



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE  
KETOCONAZOL EN CEPAS DE *Microsporum sp* Y PREPARACIÓN  
DE UNA FORMA FARMACÉUTICA EN CREMA.**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA:**

**LESLI MELISSA NAVARRETE REINO**

Riobamba – Ecuador

2023



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE  
KETOCONAZOL EN CEPAS DE *Microsporum sp* Y PREPARACIÓN  
DE UNA FORMA FARMACÉUTICA EN CREMA.**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTOR: LESLI MELISSA NAVARRETE REINO**

**DIRECTOR: BQF. DIEGO RENATO VINUEZA TAPIA MSc.**

Riobamba – Ecuador

2023

**© 2023, Lesli Melissa Navarrete Reino**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Lesli Melissa Navarrete Reino declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 07 de diciembre del 2023

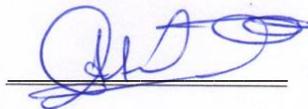


**Lesli Melissa Navarrete Reino**

**060480792-5**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAS DE CIENCIAS**  
**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE KETOCONAZOL EN CEPAS DE *Microsporium sp* Y PREPARACIÓN DE UNA FORMA FARMACÉUTICA EN CREMA.**, realizado por la señorita: **LESLI MELISSA NAVARRETE REINO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2023-12-07
BQF. Diego Renato Vinueza Tapia MSc. <b>DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2023-12-07
Dra. Adriana Monserrath Monge Moreno <b>ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2023-12-07

## **DEDICATORIA**

A Dios por estar en cada paso de mi vida académica; a mi hijo Miguel Ángel, quien me ha enseñado el significado de verdadero equilibrar tu tiempo y cuyo amor incondicional ha sido mi mayor motivación; cada sonrisa, cada abrazo en los momentos más agotadores, fue un recordatorio constante de por qué este esfuerzo vale la pena; y a mi familia, especialmente a mi madre cuyo apoyo inquebrantable ha sido mi sostén en los momentos más desafiantes. Esta tesis es el fruto de su sacrificio, amor y constante aliento. Gracias por ser mi inspiración.

Melissa

## **AGRADECIMIENTO**

En este viaje, la mano amorosa de Dios ha sido mi guía constante, le doy gracias por la fuerza y la sabiduría para completar este proyecto, por las puertas que abrió y por ser mi refugio en momentos de duda. Agradezco de igual forma a mi tutor, su fe en mí me impulsó a superar mis propios límites. Este logro no solo es mío, sino que es un reflejo del amor, el apoyo y el sacrificio de dos seres maravillosos que iluminan mi vida, mi madre y mi hijo, les agradezco de todo corazón por su comprensión, por ser mi fuerza en los momentos más oscuros y por ser el motor de mi persistencia. Gracias por ser mi ancla y mi inspiración. Cada sacrificio que hicieron no pasó desapercibido, y su constante apoyo me llenó de valor. No puedo dejar de reconocer a mis amigas por su apoyo incondicional. Sus palabras alentadoras, conversaciones inspiradoras y momentos de distracción fueron bálsamos en los días más estresantes. Cada pequeño gesto de aliento, cada palabra amable, contribuyó a este logro. A todos ustedes, gracias por ser mi red de seguridad emocional y mi fuente de inspiración. Este logro es nuestro.

Melissa

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS .....	ix
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xi
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	1

### CAPÍTULO I

<b>1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>2</b>
<b>1.1. Antecedentes.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Planteamiento del problema .....</b>	<b>2</b>
<b>1.3. Justificación.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4. Objetivos.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4.1. <i>Objetivo general</i> .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4.2. <i>Objetivos específicos</i> .....</b>	<b>4</b>

### CAPÍTULO II

<b>2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Antecedentes de la investigación .....</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Referencias teóricas .....</b>	<b>6</b>
<b>2.2.1. <i>Microsporum spp</i>.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2.1.1. <i>Etiología y distribución</i> .....</b>	<b>7</b>
<b>2.2.2. <i>Transmisión y patogénesis</i>.....</b>	<b>8</b>
<b>2.2.3. <i>Métodos para determinación e identificación de dermatofitos</i> .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2.3.1. <i>Lugares para obtener la muestra Pelo</i> .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2.3.2. <i>Lámpara de Wood</i> .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2.3.3. <i>Análisis de muestras</i> .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2.4. <i>Determinación de CMI</i> .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2.4.1. <i>Métodos de dilución para determinar la CMI</i>.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2.5. <i>Actividad antimicótica</i> .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2.6. <i>Ketoconazol</i> .....</b>	<b>15</b>

2.2.6.1.	<i>Mecanismo de acción</i> .....	15
2.2.6.2.	<i>Uso terapéutico</i> .....	16
2.2.6.3.	<i>Efectos adversos</i> .....	16
2.2.6.4.	<i>Precauciones en mujeres embarazadas y en niños</i> .....	17
2.2.6.5.	<i>Farmacocinética</i> .....	17
2.2.6.6.	<i>Espectro</i> .....	18
2.2.7.	<b><i>Formas farmacéuticas semisólidas de aplicación tópica</i></b> .....	18
2.2.7.1.	<i>Clasificación</i> .....	19
2.2.7.2.	<i>Cremas o emulsiones</i> .....	20
2.2.7.3.	<i>Indicaciones para el uso de semisólidos de aplicación tópica</i> .....	21
2.2.8.	<b><i>Formulación de la crema</i></b> .....	21
2.2.8.1.	<i>Fase oleosa</i> .....	21
2.2.8.2.	<i>Fase acuosa</i> .....	22
2.2.8.3.	<i>Fase complementaria</i> .....	25

### CAPÍTULO III

3.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	28
3.1.	<b>Materiales, equipos y reactivos</b> .....	28
3.1.1.	<i>Equipos</i> .....	28
3.1.2.	<i>Materiales</i> .....	28
3.1.3.	<i>Reactivos</i> .....	29
3.2.	<b>Metodología</b> .....	30
3.2.2	<i>Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias</i> .....	32
3.2.3	<i>Elaboración de la crema</i> .....	32

### CAPÍTULO IV

4.	<b>MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b> .....	33
4.1.	<b>Recolección de la muestra y aislamiento del microorganismo</b> .....	33
4.1.1.	<i>Incubación de las placas (Técnica del anzuelo queratinico)</i> .....	37
4.1.2.	<i>Cultivo y aislamiento del microorganismo en Agar PDA</i> .....	38
4.2.	<b>Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias</b> .....	39
4.2.1.	<i>Preparación de RPMI</i> .....	39
4.2.2.	<i>Preparación de la solución madre de ketoconazol.</i> .....	39
4.2.3.	<i>Preparación de la placa</i> .....	40
4.2.4.	<i>Preparación del inóculo</i> .....	41

<b>4.2.5.</b>	<b><i>Inoculación de la placa</i></b> .....	41
<b>4.3.</b>	<b>Elaboración de la crema</b> .....	43
<b>CONCLUSIONES</b> .....		47
<b>RECOMENDACIONES</b> .....		48
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>		
<b>ANEXOS</b>		

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2-1:</b>	Características macroscópicas y microscópicas del género <i>Microsporum</i> .....	6
<b>Tabla 2-2:</b>	Composición del Agar Mycosel. ....	14
<b>Tabla 2-3:</b>	Espectro de Ketoconazol In vitro. ....	18
<b>Tabla 2-4:</b>	Diferencias entre pomada, crema y ungüento en base al contenido de agua.....	19
<b>Tabla 2-5:</b>	Clasificación farmacéutica los semisólidos. ....	19
<b>Tabla 3-1:</b>	Características macroscópicas micelio <i>M. canis</i> . ....	31
<b>Tabla 3-2:</b>	Características microscópicas micelio <i>M. canis</i> . ....	32
<b>Tabla 4-1:</b>	Concentraciones obtenidas a partir de la solución madre con DMSO. ....	40
<b>Tabla 4-2:</b>	Disolución 1:50 de las concentraciones de KTZ y RPMI 1640. ....	40
<b>Tabla 4-3:</b>	Concentraciones obtenidas a partir de la inoculación en placa. ....	42
<b>Tabla 4-4:</b>	Componente de la primera formulación. ....	44
<b>Tabla 4-5:</b>	Componente de la segunda formulación. ....	44
<b>Tabla 4-6:</b>	Características organolépticas evaluadas en cada una de las formulaciones.....	45

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 2-1:</b>	Diferentes especies del género <i>Microsporum</i> , esporas asexuadas .....	7
<b>Ilustración 2-2:</b>	Manifestaciones clínicas de dermatofitosis en animales.....	9
<b>Ilustración 2-3:</b>	Manifestaciones clínicas de dermatofitosis en humanos. ....	10
<b>Ilustración 2-4:</b>	Estructura general de una cera .....	22
<b>Ilustración 2-5:</b>	Estructura química de Propilenglicol.....	22
<b>Ilustración 2-6:</b>	Estructura química del agua.....	23
<b>Ilustración 2-7:</b>	Estructura química de Propilenglicol.....	23
<b>Ilustración 2-8:</b>	Estructura química de Metilparabeno. ....	24
<b>Ilustración 2-9:</b>	Estructura química de propilparabeno. ....	24
<b>Ilustración 2-11:</b>	Estructura química de ketoconazol. ....	25
<b>Ilustración 2-12:</b>	Estructura química de glicerina. ....	26
<b>Ilustración 2-13:</b>	Estructura química de ácido cítrico.....	26
<b>Ilustración 2-14:</b>	Estructura química de EDTA.....	27
<b>Ilustración 4-1:</b>	Recolección de la muestra después del de la lámpara de Wood.....	33
<b>Ilustración 4-2:</b>	Cultivo de muestras en agar Mycosel. ....	35
<b>Ilustración 4-3:</b>	Cultivo de Dermatofitos mediante la Técnica del anzuelo queratínico. ....	37
<b>Ilustración 4-4:</b>	Observación de las colonias aisladas con azul de lactofenol 40X .....	38
<b>Ilustración 4-5:</b>	Crecimiento de la colonia <i>M. canis</i> por 7 días.....	39
<b>Ilustración 4-6:</b>	Recuento de conidias en cámara de Neubauer.....	41
<b>Ilustración 4-7:</b>	Observación de turbidez en placa de 96 pocillos.....	43
<b>Ilustración 4-8:</b>	Observación de características organolépticas de los preparados A y B. ....	46

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

**ANEXO A:** TOMA DE MUESTRA.

**ANEXO B:** SIEMBRA DE LAS MUESTRAS

**ANEXO C:** CRECIMIENTO EN AGAR

**ANEXO D:** IDENTIFICACIÓN DEL DERMATOFITO

**ANEXO E:** DETERMINACIÓN DE LA CMI

**ANEXO F:** ELABORACIÓN DE LA CREMA

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>ATB</b>	Antibiótico
<b>ADS-A</b>	Agar mycosel
<b>ASHP</b>	American Society of Health-System Pharmacists
<b>CC</b>	control de crecimiento
<b>CE</b>	control de esterilidad
<b>CLSI</b>	Clinical and Laboratory Standards Institute
<b>CMH</b>	Comité de Medicamentos de uso Humano
<b>CMI</b>	Concentración mínima inhibitoria
<b>KOH</b>	hidróxido de potasio
<b>KTZ</b>	ketoconazol
<b>Mx</b>	medicamento
<b>PDA</b>	Potato Dextrose Agar (Agar patata dextrosa)
<b>SDA</b>	Sabouraud Dextrose Agar

## RESUMEN

Las infecciones fúngicas, como las provocadas por dermatofitos, están mostrando resistencia o incluso resistencia múltiple a los tratamientos con antifúngicos, lo cual se convierte en un desafío significativo para la salud pública. Es fundamental contar con datos recientes sobre la sensibilidad de estos microorganismos a los antimicóticos para garantizar la administración oportuna de un tratamiento efectivo. El objetivo de esta investigación fue evaluar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en cepas de *Microsporum canis* y formular una crema farmacéutica. Se aisló el microorganismo de animales domésticos infectados utilizando agar Mycosel como medio de cultivo durante tres meses, pero los resultados fueron infructuosos. Siguiendo la sugerencia de la Dra. Giovanna Albán, se recurrió a la técnica del anzuelo queratínico, empleando crin de caballo como atrayente y recolectando muestras de tierra en áreas con alta concentración de animales, lo que finalmente permitió aislar la cepa deseada. Luego, se aplicó una versión adaptada de la técnica de microtitulación del manual CLSI M38-A para determinar la concentración mínima inhibitoria en hongos filamentosos, obteniendo un valor de CMI de 4 µg/mL. Dado que este manual carece de puntos de corte para el ketoconazol (KTZ), se utilizaron los establecidos en Fungitest, clasificando la CMI obtenida como de sensibilidad intermedia. Al confirmar la sensibilidad del microorganismo al medicamento, como paso final, se desarrollaron dos formulaciones de crema de KTZ. La formulación que incluía EDTA mostró una vida útil prolongada en comparación con la otra variante, destacándose como una opción más efectiva en términos de conservación del medicamento.

**Palabras clave:** <BIOQUÍMICA Y FARMACIA>, <DERMATOFITOSIS>, <KETOCONAZOL>, <CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA>, <TÉCNICA DEL ANZUELO QUERATÍNICO>, <*Microsporum canis*>.

0165-DBRA-UPT-2024



## ABSTRACT

The main objective of this research study was to focus on fungal infections, such as those caused by dermatophytes, which are showing resistance or even multiple resistance to antifungal treatments, which has become a significant public health challenge. Recent data on the sensitivity of these microorganisms to antifungal agents is essential to ensure the timely delivery of effective treatment. This research aimed to evaluate the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) in strains of *Microsporum canis* and to formulate a pharmaceutical cream. The microorganism was isolated from infected domestic animals using Mycosel agar as a culture medium for three months, but the results were unsuccessful. Following Dr Giovanna Albán's suggestion, the keratin hook technique was used, using horsehair as an attractant and collecting soil samples in areas with a high concentration of animals, which finally allowed the isolation of the desired strain. Then, an adapted version of the microtiter technique from the CLSI M38-A manual was applied to determine the minimum inhibitory concentration in filamentous fungi, obtaining a MIC value of 4 µg/mL. Since this manual lacks cut-off points for ketoconazole (KTZ), those established in Fungitest were used, classifying the MIC obtained as intermediate sensitivity. Upon confirmation of the sensitivity of the micro-organism to the drug, as a final step, two formulations of KTZ cream were developed. The formulation including EDTA showed a prolonged shelf life compared to the other variant, standing out as a more effective option in terms of drug preservation.

**Keywords:** <BIOCHEMISTRY AND PHARMACY>, <DERMATOPHYTOSIS>, <KETOCONAZOL>, <MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION>, <KERATINIC KITCHERATINIC KNAP TECHNIQUE>, <Microsporum canis>.

0165-DBRA-UPT-2024



Mgs. Evelyn Carolina Macias Silva

C.I 0603239070

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones micóticas de la piel, principalmente causadas por hongos conocidos como dermatofitos, son responsables de las tiñas, nombradas según la zona corporal afectada. Estos hongos se nutren de queratina y tienden a colonizar tejidos queratinizados en animales, incluyendo uñas, cabello y la capa córnea de la piel, resultando en enfermedades crónicas. Los géneros micóticos comunes incluyen *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton* (Campozano, 2014, p. 22).

El diagnóstico de la tiña implica el examen microscópico directo de raspados de piel preparados con KOH, observación del área afectada bajo radiación UV con la lámpara de Wood y, finalmente, cultivos microbiológicos. Estos últimos son esenciales para identificar el microorganismo responsable de la enfermedad, especialmente en casos que involucran pelo y uñas (McCance et al., 2020, p. 1515).

La *tinea capitis* afecta principalmente a niños en edad escolar, mujeres en la menopausia, adultos mayores e individuos inmunodeprimidos, siendo menos común en adultos y adolescentes (Manzano et al., 2015).

Las dermatofitosis son frecuentes en climas cálidos y representan una de las principales razones para visitar a dermatólogos especializados (Campozano et al., 2014, p. 22).

En animales domésticos como perros, *Microsporum canis* es la causa predominante de la infección, aunque en menor medida también pueden serlo *Microsporum gypseum* y *Trichophyton mentagrophytes*. En gatos, la mayoría de las dermatofitosis se atribuyen a *Microsporum canis*, mientras que, en especies como conejos y cuyes, la tiña se relaciona con *Trichophyton mentagrophytes* (Rejas, 2003, p. 3).

# CAPÍTULO I

## 1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

### 1.1. Antecedentes

Las micosis son enfermedades producidas por hongos, que por lo general son patologías crónicas. A menudo este tipo de infecciones se producen a nivel de la piel, pero en ocasiones los hongos logran atravesar la barrera cutánea produciendo enfermedades sistémicas, difíciles de tratar, siendo potencialmente mortales (Clark et al,2012, pp. 429-432).

En Ecuador la presencia de dermatofitos está relacionada con varios factores, entre estos tenemos factores ambientales, factores socioculturales, factores laborales, rutinas de higiene, y el sistema inmunológico de cada sujeto, este último marca una notable diferencia entre el progreso o cura de la infección. En el país se han realizado varios trabajos de grado donde se concluye que los géneros más comunes que provocan dermatofitosis entre los habitantes son el *Trichophyton* y *Microsporum (tinea captis)*. La Universidad de Guayaquil (Ecuador), el Centro de Investigaciones Microbiológicas (Ecuador), Podomas: Centro avanzado del pies (Ecuador), y el Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (Cuba) en afiliación institucional, realizaron un estudio denominado “Dermatofitosis en Guayaquil” donde se recogieron un total de 2286 muestras en un período de 4 años obtenidas por el Centro de investigaciones Microbiológicas (CIM) de pacientes que presentaban lesiones superficiales, de las cuales 1074 dieron positivo a dermatofitos. Los dermatofitos que se presentaban con frecuencia fueron *Trichophyton rubrum* (44 %), *Trichophyton mentagrophytes* (16 %) y *Microsporum canis* (13 %), presentándose una mayor incidencia en personas de sexo femenino (Albán et al., 2021).

