



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

---

**EMULGEL DE SULFATO DE AMIKACINA COMO NUEVA  
ALTERNATIVA DE ADMINISTRACIÓN TÓPICA PARA EL  
TRATAMIENTO DEL MICETOMA OCASIONADO POR  
*ACTINOMADURA MADURAE*: DISEÑO Y  
CARACTERIZACIÓN**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADA EN FARMACIA**

**PRESENTA:**

**KARLA STELLA CONSTANTINO GONZÁLEZ**

**ASESOR:**

**DR. JOSÉ JUAN ESCOBAR CHÁVEZ**

**COASESORA:**

**DRA. MIRIAM LÓPEZ CERVANTES**

**CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO 2016.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

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

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

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

**Emulgel de sulfato de amikacina como nueva alternativa de administración tópica para el tratamiento del micetoma ocasionado por *Actinomadura madurae*: diseño y caracterización.**

Que presenta la pasante: **Karla Stella Constantino González**  
Con número de cuenta: **411006279** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Farmacia**

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

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 14 de Octubre de 2016.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	M.F.C. Beatriz de Jesús Maya Monroy	
<b>VOCAL</b>	Dr. José Juan Escobar Chávez	
<b>SECRETARIO</b>	Dr. Roberto Díaz Torres	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Q.F.B. Patricia Jeane Domínguez Quiñones	
<b>2do. SUPLENTE</b>	Q.F.B. Elisa Pedraza Vázquez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga\*

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, el creador todo poderoso del universo, aquel que conoce todo, crea todas las cosas y está en todas partes en todo momento, gracias por permitirme vivir en este tiempo y espacio.

A mis padres, con todo el amor que puede existir dentro de mí. Gracias por amarme y aceptarme desde el primer momento de mi existencia, por alentarme a ser una mejor persona cada día, por enseñarme las lecciones más difíciles que me han demostrado lo fuerte que puedo ser. Nunca podré terminar de agradecerles el cariño, las enseñanzas, los cuidados, la paciencia, los consejos y toda la historia que hemos construido.

A mi hermano, por ser el mejor hermano que la vida me pudo dar, por ser alguien de quien siempre puedo sentirme orgullosa, gracias por estar delante de mí para guiarme, a mi lado para acompañarme y detrás de mí para no dejarme dar por vencida. Sin ti mi vida no podría ser la misma y no sería tan divertida y graciosa.

A mi familia por ser un apoyo incondicional.

A mis amigas Karen, Gaby, Blan y Chío, porque esta historia la comenzamos juntas desde el kinder y son muy importantes para mí.

A mis amigos de la universidad Aby, Paty, Bety y Rey, por compartir tantos momentos felices y frustrantes durante estos años mientras éramos equipo, por aguantar mis buenos y muy malos momentos. Gracias por tanto tiempo.

A mis "Champs", porque desde que llegaron a mi vida todo ha sido mejor y más divertido. Gracias por acompañarme:

Pablo, gracias por ser mi "pre-doctor bicampeón" favorito en el mundo, por todo el apoyo que me brindaste durante la realización de esta tesis; por ser un gran amigo y estar a mi lado en todos los momentos de frustración y alentarme a seguir adelante.

Rodrigo, gracias por compartir conmigo el término de esta etapa, por siempre estar a mi lado a pesar de todos mis malos ratos. Gracias por siempre creer y confiar en mí, por alentarme a seguir adelante, te agradezco todo tu cariño y paciencia.

Tomás, gracias por todos los buenos ratos y aventuras que hemos vivido en este tiempo.

A mis compañeros de generación 3 y 4 por vivir la aventura universitaria junto a mí.

A la Dra. Miriam y al Dr. José Juan, por darme la oportunidad de trabajar en el Laboratorio 12, por el apoyo, la confianza y el tiempo dedicados a la realización de este proyecto.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme formar parte de ella, por regalarme una de las mejores experiencias de mi vida y hacerme crecer académica y personalmente. Agradezco a todos mis profesores por la dedicación que pusieron en mi formación profesional, estaré agradecida eternamente con ustedes.

A todas las personas que en alguna etapa de mi vida me acompañaron para ayudarme a escribir esta historia, les agradezco todo lo que hemos vivido y aprendido juntos.

Agradecimiento a los proyectos:

PAPIIT IT 200115: "Diseño, desarrollo y caracterización de microagujas poliméricas biodegradables y geles termorreversibles cargados de sustancias de interés terapéutico para el tratamiento de enfermedades como alternativas a la vía oral".

Proyecto PIAPI 1619: "Desarrollo de formas farmacéuticas no convencionales para la administración de fármacos"

$$(\partial + m) \psi = 0$$

Este trabajo se realizó en el Laboratorio 12 “Sistemas transdérmicos y materiales nanoestructurados” de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México.

## ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS .....	xiii
RESUMEN .....	xiv
I. INTRODUCCIÓN .....	15
II. ANTECEDENTES .....	18
1. Micetoma.....	18
1.1. Características generales .....	18
1.2. Etiología .....	20
1.3. Eumicetoma.....	21
1.3.1. Características .....	21
1.3.2. Epidemiología.....	22
1.3.3. Patogénesis y aspectos inmunológicos .....	22
1.3.4. Manifestaciones Clínicas.....	23
1.3.5. Diagnóstico .....	25
1.3.6. Tratamiento .....	26
1.4. Actinomicetoma.....	27
1.4.1. Características .....	27
1.4.2. Epidemiología.....	28
1.4.3. Patogénesis y aspectos inmunológicos .....	29
1.4.4. Manifestaciones clínicas .....	31
1.4.5. Diagnóstico .....	33
1.4.6. Tratamiento .....	34
1.5. <i>Actinomadura madurae</i> .....	36
2. Aminoglucósidos .....	37
2.1. Características generales .....	37
2.2. Mecanismo de acción.....	38
2.3. Resistencia bacteriana .....	40
2.4. Farmacocinética.....	41
2.5. Toxicidad .....	42
3. Amikacina .....	43
3.1. Historia y descripción .....	43
3.2. Estructura Química.....	43
3.3. Propiedades Farmacocinéticas .....	44
3.4. Farmacodinamia .....	45
4. Sistemas semisólidos .....	45
4.1. Definición.....	45
4.2. Propiedades reológicas .....	45
4.3. Emulsiones .....	46

4.3.1. Tipos de emulsiones .....	46
4.4. Geles .....	47
4.4.1. Clasificación .....	47
4.4.2. Propiedades de transición .....	49
4.5. Emulgeles .....	49
5. Piel .....	50
5.1. Características de la piel .....	50
5.2. Epidermis .....	51
5.3. Dermis .....	54
5.4. Hipodermis .....	54
5.5. Anexos de la piel .....	54
6. Vía de administración tópica y transdérmica .....	57
6.1. Ley de Fick .....	57
<b>III. OBJETIVOS .....</b>	<b>59</b>
1. OBJETIVO GENERAL .....	59
2. OBJETIVOS PARTICULARES .....	59
<b>IV. HIPÓTESIS .....</b>	<b>59</b>
<b>V. MATERIALES Y REACTIVOS .....</b>	<b>59</b>
1. REACTIVOS .....	59
2. APARATOS Y EQUIPO .....	60
<b>VI. METODOLOGÍA .....</b>	<b>60</b>
6.1. Métodos de elaboración de los sistemas semisólidos .....	61
6.1.1. Pruebas previas para la formulación del gel .....	61
6.1.1.1. Temperatura de gelificación .....	61
6.1.1.2. Adhesión .....	62
6.1.2. Pruebas previas a la formulación de la emulsión .....	62
6.1.2.1. Selección de la fase acuosa (FA) y oleosa (FO) .....	62
6.1.2.2. Estabilidad acelerada .....	63
6.1.2.3. Tipo de emulsión .....	63
6.1.3. Formulación propuesta para el emulgel .....	63
6.2. Evaluaciones a los sistemas semisólidos .....	64
6.2.1. Propiedades organolépticas .....	64
6.2.2. pH .....	64
6.2.3. Densidad relativa .....	65
6.2.4. Estabilidad acelerada .....	65
6.2.5. Viscosidad .....	65
6.2.6. Extensibilidad .....	66
6.2.7. Adhesión .....	66
6.2.8. Estudios <i>in vitro</i> de absorción percutánea .....	67
<b>VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS .....</b>	<b>67</b>
7.1. Solubilidad del principio activo .....	67

<b>7.2. Elaboración de los sistemas semisólidos</b> .....	67
<b>7.2.1. Pruebas previas para la formulación del gel</b> .....	67
7.2.1.1. Temperatura de gelificación .....	67
7.2.1.2. Adhesión .....	69
7.2.1.3. Viscosidad del gel .....	70
<b>7.2.2. Pruebas previas a la formulación de la emulsión</b> .....	70
7.2.2.1. Selección de la fase acuosa (FA) y oleosa (FO) .....	70
7.2.2.2. Preparación de la emulsión .....	73
7.2.2.3. Estabilidad acelerada .....	73
7.2.2.4. Tipo de emulsión .....	74
7.2.2.5. Viscosidad de la emulsión .....	74
<b>7.3. Formulación del emulgel</b> .....	77
<b>7.4. Evaluaciones a los sistemas semisólidos</b> .....	77
7.4.1. Color, olor y apariencia de los sistemas semisólidos .....	77
7.4.2. pH .....	78
7.4.3. Densidad relativa .....	80
7.4.4. Estabilidad acelerada (centrifugación) .....	81
7.4.5. Extensibilidad .....	82
7.4.6. Adhesión .....	83
7.4.7. Estudios <i>in vitro</i> de absorción percutánea .....	84
<b>VIII. CONCLUSIONES</b> .....	87
<b>IX. PERSPECTIVAS</b> .....	88
<b>X. REFERENCIAS</b> .....	88

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Morfología característica de los granos producidos por organismos causantes de Eumicetoma (Maghoub, 2006).....	20
<b>Tabla 2.</b> Morfología característica de los granos producidos por organismos causantes de Actinomicetoma (Mahgoub, 2006). .....	21
<b>Tabla 3.</b> Organismos causantes de eumicetoma. (Roderick, 2016). .....	21
<b>Tabla 4.</b> Principales agentes causantes de Eumicetoma (Estrada et al., 2012). .....	25
<b>Tabla 5.</b> Agentes causantes de actinomicetoma agrupados por apariencia típica de los granos. (Welsh et al., 2007). .....	28
<b>Tabla 6.</b> Fármacos utilizados para el tratamiento de infecciones por actinomicetos aerobios. ....	34
<b>Tabla 7.</b> Principales características farmacocinéticas de los aminoglucósidos en el adulto (Lorenzo et al., 2008). .....	41
<b>Tabla 8.</b> Principales funciones de la piel (Colín-Colín, 2016). .....	50
<b>Tabla 9.</b> Formulación base para la emulsión. ....	62
<b>Tabla 10.</b> Pruebas para cada sistema semisólido: emulsión, gel y emulgel. ....	64
<b>Tabla 11.</b> Temperatura de gelificación de geles de Pluronic F-127 a distintas concentraciones. ....	68
<b>Tabla 12.</b> Viscosidad de distintas concentraciones de gel de PF-127® a 60 rpm.....	70
<b>Tabla 13.</b> Cálculo de HLB requerido para la formulación de la emulsión del emulgel. ....	70
<b>Tabla 14.</b> Cálculo de la cantidad de surfactantes para la emulsión del emulgel. ....	72
<b>Tabla 15.</b> Formulaciones propuestas para la formulación de la emulsión de AMK. ..	72
<b>Tabla 16.</b> Resultados de la determinación del tipo de emulsión. ....	74
<b>Tabla 17.</b> Resultados de viscosidad de la emulsión a temperatura ambiente (25° C). ....	75
<b>Tabla 18.</b> Composición de emulgel de AMK. ....	77
<b>Tabla 19.</b> Características organolépticas de los sistemas semisólidos: emulsión, gel y emulgel. ....	78
<b>Tabla 20.</b> Resultados de la determinación de pH en los sistemas semisólidos: emulsión, gel y emulgel. ....	79
<b>Tabla 21.</b> Valores de pH obtenidos para el emulgel durante 6 meses. ....	79

<b>Tabla 22.</b> Resultados de la densidad relativa de tres sistemas semisólidos: emulsión, gel y emulgel. ....	80
<b>Tabla 23.</b> Resultados de la prueba de estabilidad acelerada de la emulsión y el emulgel. ....	81
<b>Tabla 24.</b> Resultados del área (mm <sup>2</sup> ) de los sistemas semisólidos: emulsión, gel y emulgel. ....	82
<b>Tabla 25.</b> Resultados de la prueba de adhesividad. ....	83
<b>Tabla 26.</b> Resultados de la cantidad acumulada de AMK. ....	85
<b>Tabla 27.</b> Parámetros de flujo (f), el coeficiente de permeabilidad (k <sub>p</sub> ) y el tiempo de latencia (t <sub>L</sub> ) para Emulgel de Amikacina. ....	87

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mapa de la distribución geográfica del micetoma a nivel mundial (Maghoub, 2006). .....	18
<b>Figura 2.</b> Actinomicetoma de 5 años de evolución que afecta pierna y muslo. Se observan deformidad, nódulos y fístulas que drenan pus con granos (Méndez-Tovar, 2014). .....	19
<b>Figura 3.</b> Micetoma temprano antes del desarrollo de nódulos. (Roderick, 2016). ...	23
<b>Figura 4.</b> Aspecto típico del eumicetoma (Estrada et al, 2012).....	24
<b>Figura 5.</b> Eumicetoma sin tratamiento (Estrada et al, 2012).....	24
<b>Figura 6.</b> Radiografía de la articulación de la rodilla que muestra múltiples cavidades en el hueso, típico de eumicetoma (Hassan-Fahal, 2011). .....	27
<b>Figura 7.</b> Imagen ponderada de la proyección del pie izquierdo mostrando la disminución de la intensidad de la señal que involucra los huesos del tarso y metatarso y los tejidos blandos adyacentes (Ispoglou et al., 2003).....	31
<b>Figura 8.</b> Invasión masiva de actinomicetoma en la mano (Hassan-Fahal, 2011)....	32
<b>Figura 9.</b> Grano de Nocardia brasiliensis (Welsh et al., 2012).....	33
<b>Figura 10.</b> Pie de un paciente con actinomicetoma masivo tratado con sulfato de amikacina y co-trimoxazol (A) antes del tratamiento y (B) después del tratamiento (Hassan-Fahal, 2011).....	35
<b>Figura 11.</b> Pie de madura. El pie izquierdo del paciente se encuentra hinchado y endurecido, con nódulos en la cara dorsal. (Ispoglou et al., 2003). .....	37
<b>Figura 12.</b> Estructura química del AG Gentamicina. En la molécula, el anillo A es el aminociclitol, y los anillos B y C son azúcares (Lorenzo et al., 2008). .....	38
<b>Figura 13.</b> Mecanismo de acción de los aminoglucósidos. ( <a href="http://images.slideplayer.com">http://images.slideplayer.com</a> ) .	40
<b>Figura 14.</b> Estructura de AMK reportada por el Dr. H. Kawaguchi (Melone, n.d).....	43
<b>Figura 15.</b> Estructura de la piel. ( <a href="http://filesbiopsicosalud4.webnode.com.ve">http://filesbiopsicosalud4.webnode.com.ve</a> ) .....	51
<b>Figura 16.</b> Estratos de la epidermis. (Guadarrama-Escobar, 2013). .....	53
<b>Figura 17.</b> Estructura de la uña. ( <a href="http://bp.blogspot.com">http://bp.blogspot.com</a> ).....	56
<b>Figura 18.</b> Anexos cutáneos. ( <a href="http://docplayer.es">http://docplayer.es</a> ) .....	56
<b>Figura 19.</b> Metodología para el desarrollo y caracterización de sistemas semisólidos: gel, emulsión y emulgel. ....	61

<b>Figura 20.</b> Estado físico del Pluronic F-127® al 30% a temperatura ambiente (aprox. 25°C).....	69
<b>Figura 21.</b> Adhesión de gel de PF-127® en distintas concentraciones: 30% (rosa), 25% (verde) y 20% (anaranjado). .....	69
<b>Figura 22.</b> Emulsión o/w determinada utilizando un colorante lipofílico (en etanol) vista en el microscopio a 10x. ....	74
<b>Figura 23.</b> Determinación de viscosidad de la emulsión con el viscosímetro Brookfield DV-E. ....	75
<b>Figura 24.</b> Comparación de la viscosidad vs. Fuerza de cizalla de manera ascendente y descendente. ....	76
<b>Figura 25.</b> Comparación del pH de los sistemas semisólidos emulsión, gel y emulgel. ....	79
<b>Figura 26.</b> Comparación de la densidad relativa de los sistemas semisólidos emulsión, gel y emulgel. ....	80
<b>Figura 27.</b> Emulsión y emulgel después de ser sometidos a la prueba de centrífuga: no se observa separación de fases. ....	81
<b>Figura 28.</b> Comparación del área de extensibilidad al aplicar distintos pesos a los sistemas semisólidos: emulsión, gel y emulgel. ....	82
<b>Figura 29.</b> Fotografías de las distintas áreas de extensibilidad de los sistemas semisólidos al colocar una pesa de 500g. ....	83
<b>Figura 30.</b> Determinación de la adhesividad con el equipo Texture Analyzer CT3 Brookfield. ....	84
<b>Figura 31.</b> Comparación de adhesividad de los sistemas emulsión (rosa), gel (rojo) y emulgel (anaranjado), proporcionados por el software TexturePro CT. ....	84
<b>Figura 32.</b> Técnica de permeación in vitro con celdas tipo Franz para la determinación de la cantidad acumulada de AMK. ....	85
<b>Figura 33.</b> Comparación de la cantidad acumulada (mcg) de AMK durante 24 hrs. .	86

## LISTA DE ABREVIATURAS

A	<i>Actinomadura</i>
AG	Aminoglucósidos
AMK	Amikacina
DAD	Ácido 2,6 mesodiaminopimélico
DDS	Diaminodifenilsulfona
EC	Estrato Córneo
f	Flujo
FA	Fase Acuosa
FDA	Food and Drug Administration
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
FO	Fase Oleosa
HLB	Balance hidrófilo-lipófilo
IM	Intramuscular
IV	Intravenosa
KOH	Hidróxido de Sodio
Kp	Constante de permeabilidad
L	<i>Leptosphaeria</i>
M	<i>Madurella</i>
N	<i>Nocardia</i>
NA	No Aplica
o/w	Aceite/Agua
o/w/o	Aceite/Agua/Aceite
PF-127®	Pluronic F-127®
P	<i>Pseudoallescheria</i>
S	<i>Streptomyces</i>
SMX	Sulfametoxazol
spp	Todas las especies
t <sub>L</sub>	Tiempo de latencia
TMP	Trimetoprim
w/o	Agua/Aceite
w/o/w	Agua/Aceite/Agua

## RESUMEN

El micetoma es una infección crónica de la piel con tendencia a afectar los huesos. Es una enfermedad subcutánea causada por hongos o por bacterias aerobias del grupo de los actinomicetos.

El objetivo de este trabajo, es desarrollar y caracterizar un emulgel de Sulfato de Amikacina mediante pruebas fisicoquímicas y biofarmacéuticas, con la finalidad de ser utilizado como tratamiento coadyuvante en el Micetoma ocasionado por *Actinomadura madurae*.

El desarrollo del emulgel de sulfato de amikacina se llevó a cabo en 3 etapas:

- 1) Formulación de la emulsión conteniendo el principio activo.
- 2) Selección de la proporción de Pluronic F-127.
- 3) Preparación del emulgel.

En un inicio, se llevó a cabo el desarrollo y comparación de 4 formulaciones de emulsión variando el porcentaje de emulsificantes (10 y 15%) utilizando como criterio de selección la prueba de centrifugación y pH. De manera simultánea se procedió a la formación del gel probando diferentes porcentajes de Pluronic F-127 (10-30%) estableciendo como parámetro de elección la adhesividad. Cuando se tuvieron las formulaciones óptimas, se formó el emulgel; para caracterizarlo se determinó el pH, densidad relativa, estabilidad acelerada, viscosidad, extensibilidad, adhesividad, cantidad acumulada de amikacina, cálculo de  $k_p$ ,  $t_L$  y flujo. La emulsión elegida fue la que tenía una proporción de emulsificantes del 10% y 0.77% (p/p) de principio activo, ya que no presentó ninguna variación después de ser sometida a la prueba de centrifuga. Para la formación del gel se eligió el 30% con una adhesividad promedio de 2.7 mJ.

El emulgel de sulfato de amikacina formulado tiene las siguientes propiedades: pH=5.5, densidad relativa=0.907, estabilidad acelerada (centrifugación)=estable, extensibilidad=923.72 mm<sup>2</sup>, adhesividad=1.27 mJ, cantidad acumulada de amikacina en 24 hrs= 34.13%, flujo= 0.105 mg/cm<sup>2</sup>/hrs,  $k_p$ =0.016 cm<sup>2</sup>/hrs,  $t_L$ = 14.756 hrs.

La formulación del emulgel contiene 0.77% de principio activo y demuestra las características tecnológicas adecuadas para ser utilizado como complemento a la administración sistémica para el tratamiento del micetoma.

## I. INTRODUCCIÓN

El micetoma es una infección crónica de la piel y de los tejidos subyacentes con tendencia a afectar los huesos. Se caracteriza por un aumento de volumen relativamente indoloro y fístulas a través de las cuales se elimina pus y granos constituidos por filamentos (Méndez-Tovar, 2014). Es una enfermedad subcutánea que puede ser causada por hongos o por bacterias aerobias del grupo de los actinomicetos. El primero es conocido como eumicetoma y el segundo como actinomicetoma. La identificación de esta diferencia es esencial porque el tratamiento varía completamente dependiendo del tipo de infección (Welsh et al., 2012). El examen de los granos, aclarados con proteasa permitirá una rápida diferenciación entre el micetoma micótico y el micetoma actinomicótico (causado por las bacterias actinomicetales) por el tamaño de los filamentos que constituyen el grano (Gadea, n.d.).

El micetoma es endémico de regiones tropicales y subtropicales del mundo, predominando entre latitudes de 15°S y 30°N. En Asia, India, Yemen y Pakistán tienen alta incidencia. En África, el micetoma predomina en Sudán, Somalia, Mauritania, Senegal y los países vecinos. En el continente americano, la incidencia del micetoma es alta en Venezuela y México, pero se puede encontrar en casi todo centro y Sudamérica (Welsh et al., 2007).

En todo el mundo, el 60% del micetoma es causado por actinomicetoma, a pesar de que la incidencia puede variar en cada región dependiendo de las condiciones geográficas (clima y lluvia). El micetoma predomina en los hombres 5:1 por todos los agentes causales con excepción de *Actinomyces madurae* donde la relación en México favorece a las mujeres (2:1) (Welsh et al., 2012).

En México, López-Martínez et al., han publicado varias causísticas nacionales basados en los datos de los principales centros dermatomicológicos del país; en 2013, recopilaron 3993 casos, y de ellos 96.52% fueron actinomicetomas. Del total de casos 75.6 % correspondieron a pacientes masculinos. Los estados con mayor incidencia fueron: Jalisco, Morelos, Nuevo León, Guerrero, Veracruz y Michoacán. La mayoría de los pacientes realiza labores de tipo agrícola. Este padecimiento afecta a personas en la edad productiva, esto es, la mayoría de casos se presenta en pacientes que se encuentran entre los 20 y los 50 años de edad. Lavallo (1966) revisó las características de 119 pacientes, y encontró que 76 % de los pacientes tenía entre 16 y 45 años. López-Martínez et al., refieren que, de 1374 pacientes, 77 % tenía entre 16 y 50 años (Méndez-Tovar, 2014).

