



Evaluación de la actividad antifúngica del ketoconazol contra cepas de *Microsporum* sp. y desarrollo de una formulación de crema farmacéutica

Evaluation of the antifungal activity of ketoconazole against strains of *Microsporum* sp. and development of a pharmaceutical cream formulation

Carmen Viviana Basantes Vaca^{1*}, Paulina Fernanda Parra Alvarez¹, Gabriela Joseth Serrano Torres²,
Silvia Hipatia Torres Rodríguez², Lesli Melissa Navarrete Reino³

¹Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Educación Humanas y Tecnologías. Riobamba, Ecuador.

²Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ingeniería. Riobamba, Ecuador.

³Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Riobamba, Ecuador.

*Autor para la correspondencia: carmen.basantes@unach.edu.ec

Cómo citar este artículo

Basantes Vaca CV, Parra Alvarez PF, Serrano Torres GJ, Torres Rodríguez SH, Navarrete Reino LM: Evaluación de la actividad antifúngica del ketoconazol contra cepas de *Microsporum* sp. y desarrollo de una formulación de crema farmacéutica. Rev haban cienc méd [Internet]. 2024 [citado]; Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/5752>

Recibido: 27 de mayo de 2024

Aprobado: 15 de julio de 2024

RESUMEN

ABSTRACT

Introducción: En Ecuador, la prevalencia de dermatofitos, está influenciada por diversos factores como son las condiciones ambientales, las prácticas socioculturales, las exposiciones ocupacionales, las rutinas de higiene y el estado inmunológico individual. En Ecuador existe poca evidencia publicada sobre esta temática, lo que obstaculiza el desarrollo de estrategias efectivas de control y monitoreo.

Objetivo: Evaluar la actividad antifúngica del ketoconazol contra cepas de *M. canis* y desarrollar una formulación en crema farmacéutica para tratar infecciones causadas por este dermatofito.

Resultados: Ambas formulaciones exhibieron una estabilidad física satisfactoria. Sin embargo, solo la formulación A que contenía EDTA demostró una inhibición efectiva del crecimiento microbiano, como lo evidenció la ausencia de decoloración rosada y formación de burbujas. Por el contrario, la formulación B mostró signos de contaminación microbiana, probablemente debido a un contenido inadecuado de conservantes. Además, estudios clínicos demostraron la eficacia de la crema de ketoconazol al 2 % en el tratamiento de diversas infecciones por dermatofitos, comparable a la crema de clotrimazol.

Conclusiones: Los resultados de CMI variaron entre estudios e incluso entre cepas de la misma especie. Utilizando los puntos de corte de CMI para *Candida albicans*, el resultado obtenido de 4 µg/mL indica que *M. canis* muestra sensibilidad intermedia al fármaco.

Introduction: In Ecuador, the prevalence of dermatophytes is influenced by various factors such as environmental conditions, sociocultural practices, occupational exposures, hygiene routines and individual immune status; however, despite the significant burden of fungal diseases, there is a lack of data in Ecuador, which hinders the development of effective control and monitoring strategies.

Objective: To evaluate the antifungal activity of ketoconazole against *M. canis* strains and develop a pharmaceutical cream formulation to treat infections caused by this dermatophyte.

Results: Both formulations exhibited satisfactory physical stability. However, only formulation A containing EDTA demonstrated effective inhibition of microbial growth, as evidenced by the absence of pink discoloration and bubble formation. In contrast, formulation B showed signs of microbial contamination, probably due to an inadequate preservative content. Additionally, clinical studies demonstrated the effectiveness of ketoconazole 2% cream in the treatment of various dermatophyte infections, comparable to clotrimazole cream.

Conclusions: MIC results varied between studies and even between strains of the same species. Using the MIC breakpoints for *Candida albicans*, the obtained result of 4 µg/mL indicates that *M. canis* shows intermediate sensitivity to the drug.

Palabras Claves:

Crema de ketoconazol, formulación antifúngica tópica, infecciones por dermatofitos, microbiana, *Microsporum* sp.

Keywords:

Ketoconazole cream, topical antifungal formulation, dermatophyte infections, microbial, *Microsporum* sp.



INTRODUCCIÓN

Las micosis son enfermedades fúngicas crónicas que comúnmente afectan la piel, pero son capaces de penetrar la barrera cutánea, lo que provoca infecciones sistémicas potencialmente mortales.^(1,2)

El *Microsporium canis* es un dermatofito zoonótico que causa infecciones tanto en animales como en humanos.^(3,4) La transmisión zoonótica de infecciones fúngicas,⁽⁵⁾ particularmente de animales como perros y gatos, contribuye significativamente a la prevalencia de la dermatofitosis. La transmisión de *M. canis* ocurre a través del contacto directo o indirecto con animales o humanos infectados, con fuentes ambientales, sirviendo como reservorios del patógeno. Diversos factores, incluyendo las condiciones climáticas, las prácticas de cría de animales y los comportamientos humanos, contribuyen a la propagación de infecciones por dermatofitos, lo que requiere estrategias integrales para la prevención y control. Además, la adaptación de *M. canis* a diferentes hospedadores y entornos subraya la necesidad de una vigilancia continua y de la investigación para abordar los desafíos emergentes y garantizar una gestión efectiva.^(6,7) La prevalencia y la dinámica de transmisión de la dermatofitosis, particularmente en poblaciones susceptibles como las personas inmunodeprimidas, destacan la importancia de tratamientos antifúngicos efectivos. Los dermatofitos, incluido *M. canis*, exhiben interacciones complejas con sus hospedadores, lo que puede llevar a manifestaciones clínicas variadas y desafíos en el diagnóstico y tratamiento.