### 1.2. Planteamiento del problema

Debido a su ubicación geográfica, Ecuador presenta condiciones climáticas idóneas para el desarrollo de enfermedades micóticas. En la región costera, los trabajadores rurales, expuestos a largos periodos de alta humedad y temperatura, son especialmente susceptibles a dermatofitos. Se observa una alta prevalencia de estas enfermedades, especialmente en zonas subtropicales y tropicales, donde factores como el tipo de ocupación, la automedicación y las indicaciones empíricas (que pueden causar resistencia a los antimicóticos) se identifican como riesgos significativos. A pesar de esto, no se disponen de estadísticas en Ecuador sobre estas enfermedades zoonóticas, lo que ha obstaculizado el establecimiento de estrategias de control y vigilancia para estas condiciones clínicas (Albán et al., 2021, p.7).

El tratamiento común para las dermatofitosis causadas por *Microsporum canis* implica el uso de ketoconazol vía oral, con dosis recomendadas de 200 a 400 mg al día para adultos y 3,3 mg/kg/día para niños, no siendo recomendado para menores de dos años, mujeres embarazadas ni madres lactantes. En algunos países, como Colombia, incluso se dispone de suspensiones orales de este medicamento. Sin embargo, el Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP) de la Agencia Europea de Medicamentos ha recomendado la suspensión de las autorizaciones de comercialización de medicamentos que contienen ketoconazol oral en la Unión Europea (UE). Esta decisión se basa en el riesgo de lesiones hepáticas que superan los beneficios en el tratamiento de las infecciones fúngicas (European Medicines Agency, 2013; Vademecum, 2015).

Dado que la mayoría de las personas tienen contacto con animales de diversas formas, las zoonosis, enfermedades o infecciones transmitidas entre animales vertebrados y humanos, son un aspecto relevante en salud pública. Más del 60% de los patógenos humanos tienen origen zoonótico, incluyendo una amplia variedad de bacterias, virus, hongos, protozoos, parásitos y otros patógenos, siendo el número de zoonosis emergentes y reemergentes en aumento (España et al., 2019).

*Microsporum canis*, un dermatofito zoonótico, es causante de la mayoría de las infecciones en perros y gatos. Esta cepa presenta una fuerte capacidad de infección y provoca una intensa respuesta inflamatoria en humanos. Las tiñas, transmitidas por perros y gatos, son las zoonosis más frecuentes (Campozano, 2014, p.1).

*M. canis* está altamente adaptado a los gatos, donde el 90% de los animales infectados no presentan lesiones evidentes. Aquellos con manifestaciones cutáneas suelen presentar descamación variable y, en ocasiones, pérdida de pelo en cabeza, hocico y extremidades (Báez, 2016, p. 5).

Las infecciones fúngicas, incluidas las causadas por dermatofitos, pueden mostrar resistencia o multirresistencia a los antifúngicos, lo que representa un serio desafío para la salud pública. Es crucial disponer de información actualizada sobre la sensibilidad de estos microorganismos a los antifúngicos para orientar un tratamiento efectivo lo más pronto posible (Castro et al., 2016).

Por consiguiente, es fundamental evaluar la sensibilidad de *M. canis* al ketoconazol (CMI) para determinar si este agente continúa siendo eficaz frente al patógeno. Esta información es crucial para formular una crema tópica con concentraciones adecuadas que pueda combatir eficazmente la enfermedad causada por este dermatofito.

### **1.3. Justificación**

Las formas farmacéuticas de uso tópico destacan por la facilidad en su administración, la buena respuesta clínica y micológica en infecciones cutáneas y mucosas no extensas, la rareza con que se producen efectos secundarios tras su aplicación, la ausencia de interferencias con el uso de otros medicamentos orales o parenterales, evitando los efectos adversos e interacciones farmacológicas que pueden aparecer con los antifúngicos orales, y no requieren monitorización del paciente con pruebas analíticas (Maestre y Alou, 2004).

Conociendo la CMI específica del medicamento a la que el microorganismo va a ser inhibido o eliminado, se creará una fórmula oficial tópica para tratar la dermatofitosis producida por *Microsporum canis* en lesiones limitadas; la cual se puede utilizar en pacientes embarazadas o durante la lactancia o cuando existan interacciones con la terapia oral. Se puede utilizar el tratamiento tópico como adyuvante del tratamiento oral o bien profilácticamente para evitar las recurrencias postratamiento.

Sin embargo, ya que los medicamentos que existen en el mercado están dirigidos para varios microorganismos y no uno en específico, es necesario realizar esta investigación para poder determinar la concentración específica a la que se inhibirá el hongo (*M. canis*) y así contrarrestar el crecimiento de este dermatofito a nivel de la capa cornea de manera eficaz.

### **1.4. Objetivos**

#### ***1.4.1. Objetivo general***

Evaluar la actividad antimicótica de ketoconazol en cepas de *Microsporum canis* y realizar una forma farmacéutica en crema.

#### ***1.4.2. Objetivos específicos***

- Aislar la cepa de *Microsporum canis* de animales que hayan dado positivo a la prueba cualitativa con lámpara de Wood.
- Identificar la concentración mínima inhibitoria del ketoconazol frente a *Microsporum canis* mediante la técnica de microdilución CLSI M38-A con algunas modificaciones.
- Usar las concentraciones encontradas para elaborar una crema antifúngica.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes de la investigación

A través de la búsqueda de información en distintas fuentes bibliográficas fiables y repositorios de universidades nacionales e internacionales, se corroboró que existen investigaciones en las que se evalúa la concentración mínima inhibitoria del ketoconazol frente a *Microsporium canis* y también se realiza el aislamiento del microorganismo de animales domésticos.

En Chile, la Escuela de medicina Veterinaria de la Universidad Católica de Temuco realizó un estudio para conocer la prevalencia de *M. canis* en gatos sanos. En el estudio se utilizaron 50 pacientes felinos entre los 2 meses y 12 años, que acudieron al hospital Clínico veterinario de esta universidad y de 3 clínicas privadas de la ciudad de Temuco. Para el diagnóstico clínico se utilizó la lámpara de Wood, posteriormente se tomó una muestra de piel y pelos con pinzas, usando también el método del tapete. Se identificó al patógeno mediante examen microscopio directo de pelos, luego se realizó un cultivo en agar sabouraud y agar lactimel. Se encontró que 60% de los felinos sanos tenían *M. canis*. La lámpara de Wood verificó la presencia de dermatofitos solo en 1 de cada 5 casos en los que el hongo se aisló. El método del tapete resultó ser el más efectivo para recoger mayor cantidad de dermatofitos. Se concluyó que los gatos dermatológicamente sanos actúan reservorio de *Microsporium canis*, facilitando la propagación de este patógeno al hombre y otros animales de compañía (Betancourt et al., 2013).

En México, el Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, comprobó la concentración mínima inhibitoria de varios antifúngicos entre ellos ketoconazol (KTZ) frente a dermatofitos, aplicando el método de microdilución en caldo, de acuerdo a las especificaciones establecidas por el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) en el documento M38-A2. El rango de concentración para cada uno de los fármacos fue el siguiente: ITZ, PSZ y TRB de 0.0004-16 µg/mL; AMB, CSF, KTZ y VRZ de 0.03-16 µg/mL; ANF de 0.06-32 µg/mL y FLZ de 0.125-64 µg/mL. La CMI se determinó visualmente con un espejo invertido; los valores encontrados se compararon con los puntos de corte establecidos por el CLSI. Como resultado se obtuvo que la cepa de *M. canis* presentó resistencia frente a varios antifúngicos entre ellos al ketoconazol (Manzano et al. 2015).

En Ecuador, el Centro de investigaciones microbiológicas (CIM) de la Universidad de Guayaquil realizó la identificación de varios dermatofitos entre ellos *M. canis* tomados de varias muestras

de pacientes humanos con lesiones en piel, cabellos y uñas, que fueron enviadas al área de micología del CIM. Las muestras clínicas se trataron con KOH al 20% y se analizaron directamente al microscopio con la ayuda del lente de 40X. A su vez se inocularon tubos con agar Sabouraud dextrosa que contenía antibióticos (cloranfenicol y cicloheximida) por triplicado, se incubaron a 25 +/- 2 °C con dos lecturas a los 7 y 15 días. En los cultivos se observaron características micro y macro morfológicas para la identificación. Al agrupar la muestra y el agente etiológico se encontró que las muestras con mayor positividad para *M. canis* fueron de escamas de la cabeza (Albán et al., 2021).

## 2.2. Referencias teóricas

### 2.2.1. *Microsporum spp.*

Es un hongo filamentoso perteneciente al filo Ascomycota. Macroscópicamente es de crecimiento rápido de 25°C-30°C. Las colonias son de aspecto lanoso, con bordes desflecados, de coloración amarillenta o parduzca, con el tiempo van adquiriendo tonalidades más pardas y un aspecto pulverulento en el centro. Microscópicamente presenta abundantes y grandes macroconidios, con forma de huso, de pared gruesa, rugosa, con hoyuelos o prominencias que semejan tubérculos y multiseptados (de 5 a 15 septos transversales). Los microconidios son piriformes o con forma de maza, en cortos racimos o sésiles y brotan lateralmente de las hifas. Son frecuentes las hifas en raqueta, las clamidosporas y las hifas pectinadas en los cultivos viejos. Es un hongo con reproducción asexual en su forma parasitaria y con reproducción sexual en su forma saprófita en la naturaleza (Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo 2022).

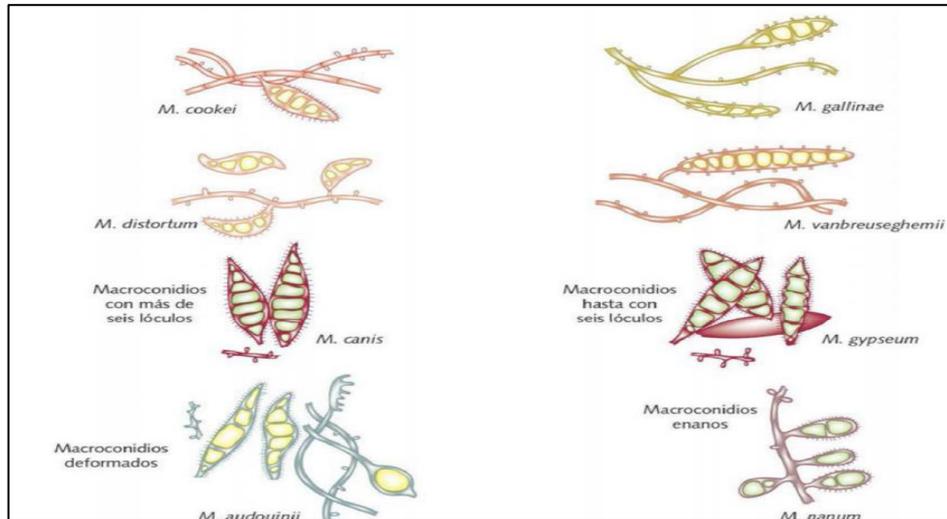
**Tabla 2-1:** Características macroscópicas y microscópicas del género *Microsporum*.

Características macroscópicas y microscópicas del género <i>Microsporum</i>	
Micelio	Algodonoso Lanosa Pulverulento Blanco, crema o café
Macronidios	8-15 um 3-15 celdas Pared gruesa Forma de huso
Micronidios	3-7 um Forma de clava Clamidosporas

Fuente: (Romero et al., 2018, pp. 799-800).

Realizado por: Navarrete L., 2023

*Microsporium canis* aparece como colonias blancas con forma de bola de algodón y la cara inversa del medio de crecimiento tiene un pigmento de color amarillo anaranjado que se vuelve castaño. Las macronidias de *Microsporium canis* contienen seis o más células y tienen forma fusiforme, con paredes gruesas que forman una protuberancia en un extremo (Patel et al., 2010, p. 117).



**Ilustración 2-1:** Diferentes especies del género *Microsporium*, esporas asexuadas

**Fuente:** (Arenas, 2014, p. 74)

### 2.2.1.1. Etiología y distribución

Es el hongo más aislado de la piel y el pelo de felinos sanos; se distribuye a nivel mundial causando tiña en perros, monos y humanos. Muchas de las veces los animales pueden portar *M. canis* sin presentar síntomas, como es en el caso de los gatos domésticos, lo que sugiere que podría ser reservorio y diseminador de la dermatofitosis; en el ser humano (especialmente en niños) es causante de tinea corporis y tinea captis, dos patologías muy contagiosas que pueden llegar a causar brotes epidemiológicos a nivel escolar y familiar. El contagio se da al entrar en contacto con camas, cepillos, peines contaminados, además de factores predisponentes para la infección como tener lesiones en la piel, humedad en el ambiente, temperaturas altas, condiciones de hacinamiento y encierro de animales (Betancourt et al., 2009).

La infección se produce cuando una espora se deposita en la zona dérmica, reproduciéndose en la capa córnea; al comienzo forma una pápula y luego pasa a una lesión anular por la extensión radiada de los filamentos, a su vez sucede una parasitación de los vellos y los cuales funcionan como reservorios. A nivel del cuero cabelludo, el hongo se reproduce en la capa córnea y (a nivel del infundíbulo folicular) penetra e invade la vaina del pelo se extiende hacia la profundidad sin sobrepasar la franja de Adamson, el desarrollo de esporas e hifas se produce en sentido contrario

al crecimiento del cabello; a su vez, se propaga hacia la parte distal del pelo y lo convierte en un pelo tiñoso (pelo frágil y grueso que se rompe fácilmente) (Arenas, 2014, p. 65).

En los pacientes con Virus de Inmunodeficiencia Humana el daño puede ser extenso, mientras que puede ser invasor de la dermis en personas en tratamiento inmunosupresor. Las esporas que envuelven al tallo del pelo o ectothrix producen fluorescencia con la lámpara de Wood de poca relevancia diagnóstica (Betancourt et al., 2009).

Los animales jóvenes, ancianos e inmunodeprimidos son más susceptibles a la infección. Los gatos con FIV (SIDA) o FeLV (Leucemia felina) y los animales que reciben quimioterapia pueden tener más riesgo. La susceptibilidad genética también puede ser un factor predisponente importante, especialmente en los gatos persas. Los gatos que se han recuperado de infecciones siguen siendo susceptibles, pero tardan menos tiempo en recuperarse si se repite la infección, y la enfermedad es menos grave. Se cree que la eliminación mecánica de las esporas mediante el acicalamiento en los gatos puede proporcionar una defensa natural contra la infección. Los gatos de pelo largo, incluyendo los persas, podrían tener mayor riesgo debido a que la longitud de la capa puede inhibir esta eliminación. El pelo enredado, en los animales ancianos, también puede atrapar esporas e impedir su eliminación por el acicalamiento (Patel et al. 2010, p. 1).

### **2.2.2. Transmisión y patogénesis**

La temperatura y la humedad son factores predisponentes importantes que explican la mayor incidencia de la infección en las zonas geográficas donde el clima favorece el crecimiento fúngico. En algunas especies, como los caballos y el ganado bovino, la humedad excesiva que causa maceración también se considera un factor predisponente. Las esporas del entorno pueden ser una fuente constante de infección, ya que permanecen viables durante años bajo condiciones naturales y desempeñan una función importante en la diseminación de la infección en colonias de gatos (Patel et al. 2010, p. 279).

El contagio se produce por la exposición directa o indirecta a animales o personas que tienen la enfermedad. Directa cuando existe contacto entre la piel y formas infectantes del hongo como artrosporas o conidios presentes en la epidermis, el pelo o las lesiones de personas o animales con manifestaciones clínicas o que portan la enfermedad, especialmente gatos y perros (Ilustración 1-1). Indirecta cuando el microorganismo está presente en la tierra, el polvo y las superficies contaminadas con escamas o pelos afectados (fómites). El flujo de aire facilita la diseminación de las esporas o formas infectantes. Existen 3 tipos de contagio de dermatofitos: geófilico, se

produce del suelo a los animales y al hombre; zoofílico de los animales al hombre, y antropofílico es entre humanos (poco frecuente) (Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo, 2022).



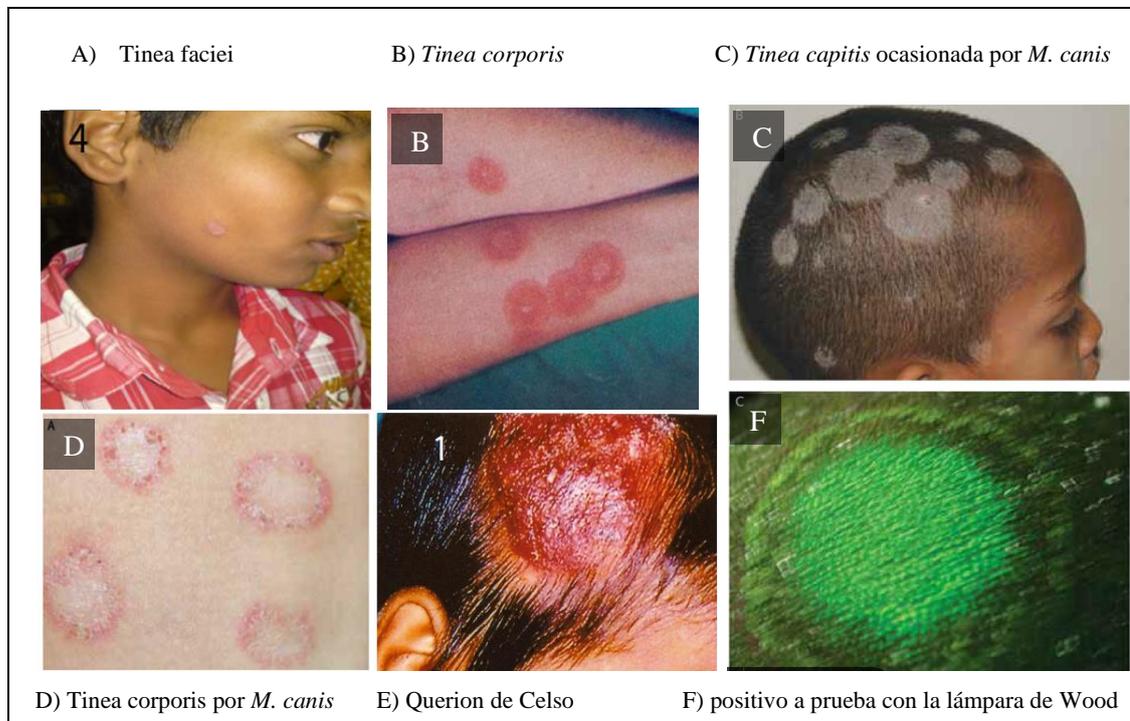
**Ilustración 2-2:** Manifestaciones clínicas de dermatofitosis en animales.