Para el tratamiento del Actinomicetoma, la primera elección es la combinación de trimetoprim con sulfametoxazol (TMP/SMX) en tabletas de 800 mg / 160 mg respectivamente. La mayoría de micetomas causados por actinomicetales responden a este tratamiento y la mejoría es evidente después de dos meses de tratamiento. Como segunda elección se emplea la asociación de la misma dosis de TMP/SMX con amikacina (AMK), aminoglucósido que se administra por vía intramuscular en ciclos de 21 días de tratamiento a dosis de 7.5 mg/kg de peso cada 12 horas. Entonces, se suspende el aminoglucósido durante ocho días. Además de las precauciones que se toman cuando se administran sulfas, se debe considerar el posible daño renal o auditivo causado por la AMK; por lo tanto, antes de iniciar el tratamiento y después de cada ciclo de AMK, se debe valorar la función de esos órganos (Méndez-Tovar, 2012).

Los aminoglucósidos (AG) representan un grupo de medicamentos con características químicas, antimicrobianas, farmacológicas y tóxicas similares, que incluye a fármacos como la neomicina, kanamicina, amikacina, gentamicina, tobramicina, estreptomina y sisomicina. Su mecanismo de acción se asocia a la inhibición de la síntesis proteínica de las bacterias, mediante la inserción y bloqueo de la subunidad ribosomal 30S. Entre sus contraindicaciones destaca su ototoxicidad y nefrotoxicidad, sobre todo cuando el paciente padece de insuficiencia renal (Katzung et al., 2007).

Las preparaciones farmacéuticas semisólidas pueden ser definidas como un producto previsto para la aplicación en la piel o en las membranas mucosas y algunas veces tienen efectos sistémicos desde el sitio de aplicación. En general las dosificaciones semisólidas son formulaciones complejas que tienen elementos estructurales complejos (Gómez-Peláez, 2009). Dentro de los sistemas semisólidos encontramos, las emulsiones, los geles y los emulgeles, entre otros.

La administración de fármacos por vía tópica puede definirse como la aplicación directa de la formulación que contiene el medicamento en la piel para localizar el efecto del fármaco. En esta vía de administración, el fármaco difunde fuera del sistema de suministro, llegando al sitio de acción para la absorción del fármaco por la piel (Ajazzudin et al., 2013).

La piel es un órgano altamente organizado heterogéneo y multilaminado, en donde la suma total de varias capas que forman la epidermis y la dermis junto con sus apéndices y microvasculatura constituyen una cubierta viviente que rodea el cuerpo (Palma et al., 2005).

Así mismo, la piel actúa como barrera protectora que aísla al organismo del medio que lo rodea, y como sistema de comunicación con el entorno. Consta de tres capas principales llamadas epidermis, dermis e hipodermis, así como anexos cutáneos tales como pelos, uñas, glándulas sebáceas y sudoríparas. La piel tiene las siguientes

funciones: barrera, sensibilidad, regulación de la temperatura, control hemodinámico, secreción y excreción, síntesis y función inmunológica. Todas estas funciones han hecho de la misma un objetivo claramente definido para la administración de fármacos con la intención de lograr un efecto tópico, local o sistémico (Guadarrama-Escobar, 2013).

## II. ANTECEDENTES

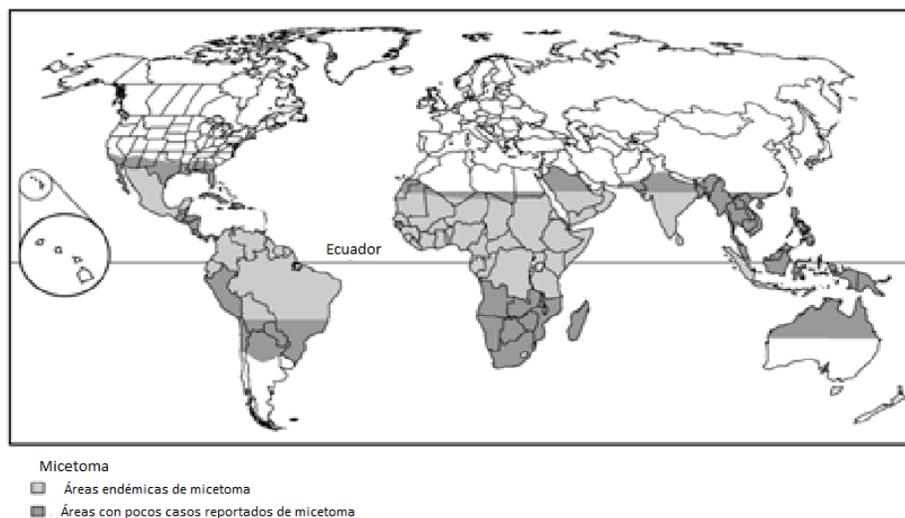
### 1. MICETOMA

#### 1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

El término micetoma se deriva del griego *mykes* (hongo) y *oma* (tumor). En India, en el Atharva Veda se menciona como *pada valmikan*, es decir “pie de hormiguero”. Jhon Gill describe la enfermedad por primera vez en 1842 en Madrás (actualmente Chennai), India, y la llama “Pie de Madura” ya que muchos pacientes provenían de esta área. Van Dyke Carter acuña el nombre micetoma, término utilizado para definir la enfermedad (Welsh et al., 2012).

Junto con la esporotricosis, el micetoma es la micosis subcutánea más común. Se distribuye de manera global y predomina en países entre los Trópicos de Cáncer y de Capricornio (Welsh et al., 2012), prevaleciendo entre latitudes de 15°S y 30°N. En Asia, India, Yemen y Pakistán tienen alta incidencia. En África, el micetoma domina en Sudán, Somalia, Mauritania, Senegal y los países vecinos. En el continente americano, la incidencia del micetoma es alta en Venezuela y México, pero se puede encontrar en casi todo centro y Sudamérica (Welsh et al., 2007).

El micetoma es relativamente frecuente en zonas tropicales, pero puede darse en países del norte por la inmigración y los viajes alrededor del mundo, como se aprecia en la figura 1 (Hassan-Fahal, 2011).



**FIGURA 1.** MAPA DE LA DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DEL MICETOMA A NIVEL MUNDIAL (MAGHOUB, 2006).

Alrededor del mundo, 60% de los casos son causados por actinomicetos; el resto es causado por hongos verdaderos. El micetoma es 4 veces más común en hombres. En África, el eumicetoma se observa con mayor frecuencia que el actinomicetoma, mientras que en India el actinomicetoma se encuentra en más de la mitad de los casos reportados (Welsh, 2007).

El micetoma es una infección crónica de la piel y de los tejidos subyacentes con tendencia a afectar los huesos. Se caracteriza por un aumento de volumen relativamente indoloro y fístulas a través de las cuales se elimina pus y granos constituidos por filamentos (Figura 2) (Méndez-Tovar, 2014).



**FIGURA 2.** ACTINOMICETOMA DE 5 AÑOS DE EVOLUCIÓN QUE AFECTA PIERNA Y MUSLO. SE OBSERVAN DEFORMIDAD, NÓDULOS Y FÍSTULAS QUE DRENAN PUS CON GRANOS (MÉNDEZ-TOVAR, 2014).

También puede definirse como la aparición de una tumoración que presenta trayectos fistulosos por los que drenan unas estructuras llamadas “granos” que no son más que pequeñas colonias de su agente causal. La infección afecta el tejido cutáneo y subcutáneo, pudiendo alcanzar fascias, músculo y huesos. Es característica su agresividad local, pero no se disemina a distancia (Gadea, s.f.).

La prevalencia en hombres con un ratio de 3:1 es una observación común en la enfermedad. Esto puede atribuirse al grado de riesgo de exposición hacia los organismos que se encuentran en el suelo durante las actividades al aire libre. Esta explicación no es convincente para las áreas endémicas, en donde ambos sexos se encuentran relacionados con las actividades fuera de casa (Hassan-Fahal, 2011).

## 1.2. ETIOLOGÍA

El micetoma es una enfermedad subcutánea que puede ser causada por hongos o por bacterias aerobias del grupo de los actinomicetos. El primero es conocido como eumicetoma y el segundo como actinomicetoma. La identificación de esta diferencia es esencial porque el tratamiento varía completamente dependiendo del tipo de infección (Welsh, 2012).

La diferenciación entre estos dos organismos es crucial para decidir la línea de tratamiento. Un error común es dar un antibiótico para actinomicetoma a pacientes que tienen eumicetoma o viceversa, simplemente por la existencia de similitudes clínicas. La identificación presuntiva del tipo de micetoma puede establecerse por el cuadro clínico, la apariencia radiológica de las cavidades en los huesos, así como por el color y la consistencia de los granos (Tabla 1 y 2) (Maghoub, 2006).

**TABLA 1.** MORFOLOGÍA CARACTERÍSTICA DE LOS GRANOS PRODUCIDOS POR ORGANISMOS CAUSANTES DE EUMICETOMA (MAGHOUB, 2006).

ORGANISMO	COLOR	CONSISTENCIA
<i>Madurella mycetomatis</i>	Negro	Duro
<i>Madurella grisea</i>	Negro	Duro
<i>Leptosphaeria senegalensis</i>	Negro	Duro
<i>Exophiala jeamselmei</i>	Negro	Duro
<i>Pyrenochaeta romeroi</i>	Negro	Duro
<i>Curvularia spp.</i>	Negro	Duro
<i>Phialophora verrucosa</i>	Negro	Duro
<i>Acremonium spp.</i>	Blanco o amarillento	Suave
<i>Aspergillus flavus</i>	Blanco o amarillento	Suave
<i>Aspergillus nidulans</i>	Blanco o amarillento	Suave
<i>Fusarium spp.</i>	Blanco o amarillento	Suave
<i>Neotestudina rosati</i>	Blanco o amarillento	Suave
<i>Pseudoallescheria boydii</i>	Blanco o amarillento	Suave

**TABLA 2.** MORFOLOGÍA CARACTERÍSTICA DE LOS GRANOS PRODUCIDOS POR ORGANISMOS CAUSANTES DE ACTINOMICETOMA (MAHGOUB, 2006).

ORGANISMO	COLOR	TAMAÑO
<i>Actinomadura madurae</i>	Blanco	Grande
<i>Actinomadura pelletieri</i>	Rojo	Pequeño
<i>Nocardia asteroides</i>	Beige o anaranjado	Diminuto
<i>Nocardia brasiliensis</i>	Beige o anaranjado	Diminuto
<i>Nocardia transvalensis</i>	Beige o anaranjado	Diminuto
<i>Streptomyces somaliensis</i>	Amarillo	Pequeño

### 1.3. EUMICETOMA

#### 1.3.1. CARACTERÍSTICAS

La capacidad de formar gránulos *in vivo* es una propiedad que poseen una gran variedad de microorganismos. Usualmente, estos gránulos son pequeños y visibles agregados microbianos compuestos de masas celulares frecuentemente filamentosas; éstas probablemente representan la formación *in vivo* de las colonias. Sin embargo, el tamaño pequeño y la naturaleza discreta de los gránulos es característica (Tabla 3) (Roderick, 2016).

**TABLA 3.** ORGANISMOS CAUSANTES DE EUMICETOMA. (RODERICK, 2016).

GRANOS BLANCOS	GRANOS NEGROS
<i>Acremonium falciforme</i>	<i>Curvularia lunata</i>
<i>Acremonium kiliense</i>	<i>Curvularia geniculata</i>
<i>Acremonium recifei</i>	<i>Exophiala jeanselmei</i>
<i>Aspergillus nidulans</i>	<i>Leptosphaeria senegalensis</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Madurella mycetomatis</i>
<i>Chaetosphaeronema larense*</i>	<i>Madurella grisea</i>
<i>Cylindocarpon cyanescens*</i>	<i>Phialophora parasítica</i>
<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Pyrenochaeta romeroi</i>
<i>Fusarium solani</i>	
<i>Neotestudina rosatii</i>	
<i>Scedosporium apiospermum</i>	

\* Es muy raro que éstos organismos causen micetoma.

### 1.3.2. EPIDEMIOLOGÍA

Alrededor de 30 especies de hongos son asociados con el eumicetoma humano. Los agentes etiológicos del micetoma, dependen del tipo de grano, y se clasifican en los que producen granos negros y los que producen granos blancos o grisáceos. Los más importantes son:

- Eumicetoma causado por hongos negros o *phaeohyphomycetes*: *Madurella mycetomatis*, *M grisea*, *Leptosphaeria senegalensis*, *Leptosphaeria tompkinsii*, *Pyrenochaeta romeroi*, *Pyrenochaeta mackinonii*, *Cladophialophora bantiana*, *Cladophilophora mycetomatis*, *Curcularia lunata*, *Curvularia geniculata*, *Exophiala jeanselmei*, *Phialophoca verrucosa*.
- Eumicetoma causado por hongos blancos (hialohifomicetos): *Pseudoallescheria boydii* (*scedosporium apiospermum*), *Acremonium falciform kiliense*, *Acremonium recifei*, *Neotestudina rosatii*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus flavus*, *Cylindrocarpon cyanescens*, y Dermatofitos (*Trichophyton rubrum*, *Microsporum audouinii*, *Microsporum canis*).

Más del 90% del micetoma reportado en todo el mundo es causado solamente por cuatro agentes: *M mycetomatis*, *M grisea*, *P boydii* y *L senegalensis*. Dependiendo de la localización geográfica, algunos de estos hongos han reportado mayor frecuencia en cierta región, por ejemplo, *Acremonium spp* y *M Grisea* son comunes en Sudamérica, y *M Mycetomatis* es el que tiene una mayor extensión en todo el mundo, predominando en India y África, y en regiones como Sudán es el responsable del 70% de los casos diagnosticados de micetoma. El porcentaje de eumicetomas en países como México es del 2%. En el área de la costa sureste del pacífico, incluyendo los estados de Guerrero y Oaxaca, la frecuencia excede el 9% lo cual puede deberse a las características de la región (Estrada et. al., 2012).

### 1.3.3. PATOGÉNESIS Y ASPECTOS INMUNOLÓGICOS

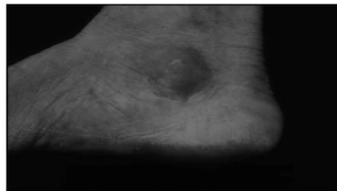
Actualmente no existe una teoría unificada sobre la patogénesis del micetoma, ya que es obstaculizada por la falta de un modelo animal eficaz para eumicetomas. (Rodherick). Esta enfermedad comúnmente comienza con la introducción traumática de agentes infecciosos a través de la piel como espinas de acacia, astillas u otros objetos contaminados. El suelo es el reservorio natural de la mayoría de los agentes del micetoma, de los cuales *M mycetomatis*, *M grisea*, *P boydii* y *N rosati* se encuentran en mayor frecuencia de manera aislada. La historia del trauma con un objeto contaminado con agentes infecciosos es común (Estrada et al., 2012).

Tras la inoculación, estos microorganismos, que normalmente no son patogénicos, crecen y sobreviven gracias a la producción de granos, que son estructuras compuestas por masas de hongos miceliales y un elemento matricial. En los eumicetomas, los elementos hifales suelen tener una pared celular engrosada hacia la periferia de los granos, lo que les confiere una protección potencial frente al sistema inmunitario del huésped. En el estudio histopatológico, los granos se encuentran incluidos dentro de abscesos que contienen células polimorfonucleares. Se ha demostrado que, *in vitro*, los antígenos fúngicos (*M mycetomatis* y *P boydii*) son capaces de inducir la quimiotaxis de los leucocitos polimorfonucleares dependiendo del complemento. Las células del sistema inmunitario innato intentan fagocitar e inactivar dichos microorganismos, pero en la enfermedad acaban por fracasar en el propósito. Los abscesos que contienen los granos aparecen asociados a una inflamación granulomatosa y a fibrosis. Se han descrito tres tipos de respuesta inmunitaria frente a los granos del micetoma. En la respuesta de tipo I se observa la desgranulación de los neutrófilos y su adherencia a la superficie de los granos, lo que provoca una desintegración gradual de éstos. La respuesta de tipo II se caracteriza por la desaparición de los neutrófilos y la llegada de los macrófagos para eliminar los restos de los granos y neutrófilos. La respuesta de tipo III se caracteriza por la formación de granulomas epiteloideos. No parece ser que esta respuesta del huésped permita controlar la infección, aunque es probable que sea responsable de la curación espontánea parcial que se observa en la enfermedad (Hospenthal, 2015).

#### 1.3.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La apariencia clínica del micetoma es característica. El período de incubación es desconocido en la mayoría de los pacientes que no tienen historia del trauma o de la lesión inicial. Sin embargo, en algunos casos, es evidente que la infección comenzó más de 8 años después de una lesión traumática (Roderick, 2016).

Los primeros signos del micetoma es la aparición de nódulos subcutáneos (Figura 3). Estos no causan dolor y por lo general se encuentran en sitios expuestos como los brazos y las piernas, más del 95% del micetoma comienza en estas áreas. (Roderick, 2016).



**FIGURA 3.** MICETOMA TEMPRANO ANTES DEL DESARROLLO DE NÓDULOS. (RODERICK, 2016).

El eumicetoma produce menor inflamación y sus lesiones son menos agresivas con menor número de fístulas que tienden a ser encapsuladas invadiendo la estructura de los huesos de manera más lenta respecto al actinomicetoma (Figura 4). Estas características permiten el tratamiento quirúrgico sin amputación. En algunos casos la mejor elección terapéutica consiste en la remoción quirúrgica de la lesión en asociación con la terapia farmacológica (Estrada et al, 2012).



**FIGURA 4.** ASPECTO TÍPICO DEL EUMICETOMA (ESTRADA ET AL, 2012).

Algunos eumicetomas que no han sido tratados, eventualmente pueden presentar deformación intensa (Figura 5). A pesar de la gravedad de la manifestación clínica, los síntomas son generalmente discretos o ausentes, pueden ser dolorosos antes de la ruptura de los abscesos que desarrollan las fístulas y puede generarse una infección por *Staphylococcus aureus* (Estrada et al., 2012).



**FIGURA 5.** EUMICETOMA SIN TRATAMIENTO (ESTRADA ET AL, 2012).

El pronóstico varía de acuerdo a los agentes causantes, la profundidad de la infección, la medida y participación de las estructuras óseas y la resistencia a los antifúngicos (Estrada et al., 2012).

### 1.3.5. DIAGNÓSTICO

La histopatología diferencia el eumicetoma del actinomicetoma; sin embargo es necesaria la identificación mediante cultivo de la multitud de hongos causales de un eumicetoma, porque los microorganismos podrían responder de manera diferente a los antimicóticos. De manera similar, la reactividad cruzada, la ausencia de estandarización y el hecho de que hay muchos microorganismos productores de eumicetoma limitan la utilidad práctica de la evaluación serológica. (Goodman, 2013).

Los agentes etiológicos de la enfermedad son numerosos (Tabla 1), sin embargo la frecuencia de estos agentes es variable (Tabla 4) lo que podría ser de utilidad en el diagnóstico.

**TABLA 4. PRINCIPALES AGENTES CAUSANTES DE EUMICETOMA (ESTRADA ET AL., 2012).**

AGENTE	FRECUENCIA	COLOR DEL GRANO
<i>Acremonium falciforme</i>	Rara	Blanco
<i>Acremonium kiliense</i>	Ocasional	Blanco
<i>Acremonium recifei</i>	Ocasional	Blanco
<i>Aspergillus flavus</i>	Rara	Blanco
<i>Aspergillus nidulans</i>	Rara	Blanco
<i>Cladophialaphora bantiana</i>	Rara	Negro
<i>Cochliobolus spicifer</i>	Rara	...
<i>Corynespora cassicola</i>	Rara	Negro
<i>Curvularia geniculata</i>	Rara	Negro
<i>Curvularia lunata</i>	Rara	Negro
<i>Curvularia cyanescens</i>	...	...
<i>Curvularia desructans</i>	...	...
<i>Drechslera rostrata</i>	Rara	Negro
<i>Exophiala jeanselmei</i>	Rara	Negro
<i>Exserohilum rostratum</i>	...	Negro
<i>Fusarium spp.</i>	...	Blanco
<i>Fusarium moniliforme</i>	Rara	Blanco
<i>Fusarium oxysporum</i>	Rara	Blanco
<i>Fusarium solani</i>	Rara	Blanco
<i>Leptosphaeria senegalensis</i>	Ocasional	Negro
<i>Leptosphaeria tompkinsii</i>	Rara	Negro
<i>Madurella grisea</i>	Ocasional	Negro
<i>Madurella mycetomatis</i>	Alta	Negro
<i>Madurella rosatii</i>	Rara	Blanco

<i>Phaeoacremonium kraidenii</i>	...	Blanco
<i>Phialophora cyanescens</i>	...	Negro
<i>Plendomus avramii</i>	Rara	Negro
<i>Polycytella hominis</i>	...	...
<i>Pseudallescheria boydii</i>	Alta	Blanco
<i>Pseudochaetosphaeronema larense</i>	Rara	Negro
<i>Pyrenochaeta mackinnonii</i>	Rara	Negro
<i>Pyrenochaeta romeroi</i>	Ocasional	Negro
<i>Scedosporium apiospermum</i>	...	Blanco

Los granos pueden verse en el centro de los abscesos. Las tinciones especiales (Grocot, ácido peryódico de Schiff y hematoxilina-eosina) ayudan a diferenciar la variedad de granos. Una alternativa que facilita la obtención de muestras es la aspiración con agujas finas para el diagnóstico citológico (Estrada et al., 2012).

El diagnóstico diferencial del eumicetoma se hace con diversas patologías. En lesiones tempranas, puede confundirse con granulomas de cuerpo extraño, neoplasias de tejido blando malignas y benignas, además de lesiones quísticas. Las lesiones sin fístulas deben ser diferenciadas de esporotricosis, cromomicosis o conidiocolomicosis. Otros diagnósticos a considerar son leishmaniasis, tuberculosis cutánea y celulitis. A pesar de que las características clínicas son críticas, los estudios de laboratorio son necesarios para establecer el diagnóstico etiológico. (Estrada et al., 2012)

### 1.3.6. TRATAMIENTO

En general, a la vista de la resistencia del eumicetoma al tratamiento médico, la cirugía tiene una gran importancia. (Goodman, 2013). Sin embargo, los reportes del tratamiento médico del eumicetoma son pocos y decepcionantes. Varios agentes antifúngicos han sido utilizados con poco éxito. Un medicamento de uso recurrente es el ketoconazol (200-400 mg dos veces al día) y el itraconazol (100-200 mg dos veces al día). Sin embargo, se requiere un tratamiento de larga duración para lograr la curación con un promedio de un año. Se han reportado altas tasas de incidencia, además de los efectos secundarios debido al uso prolongado de los medicamentos. (Hassan-Fahal, 2011)

El posaconazol y el voriconazol podrían ser especialmente útiles en el tratamiento del eumicetoma producido por *P. boydii*, ya que es un hongo que no es sensible a ketoconazol ni itraconazol. (Goodman, 2013). La anfotrecina B es indicada de manera

esporádica, con limitaciones debido a los efectos adversos que presenta, por lo que su uso en la enfermedad no es frecuente. (Estrada et al., 2012).

El tratamiento del eumicetoma con quimioterapia es difícil ya que implica su gestión ante enfoques conservadores, los cuales incluyen la observación y le emisión de un juicio entre quimioterapia o cirugía. (Roderick, 2016).