El tratamiento de la dermatofitosis⁽⁸⁾ causada por *M. canis* a menudo implica el uso de ketoconazol oral, aunque su uso está asociado con riesgos potenciales, incluida la hepatotoxicidad, lo que ha llevado a su interrupción en algunas regiones.^(9,10) Sin embargo, el ketoconazol desempeña un papel crucial en el tratamiento al inhibir el crecimiento fúngico y alterar procesos celulares esenciales. El desarrollo de formulaciones tópicas ofrece ventajas en términos de tratamiento localizado y reducción de efectos secundarios sistémicos, mejorando la adherencia del paciente y los resultados terapéuticos.^(11,12,13)

En Ecuador, la prevalencia de dermatofitos, está influenciada por diversos factores como son las condiciones ambientales, las prácticas socioculturales, las exposiciones ocupacionales, las rutinas de higiene y el estado inmunológico individual. La ubicación geográfica del país, particularmente en las regiones costeras, proporciona un clima óptimo para el crecimiento de hongos, siendo los trabajadores del campo los de mayor riesgo a estas infecciones, debido a la exposición prolongada a altas temperaturas y humedad. Sin embargo, a pesar de ser frecuentes las enfermedades fúngicas, existe poca evidencia publicada en Ecuador sobre esta temática, lo que obstaculiza el desarrollo de estrategias efectivas de control y monitoreo.^(14,15,16,17)

Esta investigación tiene como **objetivos** evaluar la actividad antifúngica del ketoconazol contra cepas de *M. canis* y desarrollar una formulación en crema farmacéutica para tratar infecciones causadas por este dermatofito. De esta manera se busca contribuir a la búsqueda de un tratamiento efectivo a las dermatofitosis para las personas afectadas. Al avanzar en nuestra comprensión de la patogénesis fúngica, la dinámica de transmisión y las modalidades de tratamiento, este estudio también contribuye a los esfuerzos más amplios dirigidos a combatir las enfermedades fúngicas y proteger la salud pública.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental a través del aislamiento de cepas de *M. canis*, la determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias de ketoconazol y la formulación de una crema antifúngica. Se seleccionaron las áreas en la ciudad de Riobamba, Ecuador, donde existía mayor cantidad de animales callejeros, fundamentalmente perros y gatos en parques. El estudio se llevó a cabo durante el año 2022.

Recolección de Muestras: Se precalentó una lámpara de Wood durante 5 a 10 minutos. En una habitación oscura, se iluminó al animal doméstico seleccionado utilizando la lámpara de Wood. Se examinó cuidadosamente la piel con una lupa para observar si la epidermis emitía fluorescencia verde-amarillo o verde manzana. Los pelos sospechosos se expusieron a la lámpara durante 3 a 5 minutos. Para prevenir falsos positivos, era crucial un examen minucioso del área afectada, ya que las células muertas de la piel o ciertos medicamentos podrían generar fluorescencia⁽¹⁸⁾.

Técnica de Mackenzie (pelos infectados): El área infectada se cepilló utilizando un cepillo de dientes suave durante 2-3 minutos o hasta que las cerdas del cepillo estuvieran llenas de pelos. El cultivo se inoculó introduciendo las cerdas del cepillo en el medio, evitando la sobrecarga⁽¹⁹⁾.

Escamas: Las muestras también se podían obtener cortando un trozo de cinta adhesiva y colocándola directamente o después de raspar el área para recolectar una muestra más concentrada⁽¹⁹⁾.

Cultivo: Las muestras (pelos, escamas, uñas) se colocaron directamente en placas de Petri que contenían agar mycosel. La temperatura de incubación varió dependiendo de la fuente de la muestra; las muestras tomadas de superficies infectadas se incubaron entre 22-25°C.⁽¹⁹⁾

Identificación:

Observación Macroscópica: Se observó la coloración del micelio, la producción de pigmentos en el medio y el color del reverso de la placa, con el objetivo de observar estructuras lo más intactas posible. La observación directa se realizó en la placa de Petri o con la ayuda de una lupa.

Observación Microscópica: La técnica de la cinta adhesiva implicó colocar una gota de lactofenol azul en un portaobjetos de microscopio, cortar un fragmento de cinta adhesiva y presionarlo ligeramente sobre el hongo cultivado, colocando el lado adhesivo sobre el colorante, cubriendo la preparación con otro portaobjetos y observando bajo el microscopio.

Determinación de Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI): La concentración mínima inhibitoria se determinó utilizando una técnica modificada CLSI M38-A(20). Se empleó medio RPMI 1640 con fenol rojo, sin bicarbonato de sodio (Sigma-Aldrich) con glutamina. El medio RPMI 1640 fue suplementado con 3,34 g de MOPS (Sigma-Aldrich) y ajustado a un pH de 6,9. Se preparó una solución stock de Ketoconazol a partir de tabletas comerciales a una concentración de 1600 µg/ml en DMSO.

Se aplicó la prueba T para determinar si la media de cada placa era igual a la CMI declarada de 4 µg/mL, para ello se constató que los datos para cada una de las placas seguían una distribución normal, a través del estadístico de Anderson Darling.

Preparación del Inóculo: Para alcanzar una concentración de 1x10⁶ Unidades Formadoras de Colonias (UFC), se utilizó un tubo estéril conteniendo solución salina (0,85 %) para suspender las colonias usando un asa previamente sumergida en Tween 20. Al agitar vigorosamente esta suspensión, se realizó el recuento de conidios utilizando una cámara de Neubauer. Se preparó una placa de 96 pocillos con 200 µL de solución RPMI y diferentes diluciones de la solución stock de ketoconazol de 0.06-32 µg/ml, para luego añadir 100 µL de inóculo en cada pocillo y analizar el crecimiento.

Formulación de la Crema:

Para preparar la crema de ketoconazol basada en la cream based on the MIC (CMI, por sus siglas en inglés), se realizaron los siguientes cálculos:

$$X_{gKTZ} = 4 \frac{\mu g}{mL} \times \frac{1g}{10^6 \mu g} = 0.00004 gKTZ$$

$$X = \frac{2 gKTZ \text{ commercial}}{0.00004 gKTZ} = 50\ 0000 \text{ times}$$

Donde X_{gKTZ} representa los gramos de ketoconazol (KTZ) necesarios para inhibir el crecimiento del microorganismo a partir de los 4 µg/mL obtenidos mediante el método de microdilución.

Formulación A: Los componentes de la fase oleosa (Fase A), incluyendo 15 g de alcohol cetílico y 1 g de cera de abejas, se fundieron en un recipiente, mientras que el agua purificada (Fase B) se calentó a 70°C en otro recipiente. Posteriormente, la fase acuosa compuesta por 100 g de agua purificada, 10 g de propilenglicol, 2 g de laurilsulfato de sodio, 0,2 g de metilparabeno y 0,02 g de propilparabeno se vertió sobre la fase oleosa con agitación moderada. Paralelamente, la fase complementaria (Fase C), compuesta por 2 g de ketoconazol, 2 g de glicerina y EDTA, se pulverizó en un mortero. Se añadió una pequeña cantidad de la crema preparada al mortero hasta obtener una pasta homogénea, luego se agregó el resto de la crema y se mezcló cuidadosamente. La crema final se almacenó en un recipiente opaco y herméticamente cerrado, y se refrigeró para su conservación.