**Fuente:**(Asociación Protectora de Animales Villaguay, 2012)

El 90% de los casos de tinea capitis se da en niños de 1 a 10 años (Ilustración 2-2), a medida que la edad va aumentando, el riesgo de contagio disminuye de manera progresiva, llegando al 0,4% en personas entre 50 y 60 años. La adquisición se produce por contacto con animales y personas enfermas. Desde hace tiempo se cree que las tiñas del cuero cabelludo producidas por este dermatofito curan espontáneamente cuando el paciente llega a la pubertad; esto no ocurre cuando están implicadas determinadas especies de *Trichophyton*. Estas tiñas se caracterizan por una placa escamosa que puede alcanzar varios centímetros de diámetro. Por lo general, no existe inflamación del cuero cabelludo, pero, si esto ocurre, puede llegar a ocasionar un querion de Celso. En el diagnóstico diferencial es necesario tener en cuenta la alopecia areata, impétigo, psoriasis, dermatitis seborreica, foliculitis, tricotilomanía, liquen plano, lupus eritematoso, liquen simple crónico y sífilis secundaria.

*Tinea corporis*: Es una dermatofitosis de la piel lampiña, con parasitación de la capa córnea y, en ocasiones, del pelo terminal. Nunca se localiza en la región inguinal, pies, cara y palma de manos. Se produce, sobre todo, en niños, por el contacto con gatos y perros, si bien puede presentarse en todas las edades. A la lesión típica se le denomina herpes circinado, que suele tener forma circular, pudiendo ser única o múltiple y tiene tendencia a la curación espontánea, si bien puede haber recidivas. Para el diagnóstico diferencial habrá que tener en cuenta las dermatosis, que pueden simular una dermatofitosis, como la pitiriasis rosada de Gibert, los eccemas numulares, psoriasis, dermatitis seborreica, el impétigo y la sífilis secundaria y terciaria.

*Tinea faciei*: Es la infección de la cara por dermatofitos en los niños, mujeres y varones, cuando no están afectados los pelos de la barba y el bigote. El diagnóstico diferencial debe hacerse con el lupus eritematoso y la dermatitis seborreica.



**Ilustración 2-3:** Manifestaciones clínicas de dermatofitosis en humanos.

Fuente:(Arenas. 2014, p. 78) .

### 2.2.3. Métodos para determinación e identificación de dermatofitos

#### 2.2.3.1. Lugares para obtener la muestra pelo

Se puede hacer uso de cepillos de dientes estériles para recoger pelos y restos de queratina en animales que no tienen síntomas pero que son portadores del microorganismo (técnica de Mackenzie); en lesiones notables se usa una pinza mosquito para arrancar el pelo de la periferia de las lesiones y zonas eritematosas o descamativas (Uranovet, 2019).

Los pelos también se pueden tomar con pinzas al borde de la lesión. La porción basal del pelo contiene el mejor material. El cultivo de mechones de pelo es la menos recomendada, porque son comunes los falsos negativos, a causa de la poca muestra recolectada. Las muestras que son extraídas por medio del arrancamiento de pelo, de preferencia deben ser seleccionados a través del uso de la lámpara de Wood o por dermatoscopia (Sanmiguel, 2020, p. 32).

- *Piel*

Limpiar suavemente la zona afectada con una gasa mojada con alcohol de 70° y dejar secar. Proceder al raspado de los márgenes de la lesión. Los dermatofitos crecen sobre las células foliculares o epidérmicas. Por tanto, en lesiones con poco pelo, puede obtenerse una buena muestra mediante un raspado de las zonas periféricas. A causa de la reacción inflamatoria, si la muestra se observa al microscopio, se podrá observar, además de las esporas fúngicas, neutrófilos, macrófagos, linfocitos y células plasmáticas (Uranovet, 2019).

- *Uñas*

Se debe cortar y eliminar la parte distal de la uña. Cortar un trozo intermedio a partir del cual se realizarán los análisis. Las mejores muestras se obtienen mediante raspado o pequeñas piezas de corte en las zonas cercanas al lecho ungueal (Uranovet, 2019).

### 2.2.3.2. Lámpara de Wood

Este dispositivo fue creado en 1903 por el físico Robert Wood; se usa tanto en medicina humana como en veterinaria, para detectar enfermedades a nivel de la piel, como, por ejemplo, la dermatofitosis causada por *Microsporum canis*, infecciones bacterianas, porfiria y trastornos de la pigmentación. El primer caso de *M. canis* reportado gracias a la lámpara de Wood ocurrió en el año 1933 y fue diagnosticado en un gato infectado.

La lámpara emite luz ultravioleta con longitudes de onda que varían entre 320 y 400 nm, con un pico de 365 nm, esto debido a que la luz pasa por filtro de níquel o cobalto produciendo luz UV. La prueba se realiza en una sala oscura, ubicando la lámpara de 4 a 10 cm de la piel del paciente. No resulta una necesidad calentar la lámpara antes de usar, se puede ocupar desde el momento en que se enciende, se debe dejar pasar unos minutos para que los ojos del analista se acoplen a la luz. Se recomienda debemos iluminar un área determinada a lo largo de un par de minutos hasta que haya fluorescencia. En animales que han tenido tratamiento contra hongos, se observara fluorescencia solo en la punta del tallo piloso. Algunos pelos pueden emitir fluorescencia, aunque el cultivo haya salido negativo. La lámpara de Wood es una herramienta eficaz para la detección de dermatofitosis y la monitorización del tratamiento. Algunos falsos positivos o negativos puede ser por el uso de un equipo inadecuado, la falta de entrenamiento del observador etc, adicionalmente se pueden producir falsos positivos debido a costras, queratina o diversos medicamentos (Sanmiguel 2020, p. 31).

Cerca del 50% de las infecciones producidas por *M. canis* tienen una fluorescencia verde-amarillenta al ser expuestas a la lámpara. En las infecciones verdaderas los pelos individualmente deben presentar fluorescencia. Los casos positivos facilitarían escoger el lugar para tomar la muestra y realizar el cultivo (Porter et al., 2020).

### 2.2.3.3. Análisis de muestras

- *Método directo*

Este se realiza a partir de raspados de uñas, escamas, pelos permitiendo detectar artrosporas o hifas sobre la muestra obtenida. Suele usarse KOH del 10% al 40% para disgregar la queratina y aclarar la preparación o aceite mineral para la observación microscópica. Para las estructuras menos queratinizadas de preferencia se utiliza una solución de menor concentración, mientras que con muestras hiperqueratinizadas como uñas debe ser una concentración más alta (Patel et al. 2010).

Por lo general la mayoría de las infestaciones fúngicas en animales pequeños son ectótricas, en otras palabras, se pueden observar las hifas al interior de la cutícula del pelo, pero tienen crecimiento hacia afuera, apareciendo artoconidias en forma de mosaico en la superficie del pelo.

La mayoría de los casos de dermatofitosis en los animales domésticos se deben a una infección tipo ectotrix de los tallos pilosos por esporas fúngicas que pueden visualizarse con un aumento de 40X utilizando el microscopio óptico. Puede realizarse el examen microscópico directo de los pelos que presentan fluorescencia o de pelos arrancados de las lesiones. Las muestras deben montarse en el portaobjetos en parafina líquida o hidróxido de potasio. A pesar de que es una prueba muy específica si se realiza de forma correcta, no es un método sensible para diagnosticar dermatofitosis cuando el analista es inexperto (Patel et al. 2010, p. 9).

Existen casos en que se producen infecciones endótricas, es decir se forman conidias dentro del pelo, exactamente en la cutícula sin que se produzca un rompimiento de la misma; suele causarse por especies del género *Trichophyton*. En consecuencia se dice que no es necesario emplear soluciones queratinolíticas y aclarantes, se recomienda solo usar tinción ligeramente aclarante como es el caso del azul algodón lactofenol es suficiente para observar las artrosporas. El examen directo tiene alta probabilidad de dar falsos positivos por el gran número de artefactos que pueden hallarse en la preparación: melanosomas, queratinocitos degenerados, cristales de colesterol. Adicional a esto, la muestra puede contaminarse con hongos como los del género *Alternaria*, imposibilitando la diferenciación de los dermatofitos en el examen directo. Por todas estas

razones, el examen directo no debe ser usado como un método de diagnóstico definitivo (Sanmiguel, 2020).

- *Cultivos*

Las muestras recogidas (los pelos y la descamación) se depositan con cuidado, evitando apretar la superficie del medio, luego se incuba en la oscuridad a temperatura ambiente. Se utilizan como medios de crecimiento: Sabouraud y DTM (Dermatophyte Test Medium) (Uranovet, 2019).

- *Agar Sabouraud*

Por lo general se le añade un antibiótico como gentamicina y/o cloranfenicol, para reducir el riesgo de un crecimiento bacteriano. En este crecen todo tipo de hongos. Una de sus ventajas es que, al ser transparente, permite al analista observar el color del reverso de la colonia, lo que es de gran ayuda a la hora de identificar el agente patógeno (Sanmiguel, 2020, p. 32).

- *DTM (Dermatophyte Test Medium)*

Es básicamente agar Sabouraud adicionado cloranfenicol, cicloheximida y rojo fenol (indicador de pH). El propósito de este medio es disminuir la probabilidad de crecimiento bacteriano y de hongos contaminantes sensibles a la cicloheximida. En medio alcalino el indicador rojo fenol vira de amarillo a rojo. Los dermatofitos al metabolizar las proteínas eliminan metabolitos alcalinos, lo que produce este cambio de color. Por lo general el cambio coincide con el inicio del crecimiento de la colonia fúngica y, se dice que es apreciable entre los 2 a 8 días de la inoculación.

En algunos casos, varios hongos usan como primer substrato la glucosa, al momento que esta se agota usan las proteínas, por lo que el viraje de color puede tardar más de 10 días. Por esta razón las colonias deben ser examinadas todos los días hasta apreciar el cambio inicial de color. El agar DTM es un medio de cultivo que disminuye la contrariedad de distinguir los dermatofitos, pero observar las características macroscópicas del hongo no garantiza un diagnóstico definitivo, ya que, existen especies de *Cándida* y algunas bacterias que pueden producir el cambio de color los primeros días. DMT al ser un medio con color no permite observar el reverso de las colonias (Sanmiguel, 2020, p. 31)

También son comunes los falsos negativos debido a un insuficiente aporte de muestra, sobre todo cuando se cultivan mechones de pelo (Sanmiguel, 2020, p. 33).

- *Agar mycosel*

Es un medio altamente compuesto de agar, cicloheximida y cloranfenicol. Es usado para aislar hongos patógenos a partir muestras con una gran porción de flora de otros hongos y bacterias. Su uso es recomendado para recuperar dermatofitos. El agar suministra peptona a partir de la harina de soja. Los hongos usan como fuente de energía la dextrosa, la adición de la cicloheximida ayuda a inhibir la mayoría de los hongos saprofíticos, mientras que el cloranfenicol al ser un antibiótico de amplio espectro inhibe una gran cantidad de bacterias gram positivas y negativas (BD, 2015, p. 2)

**Tabla 1-2:** Composición del Agar Mycosel.

<b>Agar Mycosel</b>	
Digerido papaico de harina de soja	10g
Dextrosa	10g
Agar	15.5g
Cicloheximida	0.4g
Cloranfenicol	0.05g

**Fuente:** (BD, 2015, pp. 1-2).

**Realizado por:** Navarrete L., 2023

#### **2.2.4. Determinación de la CMI**

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) es la concentración más pequeña de antibiótico que es capaz de inhibir el crecimiento fúngico o bacteriano ((Romero et al. 2018).

La CMI brinda información acerca de la sensibilidad o resistencia del microorganismo al antifúngico y puede ayudar en la toma de las decisiones terapéuticas acertadas (León, 1999, p. 47).

##### **2.2.4.1. Métodos de dilución para determinar la CMI**

Estos métodos se usan para determinar la sensibilidad del microorganismo frente a nuevos antimicrobianos o para confirmar la susceptibilidad de hongos o bacterias que dan resultados poco fiables o equivocados en las pruebas de rutina. de referencia para los test de sensibilidad antimicrobiana y se usan principalmente para definir la actividad de los nuevos antifúngicos y/o para confirmar la sensibilidad de organismos que dan resultados equívocos o poco fiables en las pruebas de rutina. En el caso de los hongos, estos métodos de dilución se prueba la capacidad de los hongos de producir crecimiento visible en los pocillos de placas de microdilución con medio de cultivo, que contienen diluciones seriadas de los antimicrobianos (dilución en caldo). La CMI

se define como la concentración más baja de un antifúngico (en mg/L) que inhibe el crecimiento (Ingraham, 1998, p. 495).

El método de dilución en caldo es una técnica en la que se evalúa la vulnerabilidad de los microorganismos en medios líquidos que poseen concentraciones progresivamente más altas de un determinado fármaco; se inoculan con un número determinado de microorganismos y se incuban durante un tiempo definido. El crecimiento de hongos o bacterias solo se produce en los tubos/pocillos que no contienen el fármaco o que tienen una baja concentración de este. El tubo/pocillo que este transparente será la CMI de la droga (Ingraham, 1998, p. 495).

### **2.2.5. Actividad antimicótica**

Los hongos son organismos eucariotas, compuestos por paredes de quitina (un polímero de la N-acetilglucosamina). La membrana celular está compuesta por ergosterol, y no por colesterol como sucede con las membranas de los mamíferos. Por lo general los hongos son resistentes a los medicamentos que tratan infecciones bacterianas y las bacterias son resistentes a fármacos antimicóticos.

La actividad antimicótica es atribuida al medicamento o sustancia que tiene la capacidad de impedir el crecimiento o provocar la muerte de algunos tipos de microorganismos (European Medicines Agency, 2013).

### **2.2.6. Ketoconazol**

Es un antifúngico sintético derivado del imidazol por lo que relaciona estructuralmente con otros antifúngicos, derivados del mismo fármaco, como, por ejemplo: butoconazol, clotrimazol, econazol, miconazol, oxiconazol, sulconazol, tioconazol.

El ketoconazol se caracteriza por ser un polvo blanco a ligeramente beige y es soluble en ácidos; es soluble en agua a 23°C (solubilidad de 40 mcg/ml) y es relativamente insoluble en alcohol a 23°C.

#### **2.2.6.1. Mecanismo de acción**

El ketoconazol es un fármaco antifúngico que pertenece al grupo de los triazoles; es un antibiótico (ATB) de amplio espectro usado para tratar micosis superficiales y profundas. Trabaja inhibiendo al citocromo P-450-3-A del hongo, gracias a la desactivación de la enzima C-14-a-dimetilasa, no se sintetiza del ergosterol en la membrana celular. Como no existe ergosterol, se empieza a

acumular esteroides tóxicos intermedios, incrementa la permeabilidad de la membrana e interrumpe el crecimiento del hongo.

En otras palabras, actúa inhibiendo la síntesis del ergosterol o de otros esteroides en los organismos sensibles, lo que causa daño en la pared celular y altera la permeabilidad; dando como resultado la pérdida de componentes celulares esenciales. También inhibe la síntesis de triglicéridos y fosfolípidos de los hongos y la actividad enzimática oxidativa y peroxidativa, acción que origina concentraciones tóxicas del peróxido de hidrógeno que destruye los organelos y produce necrosis (Lorenzo, et al., 2008, p. 697).

Depende de la concentración, para que actúe como ser fungistático o fungicida. Es muy activo contra varios microorganismos entre ellos *Microsporium*. Es rápidamente absorbido a través de la mucosa gastrointestinal, alcanza concentraciones terapéuticas en varios tejidos y fluidos orgánicos, con excepción del líquido cefalorraquídeo (son menores que 1% de su concentración plasmática) (Virga y Aguzzi, 2020, p. 103).

Se biotransforma en el hígado y se elimina por la bilis en forma de metabolitos inactivos; una pequeña cantidad se elimina por la orina sin ser metabolizado (Carranza, 2013).

#### 2.2.6.2. *Uso terapéutico*

El ketoconazol (KTZ) se usa de manera tópica para tratar la tiña corporal, la tiña cruris y la tiña de pie causadas por *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes* o *T. rubrum*. También se utiliza para tratar tinea corporis producida por *Microsporium sp.*

Por lo general el KTZ se emplea como tratamiento empírico en espera de la identificación del organismo causante de la patología, debido a que el fármaco es activo contra *Candida sp.* y dermatofitos. Los ATB tópicos derivados del imidazol son medicamentos de primera elección para el tratamiento de tiña corporis o la tiña cruris (ASHP, 2023).

#### 2.2.6.3. *Efectos adversos*

Por lo general el ketoconazol en crema tiene muy baja toxicidad y los pacientes lo toleran muy bien. Las principales reacciones adversas que se han notificado son molestias locales como irritación severa, prurito y escozor. Al menos un paciente que se aplicó ketoconazol en crema tuvo una reacción dolorosa como hinchazón e inflamación. Raramente los excipientes como sulfito de sodio, o el propilenglicol se han asociado con dermatitis de contacto. Se ha producido

sensibilización cruzada tras la aplicación de otros antifúngicos que se derivan del imidazol como por el ejemplo: Clotrimazol, econazol, miconazol, sulconazol, tioconazol, oxiconazol. El sulfito de sodio en ocasiones puede causar reacciones alérgicas como anafilaxia o episodios asmáticos graves o que pueden llegar a ser mortales, esta sensibilidad puede ser más frecuente en personas asmáticas (ASHP 2023).