El último método para erradicar el eumicetoma es la escisión quirúrgica. Sin embargo, es importante reconocer que esto debe ser suficientemente radical para asegurar que el margen de escisión es adecuado, ya que de lo contrario la recaída es inevitable. La cura definitiva es la adecuada amputación, además de asegurarse que las zonas contiguas están limpias de infección por ejemplo el hueso o tejido subcutáneo (Figura 6) (Rodherik, 2016).



**FIGURA 6.** RADIOGRAFÍA DE LA ARTICULACIÓN DE LA RODILLA QUE MUESTRA MÚLTIPLES CAVIDADES EN EL HUESO, TÍPICO DE EUMICETOMA (HASSAN-FAHAL, 2011).

#### **1.4. ACTINOMICETOMA**

##### **1.4.1. CARACTERÍSTICAS**

Alrededor del mundo, el 60% del micetoma es causado por actinomicetos sin embargo la incidencia puede variar en cada región dependiendo de las características geográficas (clima y la cantidad de lluvia). Es una enfermedad que predomina en hombres con una incidencia de 5:1 por los agentes causales con excepción de

*Actinomadura madurae* en dónde el promedio en México favorece a las mujeres (2:1) (Welsh et al., 2012).

Los agentes causantes del micetoma usualmente se introducen al organismo como resultado de un trauma o lesión. La infección comienza con la aparición de un nódulo que no causa dolor en el sitio del trauma, sin embargo, el desarrollo de la infección provoca que la lesión se incremente y comience a drenar material purulento. La lesión se puede expandir a los tejidos cercanos e invadir músculos y huesos adyacentes produciendo osteomielitis destructiva (Warren, 1996).

Esta infección afecta principalmente a pacientes que viven en ambientes rurales; el pie es el sitio común más afectado, pero otros sitios pueden ser las manos, cara y cuello. (Warren, 1996)

El actinomicetoma es frecuente en México y América Central, siendo *Nocardia brasiliensis*, *Streptomyces somaliensis*, *Actinomadura madurae* y *Actinomadura pelletieri* las especies más comunes. Usualmente afecta a adultos (20-40 años de edad) predominando en hombres (3.7:1) lo cual se atribuye al riesgo de exposición ante organismos que se encuentren en el suelo durante actividades al aire libre (Mendoza et al., 2009).

#### 1.4.2. EPIDEMIOLOGÍA

Aunque el micetoma tiene una amplia distribución mundial, se produce principalmente en las zonas tropicales y, en menor medida, en las zonas templadas. De modo más específico, la infección es bastante prevalente en India, México, Centroamérica, Sudamérica y Oriente Próximo, y especialmente en África Subsahariana (cinturón del micetoma); en concreto, el micetoma es de alta incidencia en Sudán (Goodman, 2013).

La incidencia real y la distribución geográfica del micetoma en el mundo no se conoce con precisión, debido al hecho de que el micetoma ha sido una enfermedad descuidada (Hassan-Fahal, 2011). Las especies de los géneros de *Nocardia*, *Streptomyces* y *Actinomyces* son los mayores agentes causantes de actinomicetoma, incluyendo algunas de las nuevas especies descritas (Tabla 5) (Welsh et al., 2007).

**TABLA 5.** AGENTES CAUSANTES DE ACTINOMICETOMA AGRUPADOS POR APARIENCIA TÍPICA DE LOS GRANOS. (WELSH ET AL., 2007).

AGENTES	COLOR DEL GRANO
<i>Nocardia asteroides</i>	Blanco
<i>Nocardia brasiliensis</i>	Blanco
<i>Nocardia caviae</i>	Blanco-amarillo
<i>Nocardia farcinica</i>	Blanco-amarillo

<i>Nocardia transvalensis</i>	Blanco
<i>Nocardia mexicana</i>	-
<i>Nocardia veterana</i>	-
<i>Nocardia dassonvillei</i>	Crema
<i>Actinomadura manudare</i>	Blanco con amarillo o rosa
<i>Actinomadura pelletieri</i>	Rojo
<i>Actinomadura latina</i>	-
<i>Streptomyces somaliensis</i>	Amarillo-café
<i>G terrae</i>	-

En México, los actinomicetos son el agente etiológico en el 98% de los casos siendo *N brasiliensis* aislado en el 86%. *A pelletieri* es el agente más común en regiones con mayores precipitaciones. De manera inversa, *N brasiliensis* y *S somaliensis* se encuentra sobre todo en climas secos y regiones semiáridas (Welsh et al., 2012).

Dentro del actinomicetoma, ninguna edad es excluida; comúnmente afecta a adultos entre 20 y 40 años de edad. Sin embargo, en regiones endémicas, los niños y personas mayores también pueden ser afectadas (Hassan-Fahal, 2011).

#### 1.4.3. PATOGÉNESIS Y ASPECTOS INMUNOLÓGICOS

Muchas personas que habitan en las áreas endémicas del mundo son expuestas a agentes etiológicos que causan actinomicetoma, pero muy pocas desarrollan la enfermedad. Esto sugiere un aclaramiento inmunitario del agente infeccioso que detiene su desarrollo. Los estudios del rol de la inmunidad innata en humanos son muy escasos y no concluyentes. Sin embargo, la resistencia natural del hospedero frente a actinomicetoma ha sido estudiada de manera *in vitro* y en infecciones experimentales (Welsh et al., 2012).

La necesidad de un modelo animal para el estudio de la patogénesis del micetoma ha llevado a utilizar modelos murinos en estado normal e inmunodeficiente para determinar el mecanismo de infección y la respuesta del hospedero. La inoculación del actinomiceto causa un efecto quimiotáctico de los neutrófilos y una pequeña congestión en los vasos, pero inicialmente no es específica. Después, los macrófagos y los monocitos aparecen en el sitio de infección. La activación de citocinas, interferón- $\gamma$ , y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , mejoran la actividad antimicrobiana (Welsh et al., 2012).

Estos organismos usualmente se encuentran presentes en el suelo de manera agrupada formando colonias. La inoculación traumática en el tejido subcutáneo causada por el corte con diversos objetos como un pinchazo con una espina o astilla, es la ruta de entrada más común. Sin embargo, esta teoría ha sido recientemente

discutida, ya que muchos pacientes no tienen una historia de un trauma en el sitio de infección. En lugares en donde el actinomicetoma es frecuente, se tiene como hábito andar descalzo y es común que en el terreno existan abundantes espinas, por lo que se espera que la infección sea más recurrente de lo que realmente es (Hassan-Fahal, 2004).

La primera lesión que el paciente nota, es un nódulo que no produce dolor y que es del tamaño de un cacahuate que poco a poco va incrementando su tamaño. En uno de cada cinco casos, el dolor es la queja principal por la que el paciente busca atención médica. (Mahgoub, 2006).

En el tejido subcutáneo, los organismos se multiplican y forman colonias que crecen de manera gradual y que comprometen a la piel, la estructura profunda y los huesos. La propagación de los agentes etiológicos a través del sistema linfático hacia los ganglios linfáticos solo se observa en algunos pacientes. Durante la fase activa de la enfermedad, estos nódulos linfáticos pueden supurar. La diseminación linfática es más común en el actinomicetoma que en el eumicetoma, y su incidencia es argumentada por las repetidas e inadecuadas escisiones quirúrgicas (Hassan-Fahal, 2011).

La región de los nódulos linfáticos comúnmente se ve engrandecida, potencialmente debido a las infecciones bacterianas secundarias, la deposición de complejos inmunes es parte de la respuesta inmunitaria local del micetoma (Hassan-Fahal, 2011).

En el actinomicetoma, las lesiones presentan mayor inflamación, son más destructivas e invaden los huesos desde etapas tempranas. Las lesiones son difusas, no definidas, no encapsuladas y se fusionan con el tejido circundante. El hueso puede ser absorbido y remplazado por tejido fibroso formando una masa fibrocartilaginosa. La infección bacteriana secundaria usualmente conduce a un daño mayor en el tejido (Hassan-Fahal, 2011).

El micetoma produce múltiples cavidades en los huesos (Figura 7) que por lo general contienen masas sólidas de granos o tejido fibroso que proporcionan soporte óseo, esto puede explicar la rareza de fracturas patológicas en el micetoma. (Hassan-Fahal, 2011).



**FIGURA 7.** IMAGEN PONDERADA DE LA PROYECCIÓN DEL PIE IZQUIERDO MOSTRANDO LA DISMINUCIÓN DE LA INTENSIDAD DE LA SEÑAL QUE INVOLUCRA LOS HUESOS DEL TARSO Y METATARSO Y LOS TEJIDOS BLANDOS ADYACENTES (ISPOGLOU ET AL., 2003).

Microscópicamente, ocurren tres tipos de reacción en el tejido durante el micetoma. La reacción del tipo I se caracteriza por la presencia de una mezcla de neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas, macrófagos y cuerpos extraños. Los granos están completamente rodeados y ocasionalmente infiltrados por neutrófilos causando su fragmentación. En la reacción tipo II, los neutrófilos desaparecen casi por completo y son sustituidos por macrófagos y células gigantes multinucleadas. La reacción del tipo III se caracteriza por la formación de un granuloma epiteloide bien organizado, con células de Langerhans (Hassan-Fahal, 2011).

#### **1.4.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

Usualmente, el actinomicetoma es indoloro, lo que sugiere que el organismo es capaz de producir sustancias con efecto anestésico. En algunos pacientes, el dolor se presenta como síntoma de la invasión en huesos por parte del agente etiológico sin embargo es más común que sea debido a una infección bacteriana secundaria. (Hassan-Fahal, 2011)

La infección causa una reacción inflamatoria como producto de la aparición de microabscesos envueltos en tumefacciones duras o nódulos que descargan un exudado serosanguinolento, viscoso o purulento a través de las fístulas que se encuentran en la piel. El exudado contiene colonias en forma de gránulos, que son capaces de infectar el cuerpo. Notablemente, incluso con una enfermedad extensa, la ausencia de dolor o manifestaciones sistemáticas es común en los pacientes.

Pueden manifestarse problemas respiratorios y neurológicos entre otros, sin embargo, dicha manifestación ocurre cuando la enfermedad ha afectado el pecho, la cabeza, el cuello o la columna vertebral. La invasión del periostio y los huesos adyacentes pueden conducir a la osteomielitis (Welsh et al., 2007).

El actinomicetoma afecta principalmente las extremidades inferiores, pero puede encontrarse en otras regiones del cuerpo como el tórax, manos, antebrazos, glúteos, rodillas y cabeza (Figura 8). En México, la espalda es el segundo sitio más afectado por la lesión, lo cual se asocia con el transporte de troncos sobre la espalda durante distintas actividades rurales (Welsh et al., 2007).



**FIGURA 8.** INVASIÓN MASIVA DE ACTINOMICETOMA EN LA MANO (HASSAN-FAHAL, 2011).

El actinomicetoma avanza de manera lenta hacia las áreas adyacentes y, en algunos casos, puede propagarse por diseminación linfática o hematológica (Welsh et al., 2007).

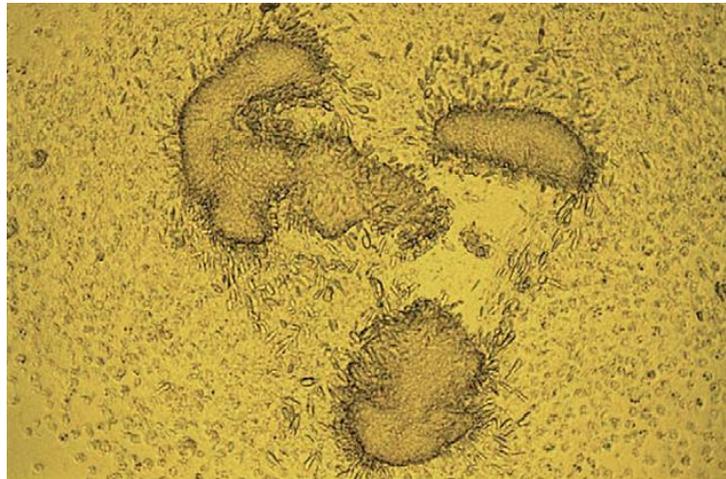
La caquexia y anemia pueden ocurrir en el actinomicetoma avanzado, a menudo debido a la infección, la desnutrición y la depresión mental. Aunque la enfermedad no suele ser mortal, puede producir discapacidad, distorsiones y deformidades. Sin embargo, si la infección llega al cráneo, es muy difícil de tratar y puede ser mortal (Hassan-Fahal, 2011).

En general, el cuadro clínico de la enfermedad es influido por la duración de la enfermedad, el agente causante, el sitio de infección y la respuesta inmune del hospedero (Hassan-Fahal, 2011).

#### 1.4.5. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico del actinomicetoma se basa en las manifestaciones clínicas caracterizadas por la tumefacción, el incremento de volumen y la deformación que causa en el área afectada con la presencia de nódulos, cicatrización de tejido, abscesos, fístulas, y exudados purulentos que contienen la bacteria (Welsh et al., 2012).

La examinación microscópica directa de la pus con KOH al 10% o solución salina revela la presencia de gránulos (Figura 9). Su tamaño, forma y color, junto con la presencia o ausencia de clubs (estructuras en forma de laberinto) o pseudoclubs, pueden identificar al probable agente causal (Welsh et al., 2012).



**FIGURA 9.** GRANO DE NOCARDIA BRASILIENSIS (WELSH ET AL., 2012).

En *Nocardia spp*, los gránulos son pequeños (80-130  $\mu\text{m}$ ), reniformes, y con colonias presentes en su periferia. En el caso de *Actinomadura madure*, los granos blancos-amarillentos pueden ser vistos a simple vista, y la examinación directa al microscopio revela que, en la zona de la periferia, las pseudocolonias, son diferentes que las que se observan en *Nocardia spp*. En *A pelletieri* se observan gránulos rojos que son característicos. Cuando se realiza la examinación directa utilizando KOH, la lámina debe observarse de inmediato debido a que el color rojo de los gránulos puede desaparecer después de un tiempo (Welsh et al., 2007).

El aislamiento de actinomicetos puede lograrse mediante el cultivo de pus o de tejidos utilizando el medio de Sabourad o agar sangre. La identificación de las especies infecciosas puede hacerse mediante varias pruebas bioquímicas, incluyendo hidrólisis

de caseína, licuefacción de la gelatina y descomposición de sustratos, como hipoxantina, tirosina, adenina y xantina (Welsh et al., 2007).

#### 1.4.6. TRATAMIENTO

El tratamiento antimicrobiano del actinomicetoma comenzó en 1941 cuando la sulfanilamida y sulfadiazina fueron los primeros agentes antimicrobianos usados exitosamente en el tratamiento del actinomicetoma. Posteriormente, en la misma década, la 4,4-diaminodifenilsulfona también demostró ser efectiva en el tratamiento. Después, otros fármacos como la isoniazida, estreptomina, rifampicina y minociclina también se usaron con una tasa de curación variable. Para finales de la década de los 60's, el tratamiento con trimetoprima/sulfametoxazol (TMP/SMX) se convirtió en el "estándar de oro" para el tratamiento de esta enfermedad (Tabla 6) (Welsh et al., 2012).

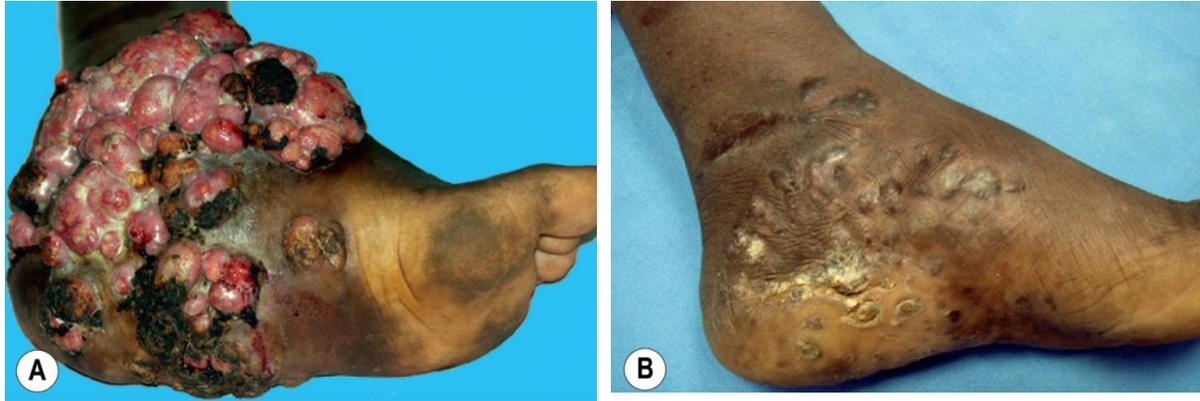
**TABLA 6. FÁRMACOS UTILIZADOS PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES POR ACTINOMICETOS AEROBIOS.**

GRUPO DE FÁRMACOS	NOMBRE DEL FÁRMACO
Aminoglucósidos	Amikacina
	Netilmicina
Beta-lactámicos	Amoxicilina/Ácido clavulánico
Carbapenémicos	Imipenem
	Meropenem
Oxazolidinonas	Linezolid
	DA-7867 <sup>a</sup>
	DA-7157 <sup>a</sup>
Quinolonas	Ciprofloxacino
	Gatifloxacino <sup>a</sup>
	Moxifloxacino <sup>a</sup>
	Garenoxacino <sup>a</sup>
Sulfonamidas	4,4-Diaminoadifensulfona
	Trimeroprima/Sulfametoxazol
Tetraciclinas	Minociclina
	Oxitetracilina
Rifamicinas	Rifampin

<sup>a</sup> Datos de susceptibilidad *in vitro*; no ha sido probado clínicamente

El actinomicetoma es susceptible al tratamiento mediante la combinación de antibióticos. El tratamiento farmacológico combinado es obligatorio para evitar la resistencia a los medicamentos y para lograr la erradicación de la enfermedad. Existen muchos casos que reportan una excelente respuesta clínica ante la combinación de sulfato de amikacina y cotrimoxazol administrado en ciclos (Hassan-Fahal, 2011).

En casos que presentan resistencia, la rifampicina, dapsona y estreptomycin son los fármacos indicados sin embargo son menos efectivos. Estos fármacos presentan muchos efectos colaterales; por lo tanto, se debe dar un seguimiento bioquímico-clínico a los pacientes. La tasa de curación varía entre 60 y 90% (Figura 10).



**FIGURA 10.** PIE DE UN PACIENTE CON ACTINOMICETOMA MASIVO TRATADO CON SULFATO DE AMIKACINA Y CO-TRIMOXAZOL (A) ANTES DEL TRATAMIENTO Y (B) DESPUÉS DEL TRATAMIENTO (HASSAN-FAHAL, 2011).

El SMX ejerce una acción antibacterial, y es dado en dosis de 8 (TMP) / 40 (SMX) mg/kg/día. La tasa de curación se encuentra alrededor del 60%, a pesar de que es frecuente que se necesite tratamiento a largo plazo. Las principales reacciones adversas son gastrointestinales, erupciones cutáneas, síndrome de Stevens-Johnson y problemas hematológicos como anemia y leucopenia (Welsh et al., 2012).

Debido a la severidad de la infección, se ha recurrido al uso de amikacina (AMK), el cual es un aminoglucósido de amplio espectro que inhibe la síntesis proteica y que ha demostrado ser muy efectivo en diversos estudios (Hassan-Fahal, 2011).

Para el tratamiento del Actinomietoma, la primera elección es la combinación de TMP/SMX en tabletas que con 800 mg y 160 mg respectivamente cada 12 horas, con 100 mg de diaminodifenilsulfona (DDS), cada 24 horas. La mayoría de micetomas causados por actinomietales responden a este tratamiento y la mejoría es evidente después de dos meses de tratamiento. Como segunda elección se emplea la asociación de la misma dosis de TMP/SMX con AMK, **aminoglucósido que se administra por vía intramuscular en ciclos de 21 días de tratamiento a dosis de 7.5 mg/kg de peso cada 12 horas.** Entonces, se suspende el aminoglucósido durante ocho días. Además de las precauciones que se toman cuando se administran sulfas, se debe considerar el posible daño renal o auditivo causado por la AMK; por lo tanto, antes de iniciar el tratamiento y después de cada ciclo de AMK, se debe valorar la función de esos órganos (Méndez-Tovar, 2014).

### 1.5. ACTINOMADURA MADURAE

El nombre de este género fue propuesto por Lechevalier en 1970 para agrupar a una serie de actinomicetos aerobios que desarrollan micelio y substrato aéreo, producen esporas y cuyos hidrolizados celulares contienen ácido-meso-DAP (ácido 2, 6 meso-diaminopimélico) y maduraosa (e-O-metil-D-galactosa). Estos mismos autores designaron como la especie tipo de este género a *Actinomadura madurae*, uno de los agentes causales de un tipo de micetoma denominado “pie de Madura”. Inicialmente *A. Madurae* fue descubierta por Vincent en 1894, y clasificada como *Streptothrix madurae*. Posteriormente, en 1896 Blanchard la reclasificó como *Nocardia madurae*. En 1906, Laveran describió otro microorganismo causante de la enfermedad de pie de Madura y lo clasificó en primera instancia como *Micrococcus pelletieri* y posteriormente como *Nocardia pelletieri* (Ochoa-Félix, 2004).

Tanto *N. Madurae* de Blanchard como *N. pelletieri* de Laveran carecían de micelio fragmentado típico de *Nocardia*, considerándose entonces como especies atípicas. En 1965, Becker y colaboradores demostraron que los hidrolizados celulares de estos microorganismos contenían meso-DAP y madurosa. Este descubrimiento llevó a Lechevalier a proponer el género *Actinomadura* para incluir a estas especies (Ochoa-Félix, 2004).

*Actinomadura madurae* pertenece al orden de los actinomicetales, familia de los maduromicetos, género *Actinomadura*, se localiza en el grupo 26 (*Maduromicetos*), subgrupo (*actinomadura*), del manual de bacteriología de Bergey's (Ochoa-Félix, 2004).

Los miembros del género *Actinomadura* se encuentran ampliamente distribuidos en el suelo de acuerdo a la información más reciente publicada en la literatura científica, este género comprende aproximadamente a 27 especies. La mayoría de estas especies son inocuas para los animales y el hombre, solamente las especies *A. madurae*, *A. latina* y *A. pelletieri* han sido relacionadas como agentes causales de actinomicetomas (Ochoa-Félix, 2004).

En los casos de micetoma, *A. Madurae*, produce granos blancos y blandos que miden 1 a 10 mm de diámetro y que se pueden identificar al examen directo por su gran tamaño y sus bordes cartográficos (Figura 11). En los cortes histopatológicos se observan granos multilobulados con bordes festonados o cartográficos y tienen una banda periférica que se tiñe intensamente en azul. El centro en cambio, está a menudo desprovisto de color, estos granos están rodeados por franjas de flecos largos, constituidos por filamentos frecuentemente bifurcados (Ochoa-Felix, 2004).



**FIGURA 11.** PIE DE MADURA. EL PIE IZQUIERDO DEL PACIENTE SE ENCUENTRA HINCHADO Y ENDURECIDO, CON NÓDULOS EN LA CARA DORSAL. (ISPOGLOU ET AL., 2003).