Formulación B: En la fase oleosa se incluyeron 15 g de alcohol cetílico y 1 g de cera de abejas. La fase acuosa consiste en agua purificada, en cantidad suficiente para alcanzar un total de 100 g, a la que se añaden 0,5 g de ácido cítrico, 10 g de propilenglicol, 2 g de laurilsulfato de sodio, 0,2 g de metilparabeno y 0,02 g de propilparabeno. Finalmente, la fase complementaria contiene 2 g de ketoconazol y 2 g de glicerina. Esta formulación ha sido diseñada para maximizar la eficacia antifúngica del ketoconazol asegurando una adecuada estabilidad y tolerancia dérmica.

Esta investigación respetó los principios éticos de la investigación experimental en animales y contó con la aprobación del comité científico de la Universidad Nacional de Chimborazo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

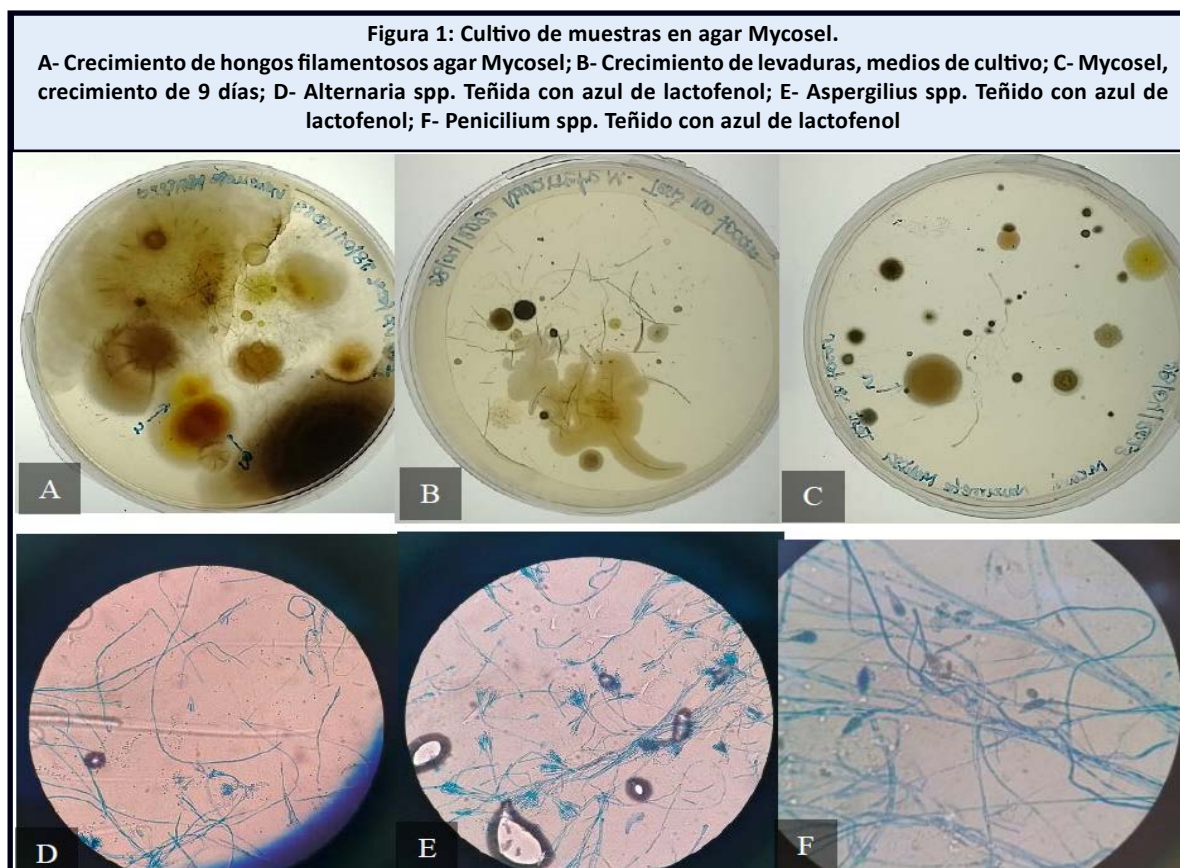
Recolección de muestras y aislamiento del microorganismo

Las muestras recolectadas de perros y gatos, mostraban signos de dermatofitos, caracterizado principalmente por alopecia en áreas como las patas o cerca de la cola, y en algunos casos en la cabeza. El color verde manzana característico observado bajo la lámpara de Wood, indicativo de infección por *Microsporum canis*, fue evidente en el pelo afectado, atribuido a la presencia de pteridina, un metabolito principalmente localizado en la corteza o parte central del tallo del cabello. Aproximadamente del 30 al 80 % de los pelos infectados con este dermatofito mostraron fluorescencia. A diferencia de otros patógenos cutáneos, la mayoría de los hongos no fluorescen bajo la lámpara de Wood, lo que la convierte en una herramienta confiable para excluir la dermatofitosis causada por otras especies. De manera similar, no se observó fluorescencia al iluminar escamas, costras o cultivos fúngicos. Las infecciones por *M. canis* en animales pequeños se detectan en el 30 al 40 % de los casos.⁽²¹⁾

La recolección de muestras involucró el uso de cepillos de dientes, la extracción de pelos infectados con pinzas y el raspado de la costra formada por el hongo. Cada muestra fue depositada luego en un recipiente estéril para su posterior evaluación en el laboratorio. La inoculación se realizó presionando las cerdas del cepillo de dientes sobre el agar, una técnica que se cree produce resultados más confiables con una presencia mínima de hongos contaminantes en comparación con la transferencia de escamas y pelos recolectados con el cepillo⁽¹⁹⁾.