#### *2.2.6.4. Precauciones en mujeres embarazadas y en niños*

Aún no se ha establecido la seguridad y eficacia de ketoconazol crema en niños; por lo general no se han presentado efectos adversos inusuales entre niños de 2 días a 12 años de edad que usen la crema tópica de ketoconazol. Los fabricantes de crema de ketoconazol recomiendan suspender la lactancia dado que no se sabe si se distribuye en la leche después de la aplicación tópica (ASHP 2023).

#### *2.2.6.5. Farmacocinética*

- *Absorción*

El ketoconazol no parece absorberse sistémicamente de manera apreciable después de la aplicación tópica en la piel o el cuero cabelludo. En un estudio en adultos sanos con piel intacta, no se detectó ketoconazol (límites inferiores de detección de 5 ng / ml) en sangre durante el período de 72 horas inmediatamente después de una sola aplicación tópica en el pecho, la espalda y los brazos de 10 g de crema de ketoconazol al 2% (200 mg de ketoconazol). Después de la aplicación tópica de 80 mg de crema de ketoconazol al 2% sobre la piel intacta o desgastada una vez al día durante 28 días, no se detectó ketoconazol en plasma (límites inferiores de detección 2 ng / ml). En un modelo in vitro con piel humana, el ketoconazol se retuvo en el estrato córneo y el límite del estrato córneo y el estrato granuloso hasta 16 horas después de la aplicación tópica de crema de ketoconazol radiomarcada; poco o ningún fármaco pareció penetrar en capas más profundas de la epidermis (ASHP 2023).

### 2.2.6.6. Espectro

**Tabla 2-2:** Espectro de Ketoconazol *In vitro*.

Microorganismos	
Dermatofitos	<i>Epidermophyton floccosum</i>
	<i>Microsporum audouini</i>
	<i>M. canis</i>
	<i>M. gypseum</i>
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
	<i>T. rubrum</i>
	<i>T. tonsurans</i>
	<i>Malassezia furfur</i>
	<i>Malassezia ovalis</i>
Levaduras	<i>C. albicans</i> ,
	<i>C. parapsilosis</i>
	y <i>C. tropicalis</i>
Bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>S. epidermidis</i>
	<i>Enterococos Nocardia</i> ,
	<i>Actinomadura</i>
Virus	Virus del Herpes Simple tipo 1
	Virus del Herpes Simpe tipo 2

**Fuente:** (American Society of Health-System Pharmacists (ASHP), 2023).

**Realizado por:** Navarrete L., 2023.

El ketoconazol es activo contra la mayoría de los hongos patógenos, incluidos los dermatofitos y las levaduras. También presenta actividad invitro contra algunas bacterias y virus (ASHP, 2023).

### 2.2.7. Formas farmacéuticas semisólidas de aplicación tópica

Abarca un grupo de formulaciones farmacéuticas muy distintas entre sí, caracterizadas por ser más densas que el agua y tener una consistencia semisólida. Se usan para ser aplicados a nivel cutáneo o sobre ciertas mucosas, con el fin de producir una acción local o facilitar la absorción de los medicamentos que contienen.

Los preparados semisólidos están formados por un vehículo o excipiente también llamado base; las bases pueden ser simples o compuestas, en estas se disuelven o dispersan uno o varios principios activos. Esta base puede ser terapéutica y modificar la cesión del principio activo. Por lo general, contienen otros excipientes como antioxidantes, antimicrobianos, estabilizantes y emulgentes (López et al., 2007).

**Tabla 2-3:** Diferencias entre pomada, crema y ungüento en base al contenido de agua.

Forma farmacéutica	Contenido de agua
Ungüento	No contiene agua
Pomada	Más cantidad de agua que un ungüento, pero menos que una crema
Crema	Por lo general contiene más del 50% de agua

Fuente: (López et al. 2015)

Realizado por: Navarrete L., 2023

### 2.2.7.1. Clasificación

**Tabla 2-4:** Clasificación farmacéutica los semisólidos.

Forma farmacéutica	Características	Indicaciones
<b>Pomadas</b>	Base grasa, capacidad oclusiva (dificulta la evaporación del agua). Se utilizan excipientes grasos hidrófilos, como el polietilenglicol. Tienen una cierta capacidad de absorber agua y exudados.	Están indicadas en dermatosis escamosas y en piel seca y agrietada, pero empeoran la piel inflamada por su efecto congestivo. Tampoco se recomiendan en áreas infectadas ni zonas pilosas.
<b>Ungüentos</b>	Excipientes grasos hidrófobos (vaselina y parafina), más capacidad oclusiva, retienen el agua interna suavizando e hidratando la piel	Dermatosis muy secas, en las palmas, las plantas, codos y rodillas. Son la base ideal para lesiones muy secas, como por ejemplo la psoriasis. Ablandan y retiran las costras o descamaciones.  Contraindicaciones: zonas infectadas y lesiones exudativas, el efecto oclusivo empeora la infección.
<b>Geles</b>	Son sustancias semisólidas, que se forman al tratar líquidos con gelificantes. A la temperatura de la piel disminuye su viscosidad (útil en zonas pilosas) y pierde rápido el agua (efecto evanescente).	No contienen lípidos, por lo que están recomendado en pieles grasas.
<b>Pastas</b>	Generalmente de consistencia elevada, contienen un alto porcentaje de sólidos absorbentes finamente dispersos (ya que no se pueden disolver).  Clasificación:	disminución de la temperatura de la zona inflamada, así como en aumentar la función de barrera física, impidiendo la acción de irritantes locales (aires, fricción de la ropa, contaminación...) sobre la piel. Así se consigue una ligera

	pastas grasas (excipiente lipófilo) y pastas acuosas (excipiente hidrófilo).	sensación de frescor en la zona afectada y una disminución del picor y escozor característico de estas lesiones.
<b>Cremas</b>	Son una mezcla de agua y sustancias grasas (no miscibles entre sí).	

**Fuente:** (López, Ortonobes, García 2015)

**Realizado por:** Navarrete L., 2023

Una vez conocidas las distintas formas farmacéuticas se puede elegir la más adecuada en función de sus características y de la lesión específica a tratar.

#### 2.2.7.2. *Cremas o emulsiones*

Son una combinación de agua y sustancias grasas (no se mezclan entre sí); se obtiene una mezcla estable gracias de emulgentes. De acuerdo con su excipiente “principal” se clasifican en cremas lipófilas e hidrófilas.

Las cremas lipófilas o también llamadas emulsiones de agua dispersa en aceite (W/O) son excelentes para formular fármacos liposolubles. Son adecuadas para liberar principios activos en la piel. A causa de que existe una mayor proporción de grasa, no se puede retirar con agua. Al entrar en contacto con la piel (gracias al cambio de temperatura) el agua incorporada se evapora, y la parte grasa es absorbida brindando un efecto refrescante.

Es ligeramente compatible con exudados de la piel y sudor, por lo que los absorben parcialmente. Tienen un efecto oclusivo menor a comparación con las pomadas y ungüentos. Se indica en casos de piel seca o dermatosis crónica (Serna et al., 2007).

Las cremas hidrófilas o emulsiones de grasa dispersa en agua (O/W) son perfectas para formular fármacos hidrosolubles. Debido a su pequeña porción de grasa, y su afinidad con el agua se limpian fácilmente y no dejan manchas. Tienen menor efecto oclusivo y se absorbe rápidamente en la piel, al contacto con la dermis el agua se desvanece pronto sin dejar residuos (efecto evanescente). Son ideales para proteger la piel de la suciedad, pues se mezclan muy bien con las secreciones de la superficie cutánea (López et al. 2015).

### 2.2.7.3. *Indicaciones para el uso de semisólidos de aplicación tópica.*

La forma farmacéutica se indica de acuerdo con el estado de la piel, también en base al grado de absorción que se requiere, la localización de las lesiones y el grado de inflamación que presenta la afección a tratar.

De acuerdo al grado de absorción: en dependencia de si se busca o no por ejemplo penetrar en una capa profunda de la piel, se usaría un vehículo oclusivo, aumentando la hidratación del tejido epitelial y favoreciendo la absorción del fármaco (López et al. 2015).

De acuerdo a la ubicación de la lesión: depende del grosor del estrato córneo y su irrigación sanguínea. En el rostro se debe usar vehículos con baja cantidad de grasa para evitar la presencia de acné, por lo que se podría usar cremas con poco volumen lipídico (López et al. 2015).

De acuerdo al estado de la piel: se debe tomar en cuenta el estado de la capa cornea de la piel, si esta engrosada, dañada, tiene lesiones secas o tiene exudado. Lesiones cutáneas como las quemaduras provocan un aumento en el grado de absorción; otras lesiones como la psoriasis causan que la piel permita un paso más rápido de los principios activos. Se debe considerar que la absorción aumenta en pacientes pediátricos, especialmente en neonatos y pretérminos, ya que poseen un estrato corneo muy delgado, menor en 5 veces al de una persona adulta.

Grado de inflamación de la piel: se utilizan cremas para tratar las lesiones subagudas que presentan áreas secas y en zonas húmedas con costras (Serna et al., 2007).

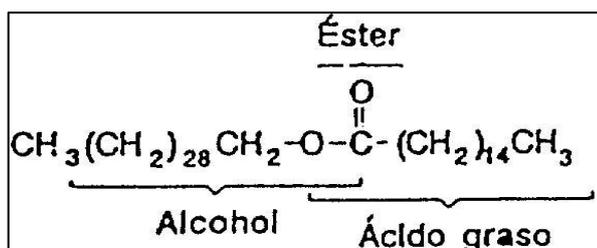
### 2.2.8. *Formulación de la crema*

#### 2.2.8.1. *Fase oleosa*

- *Cera de abeja*

INCI: Cera alba.

Es una cera comercial muy utilizada como excipiente en cosméticos, en la industria alimentaria y farmacéutica. Se caracteriza por ser hidrófoba y resistente a la humedad. Tiene propiedades antioxidantes, antimicrobianas, y antiinflamatorias. En la actualidad se usa como emoliente, espesante y emulsionante, sirve para aliviar la inflamación, moretones, quemaduras y talones resecos (Osorio y Mora et al., 2016).



**Ilustración 2-4:** Estructura general de una cera

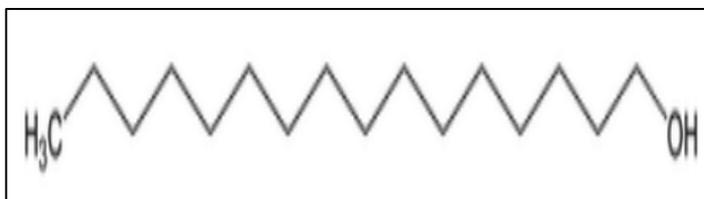
Fuente: (Farrán, 2016)

- *Alcohol cetílico*

INCI: Cetyl alcohol

Fórmula: C16H34O

Es un alcohol graso con alto peso molecular, usado en la industria cosmética porque actúa como estabilizante/espesante de emulsiones; tiene propiedades emolientes, absorbe agua, además de mejorar la estabilidad brinda una buena textura y eleva la consistencia de los preparados. Las propiedades que presenta se deben a que la epidermis absorbe y retiene el alcohol cetílico, por lo que humecta y suaviza la piel produciendo una textura similar al terciopelo (Mujica et al., 2010).



**Ilustración 2-5:** Estructura química de Alcohol metílico

Fuente: (USPNE, 2020)

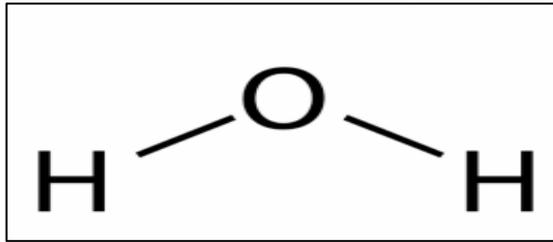
#### 2.2.8.2. Fase acuosa

- *Agua destilada*

INCI: Aqua

Fórmula: H<sub>2</sub>O

Básicamente es agua que pasa por el proceso de destilación, esto permite que se limpie de electrolitos, microorganismos, sales minerales. Se caracteriza por no tener ser insípida, no tiene olor y tampoco sabor (Carbajal & González, 2012).



**Ilustración 2-6:** Estructura química del agua.

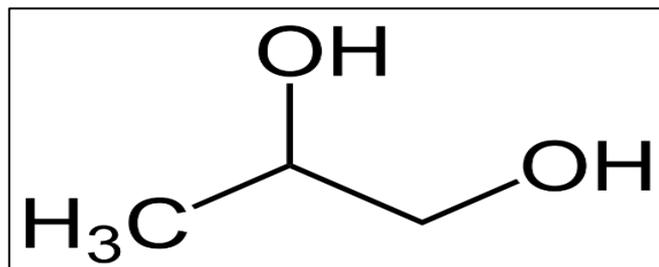
**Fuente:** (Carbajal y González 2012)

- *Propilenglicol*

INCI: Propylene glycol

Fórmula: C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>

Es un líquido viscoso, dulce, hidrófilo, no tiene color y es higroscópico. En dermatocósmética es usado como disolvente. actúa como humectante, menora la tensión superficial del polvo y ayuda a que se mezcle en la formulación, además penetra la piel fácilmente, brindado lubricación y un aspecto más firme (Flores, 2023, p. 21).



**Ilustración 2-7:** Estructura química de Propilenglicol.

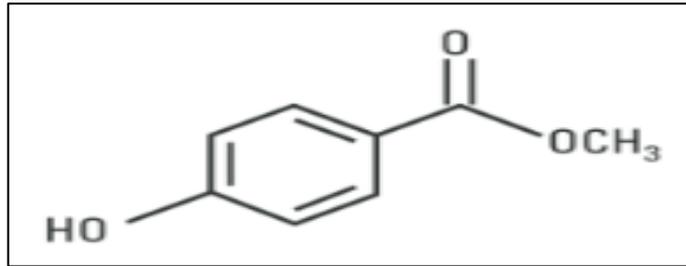
**Fuente:** (Bolívar, 2023).

- *Metilparabeno*

INCI: Methylparaben

Fórmula: C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>

Usado como preservante en una concentración de 0.2%, la mayoría de las veces se usa en combinación con propilparabeno al 0.05% para obtener un mayor efecto contra los microorganismos. Además, tiene propiedades bacteriostáticas y fungicidas (Sharapin et al. 2000, p. 118).



**Ilustración 2-8:** Estructura química de Metilparabeno.

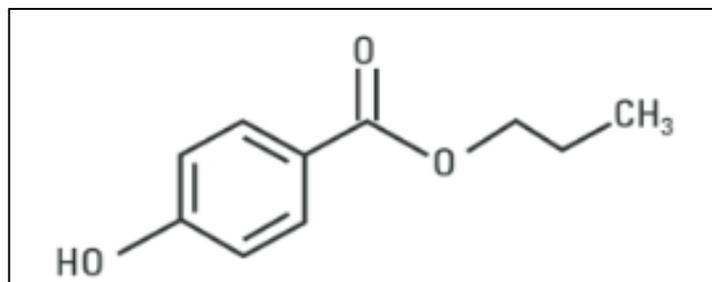
**Fuente:** (Thompson y Davidow, 2013)

- *Propilparabeno*

INCI: Propylparaben

Fórmula: C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>

Es usado por sus propiedades conservantes, es soluble en agua por lo general es utilizado en combinación con metilparabeno ya que crea un efecto sinérgico. Para preservar cosméticos que contienen grasas (vegetales o animales) se debe usar como máximo 0.1%; por lo general se disuelve en agua caliente para luego incorporarlo al preparado, también se disuelven en glicerina, alcohol, o aceites (Thompson y Davidow, 2013, p. 225).



**Ilustración 2-9:** Estructura química de propilparabeno.

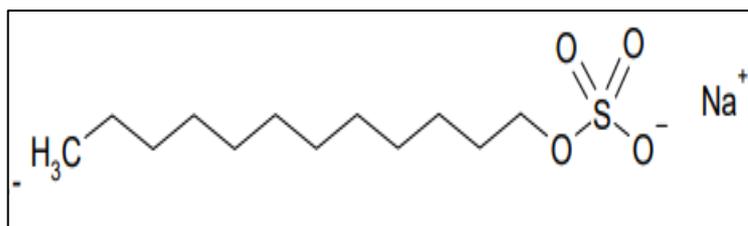
**Fuente:** (Thompson y Davidow, 2013, p. 225)

- *Laurilsulfato sódico*

INCI: Sodium laureth sulfate

Fórmula: C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>

También llamado Texapón N-40 IS, es un tensioactivo aniónico, es usado como emulsionante, por sus propiedades humectantes y su alta compatibilidad con la piel que se usa tanto a nivel cosmético como a nivel farmacéutico (ACOFARMA, 2012).



**Ilustración 2-10:** Estructura química de lauril sulfato.

**Fuente:** (Hilgert, 2012, p. 18)

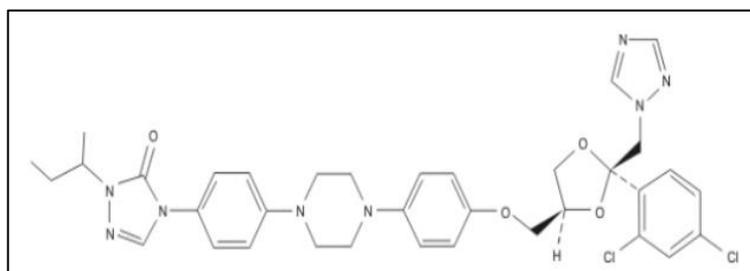
### 2.2.8.3. Fase complementaria

- *Ketoconazol*

Código ATC: D01AC08

Fórmula: C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>

Es un sólido en polvo de color blanco, con olor característico; insoluble en agua y soluble en cloruro de metileno, metanol y etanol al 96%. Antimicótico de amplio espectro usado como tratamiento tópico en formas no inflamatorias de la tiña, actúa inhibiendo la síntesis del ergosterol provocando un daño en la membrana celular del hongo (Falkenstätter, 2021).