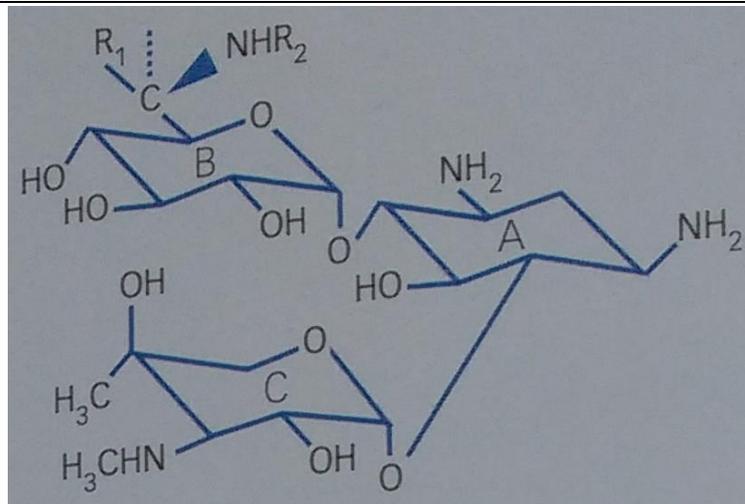
## **2. AMINOGLUCÓSIDOS**

### **2.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES**

Los aminoglucósidos (AG) son antibióticos bactericidas que desempeñan un papel relevante en el tratamiento de infecciones graves causadas por bacterias gram-negativas aerobias (sobre todo por algunas *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonas*). No obstante, la necesidad de administración parenteral para conseguir efecto sistémico y, sobre todo, la frecuente toxicidad (alguna grave) constituyen importantes limitaciones para su empleo (Lorenzo et al., 2008).

Los aminoglucósidos representan un grupo de medicamentos con características químicas, antimicrobianas, farmacológicas y tóxicas similares (Calderón-Uzumbilla, 2001). Estos fármacos son moléculas cargadas que no tienen biodisponibilidad por vía oral, por lo que deben administrarse por vía parenteral (Golan et al., 2012). Este grupo incluye a fármacos tan importantes como la neomicina, kanamicina, amikacina, gentamicina, tobramicina, netilmicina, estreptomina y sisomicina, entre algunos otros (Calderón-Uzumbilla, 2001). De éstos, la gentamicina, tobramicina y amikacina son los fármacos más utilizados debido a su menor toxicidad y mayor espectro de cobertura contra los microorganismos (Golan et al., 2012).

Los AG se denominan así por su estructura química. Todos contienen un anillo aminociclitol unido por enlaces glucosídicos a dos o más azúcares, generalmente aminoazúcares (Figura 12) (Lorenzo et al, 2008).



**FIGURA 12.** ESTRUCTURA QUÍMICA DEL AG GENTAMICINA. EN LA MOLÉCULA, EL ANILLO A ES EL AMINOCICLITOL, Y LOS ANILLOS B Y C SON AZÚCARES (LORENZO ET AL., 2008).

Su mecanismo de acción se asocia a la inhibición de la síntesis proteica de las bacterias mediante la inserción y bloqueo de la subunidad ribosomal 30S. Pueden establecerse tres principales mecanismos de resistencia bacteriana ante estos antibióticos (Calderón-Uzumbilla, 2001):

- Deficiencia en el receptor ribosómico del aminoglucósido.
- Falta de permeabilidad y falta de transporte activo hacia el interior de la célula, lo cual suele depender del cromosoma bacteriano o de las moléculas plasmídicas.
- Destrucción enzimática del medicamento, a través de proteínas codificadas por plásmidos.

## 2.2. MECANISMO DE ACCIÓN

Todos los AG acceden al interior bacteriano mediante mecanismos de transporte dependientes de energía, que sólo se producen en condiciones aerobias, y alteran la síntesis proteica bacteriana en los ribosomas. Esta acción no puede explicar por sí sola el efecto bactericida, pues otros inhibidores de la síntesis proteica son sólo bacteriostáticos. Por ello se ha propuesto que otros mecanismos (principalmente alteraciones en la composición de la membrana bacteriana, y en menor medida, modificaciones en el metabolismo y la respiración bacterianos) podrían estar involucrados en el efecto bactericida (Lorenzo et al., 2008).

En las bacterias gram-negativas, los AG atraviesan la membrana externa mediante mecanismos pasivos (no dependientes de energía) y acceden al espacio periplásmico. Desde aquí alcanzan el interior bacteriano, atravesando la membrana interna (citoplasmática), mediante mecanismos de transporte dependientes de energía que no se producen en condiciones anaerobias, lo cual explicaría la resistencia a los AG de las bacterias anaerobias estrictas y de las facultativas cuando crecen en un medio aerobio (p.ej., un absceso). Estos mecanismos de transporte activo también permiten el paso de los AG a través de la membrana plasmática hacia el citoplasma de algunos cocos gram-positivos (Lorenzo et al., 2008).

Los AG actúan en cuatro etapas (Figura 13): en la primera se insertan en una proteína receptora especial ubicada sobre la unidad 30S del ribosoma microbiano (Sitio A); en la segunda, el antimicrobiano interrumpe la actividad normal del complejo de iniciación de la formación del péptido y, en la tercera, provoca que el mensaje del mRNA se lea incorrectamente sobre la región de reconocimiento del ribosoma, ocasionando la incorporación de aminoácidos inadecuados dentro del péptido, por lo que se forma una proteína no funcional. Finalmente, en la cuarta etapa, la inserción del AG provoca la demolición de los polisomas y su superación en monosomas, los cuales carecen de la capacidad para efectuar síntesis proteínica, lo que se traduce en la muerte de la célula bacteriana (Calderón-Uzumbilla, 2001).

Otro aspecto importante de la actividad de los AG es que estos fármacos actúan de forma sinérgica con otros fármacos, como los  $\beta$ -lactámicos, que inhiben la síntesis de la pared celular. Por lo tanto, los AG y los  $\beta$ -lactámicos se utilizan a menudo en combinación. La explicación que se sugiere con mayor frecuencia para esta sinergia es que la inhibición de la síntesis de la pared celular aumenta la entrada de los AG en la bacteria (Golan et al., 2012).



Otro mecanismo de resistencia es la alteración de los sitios de unión a los ribosomas del AG. Su relevancia clínica es pequeña pues no es transferible y solo afecta a la estreptomycin (Lorenzo et al., 2008).

Recientemente se ha descrito un tipo especial de resistencia a los AG denominado resistencia adaptativa. Se trata de una resistencia transitoria en la que las bacterias que no han sido destruidas inicialmente entran en un período refractario al efecto del antibiótico que dura varias horas (por lo general, 4-6 horas desde la inyección del fármaco) y posteriormente desaparece (Lorenzo et al., 2008).

## 2.4. FARMACOCINÉTICA

La estructura molecular policationica de los aminoglucósidos les confiere escasa liposolubilidad, lo que condiciona notablemente su capacidad de paso a través de las membranas celulares y sus características farmacocinéticas. En la Tabla 7 se resumen las principales características en el adulto (Lorenzo et al., 2008).

**TABLA 7. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS FARMACOCINÉTICAS DE LOS AMINOGLUCÓSIDOS EN EL ADULTO (LORENZO ET AL., 2008).**

ADMINISTRACIÓN <sup>a</sup>	UNIÓN A PROTEÍNAS (%)	VOLUMEN DE DISTRIBUCIÓN (L/kg)	EXCRECIÓN	SEMIVIDA A (h) <sup>b</sup>	
Amikacina	IM, IV	4-10	0.27 ± 0.06	Renal	2-3
Gentamicina	IM, IV	5-9	0.31 ± 0.10	Renal	2-3
Tobramicina	IM, IV	1-10	0.33 ± 0.04	Renal	2-2.5
Netilmicina	IM, IV	2-5	0.25 ± 0.04	Renal	2-3
Estreptomycin <sup>a</sup>	IM	20-40	0.25 ± 0.05	Renal	2-3

<sup>a</sup> La administración por vía IV siempre se realizará en forma de infusión continua de 30-60 min de duración.

<sup>b</sup> Los valores de semivida se alargan sustancialmente en los pacientes con insuficiencia renal y también son más altos en recién nacidos y ancianos.

Los AG se absorben fácilmente tras la administración intramuscular y a menudo se administran por infusión IV continua. En cambio, la absorción es mínima tras la administración por vía inhalatoria, oral (salvo en los pacientes en procesos

inflamatorios intestinales) y cutánea (excepto en los pacientes con quemaduras o úlceras extensas) (Lorenzo et al., 2008).

## **2.5. TOXICIDAD**

En contraste con el efecto antimicrobiano, la toxicidad del AG en los pacientes depende tanto del tiempo como de la concentración; no ocurre hasta que se llega a una concentración umbral, pero una vez lograda, el tiempo que excede este umbral viene a ser crítico. Este umbral es definido de manera imprecisa, pero las concentraciones más bajas de 2 µg/mL predicen toxicidad (Katzung, 2007).

Además de los distintos tipos generales de toxicidad, como las reacciones de hipersensibilidad y de fiebre inducida por fármacos, los AG pueden producir tres efectos adversos específicos: ototoxicidad, nefrotoxicidad y bloqueo neuromuscular. De estos, la ototoxicidad (manifestada como daño acústico o vestibular) es el factor individual más importante que limita el uso de los AG. Existe una gran evidencia de que la ototoxicidad se produce por la inhibición de los ribosomas mitocondriales del hospedero. Se sabe que los AG se acumulan en la perilinfa y enolinfa del oído interno y, en concentraciones elevadas, lesionan las células ciliadas altamente sensibles (Golan et al., 2012). La incidencia de ototoxicidad es muy variable (0.5-5% de los pacientes tratados en algunos estudios y más del 50% en otros), lo que en parte está relacionado con la sensibilidad del método utilizado para detectarla y con el control de los factores de riesgo. El riesgo y la gravedad de la lesión dependen de la dosis y son mayores en los tratamientos prolongados o repetidos si las concentraciones plasmáticas están persistentemente elevadas, si se asocian a otros fármacos ototóxicos o cuando existe una lesión cocleovestibular previa (Lorenzo et al., 2008).

Los AG también pueden producir insuficiencia renal aguda, al parecer como resultado de la acumulación del fármaco en las células del túbulo proximal. La bioquímica involucrada en esta toxicidad es poco conocida, aunque se sospecha tanto de la toxicidad mitocondrial como la perturbación de la membrana plasmática. En concentraciones altas, los AG pueden producir bloqueo neuromuscular no despolarizante, que puede causar parálisis respiratoria. Se cree que este efecto es debido a la competición del fármaco con el calcio en los lugares perisinápticos, lo que conduce a una reducción de la liberación de acetilcolina, a la ausencia de despolarización de la placa terminal postsináptica y a la parálisis muscular (Golan et al., 2012).

### 3. AMIKACINA

#### 3.1. HISTORIA Y DESCRIPCIÓN

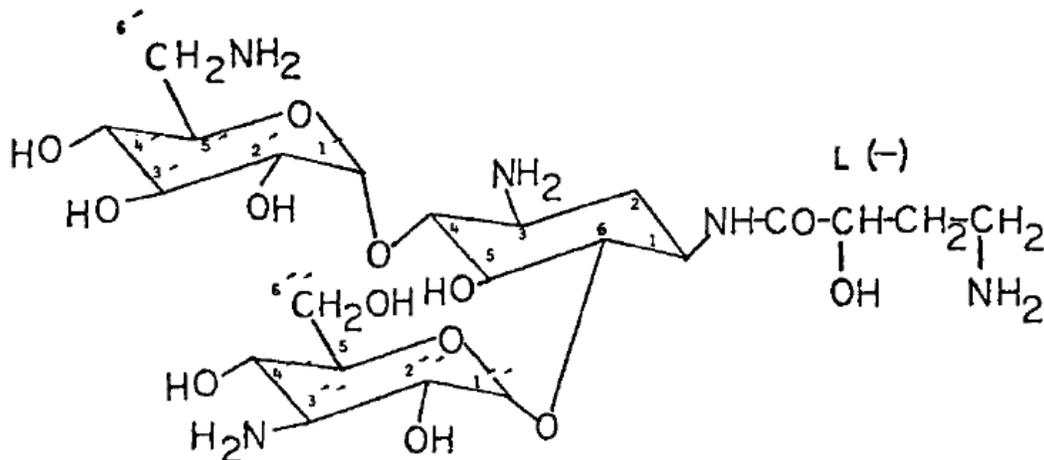
La AMK es un AG semisintético producido por la alteración química de la kanamicina A. El descubrimiento de la Kanamicina fue reportado en 1957 por el Dr. Hamao Umezawa. Fue producido por fermentación y utilizado para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias Gram-negativas. Como el uso de kanamicina A y otros aminoglucósidos se realizó de manera indiscriminada, comenzó a emerger la resistencia bacteriana (Melone, n.d.).

La visión adquirida sobre los mecanismos enzimáticos por los cuales se generaba la resistencia e inactivación de los AG, y la comprensión de las características estructurales relacionadas con la actividad microbiológica formó las bases para la síntesis de nuevos aminoglucósidos. (Melone, n.d)

En 1972, el Dr. Hiroshu Kawaguchi describe el descubrimiento del BB-K8 (AMK) y demuestra su eficacia mejorada. En 1976, la F.D.A. aprueba la venta de AMK. (Melone, n.d)

#### 3.2. ESTRUCTURA QUÍMICA

La estructura de la amikacina se muestra en la Figura 14. La estructura que se muestra es la reportada por Kawuaguchi (Melone, n.d).



**FIGURA 14.** ESTRUCTURA DE AMK REPORTADA POR EL DR. H. KAWAGUCHI (MELONE, N.D).

Las características generales de la molécula se encuentran a continuación:

- Nombre genérico: Sulfato de Amikacina (Scholar, 2007).
- Número de CAS: 3751-28-5 (ScienceDirect, 2008).
- Fórmula molecular:  $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$  (ScienceDirect, 2008).
- Peso molecular: 586.604 (ScienceDirect, 2008).
- Apariencia: Polvo blanco cristalino. (Melone, n.d.).
- Solubilidad: El equilibrio de solubilidad en agua a 25°C reportado es de 185 mg/mL. (Melone, n.d.) Insoluble en alcohol (Scholar, 2007).
- Espectro UV: La amikacina en agua en concentración de 1 mg/mL presenta la máxima absorción en 240 nm. (Melone, n.d.).

### **3.3. PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS**

La farmacocinética de la AMK es similar a la kanamicina y al resto de los aminoglucósidos. No se absorbe en el tracto gastrointestinal, por lo que se administra por vía intramuscular (I.M.) o intravenosa (I.V.). Como en la kanamicina, la unión a proteínas séricas es muy lenta. No es capaz de penetrar el líquido cefalorraquídeo en pacientes con meninges en estado normal. La AMK se distribuye de manera primaria en el fluido extracelular. La eliminación del cuerpo es casi en su totalidad por el riñón, la cual puede verse reducida en pacientes con insuficiencia renal. La AMK se distribuye de manera primaria en el fluido extracelular. La eliminación del cuerpo es casi en su totalidad por el riñón, la cual puede verse reducida en pacientes con insuficiencia renal. La mayor parte de la dosis administrada se elimina como el compuesto original (Scholar, 2007).

El espectro de la actividad antimicrobiana de la AMK es del más amplio rango entre los antibióticos de este grupo (Calderón-Uzumbilla, 2001) por lo que su uso alrededor del mundo ha sido utilizado para el tratamiento de infecciones debido a que es la menos vulnerable a la inactivación enzimática, ya que es sensible a muy pocas enzimas, por lo que desempeña un papel importante en infecciones resistentes a otros AG y en muchos hospitales se considera un antibiótico de reserva (Golan et al., 2012).

La dosis diaria recomendada en la administración de este antibiótico es de 15 mg/kg/día por vía I.M., las concentraciones máximas en el suero son de 10 a 30  $\mu$ g/mL (Katzung, 2007). Este fármaco se absorbe con rapidez después de haberse aplicado por vía I.M., presenta un porcentaje de excreción urinaria del 98% y se une a proteínas plasmáticas en razón de 4 a 12%; se distribuye en el cuerpo en volúmenes de  $0.27 \pm$

0.06 L/kg. Su vida media es aproximadamente de  $2.3 \pm 0.4$  h y su tasa de eliminación es de  $1.3 \pm 0.6$  mL/min/kg (Calderón-Uzumbilla, 2001).

Como todos los AG, la AMK es nefrotóxica y ototóxica (particularmente para la rama auditiva del octavo nervio). Las concentraciones séricas deben ser vigiladas; las concentraciones máximas, para una dosis administrada cada 12 h, son de 20 a 40  $\mu\text{g/mL}$ , y las más bajas deben ser mantenidas a menos 2  $\mu\text{g/mL}$  (Katzung, 2007).

### **3.4. FARMACODINAMIA**

El mecanismo de acción de la AMK es similar al del resto de los AG (Figura 13), como todos, es bactericida. Por la interferencia con la iniciación de la síntesis proteica, la AMK provoca la acumulación de complejos de iniciación anormales. También provoca errores en la lectura de la plantilla de mRNA, lo que lleva a la incorporación de aminoácidos incorrectos en la cadena polipeptídica. (Scholar, 2007).

## **4. SISTEMAS SEMISÓLIDOS**

### **4.1. DEFINICIÓN**

Las preparaciones farmacéuticas semisólidas pueden ser definidas como un producto previsto para la aplicación en la piel o en las membranas mucosas y algunas veces tiene efectos sistémicos desde el sitio de aplicación. En general las dosificaciones semisólidas son formulaciones complejas que tienen elementos estructurales complejos (Gómez-Peláez, 2009).

### **4.2. PROPIEDADES REOLÓGICAS**

La reología o ciencia de la deformación de la materia se ocupa de la deformación de los cuerpos aparentemente continuos y coherentes, pero con frecuencia también trata de la fricción entre los sólidos, el flujo de los polvos, etc. (Gómez-Peláez, 2009).

Existen dos obstáculos para la clasificación reológica: la diversidad de los materiales existentes, líquidos, gaseosos y semisólidos, con propiedades reológicas intermedias. El segundo obstáculo deriva el distinto comportamiento de cualquier producto ofrece al variar las condiciones (Gómez-Peláez, 2009).

Un concepto involucrado en la reología es la deformación, el cual es un fenómeno que experimenta la materia al ser sometida a algún tipo de fuerza ejercida sobre una superficie. La deformación es proporcional a la fuerza que la produce, pero también

existe una fuerza que se opone a ésta presión que es la que produce la recuperación de la forma semisólida ideal (Gómez-Peláez, 2009).

Si hablamos de un líquido, este puede denominarse flujo. La viscosidad es una propiedad física que presenta el fluido y que está relacionada con el flujo del mismo, en donde entra lo que se llama esfuerzo cortante o tensión de cizalla, así se puede definir a la viscosidad como la resistencia o fricción que un fluido presenta al movimiento, es decir, la viscosidad es la resistencia de un líquido a fluir (Gómez-Peláez, 2009).

La reología estudia el flujo y la deformación de la materia, en los geles se estudia, en las soluciones de agentes gelificantes, agentes de dispersiones sólidas o agentes que producen típicamente floculación, pseudoplasticidad, exhibiendo un flujo no newtoniano caracterizado por el decremento de la viscosidad incrementándose la ruptura de la tensión de cizalla. Los fluidos no newtonianos son por lo general muy complejos y constan de más de una fase, aunque los geles pueden considerarse como fases únicas (Gómez-Pelaez, 2009).

### **4.3. EMULSIONES**

Una emulsión es una dispersión termodinámicamente inestable de dos o más líquidos inmiscibles o parcialmente miscibles. Los diámetros de las gotas líquidas que se encuentran dispersas se encuentran en el radio de 0.1-20  $\mu\text{m}$ . Aunque se traten de dispersiones termodinámicamente inestables, las emulsiones pueden convertirse en cinéticamente estables gracias a la presencia de tensoactivos (Aranberri et al., 2006).

Los tensoactivos, son sustancias anfifílicas que facilitan la formulación de la emulsión disminuyendo la tensión interfacial, además de aportar una cierta estabilidad física durante un tiempo, que puede ser más o menos largo, dependiendo de la composición, características de procesado y condiciones externas durante el envejecimiento (Muñoz et al., 2007).

#### **4.3.1. TIPOS DE EMULSIONES**

Dependiendo de la naturaleza de las fases dispersas y continua, las emulsiones se clasifican como aceite en agua (o/w), agua en aceite (w/o) o múltiples tipo agua/aceite/agua (w/o/w) y aceite/agua/aceite (o/w/o) (Muñoz et al., 2007).

En las emulsiones o/w, la fase dispersa consiste en pequeñas gotas de un líquido de naturaleza oleosa, por lo tanto, hidrófoba y una fase dispersa continua dominada por un medio normalmente acuoso. Lógicamente, en una emulsión w/o, la fase dispersa es de naturaleza acuosa y la continua oleosa (Muñoz et al., 2007).

La mayoría de las emulsiones múltiples: o/w/o y w/o/w encuentran aplicaciones en cosmética y farmacia (Muñoz et al., 2007).

El tipo de emulsión que se tiende a formar depende del balance entre las propiedades hidrófilas e hidrófobas del agente emulsificante. Generalmente se suele cumplir la regla de Bancroft: “La fase continua es aquella la cual solubiliza al agente emulsificante”. La naturaleza anfótera de los agentes tensoactivos puede ser expresada en términos de una escala empírica denominada balance HLB (balance hidrófilo—lipófilo). Se han establecido varias ecuaciones para calcular los valores de HLB y a los agentes tensoactivos menos hidrófilos se les han asignado los valores de HLB más bajos (Aranberri et al., 2006).

#### **4.4. GELES**

Los geles son sistemas semisólidos de suspensiones preparadas en pequeñas partículas inorgánicas o grandes moléculas orgánicas interpenetradas por un líquido. Cuando la masa gelificada consiste en una red de pequeñas partículas individuales el gel se clasifica como un sistema bifásico. Los geles de una sola fase consisten en macromoléculas orgánicas distribuidas con uniformidad por todo el líquido de modo que no hay límites aparentes entre las macromoléculas dispersadas y el líquido. Los geles monofásicos pueden consistir en macromoléculas sintéticas, por ejemplo, carbómero, o en gomas naturales como la de tragacanto. Estos geles suelen ser acuosos, pero pueden usarse alcoholes y aceites como fase continua (Alvarez-Carrillo, 1999).

Los geles presentan un aspecto parecido al de una gelatina transparente, sin embargo, algunos de estos geles principalmente de origen natural llegan a presentar una coloración beige o café, en los geles sintéticos la coloración es transparente o blanca (Gómez-Peláez, 2009).

##### **4.4.1. CLASIFICACIÓN**

Según el número de fases en que están constituidos (Gómez-Peláez, 2009):

##### **i) Geles monofásicos:**

Consisten en macromoléculas orgánicas, uniformemente distribuidas a través del líquido, de manera que no existen límites aparentes entre las moléculas dispersas y el líquido.

ii) Geles bifásicos:

La masa de gel consiste en una red de partículas pequeñas separada del gel. Como gel de hidróxido de aluminio, en donde las partículas se encuentran dispersas en la fase líquida y son relativamente grandes. Constituidos por dos fases líquidas inmiscibles, formándose una estructura transparente con propiedades de semisólido.

De acuerdo a su fase continua (Gómez-Peláez, 2009):

i) Geles hidrofílicos (hidrogeles):

Son aquellos que presentan una fase acuosa continua. Preparaciones cuyas bases usualmente consisten de agua, glicerol y propilenglicol gelificados con un agente gelificante semejante al tragacanto, almidón, derivados de celulosa, polímeros de carboxivinil y silicatos de magnesio y aluminio.

ii) Geles hidrofóbicos (organogeles):

Son aquellos que su fase continua es un solvente orgánico. Preparaciones cuyas bases usualmente consisten de parafinas líquidas como polietileno o de aceites grasos gelificantes como sílica coloidal y aluminio o agentes jabonosos de aluminio o zinc.