Los perros callejeros produjeron una variedad de hongos filamentosos y levaduras no identificadas, como se presenta en la Figura 1. Los hongos filamentosos incluyeron especies de *Penicillium spp.*, *Alternaria spp.* y *Aspergillus spp.*, todos patógenos oportunistas. *Aspergillus spp.* (Figura 1D) es conocido por causar aspergilosis en animales domésticos y puede encontrarse en varios sustratos, incluidos alimentos y suelo⁽²²⁾. *Alternaria spp.*, un hongo filamentoso perteneciente al filo Ascomycota (Figura 1E), se encuentra comúnmente en vegetales en descomposición, suelo y ambientes interiores⁽²³⁾. *Penicillium spp.*, otro hongo filamentoso perteneciente al filo Ascomycota (Figura 1F), está ampliamente distribuido en varios alimentos y ambientes interiores, y puede causar alergias e irritación al ser inhalado⁽²⁴⁾. El uso del medio SDA, que contiene altas concentraciones de glucosa, resultó en anomalías morfológicas y pleomorfismo en dermatofitos debido a procesos de envejecimiento. El agar Mycosel, un agar basado en la fórmula Sabouraud Dextrosa Agar (SDA), contiene cloramfenicol (para prevenir el crecimiento bacteriano) y cicloheximida (para prevenir la contaminación por otros hongos). La ausencia de esporulación y la contaminación con hongos ambientales son las razones principales para la eliminación de aislados⁽²⁵⁾.

Los hongos capaces de degradar queratina, conocidos como dermatofitos, están presentes en el medio ambiente y pueden afectar diversos tejidos y órganos en animales y humanos. Estos hongos, clasificados como antropofílicos, zoofílicos o geofílicos, prosperan en hábitats específicos según las características del suelo, el clima y la ubicación geográfica. La técnica del anzuelo de queratina implicó seleccionar áreas con una alta concentración de animales callejeros, preferiblemente lugares donde los perros duermen comúnmente, como parques. Antes del experimento, las placas de Petri y el cabello de caballo se esterilizaron en una campana de flujo laminar, manteniendo la esterilidad durante todo el proceso. Las placas de Petri se llenaron con una pequeña cantidad de pelo, se cubrieron con suelo humedecido con agua destilada estéril, se sellaron con Parafilm y se incubaron.



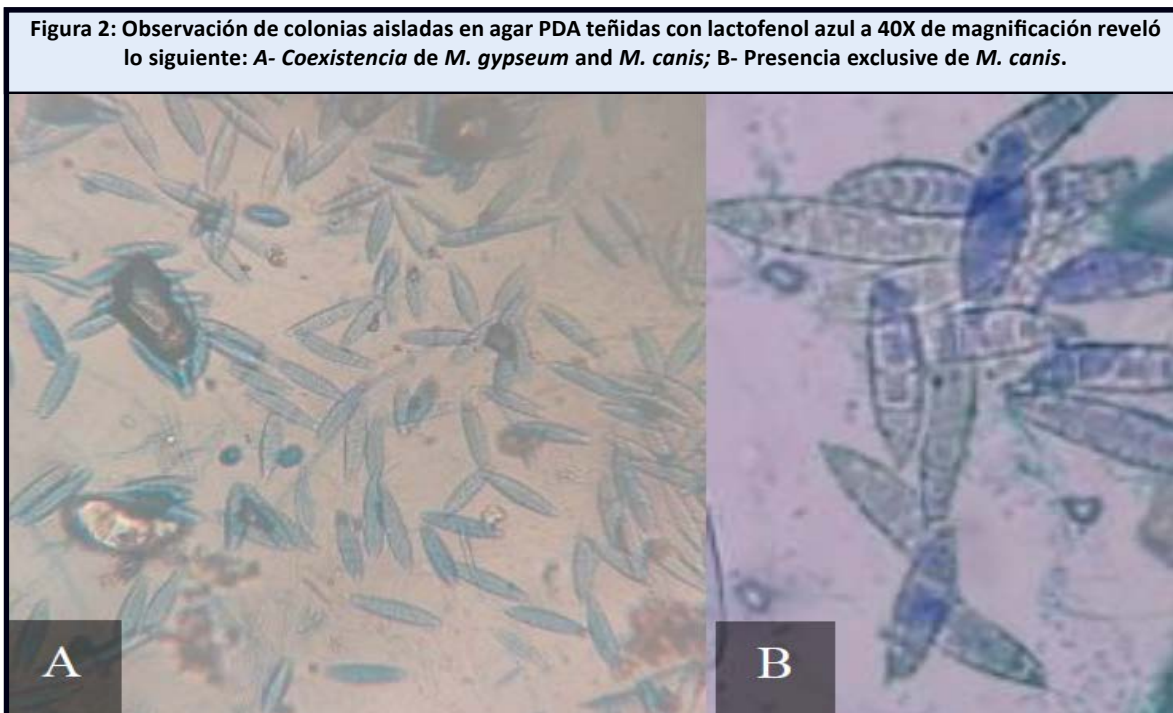
Incubación de placas (Técnica de anzuelo de pelo)

Las placas fueron incubadas a la temperatura ambiente, aproximadamente 12°C. Aunque las condiciones procedimentales descritas por Ramos *et al.*⁽²⁶⁾, que incluyen un ciclo de luz fluorescente de 12 horas seguido de un período de oscuridad de 12 horas e intervalos periódicos de inspección a los 15, 30, 45 y 60 días, no fueron estrictamente seguidas en esta investigación, la evaluación del crecimiento se realizó a intervalos de 5, 7 y 10 días. Notablemente, se observó una proliferación robusta de dermatofitos en el día 10, lo que indica una exitosa colonización del cebo.