**Ilustración 2-11:** Estructura química de ketoconazol.

**Fuente:** (Alarcón, 2019)

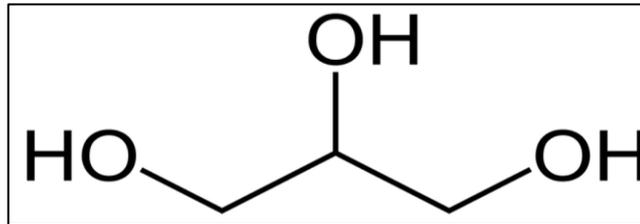
- *Glicerina*

INCI: Glycerin

Fórmula: C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>

Es un líquido transparente, inodoro, dulce, higroscópico. Se obtiene de aceites de origen vegetal (palma, linaza entre otros). Actúa como humectante y emoliente, aumenta la suavidad y elasticidad de la piel, se puede usar en todo tipo de piel y no causa irritación. Al contacto con la luz y óxido de zinc su toma una coloración negra. En emulsiones y geles se utiliza para evitar la

evaporación de la fase acuosa, además, se usa como vehículo y como disolvente de principios activos para incorporarlos en preparados farmacéuticos tópicos (Instituto Europeo de Dermocosmética, 2022).



**Ilustración 2-12:** Estructura química de glicerina.

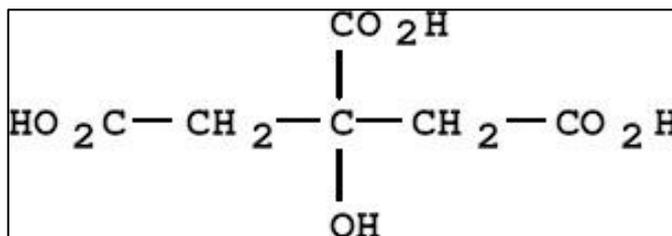
**Fuente:** (Lafuente, 2017, p. 8)

- *Ácido cítrico*

INCI: Citric acid

Fórmula: C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>

Es un sólido blanquecino, incoloro, e inodoro. Se disuelve fácilmente en agua y es usado como conservante. Se extrae de plantas y a través de procesos de fermentación. En cosmética se usa para regular el pH de geles y soluciones, gracias a su función quelante y antioxidante. Además de esto se usa como exfoliante incrementando la renovación de las células en la superficie de la piel y es un buen componente de preparados reguladores de grasa (Mentactiva, 2023).



**Ilustración 2-13:** Estructura química de ácido cítrico.

**Fuente:** (Max et al., 2010).

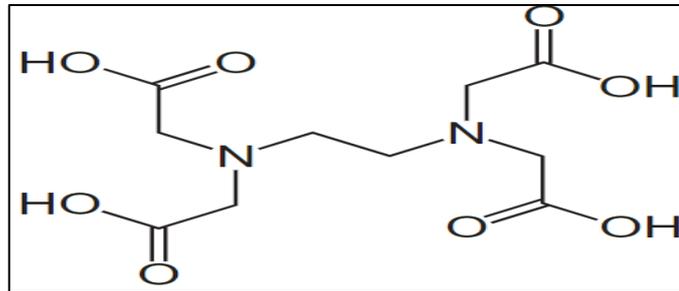
- *Ácido etilendiaminotetraacético*

INCI: EDTA

Fórmula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>

Se usa para mejorar la estabilidad y mejorar la apariencia de preparados cosméticos; actúa como antioxidante al captar los iones metálicos que podrían afectar estas características, garantizando

así la calidad del producto y su preservación. Pueden ser usado solo o combinado con otros antioxidantes con el fin de obtener un efecto sinérgico (Paolieri, 2017).



**Ilustración 2-14:** Estructura química de EDTA.

**Fuente:** (Paolieri, 2017, p.4)

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. Materiales, equipos y reactivos

##### 3.1.1. Equipos

Identificación y aislamiento del hongo:

- Cámara de flujo laminar
- Micropipetas

Determinación de la CMI:

- pH-metro
- Cámara de flujo laminar
- Bomba para filtración al vacío

Formulación del semisólido tópico:

- Reverbero
- Batidora de mano

##### 3.1.2. Materiales

Identificación y aislamiento del hongo:

- Placas Petri de plástico con agar mycosel
- Placas Petri de vidrio
- Cepillos de dientes
- Bisturí #11
- Frascos recolectores de orina
- Algodón
- Alcohol
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Cinta adhesiva
- Tijeras
- Pinza
- Lámpara de alcohol

Determinación de la CMI:

- Pipeta volumétrica de 10ml
- Filtro de membrana de 0.2  $\mu\text{m}$  de porosidad
- Gradilla para tubos
- Matraz Erlenmeyer de 250ml
- 2 Kitasatos de 250 ml
- Embudo bushner
- Pipetas automáticas de volumen 1000ul, 100 ul y 10 ul variado
- Puntas para pipeta de 1000 ul y 100ul
- Pera de succión
- Piseta
- Probeta graduada de 100 ml
- Lámpara de alcohol
- 30 tubos estériles de 10 ml

Formulación del semisólido tópico:

- Varilla de agitación
- Vasos de precipitación de 150ml y 500ml
- Termómetro
- Recipientes de 50g para crema

### **3.1.3. Reactivos**

Identificación y aislamiento del hongo:

- Azul de lactofenol
- KOH 20%
- Azul de metileno tricromo

Determinación de la CMI:

- Agar RPMI 1640
- MOPS
- Azul de lactofenol
- Azul de metileno
- DMSO (dimetilsulfóxido)

### Formulación del semisólido tópico

- Glicerina
- 10 tabletas de Ketoconazol 200 mg
- Alcohol cetílico
- Ácido cítrico
- EDTA
- Laurilsulfato sódico
- 1L de agua destilada
- Propilenglicol
- Metilparabeno
- Propilparabeno
- Cera de abeja

### 3.2. Metodología

#### 3.2.1. *Aislamiento del microorganismo*

Obtención de la muestra:

- Calentar la lámpara de Wood por 5 a 10 minutos antes de utilizarla.
- En un cuarto oscuro usar la lámpara de Wood e iluminar al animal doméstico seleccionado. Examinar cuidadosamente con la ayuda de una lupa la piel del animal y observar si la epidermis emite fluorescencia verde amarillenta o color verde manzana.
- Los pelos sospechosos deben exponerse a la lámpara durante 3 a 5 minutos. Para evitar falsos positivos es importante examinar de manera minuciosa el área lesionada, debido a que las células muertas de la piel o algunos fármacos pueden generar fluorescencia (Patel et al. 2010, p. 177).

Técnica de Mackenzie (pelos infectados):

- Cepillar la zona infectada mediante un cepillo de dientes, preferiblemente suave para no dañar zonas delicadas como cara y orejas.
- Cepillar durante 2-3 minutos o realizar 20 pasadas hasta que las cerdas del cepillo estén llenas de pelos.
- Inocular el cultivo introduciendo las puntas de las cerdas en el medio procurando no sobrecargar el medio de cultivo

(Sanmiguel, 2020, p. 32; Betancourt et al., 2009, p. 3)

Escamas: También se puede obtener la muestra cortando porción de cinta de scotch y colocándola directamente o después de haber raspado la zona para recolectar una muestra más concentrada (Sanmiguel, 2020, p. 30)

Cultivo:

- Realizar la siembra colocando directamente la muestra (pelos, escamas, uñas) en la caja Petri con agar mycosel.
- Las muestras se incuban según el origen, si las muestras fueron tomadas de superficies infectadas, se incuban a temperatura de 22-25 °C.

Identificación-observación macroscópica:

- Observar la coloración del micelio, si producen o no pigmentos en el medio, y de qué color es al reverso de la placa.
- Tratar de observar las estructuras lo más intactas posibles.
- Se puede observar de manera directa en la caja de Petri o con la ayuda de una lupa

**Tabla 3-1:** Características macroscópicas micelio *M. canis*.

Características macroscópicas de <i>Microsporium canis</i> en agar PDA	
Aspecto	Circular con textura algodonosa
Bordes	Desfleados
Parte posterior	Amarillenta
Parte anterior	Blanco
Superficie	Uniforme
Margen	Entero

Fuente: (Cabañes, 2001; pg 56)

Realizado por: Navarrete L., 2023.

Observación microscópica-técnica de la cinta adhesiva:

- Colocar en un portaobjetos una gota de azul de lactofenol
- Cortar con unas tijeras una porción de cinta adhesiva de 1cm cuadrado aproximadamente.
- Con la ayuda de unas pinzas, colocar la cara adhesiva directamente sobre el hongo cultivado y presionar ligeramente
- Apoyar la parte adhesiva de la cinta sobre el colorante colocado en el portaobjetos, y colocar un portaobjetos encima de la preparación realizada.
- Observar en el microscopio la muestra , colocar los distintos aumentos hasta llegar al lente de 40X.

**Tabla 3-2:** Características microscópicas *M. canis*.

Características microscópicas de <i>Microsporium canis</i>		
Macroconidios (Abundantes)	Forma Pared Septos	Forma de huso Gruesa/ con o sin espículas 6-12

**Fuente:** (López, 2013; Cabañes, 2001, p. 60)

**Realizado por:** Navarrete L., 2023

### **3.2.2. Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias**

Se determinará la concentración mínima inhibitoria a través de la técnica implementada por el CLSI M38-A haciendo algunas modificaciones tomadas de Bernal 2016 y Ruiz 2013.

### **3.2.3. Elaboración de la crema**

- En un recipiente fundir los componentes de la fase oleosa a y en otro recipiente, calentar agua hasta alcanzar los 70°C.
- Verter la fase acuosa sobre la oleosa con agitación moderada.
- En un mortero pulverizar los componentes de la Fase C y a agregar glicerina.
- Incorporar en el mortero un poco de la crema lista hasta la formación de una pasta homogénea.
- Añadir lo restante de la crema y mezclar bien.
- Guardar en un recipiente opaco, perfectamente cerrado y mantener bajo refrigeración (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2012).

## CAPÍTULO IV

### 4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Recolección de la muestra y aislamiento del microorganismo



**Ilustración 4-1:** Recolección de la muestra tras prueba cualitativa de la lámpara de Wood

**Realizado por:** Navarrete L., 2023

Can mestizo, aproximadamente 3 años, se evidencia notable alopecia y enrojecimiento en la zona de la cabeza (A), toma de la muestra mediante raspado con bisturí estéril y toma de muestra de pelos infectados (B). Felino de aproximadamente 2 años, presenta alopecia, descamación y comezón. Su dueña indica que al gato le gusta jugar en la tierra (C). Se evidencia alopecia en la mayor parte del cuerpo (D). Examinación con lámpara de Wood, pelos irradian coloración (E). Todos los canes y felinos a quienes se les tomo la muestra aparentemente presentaban signos de estar manifestados con dermatofitos; en su gran mayoría tenían alopecia en partes como las patas

o cerca de la cola como se puede observar en la imagen D de la Ilustración 1-4, algunos en la cabeza (imagen A, Ilustración 1-4). En presencia de la Lámpara de wood se apreciaba el característico el color característico verde manzana que, según (Sanmiguel, 2020) se aprecia en los pelos invadidos con *M. canis*, esta coloración neón es debido a la presencia de pteridina, metabolito localizado en la corteza o la parte central del pelo. Alrededor del 30 al 80% de los pelos infectados con este dermatofito presentan fluorescencia. La mayor parte de hongos que causan enfermedades en la piel no irradian fluorescencia, por esta razón el uso de la lámpara de Wood es fiable para dejar a un lado la dermatofitosis producida por otras especies. Tampoco existe fluorescencia cuando se ilumina con la lámpara escamas, costras y cultivos de hongos. En animales pequeños, se detecta del 30% al 40% de los casos de infecciones por *Microsporum canis* (Patel et al. 2010).

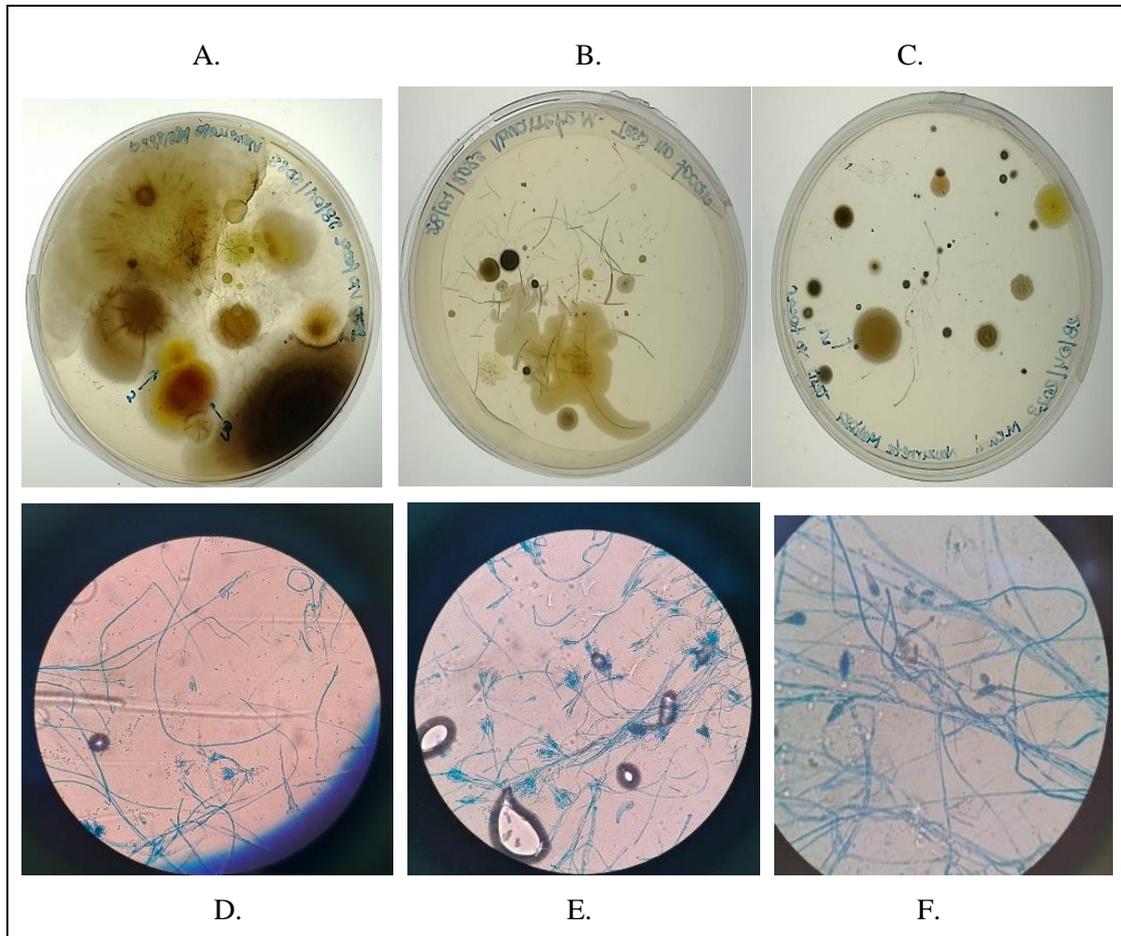
Para la obtención de la muestra se utilizó cepillos de dientes, extracción de los pelos infectados arrancándolos con pinza, y raspado de la costra que formo el hongo (previa desinfección), cada una de estas muestras se depositaba en un frasco estéril de orina para posteriormente ser llevado y evaluado en el laboratorio. Se realizó esta técnica de inoculación presionando las cerdas del cepillo sobre el agar, de esta forma según algunos autores se obtiene resultados más confiables con poca presencia de hongos contaminantes, que por lo común suele haber cuando se transfiere los restos de escamas y de pelos recogidos con el cepillo (Sanmiguel 2020, p. 32).

En perritos callejeros se encontró gran variedad de hongos filamentosos y algunas levaduras no identificadas, entre los hongos filamentosos se puede observar están *Penicillium spp.*, *Alternaria spp.* y *Aspergillus spp.* Los tres son patógenos oportunistas, este último se conoce por producir una enfermedad en animales domésticos, conocida como aspergilosis; *Aspergillus spp* (Ilustración 2-3, figura J) puede encontrarse en vegetales, en comida para perro, en el suelo etc. Esta patogenia se puede obtener al ingerir comida contaminada o inhalar zonas infectadas con este hongo. Por lo general los animales inmunosuprimidos pueden desarrollar esta infección (Hernández et al. 2010).

*Alternaria spp.* hongo filamentoso perteneciente al filo Ascomycota (Ilustración 2-3, figura I) que se encuentra por lo general en vegetales descompuestos, en el suelo, papel alfombras etc. Suele habitar edificios y los lugares de trabajo dentro de los aparatos de aire acondicionado o lugares húmedos. En animales y humanos se transmite a través del contacto entre heridas y áreas contaminadas o por cortes y pinchazos con material contaminado (Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo 2022).

*Penicillium spp.* hongo filamentoso hialino que pertenece al filo Ascomycota (Ilustración 2-3, figura K). Se encuentra en gran variedad de alimentos como leche, carne, y frutos, también en

papel, pintura etc. Una persona o animal puede contaminarse a por la inhalación de bioaerosoles que contienen las esporas y pinchazos o cortes con material contaminado. Por lo general se encuentran en edificios y lugares de trabajo, al inhalarlos producen procesos alérgicos e irritación. Al ingerir alimentos contaminados puede ocasionar intoxicaciones (Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo 2022).



