of propolis*. Osnova Harkov, Rusia, 379 pp
- 148.**Torres, D., Hollands, I., Palacios, E. (1990). Effect of an alcoholic extract of propolis on the in vitro growth of *Giardia lamblia*. *Revista Cubana de Ciencias Veterinarias* 21 (1): 15-19.
- 149.**Tzakoff, T. Z. (1975). *Investigación de las propiedades anestésicas locales del propóleosy su efecto sobre las cirugías en ovejas y perros. Un producto precioso de la colmena.*, Apimondia Verlag; Bukarest; pp 58-62.
- 150.**Vallejo, D. (2008). Eficacia del extracto cítrico estandarizado de semillas de toronja (*Citrus máxima*) en el tratamiento de las dermatofitosis en caballos. Tesis, UNAM, México, 42 pp.
- 151.**Vásquez, T. J. (2014). *Efecto del propóleo sobre Saprolegnia spp y el desarrollo de un comprimido para la prevención de la Saprolegniosis*. Tesis, FESC- UNAM., México.
- 152.**Villarino, N., Vispo, T., Ferrante, M., Landoni, F. (2006). Inefficacy of topical diclofenac in arthritic horses. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 1: 8-12
- 153.**Weitzman, J., Summerbell, R. C. (1995). The dermatophytes. *Clin Macro Reviews*. 40: 240-259
- 154.**Weng, M. S., Liao, C. H., Chen, C. N., Wu, C. L., Lin, J. K. (2007). Propolin H from taiwanese propolis induces G1 arrest in human lung carcinoma cells. *Journal of agricultural and food chemistry* 55 (13): 5289-5298.
- 155.**Zia, M. A. (2009). The effects of all alcoholic extract of propolis obtained from Iran bee hives on the growth of *Trichophyton mentagrophytis*, *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton verrucosum*, *Journal of Isfahan Medical School*. 27:95, pp. 232-241.
- 156.**Zukerman, L. (1992). An outbreak of ringworm (*trichophytosis*) in horses accompanied by human infection. *Israel. J Vet Med* 47:34