Cultivo y aislamiento de microorganismos en agar Potato Dextrose Agar PDA (por sus siglas en inglés)

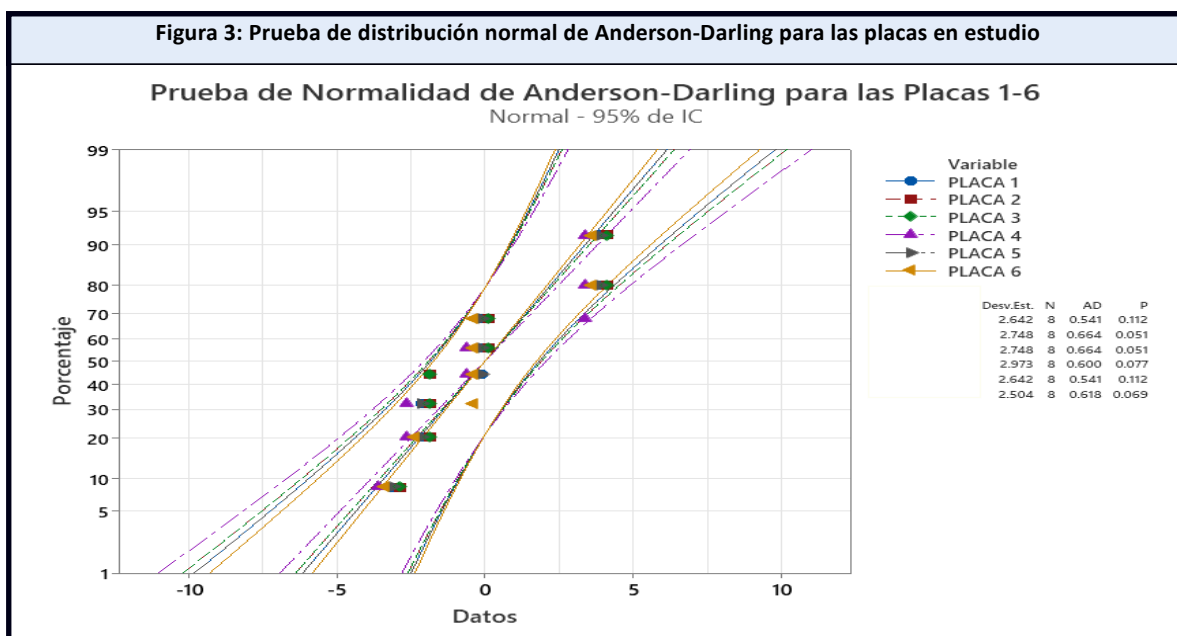
Especímenes de pelo infectado fueron cultivados en agar PDA y monitoreados a los 3 y 7 días post-inoculación. Posteriormente, se observó la aparición de un crecimiento micelial beige redondeado, caracterizado por una consistencia algodonosa y un reverso color marrón-amarillento. Siguiendo la metodología de Ramos *et al.*⁽²⁶⁾, se realizó la enumeración de especies por muestra de manera individual en ambas instancias experimentales. Se obtuvieron cultivos puros utilizando agar PDA.

De estos cultivos, se empleó el método de cinta adhesiva para obtener muestras de colonias, seguido de tinción con lactofenol azul para la identificación de microorganismos. Según lo reportado por Sarmiento *et al.*⁽²⁷⁾, el enfoque de cebo de queratina facilitó el aislamiento de diversas especies fúngicas queratinofílicas a partir de muestras de suelo recolectadas en parques urbanos de la ciudad de Corrientes, Argentina, incluyendo notablemente a *Microsporium canis*. Adicionalmente, otra especie representativa del género *Microsporium*, *M. gypseum*, fue aislada exitosamente (Figura 2).



Determinación de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias

La figura 3 muestra los resultados de la prueba de distribución normal, por lo que se puede afirmar que con un nivel de confianza del 95 % los datos para cada una de las placas siguen una distribución normal.



Los resultados de la tabla 1 permiten afirmar que con un nivel de confianza del 95 %, la CMI media de las placas es igual a 4 µg/mL.

Tabla 1: Prueba T de cada una de las placas bajo estudio		
Muestra	Prueba T	
	Valor T	Valor p
PLACA 1	0,13	0,897
PLACA 2	-0,13	0,901
PLACA 3	-0,13	0,901
PLACA 4	0,59	0,571
PLACA 5	0,13	0,897
PLACA 6	0,42	0,685

Se observó turbidez desde el crecimiento del control hasta 2 µg/ml, mientras que el bien que mostraba una turbidez del 10 % relativa al control de esterilidad (SC) fue identificado en 2 µg/ml. Según la directriz estándar del CLSI⁽²⁰⁾ para hongos filamentosos, la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se establece cuando hay una inhibición completa del crecimiento por ketoconazol. Así, el bien sin turbidez se considera la CMI en el contexto de los medicamentos azoles, por lo tanto, el pozo con un valor de 4 µg/ml representa la CMI obtenida. Ledezma *et al.*⁽²⁸⁾ reportaron CMIs de ketoconazol contra dos cepas diferentes de *M. canis* como 1,59 µg/ml y 5,31 µg/ml, respectivamente, y la concentración determinada se encuentra dentro de estos rangos. Las limitaciones en la directriz M38-A⁽²⁰⁾ surgen de su exclusión de ciertos hongos filamentosos patógenos como los dermatofitos. En consecuencia, solo se consideraron las macroconidias en el recuento, lo que llevó a variaciones significativas en los resultados. Además, la directriz carece de puntos de corte para antifúngicos, lo que motiva la consideración de la sensibilidad de otros géneros como *C. albicans*⁽²⁹⁾. Para *C. albicans*, el punto de corte para el ketoconazol es el siguiente: R (Resistente) ≤0,05 S (Sensible), entre 0,05 y 4 µg/ml moderadamente sensible, y >4 µg/ml Resistente. Por lo tanto, el resultado de 4 µg/ml se clasifica como I (Intermedio), indicando una sensibilidad moderada. Estos resultados son consistentes con los mecanismos de acción de los antifúngicos, los cuales pueden variar dependiendo del número de macroconidias e hifas debido a diferencias en el grosor de su pared celular⁽³⁰⁾. Además, las pruebas in vitro pueden no reflejar con precisión la susceptibilidad in vivo de algunos hongos, especialmente *Candida*.