**Ilustración 4-2:** Cultivo de muestras en agar Mycosel.

**Realizado por:** Navarrete L., 2023

Crecimiento de hongos filamentosos agar Mycosel (A). Crecimiento de levaduras, medios de cultivo (B) Mycosel, crecimiento de 9 días (C) *Alternaria spp.* Teñida con azul de lactofenol (D) *Aspergillus spp.* Teñido con azul de lactofenol (E) *Penicillium spp.* Teñido con azul de lactofenol (F)

Una de las razones por las que no se pudo aislar el microorganismo de estas muestras, según Cabañes 2001 y Rojas 2021, se debe al medio utilizado, ya que los dermatofitos potencian su proceso de envejecimiento en agares que contienen grandes concentraciones de glucosa como el SDA, lo que causa pleomorfismo. Mycosel Agar (ADS-A) está basado en la fórmula de SDA tiene en su composición cloranfenicol (evita el crecimiento de bacterias) y cicloheximida

(previene el crecimiento de hongos contaminantes), en varios estudios se ha reportado morfología anormal de dermatofitos en aislamiento (separación de otros microorganismos). El pleomorfismo en dermatofitos se relaciona con la supresión de la capacidad de producir esporas, provocando que las colonias pierdan sus características usuales como su color, obteniendo un aspecto blanquecino y terminan formando un micelio denso desprovisto de conidios o insuficientes estructuras de reproducción. Lamentablemente este proceso es irreversible, y se puede acabar perdiendo la cepa, por lo que los medios usados suelen disminuir la concentración de glucosa, eliminarla de su constitución o reemplazarla por otra fuente de carbono. Se recomienda medios como el PDA o el agar Oatmeal para este fin y para aumentar la esporulación.

En ADS-A el crecimiento de dermatofitos es muy lento, dando cabida al desarrollo de hongos saprofitos y oportunistas, lo que dificulta aún más la identificación y aislamiento de la cepa deseada. La ausencia de esporulación y la contaminación con hongos ambientales representa la primera causa de eliminación de los aislados (Useche 2012, pp. 36-37).

Al no tener resultados favorables con la primera técnica de aislamiento, siguiendo recomendaciones de Giovana Albán Jácome Doctora en Medicina y Cirugía, Máster en Bacteriología y Micología, se usó la crin de caballo para cultivar dermatofitos.

En la naturaleza existen hongos con capacidad de descomponer queratina; están presentes en el medio ambiente y existen factores determinantes como las características del suelo, el clima, la región (animales, plantas y personas) para que se desarrollen. Suelen aparecer en piel, uñas, cabello, cuernos y en otros tejidos, estructuras u órganos de animales y personas produciendo enfermedades. Estos también llamados dermatofitos, se clasifican según su hábitat: antropofílicos, zoofílicos y geofílicos (Sarmiento et al. 2016, p. 7).



**Ilustración 4-3:** Cultivo de Dermatofitos mediante la Técnica del anzuelo queratínico.

**Realizado por:** Navarrete L., 2023

Usando la técnica del anzuelo queratínico, primero se seleccionaron las áreas en la ciudad de Riobamba donde existen mayor cantidad de animales callejeros, de preferencia lugares donde los canes duermen (en su mayoría parques). Previamente en el laboratorio se esterilizaron cajas Petri y la crin del caballo; en una cámara de flujo laminar, manteniendo la esterilidad se colocaron las cajas Petri, las muestras de tierra, la crin del caballo, parafilm y agua bidestilada estéril. Primero se colocó una pequeña cantidad de pelo en la caja Petri, luego se cubría con tierra la cual se mojaba con 1ml de agua bidestilada estéril, se tapaba y se sellaba con Parafilm (Ilustración 3-3).

#### **4.1.1. Incubación de las placas (Técnica del anzuelo queratínico)**

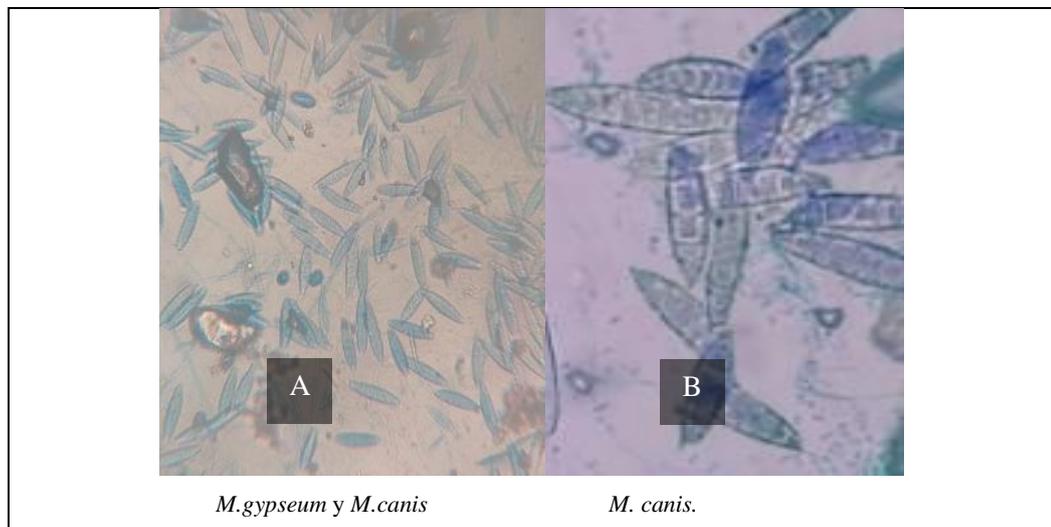
Las placas se incubaron a temperatura ambiente promedio de la ciudad, es decir a 12°C, en uno de los estantes del laboratorio de microbiología. Las condiciones metodológicas que describe en un estudio como el uso de luz fluorescente con ciclo de 12 horas luz y 12 horas en oscuridad y revisión de las muestras a los 15, 30, 45 y 60 días, no fueron las mismas aplicadas en este estudio,

pero sin embargo se verifico el crecimiento a los 5, 7 y 10 días obteniendo en este último un resultado positivo con abundante crecimiento de dermatofitos en el cebo (Ramos et al. 2021).

#### 4.1.2. Cultivo y aislamiento del microorganismo en Agar PDA

Se colocó una muestra de pelo infectado en agar PDA, se revisó a los 3 y 7 días de incubación. Transcurrido este tiempo, se observó el crecimiento de un micelio redondeado beige, con textura algodonosa, reverso amarillento-pardo. Al igual que menciona Ramos et al. 2021, p. 3 en ambos experimentos se contabilizó una vez la presencia de cada especie por muestra. Para obtener un cultivo puro se usó Agar PDA (Ramos et al. 2021, p. 3).

A partir de este cultivo se utilizó la técnica de la cinta adhesiva para tomar una muestra de las colonias, y junto con azul de lactofenol se realizó la identificación de los microorganismos que crecieron. Mediante la técnica del anzuelo logró aislar varias especies de hongos queratinofílicos en suelos de parques de la ciudad de Corrientes, en Argentina entre ellos *Microsporum canis* (Sarmiento et al. 2016). Otra de las especies aisladas del género *Microsporum* fue *M. gypseum* (Ilustración 4-4).



**Ilustración 4-4:** Observación de colonias en Agar PDA con azul de lactofenol 40X

**Realizado por:** Navarrete L., 2023



**Ilustración 4-5:** Crecimiento de la colonia *M. canis* por 7 días

**Realizado por:** Navarrete L., 2023

En la ilustración 4-5, se observa en la imagen A el aislamiento de microorganismos en agar PDA con características algodonosas, en el centro del micelio se presenta una coloración beige (anverso) y en la imagen B el reverso marrón amarillento. En algunos dermatofitos se ha logrado el rejuvenecimiento de la cepa, sembrándola en tierra estéril y para luego pasar el microorganismo a medios de cultivo tradicionales, gracias a esto el pleomorfismo desaparece (Espinal et al., 2016).

## **4.2. Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias**

### **4.2.1. Preparación de RPMI**

Se utilizó el medio de cultivo RPMI 1640 con rojo fenol, sin bicarbonato de sodio (SigmaAldrich) con glutamina. Se preparó 100 mL del medio RPMI 1640 se pesó asepticamente 1,04 g del medio RPMI 1640 y se disolvió en 90 mL agua destilada estéril, luego se pesó 3,34 g de MOPS (Sigma-Aldrich), se ajustó a pH 6.9 con NaOH (5N) luego se agregó agua destilada hasta llegar a 100mL, se realizó doble filtración al vacío con un filtro de membrana de 0.22  $\mu$ m. Luego se almacenó en un recipiente estéril, en refrigeración (4-8 °C) hasta su uso.

### **4.2.2. Preparación de la solución madre de ketoconazol.**

En el tubo 2 se preparó la solución con KTZ en comprimidos; primero se realizaron los cálculos para saber cuántos gramos de comprimido se necesita para obtener una concentración de 1600  $\mu$ g/ml. Cada comprimido contenía 200mg de KTZ y el peso neto del comprimido era 300,1mg en promedio, realizando el cálculo, se necesitaba 24,01mg de medicamento.

$$X = \frac{300,1 \text{ mgMx} * ((1.6 \text{ mg KTZ} * 10 \text{ ml}) / 1 \text{ ml})}{200 \text{ mg KTZ}} = 24,01 \text{ mg Mx}$$

Se llenaron (9 tubos con numeración del 3 al 11), con DMSO con diferentes volúmenes: tubos 3,6,9 volumen de 0.5mL, tubos 4,7,10 volumen de 0.75mL y tubos 5,8,11 volumen de 1.75mL. Desde el tubo 2 (1600 µg/ml) se pipeteo 0.5mL para el tubo 3, 0,25mL para el tubo 4 y 0,25 para el tubo 5. Desde el tubo 5 (200 µg/ml) se pipeteo se pipeteo 0.5mL para el tubo 6, 0,25mL para el tubo 7 y 0,25 para el tubo 8. Desde el tubo 8 (25 µg/ml) se pipeteo se pipeteo 0.5mL para el tubo 9, 0,25mL para el tubo 10 y 0,25 para el tubo 11. Las concentraciones obtenidas se pueden observar en la tabla 4-1.

**Tabla 4-1:** Concentraciones obtenidas a partir de la solución madre con DMSO.

Tubo	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
µg/ml	1600	800	400	200	100	50	25	12,5	6,25	3,12

Fuente: (Cantón et al. 2007)

Realizado por: Navarrete L., 2023

Como siguiente paso se numeraron 11 tubos del 2 al 11 y un tubo más con etiquetado con el nombre CC (control de crecimiento), en los cuales se depositó 4,9 mL de RPMI y siguiendo el orden de los tubos se realizó una dilución 1:50 depositando 100 µL o 0.1mL de los tubos de las soluciones obtenidas en la Tabla 1-4, en el mismo orden 2-2, 3-3, etc. Obteniendo las concentraciones de la tabla 2-4. El tubo CC, será llenado con 4,9mL de RPMI y 100µL de DMSO.

**Tabla 4-2:** Concentraciones obtenidas de la disolución 1:50 de KTZ y el medio RPMI 1640

Tubo	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
µg/ml	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06

Fuente: (Cantón et al. 2007)

Realizado por: Navarrete L., 2023

#### 4.2.3. Preparación de la placa

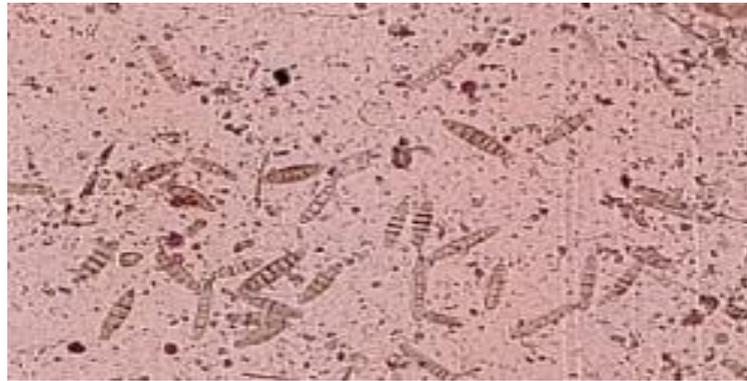
En la microplaca de 96 pocillos, depositar en el pocillo 1 200µL de RPMI, desde el pocillo 2 al 11 con 100µL de los tubos correspondientes obtenidos anteriormente. El pocillo 12 será llenado con 100µL del tubo CC. Una vez llenada la placa se cubrió con Parafilm y se la llevo a congelación.

#### 4.2.4. Preparación del inóculo

Para conseguir la concentración de  $1 \times 10^6$  UFC, se usó un tubo estéril con solución salina (0.85%) para suspender las colonias con un asa sumergida previamente en tween® 20. Agitando vigorosamente esta suspensión se realizó el recuento de las conidias en la cámara de Neubauer (Ilustración 6-4) en un microscopio con lentes de 10x y 40x, y a su vez el conteo en la cuadrícula  $0.04 \text{ mm}^2$ . En el recuento se obtuvo 2500000 conidias por ml de solución.

$$X = \frac{\text{total de conidias contadas}}{\text{número de cuadrados}} \times 250.000$$

$$X = \frac{100}{10} \times 250.000 = 2500000$$



**Ilustración 4-6:** Recuento de conidias en cámara de Neubauer.

Realizado por: Navarrete L., 2023.

Una vez estandarizado el inóculo se realizó una dilución 1:50. En 10 ml del medio de cultivo RPMI se inóculo  $200 \mu\text{L}$ , dando como resultado  $2,5 \times 10^5$  UFC.

#### 4.2.5. Inoculación de la placa

Retirando el papel film de la placa preparada anteriormente, se tomó  $100 \mu\text{L}$  de inóculo para cada pocillo del 2-12, se incubó la placa a temperatura ambiente. Día con día se revisó si existía turbidez en el pocillo de control de crecimiento, al día 7 se pudo observar opalescencia en el pocillo CC, por lo que según la técnica se puede empezar con la determinación de la CMI. De atrás para adelante el pocillo que presente la misma transparencia que el pocillo de CE.

**Tabla 4-3:** Concentraciones obtenidas a partir de la inoculación en placa.

Tubo	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
µg/ml	16	8	4	2	1	0.50	0.25	0.12	0.06	0.03

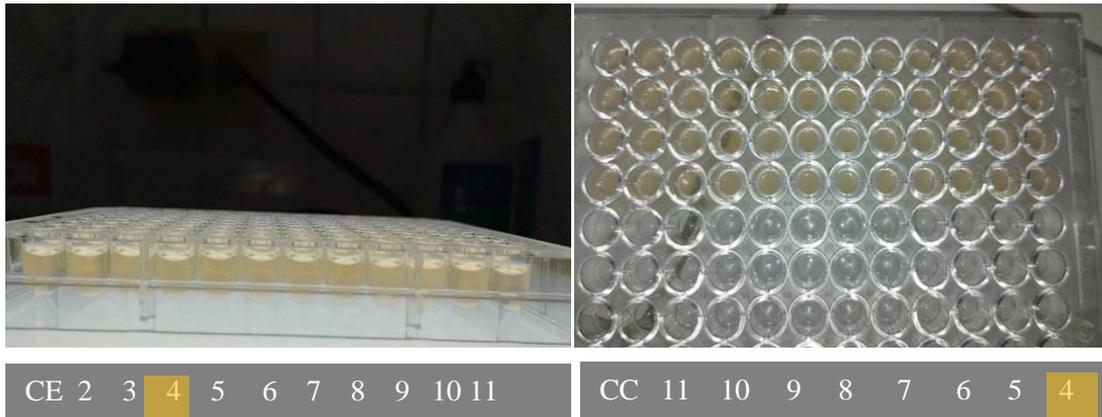
Fuente: (Cantón et al. 2007)

Realizado por: Navarrete L., 2023

Como se puede observar en la figura A de la Ilustración 7-4, se detecta turbidez del pocillo CC (control de crecimiento) hasta el 5. El pocillo que contiene el 10% de turbidez respecto al CE (control de esterilidad) es el 5. Según la guía estandarizada para hongos filamentosos del CLSI, la CMI se determina cuando existe un 100% de inhibición del crecimiento por parte del KTZ, es decir el pocillo no debe tener turbidez cuando se trata de medicamentos azólicos, por lo que el pocillo 4, con un valor de 4 µg/mL, es la CMI obtenida. Según Ledezma et al. 2008 las CMI de KTZ frente a dos cepas distintas de *M. canis* fue 1.59 µg/mL y 5.31 µg/mL respectivamente, la concentración encontrada esta entre estos valores. Existen una serie de limitaciones en la guía M38-A debido a que no incluyen algunos hongos filamentosos patógenos como los dermatofitos, por lo que se tomaron en cuenta solo macroconidios en el contaje y no las microconidias por lo que varían de manera sustancial los resultados encontrados; adicional a esto, en el documento no están los puntos de corte para los antifúngicos, por lo que se tomó en los puntos de corte de Fungitest donde el punto de corte de Ketoconazol es <4 µg/mL R(resistente) y ≤0,05 S(sensible), entre 0,05 y 4 µg/mL medianamente sensible o sensibilidad intermedia, por lo que el resultado 4 µg/mL obtenido estaría ubicado en I (intermedio) es decir medianamente sensible (BIORAD, 2010, p. 16).

Los resultados son concomitantes a los mecanismos de acción de los antifúngicos; la acción del antifúngico puede variar según el número de macroconidias e hifas debido a la diferencia del grosor de las paredes de ambas formas (Useche 2012, p. 38). Así mismo los resultados pueden variar, ya que las pruebas in vitro actualmente disponibles pueden no reflejar con precisión la susceptibilidad in vivo de algunos hongos (especialmente *Candida*) (American Society of Health-System Pharmacists, 2023).

Desafortunadamente, las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos no están tan desarrolladas ni implementadas como las de los antibacterianos, que son similares tanto en su diseño como en su precisión y reproducibilidad, pero laboriosas y lentas (Castro et al., 2016).