De acuerdo a sus propiedades (Gómez-Peláez, 2009):

i) Geles químicos:

Son aquellos que tienen entrecruzamientos mediante enlaces covalentes. Por lo tanto, éstos no se disuelven tan fácilmente en agua u otros disolventes orgánicos a menos que el enlace covalente sea roto. Existen dos perspectivas para la modificación de geles químicos. La primera consiste en que el gel químico puede ser hecho mediante monómeros del polímero solubles en agua en presencia de agentes que rompan fácilmente el enlace covalente. La segunda perspectiva es la de romper los enlaces covalentes mediante típicas reacciones químicas orgánicas que involucren a los grupos funcionales de los polímeros.

ii) Geles físicos:

Involucran interacciones no covalentes, es por ello que para que la estructura de un gel quede determinada van a intervenir diversas propiedades físicas, entre ellas el trabajo físico, el cual va a establecer el desarrollo de la continuidad del gel y del desorden, para que exista una relación entre asociaciones de fuerzas capaces de formar entrecruzamientos no covalentes.

#### **4.4.2. PROPIEDADES DE TRANSICIÓN**

Las propiedades de transición que presentan los geles son (Gómez-Peláez, 2009):

##### i) Punto de gel (transición sol-gel)

Puede ser dependiente del polímero o la temperatura. La concentración de gelificación crítica es la concentración en la cual no se forma ningún gel bajo condiciones experimentales. Muchos polímeros tienen una tendencia a formar agregados en soluciones diluidas o geles en soluciones moderadamente concentradas. Con los cambios de temperatura las moléculas de polímero se mueven libremente en una distribución espacial al azar en solución siendo ligados por entrecruzamientos no covalentes para la formación del gel. Los geles físicos que tienen la capacidad de formar, romper y/o modificar los enlaces responsables de mantener a la red polimérica unida en función de un cambio de temperatura son llamados geles termorreversibles.

##### ii) Sinéresis

Es el proceso en donde el líquido es liberado espontáneamente desde la matriz del gel. Esta inestabilidad se presenta principalmente por cambios en las condiciones externas.

En el equilibrio las fuerzas de concentración elásticas en las cadenas del polímero usualmente son balanceadas por fuerzas de hinchazón de los solventes, resultando un diferencial de presión osmótica. Con cambios de temperatura la presión osmótica cambia, causando una contracción elástica en las cadenas del polímero y ocasionando con ello que el líquido salga fuera de la matriz.

La sinéresis no está limitada a hidrogeles orgánicos, ha sido también vista en hidrogeles inorgánicos. Típicamente la sinéresis se vuelve más pronunciada cuando la concentración del polímero decrece. El mecanismo de contracción ha sido relacionado con la relajación de la tensión elástica.

#### **4.5. EMULGELES**

Conforme a la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), décima edición, una emulsión se define como “un sistema heterogéneo, generalmente constituido por dos líquidos no miscibles entre sí; en el que la fase dispersa está compuesta de dos pequeños glóbulos distribuidos en el vehículo en el cual son inmiscible”, cuya vía de administración puede ser oral, tópica, parenteral y cutánea. Así mismo un gel está definido en la FEUM como sigue: “Preparación semisólida que contiene el o los fármacos y aditivos, constituido por lo general por macromoléculas dispersas en un

líquido que puede ser agua, alcohol, o aceite que forma una red que atrapa el líquido y que le restringe su movimiento, por lo tanto, son preparaciones “viscosas”, cuya vía de administración puede ser bucal, oral, tópica y cutánea (López-Cervantes, 2013).

De lo anterior podemos deducir que un emulgel es una emulsión dispersa en un gel, es decir, dos líquidos inmiscibles entre sí mezclados y estabilizados con un tensoactivo cuyo medio de dispersión de este sistema es un polímero (López-Cervantes, 2013).

## 5. PIEL

### 5.1. CARACTERÍSTICAS DE LA PIEL

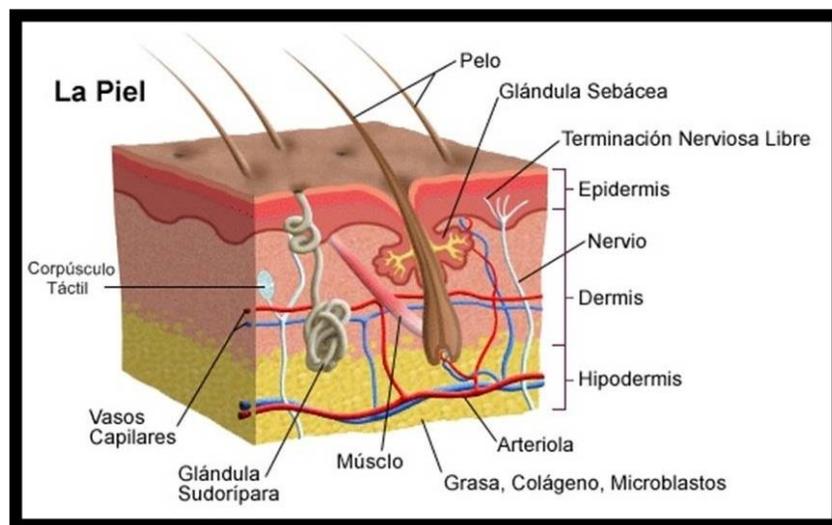
La piel cubre un área de 2 m<sup>2</sup> aproximadamente y es el órgano que permite el contacto entre nuestro organismo y el ambiente exterior, cumple además con múltiples funciones, por ejemplo, evita la pérdida de agua y la entrada de sustancias extrañas (López-Cervantes, 2013). Del exterior al interior del organismo, encontramos a la epidermis, la dermis y el tejido subcutáneo o hipodermis (Guadarrama-Escobar, 2013). El espesor de las capas varía con las distintas regiones atómicas. La epidermis es más gruesa en las palmas de las manos y las plantas de los pies y muy delgada en los párpados, mientras que la dermis es más gruesa en la espalda.

**TABLA 8.** PRINCIPALES FUNCIONES DE LA PIEL (COLÍN-COLÍN, 2016).

FUNCION	ACTIVIDADES
Protección del organismo	Constituye una barrera semipermeable contra agentes físicos (raspaduras), químicos (quemadas) y biológicos (microorganismos).
Regulación térmica corporal	Ayuda a conservar la temperatura a través de las glándulas sudoríparas (sudor) y el control del flujo sanguíneo de la dermis.
Comunicación con el ambiente	Debido a que la piel posee receptores nerviosos y terminaciones sensitivas que perciben sensaciones, tacto, presión, temperatura, dolor, mantiene al individuo informado sobre el ambiente que lo rodea.
Eliminación y absorción	La excreción de sales minerales, amoniaco, urea, ácido úrico, láctico, a través del sudor y la absorción de

	sustancias químicas, oxígeno y dióxido de carbono.
Síntesis de vitamina D	Promueve la síntesis por la acción solar (rayos UV).
Regeneración de heridas	Promueve la división celular y la renovación tisular.
Apariencia cosmética	Proporciona identidad a cada individuo.

Las funciones convencionales de la piel se muestran en la Tabla 8. Además de ellas, cumple con otras múltiples funciones, como son: control de la pérdida de fluidos valiosos, evita la penetración de sustancias extrañas, nocivas y radiaciones, actúa como cojín frente a golpes mecánicos, regula la pérdida de calor, transmite los estímulos que le llegan y también es el reflejo de enfermedades sistémicas. La piel es un sistema heterogéneo constituido por dos tejidos, uno epitelial denominado epidermis y el otro conjuntivo que recibe el nombre de dermis. Por debajo de estos tejidos se encuentra la hipodermis, también llamada fascia superficial, donde predominan los adipocitos (Figura 15) (Ávila-Ávalos, 2010).



**FIGURA 15.** ESTRUCTURA DE LA PIEL.  
([HTTP://FILESBIOPSICOSALUD4.WEBNODE.COM.VE](http://filesbiopsicosalud4.webnode.com.ve))

## 5.2. EPIDERMIS

La epidermis es muy delgada, tiene un espesor de una hoja de papel. Su espesor varía en función de la localización; la capa córnea determina las variaciones de espesor (Serrano-Castañeda, 2011). Está formada, de la profundidad a la superficie, por cinco estratos: capa basal o germinativa, estrato espinoso o filamentoso, estrato granuloso, capa lúcida y capa córnea (Figura 16) (Serrano-Castañeda, 2011).

i) Capa basal o germinativa:

Formada por una hilera de células que constantemente regeneran la epidermis. En ella se encuentran los melanocitos, que son células con forma de estrella cuyas prolongaciones se denominan dendritas, y que son las células responsables de la fabricación de melanina, la cual es un pigmento que contribuye al color de la piel y la protege de los efectos negativos de los rayos solares. Además, en esta capa se encuentran las células del sistema inmunológico (células Langerhans) encargadas de presentar los antígenos a los linfocitos e iniciar la respuesta inmune de defensa (Ávila-Ávalos, 2010).

ii) Capa espinosa o malpighiana:

Esta capa está situada por encima de la capa basal y está formada por varias hileras de células, las cuales se unen entre sí y con las de la capa basal constituyen un fuerte armazón (Ávila-Ávalos, 2010).

iii) Capa granulosa:

Está formada por elementos celulares aplanados que contienen gránulos de queratohialina. No tienen la capacidad de dividirse ya que están dedicadas únicamente a la producción de queratina (Ávila-Ávalos, 2010).

iv) Capa córnea:

Constituida por capas de células muertas (corneocitos). Se encuentra en constante descamación, aunque en condiciones normales este fenómeno es imperceptible. Esta capa aparece en toda la piel, salvo en las mucosas (labios, vulva, boca, etc.) (Ávila-Ávalos, 2010).

El estrato córneo (EC) tiene un grosor variable en función de la región anatómica (entre 10 y 50  $\mu\text{m}$ ) y está compuesta por proteínas (40%), lípidos (20%) y agua (40%). La cinética de renovación del EC implica un recambio completo del mismo cada 15 a 30 días en una piel normal (Ávila-Ávalos, 2010).

La epidermis además contiene cuatro tipos de células (Guadarrama-Escobar, 2013):

i) Queratinocitos:

Son el componente de la epidermis. Su función es producir queratina, una proteína filamentosa compleja que forma el EC. Se encuentran presentes desde el estrato basal al granular, y al llegar al EC, se transforman en corneocitos. Los queratinocitos desempeñan un papel importante en la función inmunológica de la piel.

## ii) Melanocitos:

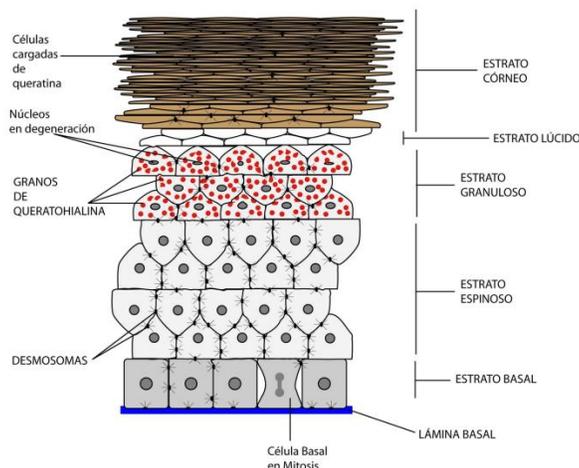
El melanocito es una célula de tipo dendrítico, que se extiende por largas distancias dentro de la epidermis y está en contacto estrecho con los queratinocitos. Son las células responsables de la pigmentación de la piel; se encuentran en la capa basal y producen gránulos llamados melanosomas que contienen melanina. Estos gránulos se transfieren desde los melanocitos hasta los queratinocitos, y proporcionan protección al núcleo celular frente a radiaciones UV. Las diferencias en el color de la piel según la raza son explicadas por el número de melanosomas.

## iii) Células de Langerhans:

Representan 3-5% de las células del estrato espinoso en donde se encuentran situados los queratinocitos. Son células inmunes con forma dendrítica que participan en la respuesta de barrera frente a alergias de contacto. Su producción es estimulada por la langerina, una proteína de membrana con actividad de receptor. Dichas células participan en la respuesta inmune cutánea y migra desde la piel hasta los ganglios linfáticos. Poseen receptores de membrana para la inmunoglobulina Fc y el complemento C3.

## iv) Células de Merkel:

Representan un tipo de células intraepiteliales de la piel, se encuentran sobre todo en las proximidades del estrato basal, ya que poseen unas microvellosidades que responden a la distorsión mecánica, produciendo la liberación de neurotransmisores por parte de la célula (Guadarrama-Escobar, 2013).



**FIGURA 16. ESTRATOS DE LA EPIDERMIS.**  
(GUADARRAMA-ESCOBAR, 2013).

### **5.3. DERMIS**

La dermis forma la mayor parte de la piel. Su espesor es de unos 4 mm. Se divide a su vez en otras tres zonas que, de un nivel más superficial a un nivel más profundo son: dermis papilar, dermis reticular y dermis profunda. Se trata de un sistema de fibras entrelazadas, embebidas en una sustancia denominada “sustancia fundamental”, en la que existen varios tipos de células. En la dermis se encuentran también los anexos cutáneos, córneos (pelos y uñas) y glandulares (sebáceas y sudoríparas) (Figura 17). También se encuentran los vasos sanguíneos que irrigan la piel y las terminaciones nerviosas. Las fibras que forman el armazón de la dermis y que son las causantes de la tersura, flexibilidad y elasticidad de la piel son (Ávila-Ávalos, 2010):

- Fibras de colágeno: son el principal componente de la dermis.
- Fibras elásticas: son las responsables de la elasticidad de la piel.
- Fibras de reticulina: son muy escasas y se disponen alrededor de los pelos, uñas, glándulas y de los vasos sanguíneos.

Las células que forman la dermis se denominan fibroblastos. Se encargan de producir fibras de colágeno, fibras elásticas y la sustancia fundamental. Existen también distintas células del sistema inmunológico: linfocitos, macrófagos, eosinófilos y mastocitos que se encuentran presentes en número variable dependiendo de las circunstancias de la piel.

La sustancia fundamental se encuentra entre las fibras y está constituida por proteínas, electrolitos, glucosa y agua.

### **5.4. HIPODERMIS**

La hipodermis es la capa más profunda de la piel. También se denomina tejido celular subcutáneo o panículo adiposo. Se halla constituida por gran multitud de células grasas. La grasa forma tejido metabólico muy activo que además protege al organismo proporcionándole amortiguación y aislamiento térmico (Ávila-Ávalos, 2010).

### **5.5. ANEXOS DE LA PIEL**

Las glándulas ecrinas y apocrinas, los conductos, las unidades pilosebáceas y las uñas constituyen los anexos cutáneos también llamados faneras, que son modificaciones del epitelio cornificado (Figura 18) (Guadarrma-Escobar, 2013):

i) Folículos pilosos:

Se encuentran distribuidos por toda la superficie de la piel, excepto las palmas de las manos, plantas de los pies, glande, labios mayores, menores y ombligo. Varía en cuanto a longitud y coloración en las diferentes regiones de la piel y dependerán de factores genéticos, raciales y endócrinos.

ii) Glándulas sudoríparas ecrinas:

Son apéndices de la epidermis que tienen como función el mantenimiento de la temperatura normal del cuerpo, segregando agua sobre la superficie de la piel para así disipar el calor por evaporación.

Estas glándulas tienen tres componentes principales:

- Los acrosiringios que se abren directamente sobre la superficie cutánea.
- La porción dérmica recta del conducto formado por células epiteliales cuboidales.
- La zona secretora localizada en el panículo superficial. En la región de la espalda, esta zona se sitúa en la dermis profunda.

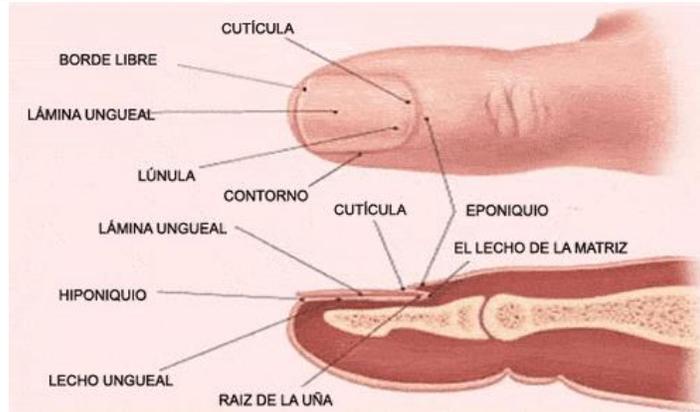
iii) Glándulas sudoríparas apocrinas:

Poseen un conducto secretor que desemboca en un folículo piloso. Embriológicamente derivan del germen epitelial primario. Ocupan toda la superficie de la piel, luego la gran mayoría desaparece y quedan confinadas a la localización característica del adulto (axilas, región ano-genital, región periumbilical, areolas, conducto auditivo externo, párpados, borde bermellón de los labios). En la pubertad aumenten de tamaño por estímulo hormonal.

iv) Uñas:

Son placas de queratina que recubren la parte distal de los dedos. La uña empieza por la raíz, implantada en un surco de la epidermis, continua con el cuerpo y termina por el borde libre; el borde oculto corresponde al borde proximal de la raíz, cubierto por un pliegue cutáneo, el valle posterior. La lúnula es la porción proximal y blanquecina del cuerpo, es visible en el pulgar y va desapareciendo, cubierta por la dermis en los últimos dedos mediales.

La matriz de la uña es una porción de la dermis sobre la que se asienta la raíz y la lúnula. El lecho de las uñas es una zona epidérmica desprovista del EC, sobre ella se asienta el cuerpo de la uña y presenta crestas o surcos; el lecho le da adherencia y permite su deslizamiento. Crece 0.5 mm por semana, está ricamente vascularizado, por lo cual presenta color (Figura 17).

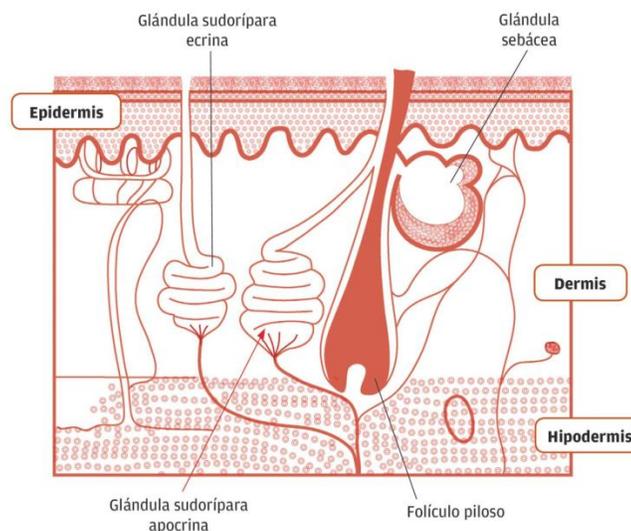


**FIGURA 17. ESTRUCTURA DE LA UÑA.** ([HTTP://BP.BLOGSPOT.COM](http://BP.BLOGSPOT.COM))

v) Glándula sebácea:

Estas glándulas producen una sustancia llamada sebo, que está formada por grasa, células y ácidos, cuya misión es engrasar la piel y el cabello como mecanismo de protección.

Formada por adipocitos, estas células son semejantes a las de los estratos de la epidermis, pero posteriormente se llenan de lípidos y pierden el núcleo. Las glándulas sebáceas se encuentran en toda la superficie cutánea, excepto en palmas y plantas de los pies y son escasas en dorso de manos y pies. La mayor concentración glandular se encuentra en zonas como cara, frente, cuero cabelludo, línea media del dorso y cara interior del tórax, donde pueden alcanzar 900 cm<sup>2</sup>.



**FIGURA 18. ANEXOS CUTÁNEOS.** ([HTTP://DOCPLAYER.ES](http://DOCPLAYER.ES))

## 6. VÍA DE ADMINISTRACIÓN TÓPICA Y TRANSDÉRMICA

Un fármaco administrado por vía cutánea, puede ejercer su efecto a dos niveles: liberación tópica (efecto y liberación local) y transdérmica (efecto sistémico). Ambas presentan múltiples diferencias. La vía tópica tiene las siguientes características (López-Cervantes, 2013):

- Se utiliza en piel enferma o cuando se pretende lograr un efecto localizado en los tejidos subyacentes.
- Se desea evitar la absorción sistémica de un medicamento.
- Existen múltiples sitios de aplicación.
- Los sistemas de liberación pueden ser los clásicos o los nuevos.
- Deben presentar una efectiva y alta disponibilidad local.

La vía transdérmica tiene otros requerimientos:

- Se aplica en piel normal.
- Requiere de un sistema de absorción controlada para el medicamento.
- Generalmente se aplica en un sitio específico.
- Los sistemas de liberación deben ser específicos.
- Es necesaria una alta biodisponibilidad.

No obstante, tales diferencias, existen requerimientos comunes, tales como: cosméticamente aceptable para la piel, formulaciones no irritantes ni alergénicas, buena estabilidad fisicoquímica del medicamento en la formulación, buena biodisponibilidad del medicamento (para lo cual pueden utilizarse promotores de penetración) (López-Cervantes, 2013).

Sin embargo, la piel se comporta como una barrera pasiva ante la difusión de las moléculas. Las evidencias de ello incluyen el hecho de que la impermeabilidad de la piel persista mucho después de haber sido escindida. Además, la ley de Fick se cumple en la mayoría de los casos (Serrano-Castañeda, 2013).

### 6.1. LEY DE FICK

La difusión pasiva de un no electrolito en ausencia de cualquier flujo global se expresa por la primera ley de Fick de difusión como:

$$J = - D \frac{dC}{dx}$$

Donde J es el flujo, D es el coeficiente de difusión y  $dC/dx$  es el gradiente de concentración a través de una distancia x. La primera ley de Fick de difusión se puede

utilizar para describir la penetración cutánea de fármacos, sin embargo, el gradiente de concentración a través del tejido de la piel no puede medirse fácilmente, pero se puede aproximar por el producto del coeficiente de permeabilidad ( $P_s$ ) y la diferencia de concentración a través de la piel ( $C_s$ ).

El estado de equilibrio de flujo transdérmico,  $J_s$ , a través de barrera de la piel viene dado como:

$$J_s = P_s C_s$$

Donde  $P_s$  es el coeficiente de permeabilidad, se define por:

$$P_s = K.D/h$$

Donde  $K$  es el coeficiente de partición y  $h$  es el espesor de la piel. La cantidad acumulada de fármaco a través de la piel ( $Q_t$ ) queda establecida por:

$$Q_t = K.D. C_s / h (t - h^2/6D)$$

Donde  $C_s$  es la concentración del reservorio saturado cuando las condiciones “sink” se mantienen en la solución receptora. La diferenciación de la ecuación anterior con respecto al tiempo nos lleva a la ecuación obtenida anteriormente que describe el flujo estacionario transdérmico ( $J_s = P_s C_s$ ). Cuando se extrapola la línea del estado estacionario al eje del tiempo, el valor de tiempo de latencia,  $t_L$  se obtiene por el intercepto a  $Q = 0$ .

$$t_L = h^2/6D$$

El intercepto,  $t_L$  es una medida del tiempo que le toma al fármaco alcanzar un gradiente de concentración constante a través de la piel. El tiempo de latencia comúnmente se utiliza para el análisis de datos de permeación de experimentos *in vitro* con la técnica de dosis infinita, donde la piel separa un reservorio de dosis infinita de fármaco en el lado donador y las condiciones sink en el receptor. El flujo en el estado estacionario se calcula a partir de la pendiente del perfil de permeación lineal, mientras que el intercepto provee el tiempo de latencia de difusión. El coeficiente de difusión puede calcularse, entonces, de la ecuación  $Q_t = K.D. C_s / h (t - h^2/6D)$ , conociendo la concentración en la fase donadora, el espesor de la barrera de permeabilidad de la piel y midiendo el coeficiente de partición (Serrano-Castañeda, 2013).