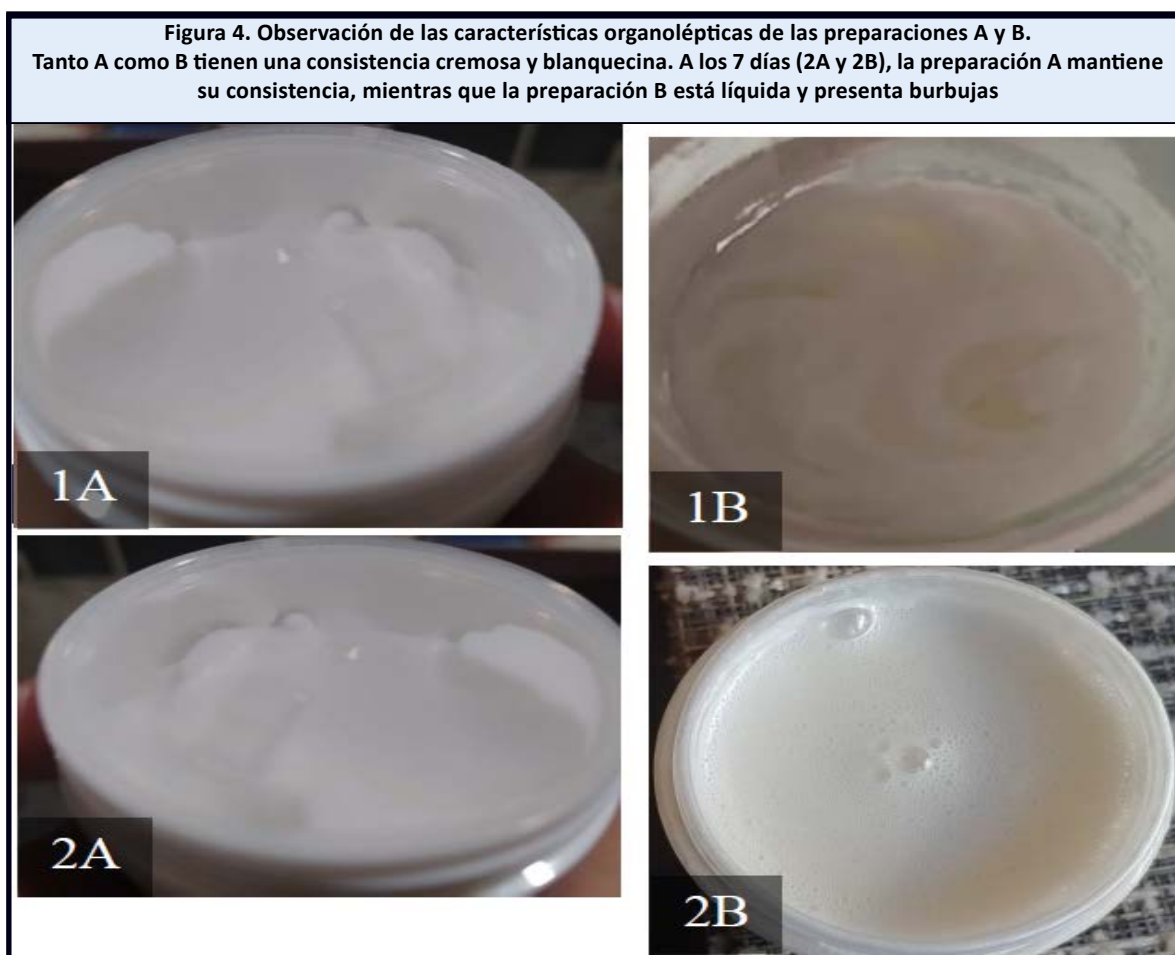
Elaboración de la formulación en crema

Siguiendo las formulaciones y cantidades presentadas en la sección de Materiales y Métodos, se utilizaron características organolépticas para detectar cambios en el producto, que son percibidos por los órganos sensoriales, como la apariencia, color, olor, sabor y textura, según se presenta en la Tabla 2. Estas características ayudan a identificar alteraciones como la oxidación (cambio de color), aparición de grumos, separación de fases, precipitación, etc.

Tabla 2: Características organolépticas evaluadas en cada formulación (A y B) después de 1 y 7 días				
Parámetro	Tiempo (días)			
	T1 (1 día)		T2 (7 días)	
	Formulación A	Formulación B	Formulación A	Formulación B
Apariencia	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Líquido y burbujeante
Olor	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno
Color	Blancuzco	Blancuzco	Blancuzco	Beige
Residuo en la piel después del uso	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno
Sensación al tacto	Untuoso, sin grumos	Untuoso, sin grumos	Untuoso, sin grumos	Viscoso

La base Beeler es una emulsión con buena capacidad de extensibilidad y alta evanescencia, lo que permite la formulación de cremas con ingredientes activos que son difíciles de incorporar con facilidad y seguridad. Su naturaleza aniónica se atribuye al laurilsulfato de sodio (emulsionante). Los ingredientes activos comúnmente incorporados en esta base incluyen Hidroquinona (2-5 %), Metronidazol (1 %) y Ketoconazol (2 %). Es incompatible con ácidos fuertes, surfactantes y activos catiónicos como gentamicina, clindamicina, lidocaína, etc.⁽³¹⁾. La fórmula para crear la base Beeler es: alcohol cetílico 15 g, cera blanca 1 g, propilenglicol 10 g, laurilsulfato de sodio 2 g, agua purificada c.s.p. 100 g⁽³²⁾. Ambas formulaciones tienen los mismos ingredientes, pero en el caso de la primera formulación, se utiliza EDTA como antioxidante, mientras que la otra formulación utiliza ácido cítrico.

Según de Oliveira⁽³³⁾, el antioxidante recomendado para formulaciones compuestas con ketoconazol es el metabisulfito de sodio o el EDTA. Por ejemplo, el EDTA se utiliza en una cantidad de 0,1 g por 25 g o 0,4 g por 100 g disuelto en agua a temperatura ambiente. En contraste, el ácido cítrico se usa en una proporción de 0,5 g por 25 g o 2 g por 100 g. Como se muestra en la Tabla 2 y la Figura 4, la Crema B no presentó una coloración rosa, lo que indica que el antioxidante en una cantidad de 0,5 g funciona adecuadamente. Sin embargo, puede no funcionar como agente antibacteriano, lo que sugiere que la presencia de burbujas podría ser debido al crecimiento microbiano en la crema, dado que había una cantidad insuficiente de conservante en el semisólido. Además, como describe Alía⁽³⁴⁾, la aparición de burbujas puede ser resultado de una agitación inadecuada, lo que lleva al deterioro de la crema y su transformación de un estado semisólido a líquido. Estudios clínicos indican que la crema de ketoconazol al 2 % utilizada dos veces al día fue tan efectiva como la crema de clotrimazol al 1 % utilizada dos veces al día para el tratamiento de tiña corporal, tiña inguinal o tiña del pie. La crema de ketoconazol al 2 % ha sido efectiva en algunos pacientes para el tratamiento tópico de tiña del pie que se extiende más allá de las áreas interdigitales (por ejemplo, tiña del pie de tipo moccasin).⁽³⁵⁾



La principal contribución de este estudio es la preparación de una crema antifúngica que se elaboró utilizando una concentración determinada aumentada en 50 000 veces, resultando en un semisólido con una concentración del medicamento al 2 %. Se probaron dos formulaciones con diferentes antioxidantes, demostrando ambas ser efectivas para prevenir la decoloración rosada característica asociada con la oxidación del ingrediente activo, ketoconazol (KTZ). Sin embargo, el EDTA a una concentración de 0,5 g/100 g de crema mejoró la función conservante de los parabenos y extendió la vida útil en comparación con la preparación con ácido cítrico.