**Ilustración 4-7:** Observación de turbidez en placa de 96 pocillos.

**Realizado por:** Navarrete L., 2023.

En la ilustración 4-7, se observa la placa de 96 pocillos con distintas diluciones 16-0.03  $\mu\text{g/mL}$ . También se observa la turbidez, en el CE no se observa crecimiento, en los pocillos del 11 (16 $\mu\text{g/mL}$ ) al 5 (8  $\mu\text{g/mL}$ ) se observa un ligero crecimiento, en el CC se observa presencia de turbidez.

### 4.3. Elaboración de la crema

Según el libro "Formulación magistral oftálmica antiinfecciosa", se hace mención de un posible aumento de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) hasta mil veces más de lo recomendado para lograr el éxito terapéutico (Fernández et al. 2019).

En contraste, la página de American Society of Health-System Pharmacists (ASHP) Medicines Complete, actualizada en 2023, indica que estudios clínicos respaldan la eficacia general de la crema de ketoconazol al 2% cuando se aplica una vez al día para tratar afecciones como la tiña corporal, la tiña cruris o la tiña pedis. Sin embargo, datos de un estudio controlado sugieren que la aplicación dos veces al día podría ser más efectiva que una sola aplicación diaria para tratar la tiña corporal y la tiña cruris. Además, diversos estudios comparativos han establecido que la crema de ketoconazol al 2%, aplicada dos veces al día, tiene una eficacia similar a la del clotrimazol al 1% en la misma frecuencia de aplicación para estas afecciones.

Estos hallazgos respaldan la formulación de una crema tópica de ketoconazol al 2% como una opción viable para tratar estas infecciones fúngicas. No obstante, la frecuencia óptima de aplicación (una o dos veces al día) podría variar según la condición específica del paciente y las recomendaciones médicas (American Society of Health-System Pharmacists (ASHP), 2023).

**Tabla 4-4:** Componente de la primera formulación.

Componentes (formulación A)	Cantidad
<b>Fase A (oleosa)</b>	
Alcohol cetílico	15 g
Cera de abeja	1 g
<b>Fase B (acuosa)</b>	
Agua purificasa csp	100 g
Propilenglicol	10 g
Lauril sulfato sódico	2 g
metilparabeno	0.2g
propilparabeno	0.02g
<b>Fase C (complementaria)</b>	
Ketoconazol	2 g
Glicerina	2 g
EDTA	0.5 g

Realizado por: Navarrete L., 2023

**Tabla 4-5:** Componente de la segunda formulación

Componentes (formulación B)	Cantidad
<b>Fase A (oleosa)</b>	
Alcohol cetílico	15 g
Cera de abeja	1 g
<b>Fase B (acuosa)</b>	
Agua purificasa csp	100 g
Ácido cítrico	0.5 g
Propilenglicol	10g
metilparabeno	0.2g
propilparabeno	0.02g
Lauril sulfato sódico	2 g
<b>Fase C (complementaria)</b>	
Ketoconazol	2 g
Glicerina	2 g

Realizado por: Navarrete L., 2023

Las características organolépticas se usan para detectar cambios en el producto y son notados por los órganos de los sentidos, tal como el aspecto, color, olor, sabor y tacto.

Estas características ayudan a la identificación de alteraciones, como oxidación (cambio de color), aparición de grumos, disgregación de fases, precipitación, etc.

**Tabla 4-6:** Características organolépticas en las formulaciones 1 y 7 días.

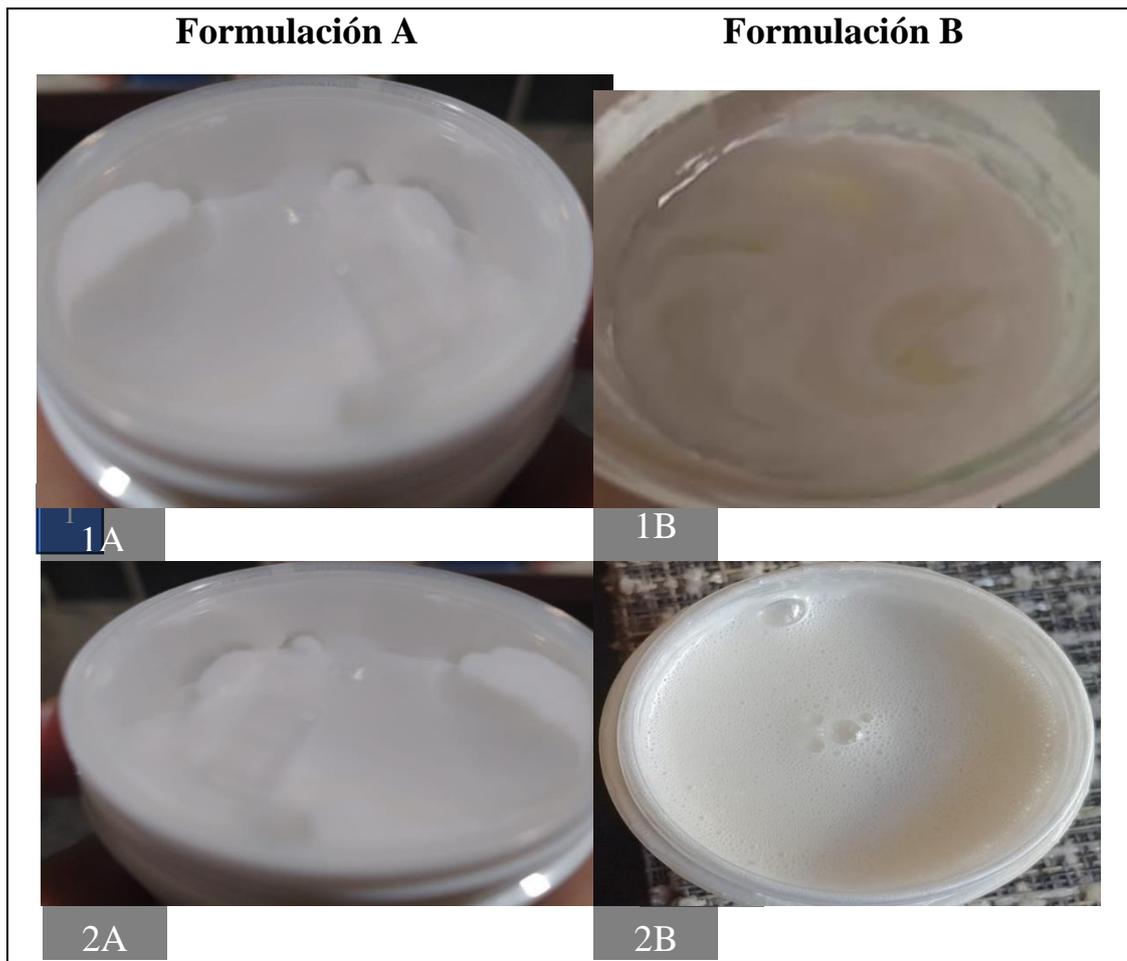
Parámetro	Duración de tiempo en días			
	T1 1 día		T2 7 días	
	Formulación A	Formulación B	Formulación A	Formulación B
Aspecto	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Líquido y con burbujas
Olor	Nulo	Nulo	Nulo	Rancio
Color	Blanquecino	Blanquecino	blanquecino	Beige
Residuo en la piel tras su uso	Nulo	Nulo	Nulo	-
Sensación al tacto	Untuosa, sin grumos	Untuosa, sin grumos	Untuosa, sin grumos	-

Realizado por: Navarrete L., 2023

La base de Beeler es una emulsión con buena extensibilidad y altamente evanescente que posibilita fabricar preparados en crema con principios activos difíciles de incorporar con sencillez y seguridad, su naturaleza aniónica se debe al lauril sulfato sódico (emulgente). Entre los activos más frecuentes que se incorporan a esta base están: Hidroquinona (2-5%), Metronidazol (1%) y Ketoconazol (2%). Presenta incompatibilidades con ácidos fuertes, tensioactivos y activos catiónicos como: gentamicina, clindamicina, lidocaína etc., (Guinama, 2017).

La fórmula para crear la base de beeler es: alcohol cetílico 15g, cera blanca 1g, propilenglicol 10g, laurilsulfato sódico 2g, agua purificada csp 100g (Fernández, 2012).

Ambas formulaciones comparten los mismos ingredientes. Sin embargo, en una de ellas se utiliza EDTA como antioxidante, mientras que en la otra se emplea ácido cítrico.



**Ilustración 4-8:** Observación de características organolépticas de los preparados A y B.

**Realizado por:** Navarrete Reino Lesli Melissa, 2023.

Las formulaciones 1A y 1B tienen consistencia cremosa y blanquecina, la 2A mantiene su consistencia y la 2B líquida y con burbujas después de 7 días.

Según de Oliveira, autor de *Excipientes y Adyuvantes Farmacotécnicos*, menciona que el antioxidante que se recomienda para formulaciones magistrales con ketoconazol es el metabisulfitodisódico o el EDTA; el EDTA por ejemplo en la hidroquinona, se usa en cantidad de 0.1 g por cada 25 g o 0.4 g por cada 100 g disuelto en agua a temperatura ambiente. En cambio, el ácido cítrico se usa 0.5 g por cada 25 g o 2 g por cada 100 g, la crema B no presentó coloración rosa por lo que como antioxidante en la cantidad de 0.5g funciona, pero no como antibacteriano por lo que la presencia de burbujas puede ser debido al crecimiento de microorganismos en la crema, ya que existió una insuficiente cantidad de conservante.

La aparición de burbujas puede ser por una inadecuada agitación, lo cual provocó el deterioro de la crema y el cambio de estado semisólido a líquido (Alía 2012).

## CONCLUSIONES

- La prueba cualitativa con la lámpara de Wood se empleó para detectar *M. canis* en animales domésticos. Aunque la mayoría de las muestras arrojaron resultados positivos, al cultivar el microorganismo, se identificaron levaduras y otros hongos filamentosos que no eran dermatofitos. Esto se debe a que solo el 30 al 40% de los casos detectados cualitativamente como dermatofitosis corresponden a *M. canis*. Por este motivo, se debe complementar la prueba con exámenes directos de las muestras recolectadas (tricograma) y el uso de medios de cultivo apropiados, como el PDA, para observar su morfología macroscópica y microscópica. La dificultad para aislar el microorganismo en animales con signos visibles de dermatofitosis se debió a la contaminación de los cultivos con hongos saprofitos, así como al uso de medios de cultivo propensos al pleomorfismo. Además, mediante la técnica del anzuelo queratínico, no solo se detectó *M. canis*, sino también varias especies de hongos, incluido *M. gypseum*, otro agente causante de dermatofitosis.
- La guía estandarizada CLSI M38-A para hongos filamentosos no abarca metodologías específicas para el conteo de conidias de dermatofitos, lo que plantea dificultades al determinar las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) para este tipo de hongos. Esto conlleva a variaciones en los resultados de las CMI, tanto entre diferentes estudios como entre cepas de la misma especie.
- Al aplicar los puntos de corte de ketoconazol (KTZ) utilizados en el documento de Fungitest, un resultado de 4 µg/mL indica que *M. canis* presenta una sensibilidad intermedia al fármaco. Estos hallazgos subrayan la necesidad de metodologías más precisas y específicas en la determinación de la sensibilidad de los dermatofitos a los antifúngicos, dada la carencia de directrices claras en las normativas actuales.
- Después de determinar que la concentración mínima inhibitoria mostró una respuesta moderadamente sensible del microorganismo al antimicótico, se logró la formulación de una crema antifúngica, obteniendo un producto semisólido con una concentración del 2% del medicamento. Tras realizar dos formulaciones con diferentes antioxidantes, se constató que ambos son efectivos en la preservación del KTZ, evitando la característica coloración rosa asociada a la oxidación de este principio activo. No obstante, la inclusión de EDTA en una concentración de 0.5 g por cada 100 g, potenció la capacidad conservante de los parabenos y proporcionó un periodo de vida útil más prolongado en comparación con la fórmula preparada con ácido cítrico.

## RECOMENDACIONES

- Es recomendable explorar la creación de una guía estandarizada destinada específicamente a determinar las Concentraciones Mínimas Inhibitorias en hongos filamentosos dermatofitos. Esta iniciativa se vuelve crucial debido a la carencia de directrices metodológicas en las normativas actuales. Una guía de este tipo establecería un marco de referencia uniforme y detallado para evaluar la sensibilidad de los dermatofitos a los antifúngicos. Al proporcionar procedimientos normalizados, esta guía mejoraría la precisión y coherencia en la determinación de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias, lo que a su vez optimizaría el diagnóstico y el tratamiento efectivo de las infecciones por hongos dermatofitos.
- Se recomienda emplear múltiples pruebas cualitativas para la determinación del microorganismo responsable de la enfermedad, ya que esto amplía las probabilidades de aislar e identificar con precisión al microorganismo deseado. La utilización de más de una prueba cualitativa no solo aumenta la fiabilidad del diagnóstico, sino que también ofrece una mayor confianza en la identificación del agente patógeno. Esta estrategia redundante disminuye la posibilidad de falsos positivos o negativos, mejorando así la precisión del diagnóstico microbiológico y facilitando un tratamiento más específico y efectivo.
- Es aconsejable optar por una técnica de microdilución que integre algún tipo de coloración. Esta adición facilitará la detección de la turbidez en los pocillos, minimizando posibles errores al interpretar los resultados. La inclusión de color en la técnica de microdilución mejora la visibilidad de los cambios, lo que conlleva a una interpretación más precisa y fiable de los resultados. Esta estrategia fortalece la exactitud en la evaluación de la sensibilidad de los microorganismos a los agentes antimicrobianos, asegurando así un análisis más riguroso y confiable de las pruebas microbiológicas.

## BIBLIOGRAFÍA

**ACOFARMA.** Agua destilada (desionizada) [en línea] 2019. Disponible en: <https://formulasmagistrales.acofarma.com/idb/descarga/3/dfd7970b6d0460f1.pdf#:~:text=AGUA%20DESTILADA%20%28DESIONIZADA%29%20Sin%C3%B3nimos%3A%20Agua,desmineralizada.%20INCI%3A%20Aqua.%20Formula%20Molecular%3A%20H2O>

**ACOFARMA.** TEXAPON N-40 IS. *Fichas de información técnica* [en línea] 2019. Disponible en : <https://formulasmagistrales.acofarma.com/idb/descarga/3/f0a1511329418eb6.pdf>

**ACOFARMA.** Glicerina [en línea] 2019. Disponible en: <https://formulasmagistrales.acofarma.com/idb/descarga/3/f0652fb8453f4dc1.pdf>

**ACOFARMA.** EDTA sal disodica [en línea] 2019. Disponible en: <https://formulasmagistrales.acofarma.com/idb/descarga/3/f06a75fe6522d7a9.pdf>

**AGENCIA DE SUSTANCIAS TÓXICAS Y EL REGISTRO DE ENFERMEDADES**  
*Resúmenes de Salud Pública - Glicol de propileno (Propylene Glycol* [en línea] 2016. Disponible en: [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs189.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs189.html)

**AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA.** Formulario Nacional de la Farmacopea Brasileña [en línea] 2012. Disponible en: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/formulario-nacional/arquivos/8073json-file-1>

**ALARCÓN, A.** Elaboración de microesponjas cargadas de Ketoconazol como un sistema de liberación modificada de activos, mediante el método de difusión de disolvente cuasi emulsión [en línea] 2019. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/19053/1/T-UCF-0008-CQU-147.pdf>

**ALBÁN, G et al.** Dermatofitosis en Guayaquil. *Revista Científica multidisciplinar Ciencia Ecuador.* 2021, pp. 7–17.

**ALÍA, E.** Formulario visual. *ELSEVIER* [en línea] 2004, Vol. 18, no. 10, pp. 57–61. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-formulario-visual-13068987#:~:text=%C2%AD%20El%20ketoconazol%20debe%20protegerse%20de%20la%20oxidaci%C3%B3n,coloraci%C3%B3n%20ros%C3%A1cea%20que%20va%20apareciendo%20en%20la%20preparaci%C3%B3n.>

**ALÍA, E.** Estudio de la eficacia de sistemas antioxidantes [en línea] 2012. Disponible en: <http://www.formulacionmagistral.org/wpcontent/uploads/INVESTIGACIONHIDROQUINON A-DR-ALIA.pdf>

**AMERICAN SOCIETY OF HEALTH-SYSTEM PHARMACISTS (ASHP).** Ketoconazole (Topical). [en línea] 2023. Disponible en: <https://www.medicinescomplete.com/#/content/ahfs/a386019?hspl=ketoconazole&hspl=en&hsp l=crema#content%2Fahfs%2Fa386019%232067891215>

**ARENAS, R.** *Micología médica ilustrada*. México: McGRAW-HILL interamericana editores, S. A.

**ASOCIACIÓN PROTECTORA DE ANIMALES VILLAGUAY.** *Dermatomicosis*. 2012.

**BÁEZ, G.** *Estudio de una zoonosis transmitida por gatos en asuncion, paraguay*. 2016, Asunción.

**BD.** *BBL Mycosel Agar*. 2015.

**BETANCOURT, O et al.** *Microsporum canis* en gatos dermatológicamente sanos en Temuco, Chile. *Revista Iberoamericana de Micología*. [en línea] 2019. Disponible en: DOI 10.1016/j.riam.2009.03.002.

**BETANCOURT, O et al.** Aislamiento de hongos filamentosos desde pelaje de gatos sin lesiones dérmicas en temuco, *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia*. 2013.