### **III. OBJETIVOS**

#### **1. OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar un emulgel de Sulfato de Amikacina mediante pruebas fisicoquímicas y biofarmacéuticas, con la finalidad de ser utilizado como tratamiento coadyuvante en el Micetoma ocasionado por *Actinomadura madurae*.

#### **2. OBJETIVOS PARTICULARES**

- Desarrollar la formulación de una emulsión mediante el método de agitación intermitente para su posterior caracterización.
- Determinar el porcentaje de Pluronic F-127 (PF-127®) utilizando pruebas de adhesividad para la formulación y caracterización del gel.
- Preparar un emulgel de amikacina a partir del método desarrollado por López-Cervantes, (2013); para su caracterización fisicoquímica.
- Realizar la evaluación biofarmacéutica del emulgel empleando las celdas tipo Franz, para obtener los parámetros de  $k_p$ ,  $t_L$  y flujo.

### **IV. HIPÓTESIS**

El desarrollo de un emulgel de sulfato de amikacina para el tratamiento del Micetoma ocasionado por *Actinomadura madurae*, se podrá utilizar como terapia coadyuvante administrada por vía tópica logrando evitar la recaída de los pacientes y disminuyendo los efectos tóxicos del fármaco.

### **V. MATERIALES Y REACTIVOS**

#### **1. REACTIVOS**

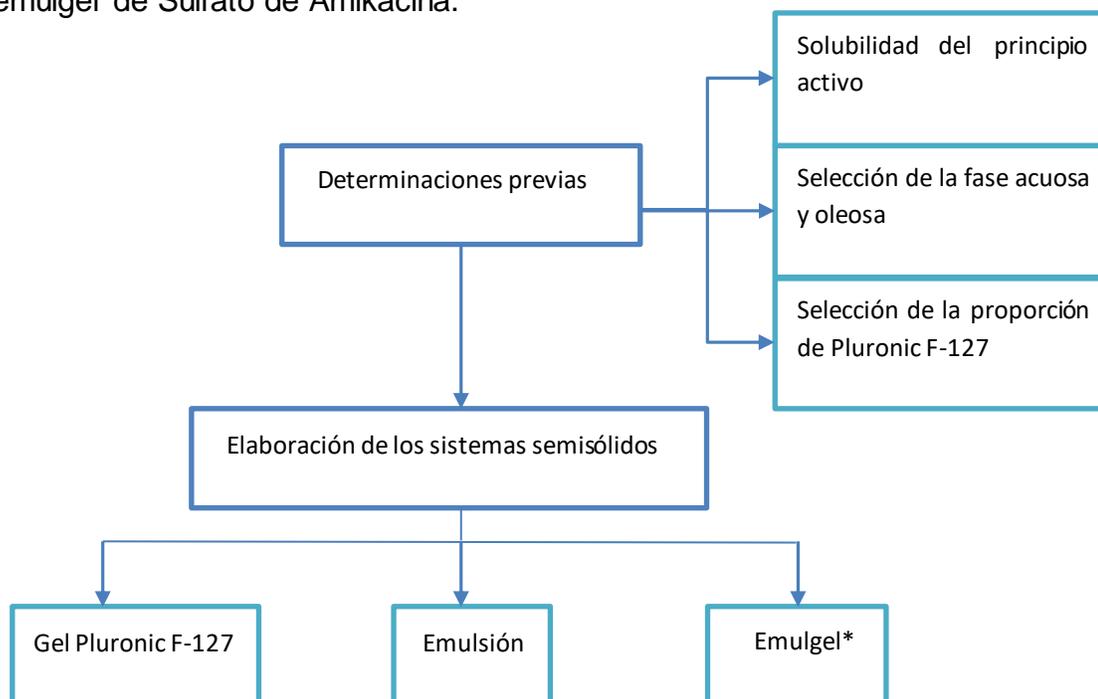
- Sulfato de Amikacina (Interquim, México)
- Vaselina líquida (Droguería Cosmopolita, México)
- Alcohol cetílico (Droguería Cosmopolita, México)
- Span 60® (Monoleato de sorbitán) (Droguería Cosmopolita, México)
- Tween 60® (Polisorbato 80) (Droguería Cosmopolita, México)
- Benzoato de Sodio (Reactivos Química Meyer, México)
- Propilenglicol (Reactivos Química Meyer, México)
- Agua (Obtenida del equipo Mili-Q, Millipore)
- Pluronic F-127® (Sigma, USA)
- Sulfato de Amikacina (Interquim, México)

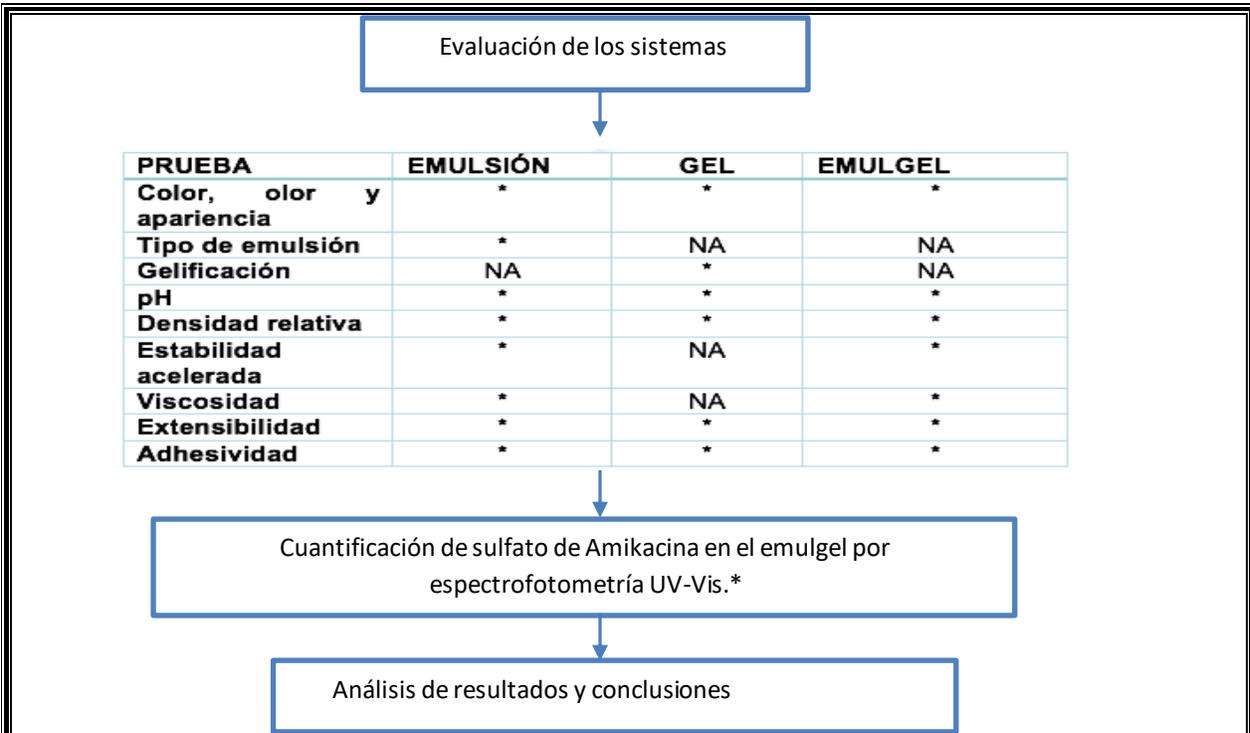
## 2. APARATOS Y EQUIPO

- Homogeneizador-Dispensor (D-160, Dragon Lab)
- Agitador magnético
- Balanza analítica (Velab.México)
- Parilla eléctrica con agitador
- Potenciómetro
- Termómetro
- Centrífuga (Dragon Lab)
- Ultracentrífuga (Bio-Lion)
- Vernier
- Viscosímetro Brookfield (Modelo DV-E, Stouhton, MA)
- Baño María (CIVEQ)
- Microscopio (VE-B3, Velab)
- Pesas (50, 100, 200 y 500 g)
- Texturómetro (CT3, Brookfield)
- Espectrofotómetro UV-Vis (Velab)
- Celdas tipo Franz de vidrio
- Material de cristalería

## VI. METODOLOGÍA

A continuación, en la Figura 19 se muestra la metodología planteada para el desarrollo del emulgel de Sulfato de Amikacina.





\* = La elaboración del emulgel y la cuantificación de Sulfato de amikacina se realizará por el método desarrollado y validado por López-Cervantes et al., 2015.

**FIGURA 19. METODOLOGÍA PARA EL DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE SISTEMAS SEMISÓLIDOS: GEL, EMULSIÓN Y EMULGEL.**

## 6.1. MÉTODOS DE ELABORACIÓN DE LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS

### 6.1.1. PRUEBAS PREVIAS PARA LA FORMULACIÓN DEL GEL

#### 6.1.1.1. TEMPERATURA DE GELIFICACIÓN

Se prepararon geles de Pluronic F-127® en un intervalo de concentraciones del 10-30% en agua agitando de forma manual; al ser un gel termorreversible, es importante mantenerlo en refrigeración para que se encuentre en estado líquido.

La temperatura de gelificación se determinó en las distintas concentraciones de carbómero, colocando en un tubo de ensayo 10 mL de gel, partiendo de una temperatura inicial de 4°C hasta alcanzar la gelificación.

### 6.1.1.2. ADHESIÓN

Para realizar la prueba de adhesión, se prepararon geles en una concentración del 10-30% (p/p) en agua agitando de forma manual. Posteriormente, se seleccionaron las condiciones de operación del equipo (Texturómetro CT3 Brookfield):

- Carga de activación: 4.5 g
- Velocidad del test: 0.3 mm/s
- Frecuencia de muestreo: 10 puntos/s
- Sonda: TA10
- Elemento: TA-RT-KI

Para la obtención de los resultados y gráficas de adhesividad se utilizó el software del equipo (TexturePro™ CT).

La finalidad de esta prueba fue obtener la concentración a la cual el gel podría presentar mejores características para su aplicación sobre la piel.

### 6.1.2. PRUEBAS PREVIAS A LA FORMULACIÓN DE LA EMULSIÓN

#### 6.1.2.1. SELECCIÓN DE LA FASE ACUOSA (FA) Y OLEOSA (FO).

Se elaboraron formulaciones con diferente concentración de tensoactivos: Tween 60® y Span 60® al 5 y 10% basándose en la formulación de la tabla 9 por lo que se prepararon varios sistemas.

**TABLA 9.** FORMULACIÓN BASE PARA LA EMULSIÓN.

COMPONENTE	PORCENTAJE % (P/P)
Vaselina líquida	Fase oleosa 30
Alcohol cetílico	
Span 60®	
Tween 60®	Fase acuosa 70
Benzoato de Sodio	
Propilenglicol	
AMK	
Agua	

### **6.1.2.2. ESTABILIDAD ACELERADA**

Para la selección de la emulsión, se utilizó la prueba de centrifugación para cada sistema de la Tabla 9 de la siguiente manera:

- Se introducen dos tubos con muestra en la centrífuga y se selecciona una velocidad de 4500 rpm por 10 min.
- La evaluación de cada sistema se realiza por triplicado.
- Una vez que ha transcurrido el tiempo de centrifugación, se sacan los tubos y se observa si existe una separación de fases o no.

### **6.1.2.3. TIPO DE EMULSIÓN**

Para conocer el tipo de emulsión, se realizó la evaluación como se describe a continuación:

#### 1) Conductividad eléctrica

- Se colocan 2 g de muestra en un tubo de ensayo.
- Se introduce un extremo del cable del circuito
- Una vez cerrado el circuito se observa si la luz enciende o no para determinar el tipo de emulsión.
- Si enciende la luz será una emulsión o/w; en caso contrario será w/o.

#### 2) Colorante lipofílico

- Se prepara una solución concentrada con colorante Rojo de Nilo.
- Se coloca en un portaobjetos una gota de muestra y una de colorante.
- Se mezcla y se observa en el microscopio a 10x.
- Se observa la tinción, para determinar el tipo de emulsión.

### **6.1.3. FORMULACIÓN PROPUESTA PARA EL EMULGEL**

El procedimiento de elaboración del emulgel se realizó de acuerdo a la metodología planteada por López-Cervantes, 2013 que a continuación se describe:

#### Fase I. Preparación de la emulsión.

Se calentó a 70°C la FO (vaselina líquida, alcohol cetílico y Span 60®) hasta completa disolución. Se mezcló la FA (Tween 60®, benzoato de sodio, propilenglicol, AMK y agua) y fueron calentados hasta 70°C. Posteriormente se adicionó la FO a la FA con agitación constante hasta formar la emulsión.

## Fase II. Formación del gel.

Se preparó el gel de PF-127® a la concentración requerida, en agua y con agitación manual.

## Fase III. Elaboración del emulgel.

Finalmente, se incorporó la emulsión al gel con agitación constante hasta obtener una consistencia semi-rígida.

### **6.2. EVALUACIONES A LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS**

En la Tabla 10 se encuentran las pruebas que fueron realizadas para la caracterización del gel, emulsión y emulgel, dichas pruebas fueron elegidas ya que representan un parámetro crítico para la determinación de la estabilidad de los sistemas.

**TABLA 10.** PRUEBAS PARA CADA SISTEMA SEMISÓLIDO: EMULSIÓN, GEL Y EMULGEL.

PRUEBA	EMULSIÓN	GEL	EMULGEL
Color, olor y apariencia	*	*	*
Tipo de emulsión	*	NA	NA
Gelificación	NA	*	NA
pH	*	*	*
Densidad relativa	*	*	*
Estabilidad acelerada	*	NA	*
Viscosidad	*	NA	*
Extensibilidad	*	*	*
Adhesión	*	*	*
Estudios <i>in vitro</i> de absorción percutánea	NA	NA	*

NA= No Aplica

#### **6.2.1. PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS**

Es una prueba de apreciación visual de cada sistema. Se observaron las muestras por un período de 6 meses tomando en cuenta propiedades físicas como: color, olor, textura y consistencia.

#### **6.2.2. PH**

El pH de los sistemas se mide con un potenciómetro previamente calibrado. Las mediciones se realizaron cada mes por un período de 6 meses, leyendo directamente sobre las muestras que se encontraban a temperatura ambiente.

### 6.2.3. DENSIDAD RELATIVA

La densidad relativa de los sistemas se determinó utilizando un picnómetro metálico, estas determinaciones se realizaron por triplicado para cada muestra.

- Pesar el picnómetro de metal vacío.
- Pesar el picnómetro de metal con agua.
- Pesar el picnómetro de metal con muestra.
- Para el cálculo de la gravedad específica se aplicará la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad relativa} = \frac{\text{Pic. con agua} - \text{Pic. vacío}}{\text{Pc. con muestra} - \text{Pic. vacío}}$$

### 6.2.4. ESTABILIDAD ACELERADA

Esta prueba se llevó a cabo durante 3 meses de la siguiente manera:

- Se introducen dos tubos con muestra en la centrífuga y se selecciona una velocidad de 4500 rpm por 10 min.
- La evaluación de cada sistema se realiza por triplicado.
- Una vez que ha transcurrido el tiempo de centrifugación, se sacan los tubos y se observa si existe una separación de fases o no.

### 6.2.5. VISCOSIDAD

La determinación de la viscosidad se realizó como se describe a continuación dependiendo de cada sistema.

1) Para la emulsión:

- Las mediciones se llevaron a cabo en el viscosímetro Brookfield (Modelo DV-E), con la aguja S-64. Se midió la fuerza de corte a diferentes velocidades de cizalla (1-100 rpm).
- Se vierten 20 g de muestra en una probeta.
- Se coloca en el viscosímetro la aguja S-64 y se introduce la muestra cuidando que esta quede centrada y sobrepasando la marca de la aguja para una correcta determinación.
- Para todas las mediciones se espera 1 minuto por cada velocidad de cizalla y se registra la viscosidad en cP.
- Se realiza en ascenso y descenso para la caracterización de cada sistema por triplicado.

2) Para el gel:

- Las mediciones se llevaron a cabo en el viscosímetro Brookfield (Modelo DV-E), con la aguja S-63. Se midió la fuerza de corte a una velocidad de cizalla de 60 rpm para los geles preparados a distintas concentraciones: 10, 20, 25 y 30% de PF-127®.
- Se vierten 20 g de muestra en una probeta a una temperatura de  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- Se coloca en el viscosímetro la aguja S-63, y se introduce la muestra cuidando que esta quede centrada y sobrepasando la marca de la aguja para una correcta determinación.
- Para todas las mediciones se espera 1 minuto y se registra la viscosidad en cP.

#### 6.2.6. EXTENSIBILIDAD

- En una hoja milimétrica se trazan dos líneas de intersección.
- Se coloca una placa de cristal sobre la hoja milimétrica.
- Sobre la placa se coloca una muestra de 1 g de muestra sobre el punto de intersección.
- Sobre la muestra se coloca un acetato de peso conocido.
- Posteriormente se coloca la pesa correspondiente (50, 100, 200 y 500 g), al cabo de 1 min se tomarán los valores del radio.
- Se repetirá con las pesas sucesivas.

El área de extensibilidad (AE) se calculará según la siguiente expresión:  $E = \pi (rp)^2$ ; donde E: extensibilidad,  $\pi$ : pi, rp: radio promedio de las mediciones (mm).

#### 6.2.7. ADHESIÓN

- En un vaso de precipitados se coloca la muestra que será evaluada.
- Se seleccionan las condiciones de operación del equipo:
- Carga de activación: 4.5 g
- Velocidad del test: 0.3 mm/s
- Frecuencia de muestreo: 10 puntos/s
- Sonda: TA10
- Elemento: TA-RT-KI

Se obtienen los resultados y gráficas por el software del equipo TexturePro™ CT.

### **6.2.8. ESTUDIOS *IN VITRO* DE ABSORCIÓN PERCUTÁNEA**

- Se utilizan 8 celdas tipo Franz.
- Medio: Buffer de Fosfatos pH 7.4
- Membrana semipermeable de un área de 2.26 cm<sup>2</sup>
- Se colocan 2 g de muestra de emulgel (conteniendo principio activo) en 6 celdas.
- En 2 celdas se colocan 2 g de muestra de placebo (blanco).
- Se tomará una alícuota de 2 mL que serán repuestos con otros 2 mL de buffer en los siguientes tiempos: 2, 4, 6, 8, 24, 26 y 28 hrs.

Cada muestra recolectada se analizó por espectrofotometría UV-Vis a la longitud de onda de 576 nm (López-Cervantes et al., 2015). Las cantidades acumuladas de fármaco por centímetro cuadrado se graficaron en función del tiempo para obtener los parámetros biofarmacéuticos de Flujo (f), constante de permeabilidad ( $k_p$ ) y tiempo de latencia ( $t_L$ ).

## **VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS**

### **7.1. SOLUBILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO**

La solubilidad en agua de la AMK que se encuentra reportada es de 49.7 mg/mL (DrugBank, 2016) esta fue comprobada experimentalmente; sin embargo, para incrementarla se realizó una mezcla con propilenglicol, el cuál ha sido reportado como un buen cosolvente debido a la miscibilidad con el agua. La proporción recomendada como solvente en formas farmacéuticas tópicas es en el intervalo del 5-80%, y en este caso se eligió utilizar el 8%, ya que a ese porcentaje también presenta buenas propiedades humectantes (Crowe, 2009).

### **7.2. ELABORACIÓN DE LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS**

#### **7.2.1. PRUEBAS PREVIAS PARA LA FORMULACIÓN DEL GEL**

##### **7.2.1.1. TEMPERATURA DE GELIFICACIÓN**

Se midió la temperatura de gelificación en distintas concentraciones de gel (10-30%), debido a que el PF-127® es un gel termorreversible, es importante determinar a qué temperatura se da la gelificación, ya que esto ayudará para futuras pruebas de

caracterización de la forma farmacéutica. La temperatura a la cual se determina la gelificación (Figura 20) de cada concentración se observa en la Tabla 11.

**TABLA 11.** TEMPERATURA DE GELIFICACIÓN DE GELES DE PLURONIC F-127 A DISTINTAS CONCENTRACIONES.

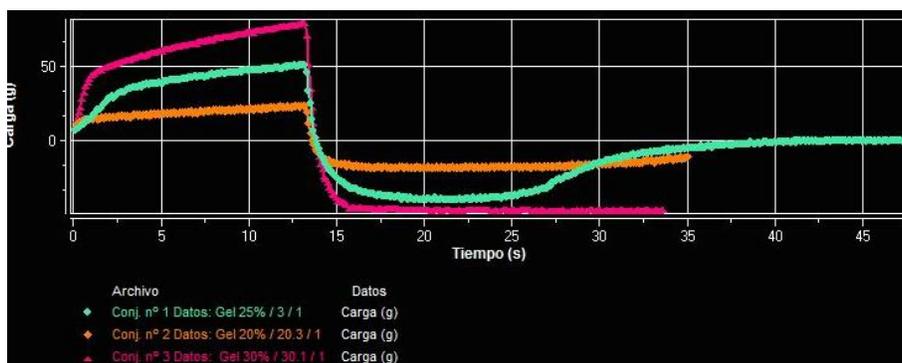
CONCENTRACIÓN % (P/P)	TEMPERATURA (°C)	OBSERVACIONES
10	4	Apariencia líquida
	8	Apariencia líquida
	10	Apariencia líquida
	15	Apariencia líquida
	17	Apariencia líquida
	20	Apariencia líquida, por lo que se coloca en Baño María.
	40	Apariencia líquida, no gelifica por lo que se suspende la prueba.
20	4	Apariencia líquida
	8	Apariencia líquida
	12	Apariencia líquida
	14	Aspecto turbio, comienza a gelificar
	15	Formación del gel
25	4	Apariencia líquida
	8	Apariencia líquida
	10	Aspecto turbio
	12	Aspecto turbio, comienza a gelificar
	13	Formación del gel
30	4	Apariencia líquida
	8	Apariencia líquida
	10	Aspecto turbio, comienza a gelificar
	12	Formación del gel



**FIGURA 20.** ESTADO FÍSICO DEL PLURONIC F-127® AL 30% A TEMPERATURA AMBIENTE (APROX. 25°C).

### 7.2.1.2. ADHESIÓN

Para la formación del gel, se probaron diferentes porcentajes de PF-127® en un intervalo comprendido entre el 10-30%, eligiendo el porcentaje más alto debido a que, una elevada concentración de polímero puede evitar la sinéresis y también que éste porcentaje presentó mejores propiedades de adhesividad (Figura 21), la cuál es una característica necesaria para la aplicación cutánea, además de las propiedades termosensitivas del carbómero, ya que es un aspecto importante debido a las lesiones que el micetoma provoca en los pacientes. Las soluciones concentradas de PF-127 se transforman en soluciones transparentes de menor viscosidad que los geles sólidos a la temperatura del cuerpo. Esta característica permite que el PF-127® se utilizado como vehículo para la mayoría de las vías de administración incluyendo oral, tópica, vaginal, rectal, ocular y vías parenterales (Yigiao et al., 2006).