CONCLUSIONES

Se empleó la prueba cualitativa con lámpara de Wood para detectar *Microsporium canis* en animales domésticos, obteniendo en su mayoría resultados positivos. Sin embargo, al cultivar el microorganismo, se encontraron diversas levaduras y otros hongos filamentosos que no correspondían a dermatofitos. Esto resalta la necesidad de complementar la prueba cualitativa con el examen directo de muestras recolectadas (tricograma) y el uso de medios de cultivo adecuados para una identificación precisa. La contaminación de los cultivos con hongos saprofitos y el uso de medios de cultivo inductores de pleomorfismo también dificultaron el aislamiento del microorganismo. Además, la técnica del gancho de queratina facilitó el aislamiento de varias especies de hongos, incluyendo *Microsporium gypseum*, otro agente dermatofito.

La guía estandarizada para hongos filamentosos en CLSI M38-A no ofrece información metodológica específica para dermatofitos, lo que plantea desafíos en la determinación de Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) utilizando este método. Los resultados de CMI variaron entre estudios e incluso entre cepas de la misma especie. Utilizando los puntos de corte de CMI para *Candida albicans*, el resultado obtenido de 4 µg/mL indica que *M. canis* muestra sensibilidad intermedia al fármaco.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. de Pauw BE. What are fungal infections?. *Mediterr J Hematol Infect Dis* [Internet]. 2011 [Citado 02/06/2023];3(1):e2011001. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21625304>
2. Rodrigues ML, Nosanchuk JD. Fungal diseases as neglected pathogens: A wake-up call to public health officials. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2020 Feb [Citado 02/06/2023];14(2):e0007964. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32078635>
3. Pasquetti M, Min ARM, Scacchetti S, Dogliero A, Peano A. Infection by *Microsporium canis* in Paediatric Patients: A Veterinary Perspective. *Vet Sci* [Internet]. 2017 Sep 19 [Citado 02/06/2023];4(3). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29056704>
4. Cabañes FJ. Ringworm in cats and dogs: New guidelines. *Rev Iberoam Micol* [Internet]. 2021 Jan [Citado 02/06/2023];38(1):1–2. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1130140620300206>
5. A.Makawi Z, Yasin Jassim S. Prevalence and Risk Factors for *Giardia* Species in Livestock Animals of Iraq. *Bionatura* [Internet]. 2023 Sep 15 [Citado 02/06/2023];8(3):1–6. Disponible en: <https://www.revistabionatura.com/2023.08.03.95.html>
6. Segal E, Elad D. Human and Zoonotic Dermatophytoses: Epidemiological Aspects. *Front Microbiol* [Internet]. 2021 Aug 6 [Citado 02/06/2023];12. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.713532/full>
7. Martinez-Rossi NM, Peres NTA, Bitencourt TA, Martins MP, Rossi A. State-of-the-Art Dermatophyte Infections: Epidemiology Aspects, Pathophysiology, and Resistance Mechanisms. *J fungi (Basel, Switzerland)* [Internet]. 2021 Aug 3 [Citado 02/06/2023];7(8). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34436168>
8. Saied Hamied A. Submission and Phylogenetical of Local Isolated *Trichophyton interdigitale* of Iraqi Patients in NCBI. *Bionatura* [Internet]. 2022 Sep 15 [Citado 02/06/2023];7(3):1–5. Disponible en: <https://www.revistabionatura.com/2022.07.03.25.html>
9. Greywal T, Friedlander SF. Dermatophytes and Other Superficial Fungi. En su: *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases* [Internet]. Philadelphia: Elsevier; 2018. pp. 1282-1287.e2 [Citado 02/06/2023]. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323401814002541>
10. Khoza S, Moyo I, Ncube D. Comparative Hepatotoxicity of Fluconazole, Ketoconazole, Itraconazole, Terbinafine, and Griseofulvin in Rats. *J Toxicol* [Internet]. 2017 [Citado 02/06/2023];2017:1–9. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/jt/2017/6746989/>
11. Sinawe H, Casadesus D. Ketoconazole [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [Citado 02/06/2023]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31643176>
12. Ghannoum MA, Rice LB. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 1999 Oct [Citado 02/06/2023];12(4):501–17. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10515900>
13. Jorge LL, Feres CC, Teles VE. Topical preparations for pain relief: efficacy and patient adherence. *J Pain Res* [Internet]. 2010 Dec 20 [Citado 02/06/2023];4:11–24. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21386951>
14. Rahman MT, Sobur MA, Islam MS, Levy S, Hossain MJ, El Zowalaty ME, et al. Zoonotic Diseases: Etiology, Impact, and Control. *Microorganisms* [Internet]. 2020 Sep 12 [Citado 02/06/2023];8(9):1405. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/9/1405>
15. Albán Jácome GE, Fernández Andreu CM, Illnait Zaragoza MT. Dermatofitosis en Ecuador. *INSPIPILIP* [Internet]. 2021 May 26 [Citado 02/06/2023];5(1). Disponible en: <https://www.inspilip.gob.ec/index.php/inspi/article/view/9>
16. Kruihoff C, Gamal A, McCormick TS, Ghannoum MA. Dermatophyte Infections Worldwide: Increase in Incidence and Associated Antifungal Resistance. *Life* [Internet]. 2023 Dec 19 [Citado 02/06/2023];14(1):1. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2075-1729/14/1/1>
17. Keshwania P, Kaur N, Chauhan J, Sharma G, Afzal O, Alfawaz Altamimi AS, et al. Superficial Dermatophytosis across the World's Populations: Potential Benefits from Nanocarrier-Based Therapies and Rising Challenges. *ACS Omega* [Internet]. 2023 Sep 5 [Citado 02/06/2023];8(35):31575–99. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.3c01988>
18. Al Aboud DM, Gossman W. Wood's Light [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [Citado 02/06/2023]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30014596>
19. Sanmiguel D. Dermatofitosis: claves diagnosticas en la consulta dermatológica. *Dermatología* [Internet]. Wallingford: CABI Digital library; 2020 [Citado 02/06/2023]. Disponible en: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20203417496>
20. CLSI. M38: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. 3 ed [Internet]. Pennsylvania: Clin Lab Stand Inst; 2017 [Citado 02/06/2023]. Disponible en: https://clsi.org/media/1894/m38ed3_sample.pdf