**BIORAD.** *Determinación de la sensibilidad de los hongos a los agentes antifungicos* [en línea] 2010. Disponible en: <https://docplayer.es/91132726-Fungitest-tm-pruebas-determinacion-de-la-sensibilidad-de-los-hongos-a-los-agentes-antifungicos.html>

**BOLÍVAR, G.** Propilenglicol. [en línea] 2023. Disponible en: <https://www.lifeder.com/propilenglicol/>

**CABAÑES, J.** Identificación de hongos dermatofitos. *Revista Iberoamericana de Micología* [en línea] 2021. Disponible en: <https://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo12.pdf>

**CAMPOZANO, N y HERAS, V.** Determinación de la prevalencia de dermatofitosis en los niños de la Escuela de Educación General Básica “Padre Juan Bautista Aguirre” de la parroquia Miraflores de la ciudad de Cuenca [en línea] 2014. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/21010/1/TESIS.pdf>

**CANELLA, E.** Aceites, aromas, esencias, sales de baño [en línea] 2017. Disponible en: [https://www.google.com.ec/books/edition/Aceites\\_aromas\\_esencias\\_sales\\_de\\_ba%C3%B1o/PNAwDwAAQBAJ?hl=es419&gbpv=1&dq=acido+citrico+farmacia&pg=PT77&printsec=frontcover](https://www.google.com.ec/books/edition/Aceites_aromas_esencias_sales_de_ba%C3%B1o/PNAwDwAAQBAJ?hl=es419&gbpv=1&dq=acido+citrico+farmacia&pg=PT77&printsec=frontcover)

**CANTÓN, E et al.** Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). *Revista Iberoamericana de Micología*. 2007.

**CARBAJAL, Á y GONZÁLEZ, M.** Propiedades y funciones biológicas del [en línea] 2012. Disponible en: <https://www.ucm.es/data/cont/docs/458-2013-07-24-Carbaljal-Gonzalez-2012-ISBN-978-84-00-09572-7.pdf>

**CARRANZA, R.** Vademécum académico de medicamentos. 6ta. México DF: Universidad Autónoma de México. 2016.

**CHEMOS.** Ficha de Datos de Seguridad: Ketoconazol [en línea] 2020. Disponible en: [https://www.chemos.de/import/data/msds/ES\\_es/65277-42-1-A0005790-ES-es.pdf](https://www.chemos.de/import/data/msds/ES_es/65277-42-1-A0005790-ES-es.pdf)

**CLARK, M et al.** Lippincott's Illustrated Reviews: Farmacología. 5ta edición. Barcelona : L'Hospitalet de Llobregat. 2012.

**DE OLIVEIRA, A.** Excipientes e adjuvantes farmacotécnicos. *SINAMM* [en línea] 2015. Disponible en: <https://dokumen.tips/documents/excipientes-e-adjuvantes-farmacotecnicos.html>

**ESPAÑA, S y ESPINOZA, T.** Situación de la micosis superficial en Ecuador [en línea] 2019. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/12568>

**EUROPEAN MEDICINES AGENCY.** Suspensión de la autorización de comercialización del ketoconazol oral [en línea] 2023. Disponible en: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/ketoconazole-article-31-referral-suspension-marketingauthorisationsoralketoconazole\\_es.pdf#:~:text=El%2025%20de%20julio%20de%202](https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/ketoconazole-article-31-referral-suspension-marketingauthorisationsoralketoconazole_es.pdf#:~:text=El%2025%20de%20julio%20de%202)

013%2C%20el%20Comit%C3%A9,beneficios%20en%20el%20tratamiento%20de%20las%20infecciones%20f%C3%BAngicas.

**FALKENSTÄTTER, M.** Ketoconazol. [en línea] 2021. Disponible en: <https://medikamio.com/es-es/sustancias/ketoconazol>

**FERNÁNDEZ, A et al.** Formulación magistral oftálmica [en línea] 2019. Disponible en: <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/FormOfta/FormMagisOftalmicaAntiinfecciosa.pdf>

**FERNÁNDEZ, B.** Sensibilidad antifúngica de los dermatofitos [en línea] 2005. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8718/TesisdoctoralporBelkysFernandezTorres.pdf?sequence=1>

**FERNÁNDEZ, E.** Recursos tecnológicos y procedimientos en formulación magistral dermatológica. *Farmacia Profesional* [en línea] 2012. Disponible en: <https://www.elsevier.es/esrevistafarmaciprofesional3articulo-recursos-tecnologicos-procedimientos-formulacion-magistral-X0213932412941198>

**FLORES, L.** Efecto del propilenglicol en el periodo parto - concepción en vacas mestizas, en la parroquia el Carmelo, Carchi [en línea] 2023. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/13856/2/03%20AGP%20355%20TESIS%20GRADO.pdf>

**GARCÍA, V y ESTRELLA, I.** Diseño de una crema cosmética con Salvia Hispánica L. (Chía) y quitosano. *Revista ciencia UNEMI* [en línea] 2022. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8750522>

**GUINAMA.** Reformulación base de Beeler [en línea] 2017. Disponible en: <https://www.guinama.com/blog/reformulamos-la-base-beeler-para-hacerla-mas-consistente-y-altamente-evanescente/>

**HERNÁNDEZ, A et al.** Presentación sistémica de *Aspergillus* spp con semiología neurológica en un Pastor Alemán: informe de un caso clínico. *SCIELO* [en línea] 2010. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-50922010000100002](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922010000100002)

**HERNÁNDEZ, G et al.** Conceptos básicos de farmacia galénica. *Tratado de Medicina Farmacéutica*, [en línea] 2011. Disponible en:

[https://www.google.com.ec/books/edition/Tratado\\_de\\_Medicina\\_Farmac%C3%A9utica/pmjl6putQMYC?hl=es-419&gbpv=1](https://www.google.com.ec/books/edition/Tratado_de_Medicina_Farmac%C3%A9utica/pmjl6putQMYC?hl=es-419&gbpv=1)

**HILGERT, E.** Formulación y manufactura de productos para la higiene personal y cosmética [en línea] 2012. Disponible en: [https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/1446/HILGERT\\_VALDER RAMA\\_EDUARDO\\_FORMULACION\\_PRODUCTOS\\_HIGIENE.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/1446/HILGERT_VALDER_RAMA_EDUARDO_FORMULACION_PRODUCTOS_HIGIENE.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

**INDIRA, G.** In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of 5 Antifungal Agents against Dermatophytic Species by CLSI (M38-A) Micro Dilution Method. *Clinical Microbiology: Open Access*. [en línea] 2014. Disponible en: DOI 10.4172/2327-5073.1000145.

**INGRAHAM, J y INGRAHAM, C.** Farmacología Antimicrobiana. In: EDITORIAL REVERTE (ed.), *Introducción a la Microbiología*, 1998, p. 495. 1.

**INSTITUTO EUROPEO DE DERMOCOSMÉTICA.** Glicerina Vegetal. [en línea] 2022. Disponible en: <https://www.institutodermocosmetica.com/glicerina-vegetal/>

**INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD Y SALUD EN EL TRABAJO.** *Microsporum spp. Hongos*. [en línea] 2022. Disponible en: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/microsporum-spp>

**INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD Y SALUD EN EL TRABAJO.** *Alternaria spp.* [en línea] 2022. Disponible en: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/alternaria-spp>

**INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD Y SALUD EN EL TRABAJO.** *Penicillium spp.* [en línea] 2022. Disponible en: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/penicillium-spp>

**LAFUENTE, G.** Glicerol: síntesis y aplicaciones [en línea] 2017. Disponible en: [http://espacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:masterCienciasCyTQGlafuente/Lafuente\\_Aranda\\_Gustavo\\_TFM.pdf](http://espacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:masterCienciasCyTQGlafuente/Lafuente_Aranda_Gustavo_TFM.pdf)

**LEDEZMA, E et al.** Sinergismo entre ajoeno y ketoconazol en aislamientos de *Microsporum canis*. Un estudio preliminar mediante la determinación de la concentración inhibitoria fraccional

(CIF). *Revista Iberoamericana de Micología*. [en línea] 2008. Disponible en: DOI 10.1016/S1130-1406(08)70037-8.

**LEÓN, J.** *Concentración Mínima Inhibitoria*. In: *Organización panamericana de la salud (ed.), Glosario de medicamentos: Desarrollo, Evaluación y Uso*, 1999, pp. 46–47.

**LÓPEZ, B et al.** Ungüentos, pomadas, cremas, geles y pastas: ¿es todo lo mismo? *Formación Activa en Pediatría de Atención Primaria* [en línea] 2015. Disponible en: <https://fapap.es/articulo/366/ungentos-pomadas-cremas-geles-y-pastas-es-todo-lo-mismo>

**LÓPEZ, E.** *Microsporum canis E. Bodin ex Guég*, *Revista Iberoamericana de micología*. Vol. 30. 2013.

g

**LORENZO, P et al.** *Farmacología básica y clínica*. 2008.

**MALBRÁN, C.** Determinación de la sensibilidad: Método de dilución. *Clinical and Laboratory Standards Institute* [en línea] 2012. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>

**MANZANO, P et al.** Reactivación morfológica de algunas especies de dermatofitos y su sensibilidad a antifúngicos. *Revista Mexicana de Micología* [en línea] 2015. Disponible en: <https://scientiafungorum.org.mx/index.php/micologia/article/view/1136/1315>

**MAX, B et al.** Biotechnological production of citric acid. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2010, pp. 862–875.

**MCCANCE, K et al.** Infecciones micóticas. In: *Fisiopatología: bases biológicas de la enfermedad en adultos y niños* [en línea] 2020. Disponible en: <https://www.medicapanamericana.com/VisorEbookV2/Ebook/9786078546329?token=037993815da14bdd962dd249b09820b8#{%22Pagina%22:%22BackCover%22,%22Vista%22:%22Personalizacion%22,%22Busqueda%22:%221515%22}>

**MENDOZA, N.** *Farmacología Médica*. 2008.

**MENTACTIVA.** Usos del ácido cítrico en cosmética: formulación. [en línea] 2023. Disponible en: <https://www.mentactiva.com/usos-del-acido-citrico-en-cosmetica-formulacion/>





**URANOVET.** *Dermatofitosis. Laboratorio Uranolab.* 2019.

**USECHE, A.** Perfil de susceptibilidad in vitro de aislados clínico de *Microsporum canis* a los antifúngicos griseofulvina, itraconazol, voriconazol, terbinafina y anfotericina B. [en línea] 2012. Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2022/06/1368991/perfil-de-susceptibilidad-in-vitro-de-aislados-clinicos.pdf>

**USPNF.** Alcohol cetílico. *USP* [en línea] 2020. Disponible en: [https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp\\_pdf/ES/ira/cetyl-alcohol-ira-20200925-esp.pdf](https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/ES/ira/cetyl-alcohol-ira-20200925-esp.pdf)

**VADEMECUM.** Ketoconazol Suspensión oral 100 mg/5 ml. [en línea] 2015. Disponible en: [https://www.vademecum.es/equivalencialistaketoconazol+america+suspension+oral+100+mg%2F5+ml-colombia-j02ab02-19010567-co\\_1](https://www.vademecum.es/equivalencialistaketoconazol+america+suspension+oral+100+mg%2F5+ml-colombia-j02ab02-19010567-co_1)

**VIRGA, C y AGUZZI, A.** Farmacología de las infecciones. [en línea] 2020. Disponible en: <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/27397/Farmacolog%C3%ADa%20de%20las%20infecciones.pdf?sequence=3>

**ZULUAGA, A et al.** *Epidemiología de la tinea capitis: 19 años de experiencia en un laboratorio clínico especializado en Colombia. Infectio.* Vol. 20, no. 4, 2016, pp. 225–230.

## ANEXOS

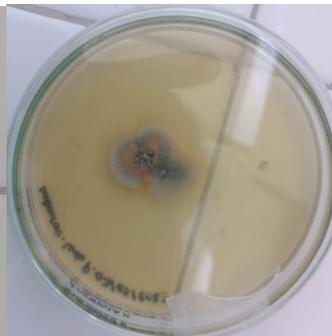
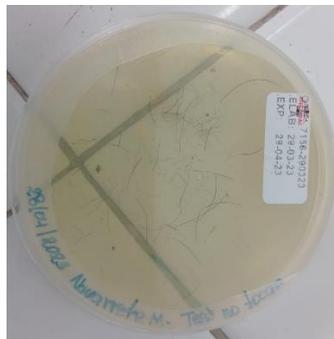
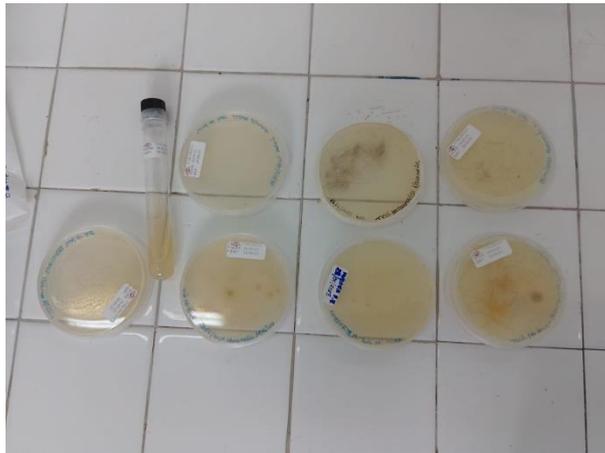
### ANEXO A: TOMA DE MUESTRA



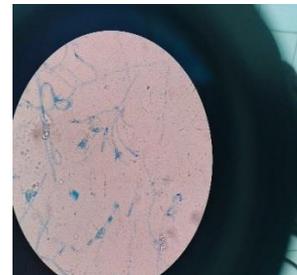
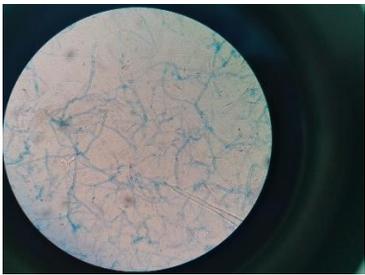
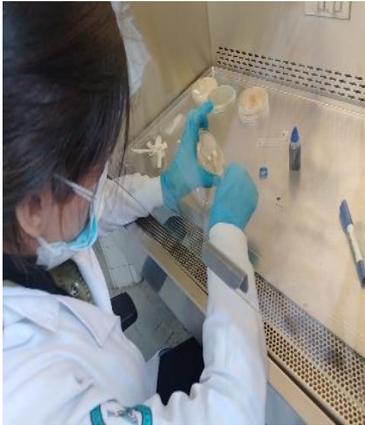
## ANEXO B: SIEMBRA DE LA MUESTRAS



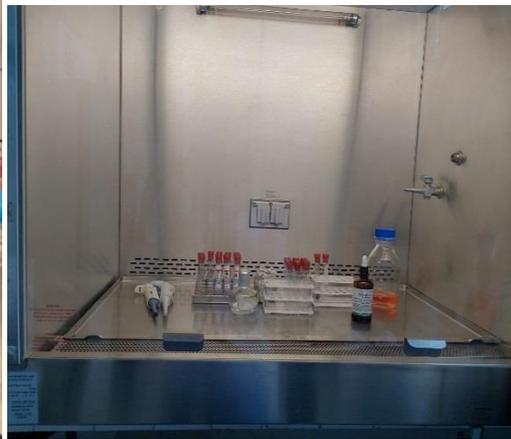
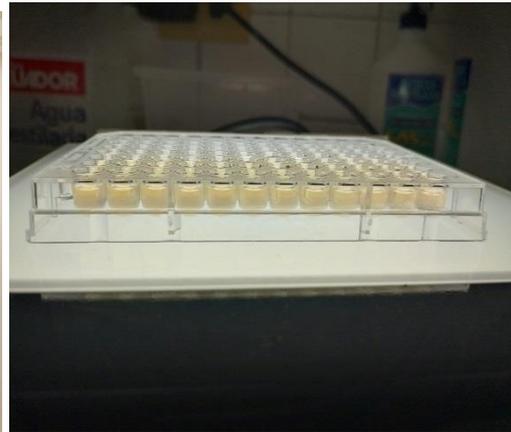
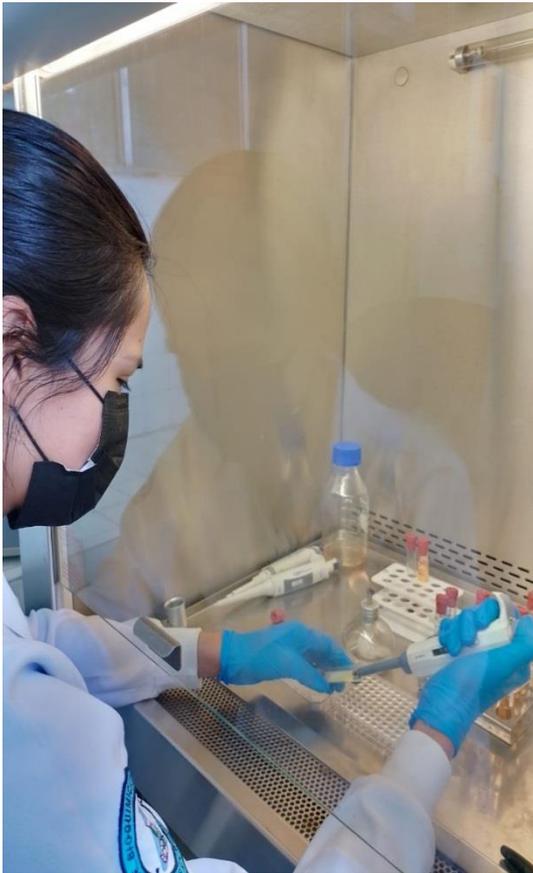
# ANEXO C: CRECIMIENTO EN AGAR



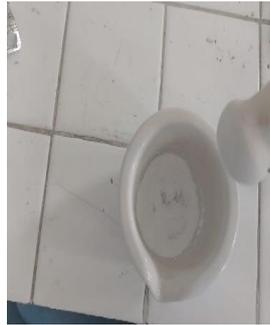
## ANEXO D: IDENTIFICACIÓN DEL DERMATOFITO



## ANEXO E: DETERMINACIÓN DE LA CMI



## ANEXO F: ELBORACIÒN DE LA CREMA





epoch

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 31 / 01 / 2024

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Lesli Melissa Navarrete Reino
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Bioquímica y Farmacia
<b>Título a optar:</b> Bioquímica Farmacéutica
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo

0165-DBRA-UPT-2024