**FIGURA 21.** ADHESIÓN DE GEL DE PF-127® EN DISTINTAS CONCENTRACIONES: 30% (ROSA), 25% (VERDE) Y 20% (ANARANJADO).

### 7.2.1.3. VISCOSIDAD DEL GEL

La viscosidad de un fluido puede describirse simplemente como su resistencia al flujo o el movimiento (Aulton, 2004). Para la determinación de la viscosidad del gel, se determinó a concentraciones de 20, 25 y 30% de PF-127® ya que son las que presentan mejor adhesividad. Los resultados de la tabla 12 muestran las mediciones realizadas a una temperatura de  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

**TABLA 12.** VISCOSIDAD DE DISTINTAS CONCENTRACIONES DE GEL DE PF-127® A 60 RPM.

CONCENTRACIÓN % (P/P)	PROMEDIO (cP)
20	60.44
25	79.55
30	207.33

Las fluctuaciones de la viscosidad ante distintas concentraciones de carbómero se atribuyen a que, al incrementar la concentración del polímero, es más fácil que cambie de manera más rápida el arreglo estructural de las cadenas poliméricas de PF-127® ante la temperatura.

### 7.2.2. PRUEBAS PREVIAS A LA FORMULACIÓN DE LA EMULSIÓN

#### 7.2.2.1. SELECCIÓN DE LA FASE ACUOSA (FA) Y OLEOSA (FO).

Una emulsión es definida como una dispersión de un líquido en otro con el que es inmisible. Para ser “estables”, las emulsiones requieren la presencia de un tercer componente, el agente emulsificante (Aulton, 2004).

La selección de los componentes de la FO se realizó mediante la variación del HLB calculando el HLB requerido obteniendo los resultados mostrados en la tabla 13.

**TABLA 13.** CÁLCULO DE HLB REQUERIDO PARA LA FORMULACIÓN DE LA EMULSIÓN DEL EMULGEL.

COMPONENTE	Fr	%	HLB	HLB req
Vaselina líquida	0.92	25.9	10.5	9.66
Alcohol cetílico	0.08	2.2	15.5	1.24
				<b>10.9</b>

COMPONENTE	Fr	%	HLB	HLB req
Vaselina líquida	0.8	22.5	10.5	8.4
Alcohol cetílico	0.2	5.7	15.5	3.1
				<b>11.5</b>

Para la determinación de la concentración de los surfactantes, se realizaron los siguientes cálculos:

- Para el 10% de emulsificantes:

$$\%EA = \frac{100x(HLB_{req} - HLB_B)}{HLB_A - HLB_B}$$

$$\%EA = \frac{100x(11.5 - 14.9)}{4.7 - 14.9} = 33.3333$$

$$\%EB = 100 - 33.3333 = 66.6667$$

$$gEA = (100 * 0.1)(0.3333) = 3.3333 \text{ g}$$

$$gEB = (100 * 0.1)(0.6667) = 6.667 \text{ g}$$

Donde:

EA= Emulsificante A = Span 60®

EB= Emulsificante B = Tween 60®

- Para el 5% de emulsificantes:

$$\%EA = \frac{100x(HLB_{req} - HLB_B)}{HLB_A - HLB_B}$$

$$\%EA = \frac{100x(11.5 - 14.9)}{4.7 - 14.9} = 33.3333$$

$$\%EB = 100 - 33.3333 = 66.6667$$

$$gEA = (100 * 0.05)(0.3333) = 1.6665 \text{ g}$$

$$gEB = (100 * 0.05)(0.6667) = 3.3335 \text{ g}$$

Donde:

EA= Emulsificante A = Span 60®

EB= Emulsificante B = Tween 60®

Con base a lo anterior, se obtuvo la cantidad requerida (g) para cada emulsión como se observa en la tabla 14.

**TABLA 14.** CÁLCULO DE LA CANTIDAD DE SURFACTANTES PARA LA EMULSIÓN DEL EMULGEL.

10% EMULSIFICANTES			
COMPONENTE	HLB TEÓRICO	% EMULSIFICANTES TEÓRICO	g
Span 60®	4.7	33.3333	3.3333
Tween 60®	14.9	66.6667	6.667
5% EMULSIFICANTES			
COMPONENTE	HLB TEÓRICO	% EMULSIFICANTES TEÓRICO	g
Span 60®	4.7	33.3333	1.6665
Tween 60®	14.9	66.6667	3.3335

A partir de los cálculos anteriores, se realizaron 4 formulaciones variando el porcentaje de emulsificantes y el HLB, para su posterior evaluación (Tabla 15).

**TABLA 15.** FORMULACIONES PROPUESTAS PARA LA FORMULACIÓN DE LA EMULSIÓN DE AMK.

HLB= 10.9					
A	COMPONENTE	PORCENTAJE	B	COMPONENTE	PORCENTAJE
	5% SURFACTANTE	% (P/P)		10% SURFACTANTE	% (P/P)
	Vaselina líquida	25.97		Vaselina líquida	25.97
	Alcohol cetílico	2.25		Alcohol cetílico	2.25
	Span 60®	1.45		Span 60®	2.9
	Tween 60®	3.5		Tween 60®	7.1
	Benzoato de sodio	0.5		Benzoato de sodio	0.5
	Propilenglicol	15.09		Propilenglicol	15.09
	AMK	1.37		AMK	1.37
	Agua	49.87		Agua	44.82
HLB= 11.5					
C	COMPONENTE	PORCENTAJE	D	COMPONENTE	PORCENTAJE
	5% SURFACTANTE	% (P/P)		10% SURFACTANTE	% (P/P)
	Vaselina líquida	22.48		Vaselina líquida	22.48
	Alcohol cetílico	5.75		Alcohol cetílico	5.75

Span 60®	1.65	Span 60®	3.3
Tween 60®	3.35	Tween 60®	6.7
Benzoato de sodio	0.5	Benzoato de sodio	0.5
Propilenglicol	15.09	Propilenglicol	15.09
AMK	1.37	AMK	1.37
Agua	49.81	Agua	44.81

#### **7.2.2.2. PREPARACIÓN DE LA EMULSIÓN**

Para la formación de emulsiones, se requiere de un aporte de energía. Este aporte se realiza en forma de calor, agitación mecánica, ultrasonido o electricidad. El aporte de trabajo al sistema también depende del tiempo durante el cual se realiza este aporte de energía, por lo que éste será también un factor crítico (VilaJato, 2001).

El primer paso para la formación de la emulsión es llevar ambas fases (FA y FO) a una temperatura de 70°C; dicha temperatura se determina a partir de las propiedades físicas de los componentes de cada fase, ya que los sólidos deben fundirse para poder ser mezclados. Una vez que se tienen ambas fases a la misma temperatura se mezclan para poder formar la emulsión. El método que se eligió para la formación de la emulsión es el método de agitación intermitente, utilizando un dispersor y homogeneizador seleccionando un tiempo de 15 min con la velocidad 2 equivalente a 12000 rpm de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

El tiempo de agitación desempeña un papel tan crítico como la temperatura. Se necesita cierto tiempo para que se formen las gotas de la fase interna; por otra parte, la agitación favorece la colisión entre las mismas y su coalescencia. Las condiciones y el tiempo de agitación se determinan de forma empírica para cada sistema (Vila Jato, 2001).

#### **7.2.2.3. ESTABILIDAD ACELERADA**

Como criterio de selección para las formulaciones propuestas en la tabla 15 se utilizó la prueba de centrifuga (Ver 6.2.4), encontrando que la formulación "D" es la que cumple con el criterio de aceptación, es decir, la emulsión no presenta separación de fases, lo que es un indicativo de estabilidad a largo plazo.

#### 7.2.2.4. TIPO DE EMULSIÓN

La determinación del tipo de emulsión se realizó por triplicado, mediante dos métodos: por conductividad eléctrica, en la cual al existir una mayor cantidad de fase acuosa se conduce la electricidad; al utilizar el método del colorante, se verificó que la fase interna es aceite (Tabla 16), ya que el colorante al ser lipofílico fue disuelto en etanol, y los glóbulos no se tiñen como se observa en la figura 22.

**TABLA 16.** RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DEL TIPO DE EMULSIÓN.

MUESTRA	T. EMULSIÓN
1	o/w
2	o/w
3	o/w



**FIGURA 22.** EMULSIÓN O/W DETERMINADA UTILIZANDO UN COLORANTE LIPOFÍLICO (EN ETANOL) VISTA EN EL MICROSCOPIO A 10X.

Las emulsiones o/w son sistemas dispersos heterogéneos constituidos por dos fluidos inmiscibles mediante un proceso de emulsificación, tienen como ventajas mejorar la biodisponibilidad de fármacos, aliviar la irritación de los componentes en la piel y las mucosas y cubrir los malos olores de los componentes. Debido a estas virtudes, las emulsiones o/w han sido ampliamente utilizadas en varios campos, incluidos los alimentos, cosméticos y farmacéuticos. (Aulton, 2004).

#### 7.2.2.5. VISCOSIDAD DE LA EMULSIÓN

La viscosidad de un fluido puede describirse simplemente como su resistencia al flujo o el movimiento (Aulton, 2004) (Figura 23), y es por lo tanto una determinación muy

importante para caracterizar los sistemas semisólidos e indicar su comportamiento cuando es sometido a diferentes fuerzas de corte (Lathiyare, 2015).



**FIGURA 23.** DETERMINACIÓN DE VISCOSIDAD DE LA EMULSIÓN CON EL VISCOSÍMETRO BROOKFIELD DV-E.

Antes de incorporar la emulsión al gel se midieron sus propiedades reológicas, la prueba fue realizada a temperatura ambiente, obteniendo los resultados de la tabla 17.

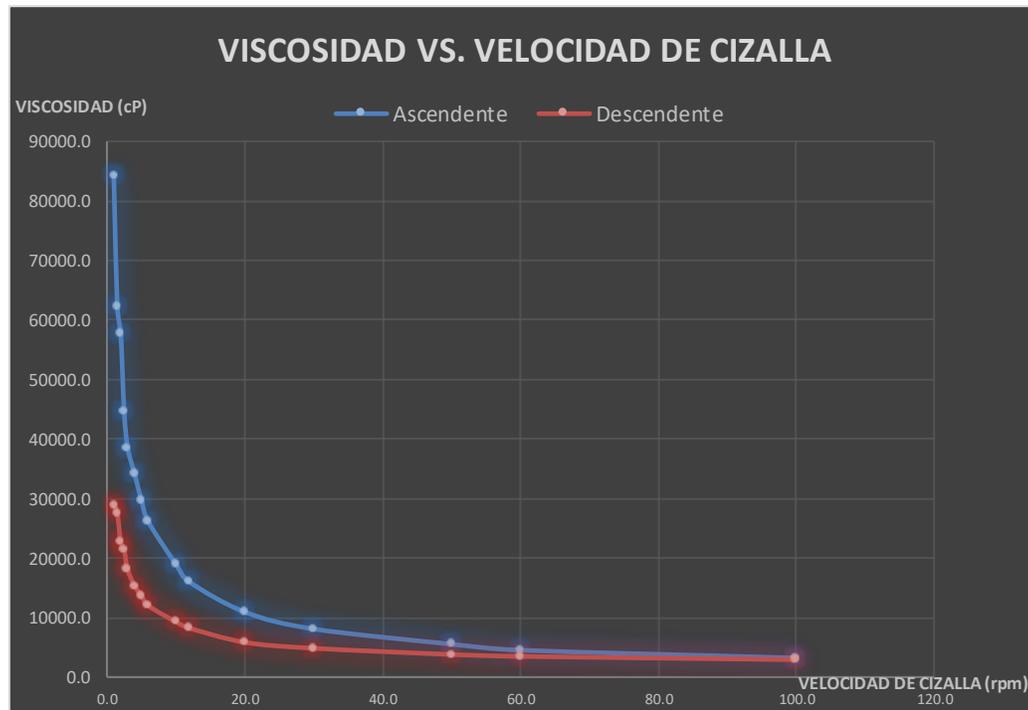
**TABLA 17.** RESULTADOS DE VISCOSIDAD DE LA EMULSIÓN A TEMPERATURA AMBIENTE (25° C).

VELOCIDAD (rpm)	VISCOSIDAD (cP)	
	Ascendente	Descendente
1.0	84066.67	28933.33
1.5	62266.67	27466.67
2.0	57766.67	22700.00
2.5	44533.33	21266.67
3.0	38533.33	18066.67
4.0	34200.00	15333.33
5.0	29733.33	13700.00
6.0	26093.33	12000.00
10.0	18976.67	9280.00
12.0	15966.67	8216.67
20.0	10940.00	5840.00
30.0	8080.00	4840.00

50.0	5530.00	3796.67
60.0	4519.33	3476.00
100.0	3210.67	2923.33

Se observa que manteniendo la temperatura constante e incrementando la velocidad de cizalla progresivamente hasta 100 rpm y posteriormente realizando la misma operación de manera descendente, se distingue que se trata de un fluido no newtoniano, ya que su viscosidad varía con la velocidad de deslizamiento. Estas desviaciones se deben a que no son fluidos simples, sino que constituyen sistemas dispersos. El comportamiento del fluido es pseudoplástico, ya que la viscosidad disminuye al aumentar la velocidad de desplazamiento (Vila Jato, 2001) como se observa en la curva de flujo en la figura 24.

Al examinar el gráfico correspondiente a la emulsión, se observa que el comportamiento del fluido depende del tiempo, ya que al someterse a una velocidad de deslizamiento gradualmente creciente, e inmediatamente después a una velocidad que disminuye a cero, la curva inferior se desplazará respecto a la curva superior y en el reograma muestra un bucle de histéresis, lo cual significa que se ha deshecho la estructura lo que puede utilizarse como índice de degradación (Aulton, 2004).



**FIGURA 24.** COMPARACIÓN DE LA VISCOSIDAD VS. FUERZA DE CIZALLA DE MANERA ASCENDENTE Y DESCENDENTE.

### 7.3. FORMULACIÓN DEL EMULGEL

La formulación que se encuentra en la tabla 18 establece las proporciones que se utilizaron para la formación del emulgel, dichos excipientes fueron elegidos basándose en sus propiedades físicas, químicas y fisicoquímicas, teniendo en cuenta que no exista alguna interacción o incompatibilidad entre el fármaco y los excipientes.

**TABLA 18.** COMPOSICIÓN DE EMULGEL DE AMK.

<b>COMPONENTE</b>	<b>PESO (g)</b>	<b>%(p/p)</b>
Vaselina líquida	11.336	12.529
Alcohol cetílico	2.898	3.203
Span 60	1.880	2.077
Tween 60	3.273	3.618
Benzoato de sodio	0.254	0.281
Propilenglicol	7.612	8.413
Amikacina	0.693	0.766
Agua	50.530	55.849
Pluronic F-127	12.001	13.264
<b>TOTAL</b>	<b>90.476</b>	<b>100.000</b>

### 7.4. EVALUACIONES A LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS

A continuación, se encuentran los resultados promedio obtenidos para cada uno de los sistemas semisólidos.

#### 7.4.1. COLOR, OLOR Y APARIENCIA DE LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS

Las características organolépticas son características físicas de una formulación o forma farmacéutica que confieren apariencia, color, olor, textura, consistencia, entre otros, los cuales son determinados a través de los sentidos, por lo cual se inspeccionaron las características organolépticas de los sistemas semisólidos por un período de seis meses, obteniendo los resultados de la tabla 19.

**TABLA 19. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS: EMULSIÓN, GEL Y EMULGEL.**

	<b>EMULSIÓN</b>	<b>GEL</b>	<b>EMULGEL</b>
<b>COLOR</b>	Blanco	Transparente	Blanco brillante
<b>OLOR</b>	Característico	Característico	Característico
<b>APARIENCIA</b>	Crema, evanescente, homogénea, no se observa separación de fases ni presencia de crecimiento microbiano.	Traslúcido, no se observa presencia de partículas extrañas.	Suave, evanescente, cremoso, homogéneo, sin presencia de crecimiento microbiano

Durante la observación de los sistemas semisólidos por período de seis meses, no se observa alteración en sus características organolépticas. La finalidad de evaluar dichas características es distinguir un cambio en las condiciones normales de la formulación a través del tiempo.

Esta prueba aporta información sobre la estabilidad física, ya que si llega a existir alguna modificación en las características organolépticas, puede significar que existe alguna inestabilidad.

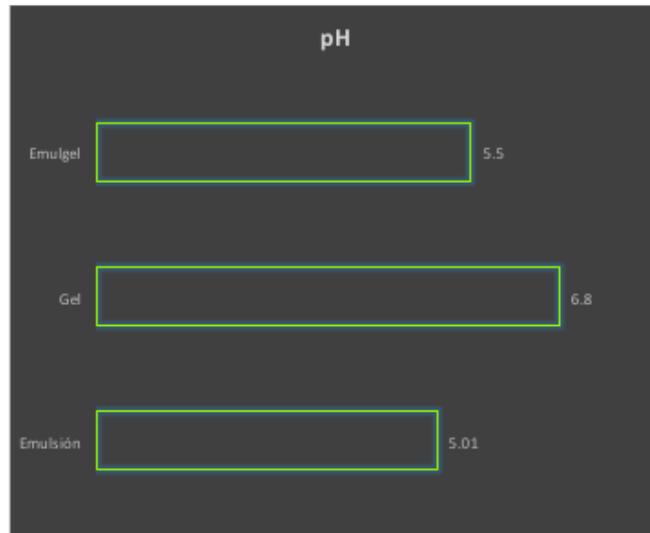
#### **7.4.2. PH**

La realización de esta prueba se debe a los cambios que puede ocasionar dicho valor en los sistemas semisólidos, ya que, si el pH fluctúa por encima o debajo del rango permitido, se produce una disfunción de la piel, generando con ello irritación (Gómez-Peláez, 2009). En la tabla 20 se muestran los valores iniciales de los sistemas semisólidos, el pH del emulgel representa un valor intermedio (Figura 25) al ser comparado con los otros sistemas, siendo adecuado para la aplicación cutánea.

En la tabla 21 se observan los valores de pH para el emulgel obtenidos durante un periodo de 6 meses. El valor de la desviación estándar obtenido para el emulgel, muestra que no hay una dispersión amplia entre los datos, lo cual puede ser indicativo de que no existe un cambio en sus propiedades fisicoquímicas.

**TABLA 20.** RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE PH EN LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS: EMULSIÓN, GEL Y EMULGEL.

MUESTRA	pH
Emulsión	5.0
Gel	6.8
Emulgel	5.5



**FIGURA 25.** COMPARACIÓN DEL PH DE LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS EMULSIÓN, GEL Y EMULGEL.

**TABLA 21.** VALORES DE PH OBTENIDOS PARA EL EMULGEL DURANTE 6 MESES.

MES	pH
1	5.67
2	5.47
3	5.54
4	5.58
5	5.43
6	5.45
<b>PROMEDIO</b>	5.53
<b>DESV. EST.</b>	0.09

### 7.4.3. DENSIDAD RELATIVA

La densidad relativa puede ayudar a conocer si un sistema se puede mantener sin cambios en sus propiedades físicas (pH, estabilidad a corto plazo) durante su almacenamiento (Aulton, 2004). En este caso, la determinación se realizó a temperatura ambiente obteniendo los resultados que se muestran en la tabla 22 y figura 26.

La densidad relativa es una relación entre el peso y el volumen de la sustancia a evaluar con el peso y el volumen del agua a cierta temperatura, en este caso, los valores de gravedad específica para los tres sistemas semisólidos son menores a los del agua, es decir, son menos pesados.

**TABLA 22.** RESULTADOS DE LA DENSIDAD RELATIVA DE TRES SISTEMAS SEMISÓLIDOS: EMULSIÓN, GEL Y EMULGEL.

MUESTRA	D.R.
Emulsión	0.862
Gel	0.980
Emulgel	0.907



**FIGURA 26.** COMPARACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA DE LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS EMULSIÓN, GEL Y EMULGEL.

#### 7.4.4. ESTABILIDAD ACELERADA (CENTRIFUGACIÓN)

Para predecir la estabilidad de una emulsión durante su almacenamiento, se suelen utilizar ensayos de estabilidad efectuados en condiciones drásticas (Vila Jato, 2001). En este caso, la prueba de estabilidad que se utilizó fue la centrifugación.

La aplicación de una fuerza centrífuga permite acelerar el proceso de sedimentación, lo cual permite comparar la estabilidad relativa de los sistemas lo cual es de utilidad para predecir la estabilidad real (Vila Jato, 2001). Durante un período de seis meses, se realizó la prueba a la emulsión y el emulgel (Tabla 23) observándose que no presentaron separación después de la prueba de centrifuga como se observa en la figura 27.

**TABLA 23.** RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ESTABILIDAD ACELERADA DE LA EMULSIÓN Y EL EMULGEL.

MES	RESULTADO	CONDICIONES
1	Estable	4500 rpm x 10 min
2	Estable	
3	Estable	
4	Estable	
5	Estable	
6	Estable	



**FIGURA 27.** EMULSIÓN Y EMULGEL DESPUÉS DE SER SOMETIDOS A LA PRUEBA DE CENTRÍFUGA: NO SE OBSERVA SEPARACIÓN DE FASES.

#### 7.4.5. EXTENSIBILIDAD

De acuerdo a los datos obtenidos en la tabla 24, se distingue que al comienzo de la prueba, el área de la emulsión es superior a la del gel y el emulgel, esto es debido a que la emulsión presenta una menor viscosidad, lo cual indica que presenta una menor resistencia al flujo, y al aplicar una fuerza el área de extensión es mayor; sin embargo, al aplicar un peso de 500 g el área disminuye, lo cual quiere decir que a pesos superiores de 500 g la emulsión ya no se expande (Figura 28).

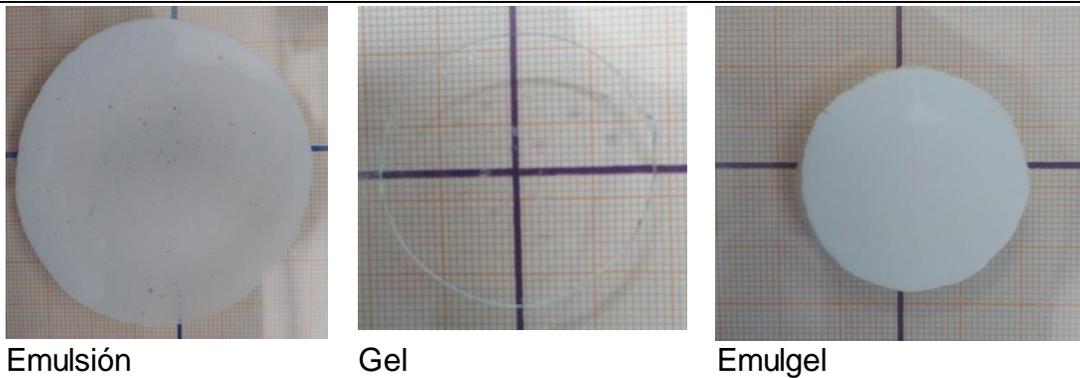
No obstante, el área del gel y del emulgel es muy similar durante toda la prueba, ya que ambas áreas se ven casi triplicadas en el resultado final. A medida que se incrementa el peso sobre la muestra se distingue una mayor área de extensibilidad (Figura 29), esto puede predecir que el emulgel tendrá una buena aplicación sobre la piel, ya que una se propagará fácilmente en la zona afectada (Lathiyare, 2015).

**TABLA 24.** RESULTADOS DEL ÁREA (MM<sup>2</sup>) DE LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS: EMULSIÓN, GEL Y EMULGEL.