21. Patel A. Dermatología de pequeños animales. Soluciones Saunders en la práctica Vet [Internet]. España: Elsevier España; 2010 [Citado 02/06/2023] Disponible en: <https://books.google.de/books?id=mGVVzHRQexAC>
22. Paulussen C, Hallsworth JE, Álvarez-Pérez S, Nierman WC, Hamill PG, Blain D, et al. Ecology of aspergillois: insights into the pathogenic potency of *Aspergillus fumigatus* and some other *Aspergillus* species. *Microb Biotechnol* [Internet]. 2017 Mar [Citado 02/06/2023];10(2):296–322. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27273822>
23. Simões D, de Andrade E, Sabino R. Fungi in a One Health Perspective. *Encyclopedia* [Internet]. 2023 Jul 23 [Citado 02/06/2023];3(3):900–18. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2673-8392/3/3/64>
24. Xing H, Wang J, Sun Y, Wang H. Recent Advances in the Allergic Cross-Reactivity between Fungi and Foods. *J Immunol Res* [Internet]. 2022 [Citado 02/06/2023];2022:7583400. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36249419>
25. Kidd S. Descriptions of medical fungi. En su: *Fungus* [Internet]. Australia: Adelaide; 2016 [Citado 02/06/2023]. Disponible en: <https://www.adelaide.edu.au/mycology/ua/media/1596/fungus3-book.pdf>
26. Ramos-García B, Abreu Hernández S, Fraga Ruíz S, Meléndez Ferrer O, Castañeda Ruíz RF. Diversity of keratinophilic fungi present in nine areas of horticultural production of the Habana County, Cuba. *Rev Cubana Ciencias Biológicas*. 2023;9(2).
27. Sarmiento MM, Mangiaterra M, Bojanich MV, Basualdo JÁ, Giusiano G. Hongos queratinofílicos en suelos de parques de la ciudad de Corrientes, Argentina. *Rev Iberoam Micol* [Internet]. 2016 Jan [Citado 02/06/2023];33(1):7–12. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1130140615000352>
28. Ledezma E, Teresa Maniscalchi M, Lemus Espinoza D. Sinergismo entre ajoeno y ketoconazol en aislamientos de *Microsporum canis*. Un estudio preliminar mediante la determinación de la concentración inhibitoria fraccional (CIF). *Rev Iberoam Micol* [Internet]. 2008 Sep [Citado 02/06/2023];25(3):157–62. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1130140608700378>
29. Naeem Jasim NA, Al-humairi RM, Hashim Mohammad TA, Hussein R. Synergistic Treatment of *Candida albicans* Infected Mice by AgNPs Synthesis *Penicillium chrysogenum*. *Bionatura* [Internet]. 2023 Aug 15 [Citado 02/06/2023];8(CSS1):1–10. Disponible en: <https://www.revistabionatura.com/files/2023.08.01.67.pdf>
30. Fernández-Torres B, Inza I, Guarro J. Comparison of in vitro antifungal susceptibilities of conidia and hyphae of dermatophytes with thick-wall macroconidia. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2003 Oct [Citado 02/06/2023];47(10):3371–2. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14506062>
31. Guzmán E, Ortega F, Rubio RG. Pickering Emulsions: A Novel Tool for Cosmetic Formulators. *Cosmetics* [Internet]. 2022 Jun 27 [Citado 02/06/2023];9(4):68. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-9284/9/4/68>
32. Fernández-montes EA. Recursos tecnológicos y procedimientos en formulación magistral dermatológica. *Farm Prof*. 2012;26(2).
33. de Oliveira Ferreira A. Excipientes y Adyuvantes Farmacotécnicos. *Excipientes Farm* [Internet]. 2015 [Citado 02/06/2023];2. Disponible en: <https://dokumen.tips/documents/excipientes-e-adyuvantes-farmacotecnicos.html>
34. Alía E. Estudio de la Eficacia de Sistemas Antioxidantes en una emulsión de hidroquinona al 5%. *Formulación Magistral* [Internet]. 2012 [Citado 02/06/2023];29. Disponible en: <http://www.formulacionmagistral.org/wp-content/uploads/INVESTIGACION-HIDROQUINONA-DR-ALIA.pdf>
35. Suschka S, Fladung BF, Merk H. Clinical comparison of the efficacy and tolerability of once daily Canesten® with twice daily Nizoral® (clotrimazole 1% cream vs . ketoconazole 2% cream) during a 28-day topical treatment of interdigital tinea pedis. *Mycoses* [Internet]. 2002 Apr 16 [Citado 02/06/2023];45(3–4):91–6. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1439-0507.2002.00724.x>

Financiamiento

Esta investigación no recibió financiamiento externo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Contribución de autoría

Carmen Viviana Basantes Vaca: Conceptualización; adquisición de fondos; investigación; metodología; administración de proyecto; supervisión; validación; visualización; redacción - borrador original; redacción-revisión y edición.

Paulina Fernanda Parra Álvarez: Conceptualización; adquisición de fondos; administración de proyecto; validación; visualización; redacción - borrador original; redacción-revisión y edición.

Gabriela Joseth Serrano Torres: Conceptualización; adquisición de fondos; recursos; validación; visualización; redacción - borrador original; redacción-revisión y edición.

Silvia Hipatia Torres Rodríguez: Conceptualización; adquisición de fondos; recursos; validación; visualización; redacción - borrador original; redacción-revisión y edición.

Lesli Melissa Navarrete Reino: Conceptualización; curación de datos; análisis formal; investigación; metodología; recursos; software; validación; visualización; redacción - borrador original; redacción-revisión y edición.

Todas las autoras participamos en la discusión de los resultados y hemos leído, revisado y aprobado el texto.