PESO (G)	ÁREA (mm <sup>2</sup> )		
	EMULSIÓN	GEL	EMULGEL
50	1805.208	246.769	395.648
100	2348.842	391.467	499.552
200	3226.164	596.169	673.491
500	2995.210	790.735	923.716



**FIGURA 28.** COMPARACIÓN DEL ÁREA DE EXTENSIBILIDAD AL APLICAR DISTINTOS PESOS A LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS: EMULSIÓN, GEL Y EMULGEL.



**FIGURA 29.** FOTOGRAFÍAS DE LAS DISTINTAS ÁREAS DE EXTENSIBILIDAD DE LOS SISTEMAS SEMISÓLIDOS AL COLOCAR UNA PESA DE 500G.

#### 7.4.6. ADHESIÓN

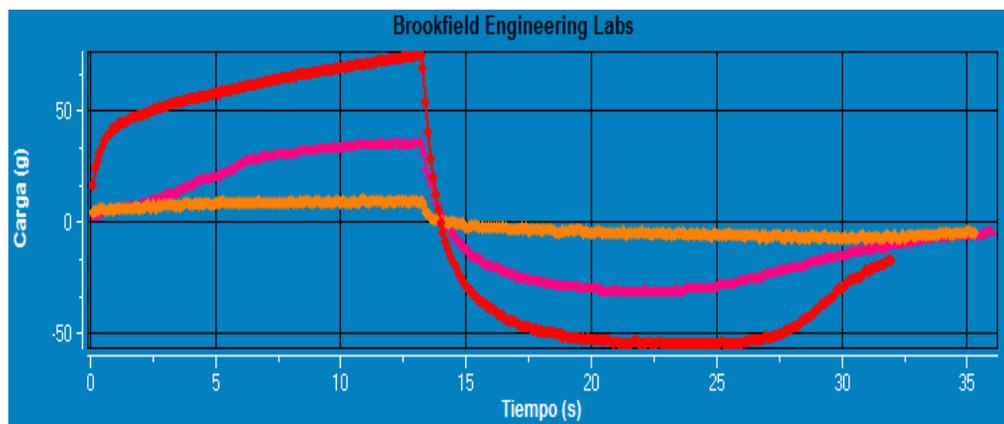
La adhesividad es un fenómeno que se da entre dos materiales, debido a interacciones interfaciales (Yaiaman et al., 2006) por lo que se determinó la fuerza de adhesión para los tres sistemas semisólidos (Figura 30) y se obtuvieron los resultados de la tabla 25, los cuales indican una buena adhesión debido a la elevada cantidad de PF-127® (Baek-Ki et al., 2013) (Figura 31) que se encuentra en la formulación (Tabla 18). Los distintos fenómenos interfaciales que ocurren durante la adhesión pueden ser debidos por las fuerzas intermoleculares, las cuales son fuerzas electromagnéticas que actúan entre moléculas cercanas o entre regiones muy distantes de las macromoléculas. Son fundamentalmente interacciones electrostáticas o electrodinámicas. Dichas fuerzas pueden ser de naturaleza atractiva o repulsiva (Yajaman et al., 2006).

**TABLA 25.** RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ADHESIVIDAD.

MUESTRA	mJ
Emulsión	0.317
Gel	2.700
Emulgel	1.273



**FIGURA 30.** DETERMINACIÓN DE LA ADHESIVIDAD CON EL EQUIPO TEXTURE ANALYZER CT3 BROOKFIELD.



**FIGURA 31.** COMPARACIÓN DE ADHESIVIDAD DE LOS SISTEMAS EMULSIÓN (ROSA), GEL (ROJO) Y EMULGEL (ANARANJADO), PROPORCIONADOS POR EL SOFTWARE TEXTUREPRO CT.

#### 7.4.7. ESTUDIOS *IN VITRO* DE ABSORCIÓN PERCUTÁNEA

La caracterización biofarmacéutica del emulgel, se llevó a cabo evaluando la liberación de AMK para después realizar los cálculos para obtener la cantidad acumulada del fármaco. Para ello el uso de las técnicas de permeación *in vitro* como las celdas de difusión tipo Franz (Figura 32), tienen gran importancia. Estos estudios permiten la evaluación de la cinética transdérmica tanto de la captación del fármaco y su difusión por la piel (Serrano-Castañeda, 2013).

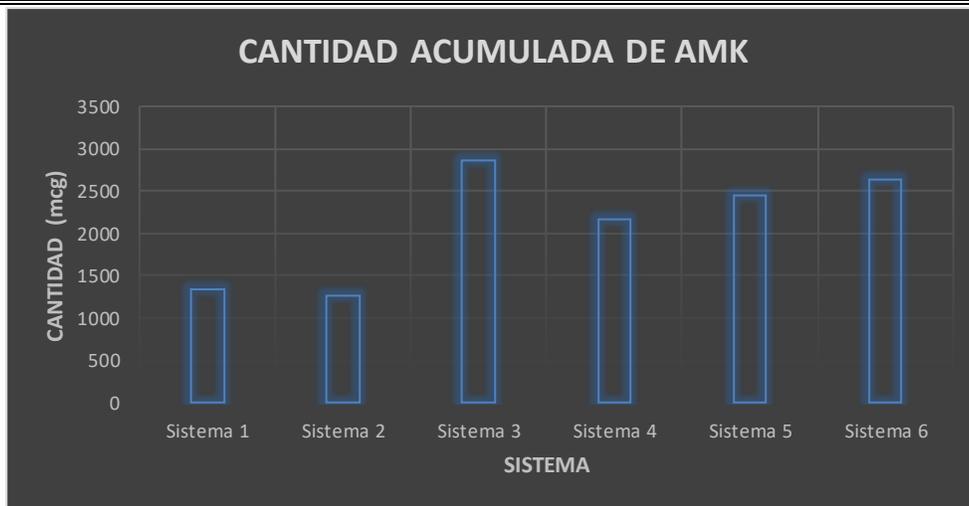
Al realizar la cuantificación por el método de espectroscopía UV-Vis desarrollado y validado por López-Cervantes et al., 2015, se obtienen los resultados encontrados en la tabla 26.

**TABLA 26.** RESULTADOS DE LA CANTIDAD ACUMULADA DE AMK.

SISTEMA A/ TIEMPO (H)	1	2	3	4	5	6	7	8	24	ACUM ULADO (mcg)
Sistema 1	0	0	0	0	294.602	98.201	98.201	367.366	469.715	1328.085
Sistema 2	0	0	0	0	386.352	128.784	128.784	394.771	217.446	1256.138
Sistema 3	0	279.522	93.174	93.174	437.739	551.140	322.399	650.613	431.804	2859.565
Sistema 4	0	268.621	89.540	89.540	89.540	492.608	223.896	568.007	338.600	2160.352
Sistema 5	0	0	260.445	86.815	570.369	520.254	338.751	338.751	338.751	2454.136
Sistema 6	0	0	324.035	108.012	108.012	451.577	555.289	333.452	745.604	2625.979
Promedio	0	91.357	127.866	62.923	314.436	373.761	277.887	442.160	423.653	2114.042
SD	0	141.572	135.227	49.287	189.452	204.475	167.375	133.896	180.446	676.672
CV	0	154.965	105.757	78.328	60.251	54.708	60.231	30.282	42.593	32.008



**FIGURA 32.** TÉCNICA DE PERMEACIÓN IN VITRO CON CELDAS TIPO FRANZ PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD ACUMULADA DE AMK.



**FIGURA 33.** COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD ACUMULADA (MCG) DE AMK DURANTE 24 HRS.

En la figura 33 se muestran las cantidades acumuladas de AMK con un promedio de 2114.042 mcg/cm<sup>2</sup>, esta cantidad es el equivalente al 34% de lo que se colocó inicialmente, de acuerdo a los siguientes cálculos:

$$\left( \frac{0.7 \text{ g AMK}}{100 \text{ g emulgel}} \right) (2 \text{ g emulgel}) = 0.014 \text{ g AMK}$$

$$0.014 \text{ g AMK} \left( \frac{1 \times 10^6 \text{ mcg}}{1 \text{ g}} \right) = 14000 \text{ mcg AMK}$$

$$\frac{14000 \text{ mcg AMK}}{2.26 \text{ cm}^2} = 6194.690 \text{ mcg AMK/cm}^2$$

$$\text{Si } 6149.90 \text{ mcg AMK} - 100\%$$

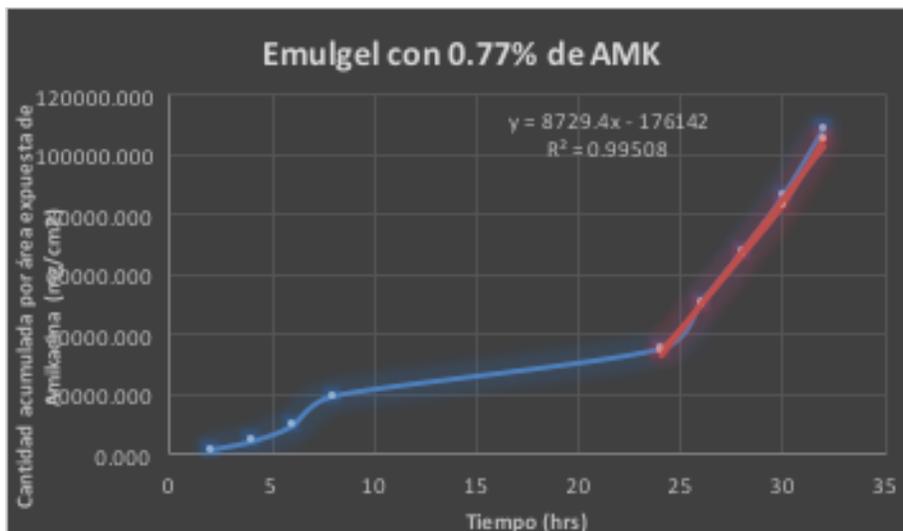
$$2114.042 \text{ mcg AMK} - x$$

$$x = 34.1267 \%$$

Los estudios de penetración percutánea juegan un papel esencial en la optimización de la formulación y el diseño de sistemas de liberación dérmica y transdérmica, (Serrano-Castañeda, 2013), a partir de los perfiles de penetración transdérmica (Figura 34), se lograron obtener los parámetros de flujo (f), el coeficiente de permeabilidad (k<sub>p</sub>) y el tiempo de latencia (t<sub>L</sub>) (Tabla 27).

**TABLA 27.** PARÁMETROS DE FLUJO (F), EL COEFICIENTE DE PERMEABILIDAD ( $K_p$ ) Y EL TIEMPO DE LATENCIA ( $T_L$ ) PARA EMULGEL DE AMIKACINA.

PARÁMETRO	
Flujo	0.105 mg/cm <sup>2</sup> /hr
Constante de permeabilidad	0.016 cm <sup>2</sup> /hr
Tiempo de latencia	14.756 hr



**FIGURA 34.** PERFIL DE PENETRACIÓN TRANSDÉRMICA DE EMULGEL CON 0.77% DE AMK.

Los valores obtenidos en la tabla 27, son de utilidad al realizar el cálculo de la cantidad de emulgel que debe colocarse en la zona afectada; tomando en cuenta que el desarrollo de emulgel de AMK es para la aplicación por vía tópica, el resultado óptimo es lograr tener una concentración de fármaco igual o mayor que la CMI, la cuál ha sido previamente estudiada, reportando que una concentración de 1  $\mu$ g/mL es suficiente para inhibir el crecimiento del 90% de las cepas de *Actinomyces madurae* (Ochoa-Félix, 2004). Tomando en cuenta lo anterior, puede establecerse que el emulgel podría tener un efecto positivo en la salud de los pacientes, ya que actuaría a nivel local disminuyendo los efectos tóxicos de la AMK.

## VIII. CONCLUSIONES

Se desarrollaron diversas formulaciones de emulsiones conteniendo el principio activo, sin embargo, al ser sometidas a la prueba de centrifugación, la cual brinda un indicativo de estabilidad a largo plazo, se eligió la formulación de la emulsión que contiene el 0.77% de principio activo, ya que es la que cumple con las características tecnológicas adecuadas para continuar con el desarrollo del emulgel.

Para la determinación del porcentaje de PF-127® que debía contener el gel, se prepararon sistemas en un intervalo del 10-30%, caracterizándolos para determinar la

temperatura de gelificación y la adhesividad, seleccionando el sistema del 30% ya que los resultados indican una elevada adhesividad, la cual es una característica requerida para la aplicación cutánea.

Al obtener la emulsión y el gel, se formó el emulgel de amikacina utilizando el método desarrollado por López-Cervantes (2013) para su posterior caracterización fisicoquímica y biofarmacéutica.

La ejecución de diversas pruebas fisicoquímicas como propiedades organolépticas, pH, densidad relativa, estabilidad acelerada, extensibilidad y adhesión, aunado a los estudios *in vitro* de absorción percutánea utilizando las celdas tipo Franz, permitieron demostrar que el emulgel de amikacina desarrollado cumple con las características tecnológicas adecuadas para ser utilizado como complemento a la administración sistémica para el tratamiento del micetoma ocasionado por *Actinomyces madurae*.

## **IX. PERSPECTIVAS**

Derivado del desarrollo de un emulgel de AMK, en la siguiente etapa se propone continuar con pruebas en el laboratorio de estabilidad acelerada y microbiológica de acuerdo a la normatividad vigente. Si los resultados son favorables, es posible continuar con la ejecución de pruebas *in vivo* en modelos animales para el estudio de la cinética de permeación, pruebas de irritabilidad y estudios de toxicidad.

## **X. REFERENCIAS**

**Ajazuddim.,** Amit, A., Ajita, K., Saurabh, G., Ravish, J., Tapan, K., Dulal, K.T., (2013). Recent expansions un an emergent novel drug delivery technology: Emulgel. *Journal of Controlled Release*, 171, [122-132].

**Álvarez-Carrillo, L.** (1999). *Desarrollo de una nueva fórmula en forma de gel como coadyuvante en el tratamiento de la celulitis.* (Tesis de Licenciatura). UNAM, D.F. México.

**Aranberri, I.,** Binks, B. P., Clint. J.H., Fletcher. P.D.I. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensioactivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros* 7, (3), [211-231].

**Aulton, M.E.** (2004). *Farmacología: La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas.* Madrid, España: Elsevier.

**Avila-Avalos, M.** (2010). *Métodos convencionales actualmente empleados para estudios de penetración percutánea (Revisión Bibliográfica)*. (Tesis de Licenciatura. UNAM, Estado de México, México.

**Baek-Ki Shin,** Eun Jung Baek, Soon Gil Choi, Enkhzaya Davaa, Young-Chang Nho, Youn-Mook Lim, Jong-Seok Park, Kang Moo Huh & Jeong-Sook Park. (2013). Preparation and irradiation of Pluronic F127-based thermoreversible and mucoadhesive hydrogel for local delivery of naproxen. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 39 (12), [1874-1880].

**Calderón-Uzumbilla, F.** (2001). *Principales antibióticos aminoglucósidos, glucopéptidos y macrolidos; mecanismo de acción, resistencia bacteriana y usos clínicos comunes*. (Tesis de Licenciatura). UNAM, D.F., México.

**Colín-Colín, H.A.** (2016). *Caracterización fisicoquímica y estudios de liberación de L-Carnitina formulada en parche transdérmico en una matriz de una mezcla polimérica a base de polivinil alcohol / polietilenglicol*. (Tesis de Licenciatura). UNAM, Estado de México, México.

**Estrada, R.,** Chávez-López, G., Estrada-Chávez, G., López-Martínez, R., Welsh, O. (2012). Eumycetoma. *Clinics in Dermatology* 30, [389-396].

**Gadea, G.I.** (s.f.). *Dermatomicosis y Micosis tropicales*. Fundación Jiménez Díaz. Madrid, España.

**Golan, D. E.,** Tashjian, A. H., Armstrong, E. J., Armstrong, A. J. (2012). *Principios de Farmacología. Bases fisiopatológicas del tratamiento farmacológico*. Barcelona: Lippincott Williams & Wilkins.

**Gómez-Peláez, L.M.** (2009). *Elaboración y caracterización de sistemas semisólidos bioadhesivos de liberación controlada para el tratamiento de ectoparásitos (B. Microplus) en bovinos*. (Tesis de Licenciatura). FESC UNAM, Estado de México, México.

**Guadarrama-Escobar, O.R.** (2013). *Parche transdérmico de pravastatina sódica: Caracterización y perfiles de disolución*. (Tesis de Licenciatura). FESC UNAM, Estado de México, México.

**Hassan-Fahal, A.** (2004). Mycetoma: a thorn in the flesh. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 98 (1), [3-11].

**Hassan-Fahal, A.** (2011). Mycetoma. En En Guerrant, R., Walker, D., Weller, P. (2016). *Tropical Infectious Diseases*. [565-568]. España: Elsevier.

**Hospenthal, D. R.** (2015). Microorganismos causantes de micetomas. En Mandell, Douglas, Bennett. (2015). *Principles and Practice of Infectious Disease*. [3906-3100].

**Ispoglou, S.**, Zarpala, A., Androulaki, A., Sipsas, N. (2003). Madura foot due to *Actinomyces madurae* Imaging appearance. *Journal of Clinical Imaging* 27, [233-235].

**Katzung, B.G.** (2007). *Farmacología básica y clínica* 10ma ed. México: El Manual Moderno.

**Kielhorn, J.**, Melching, S. y Mangelsdorf, I. (2006). Dermal Absorption. *World Health Organization*. [193-194].

**Kontoyiannis, D. P.** (2016). Micetoma. Recuperado el 05 de abril de 2015 de ClinicalKey.es desde UNAM.

**Kuhn, R.** (2014). Infections. *Journal of Clinical Imaging* 27, 789-810.

**Lathiyare, K.**, Suresh, P., Jain. V. (2015). Development and in vitro characterization of Piroxicam loaded emulgel to topical delivery. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*. 2 (3), [18-32].

**López-Cervantes, M.** (2013). *Estudio comparativo de los sistemas: Parche transdérmico, emulgel e iontoforesis que contienen kanamicina, para el tratamiento del micetoma ocasionado por Actinomyces Madurae*. (Tesis de Doctorado). UNAM, Estado de México, México.

**López-Cervantes, M.**, Escobar-Chávez, J.J., Melgoza-Contreras, L.M. (Agosto, 2015). *Desarrollo y validación de un método analítico espectrofotométrico para la cuantificación de amikacina*. Trabajo presentado en XXIV Congreso Nacional de Educación Química Farmacéutica Biológica y XX Reunión Nacional de Estudiantes de Farmacia del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México A.C., Guanajuato, Guanajuato.

**Lorenzo, P.**, Moreno, A., Lizasoain, I., Leza. J.C., Moro, M. A., Portolés, A. (2008). *Velázquez. Farmacología básica y clínica*. 8ª ed. Madrid: Médica Panamericana.

**Lupi, O.**, Tying, S. K., McGrinnis, M. R. (2005). Tropical dermatology: Fungal tropical diseases. *Journal of the Tropical Dermatology* 54 (6), [931-950].

Maghoub, E. S. (2006). Mycetoma. En Guerrant, R., Walker, D., Weller, P. (2016). *Tropical Infectious Diseases*. [892-897]. España: Elsevier.

**Méndez-Tovar, L.J.** (2014). Micetoma. Recuperado el 01 de junio de 2015 de <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/micetoma.html>

- Mendoza, N.**, Arora, A., Arias C. A., Hernández, C. A., Madkam, V., Tying, S. (2009). Cutaneous and subcutaneous mycoses. *Clinical Mycology*, [509-523].
- Montelone, P.**, Muhammad, N., Brown, R., McGrory J., Hanna, S. (n.d.). Amikacin Sulfate. En *Analytical Profiles of Drug Substances*, Florey. [37-71] España: Elsevier.
- Muñoz, J.**, Alfaro, M. C., Zapata, I. (2007). Avances en la formulación de emulsiones. *Grasas y aceites* 58 (1), [64-73].
- Ochoa-Félix, E.Y.** (2004). *Estudio in vivo e in vitro de la sensibilidad de actinmadura madurae frente a diversos antimicrobianos de reciente desarrollo*. (Tesis de Maestría). UANL, Nuevo León, México.
- Palma, R.A.**, Hernández, L.A., Mejía, B.I., Castrillón, R.L., Padilla, D.C., Cedujo, U.B.L. (2005). Control de calidad de un lote de emulgel con kanamicina, utilizado como auxiliar en el tratamiento del micetoma por *Actinmadura madurae*. *Rev. Mex. Ciencias Farmacéuticas*, 36 (2), [16-25].
- Roderick, J.H.** (2016). Eumycetomas. En Mandell, Douglas, Bennett. (2016), *Infectious Diseases Essentials by Mandell Douglas*. [2-11] España: Elsevier.
- Rowe, R.C.**, Sheskey, P. J., Quinn, M. E. (eds). (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. EUA: Pharmaceutical Press.
- ScienceDirect.** (2008). Amikacin. *Tuberculosis* 88 (2), [87-88].
- Serrano-Castañeda, P.** (2011). *Uso de microahujas para hacer más eficiente el paso de clorhidrato de sibutramina a través de piel humana formulado en parches transdérmicos de una matriz polimérica de quitosán con transcitol*. (Tesis de Licenciatura). UNAM, Estado de México, México.
- Serrano-Castañeda, P.** (2013). *Desarrollo y caracterización de un parche transdérmico de pravastatina acoplado a microagujas como promotor físico de la penetración transdérmica*. (Tesis de Maestría). UAM, México.
- Scholar, E.** (2007). Amikacin. *The Comprehensive Pharmacology Reference*. University of Nebraska Medical Center. EUA.
- Warren, N.** (1996). Actinomycosis, Nocardiosis, and Actinomycetoma. *Dermatologic Clinics*. 14 (1), [85-95].
- Welsh, O.**, Vera-Cabrera, L., Salinas-Carmona, C. (2007). Mycetoma. *Clinics in Dermatology* 25, [195-202].

**Welsh, O.**, Vera-Cabrera,L., Welsh, E., Salinas, M.C. (2012). Actinomycetoma and advances in its treatment. *Clinics in Dermatology* 30, 372-381.

**Yajaman Sudhakar.**, Ketousetuo, K., Bandyopadhyay, A.K. (2006). Buccal bioadhesive drug delivery – A promising option foro rally efficient drugs. *Journal of Controlled Release.* 114, [15-40].

#### **URL's**

- [http://images.slideplayer.com/25/7682722/slides/slide\\_6.jpg](http://images.slideplayer.com/25/7682722/slides/slide_6.jpg)
- [http://filesbiopsicosalud4.webnode.com.ve/200000097\\_81d5682ceb/estructura%20de%201a%20piel.jpg](http://filesbiopsicosalud4.webnode.com.ve/200000097_81d5682ceb/estructura%20de%201a%20piel.jpg)
- <http://l.bp.blogspot.com/.kap1rxny590/Se4Gy1hDqDi/AAAAAAADCI/k0aBCjQngkk/S1600/image037.jpg>
- [http://bp.blogspot.com/-b\\_Km7y0Wp0A/TbiVfWdh-FI/AAAAAAAAGs/CV-tUSjiR4c/s1600/anatomia%2Bu%25C3%25B7as.gif](http://bp.blogspot.com/-b_Km7y0Wp0A/TbiVfWdh-FI/AAAAAAAAGs/CV-tUSjiR4c/s1600/anatomia%2Bu%25C3%25B7as.gif)
- [http://docplayer.es/docs\\_images/26/8585662/images/5-0.jpg](http://docplayer.es/docs_images/26/8585662/images/5-0.jpg)