

Actividad antifúngica potencial de propóleo y nanopartículas de selenio para aplicaciones terapéuticas en veterinaria

Potential antifungal activity of propolis and selenium nanoparticles for therapeutic applications in veterinary medicine

Miriam N. López Guazo-Virgen¹, Gabriela Medina-Pérez¹, Armando Zepeda-Bastida¹, Paola Hernández-Ching², Claudia Ibarra-Sánchez³, Oscar J. Álvarez-Contreras^{1*}

Abstract:

Dermatophytosis is one of the primary fungal skin infections in domestic animals, with *Microsporum canis* and *M. gypseum* being the most common etiological agents. Faced with increasing resistance to conventional treatments, natural and effective alternatives are needed. Propolis, rich in phenolic compounds, and selenium nanoparticles (SeNPs) have demonstrated antifungal potential. This study evaluated the in vitro antifungal activity of propolis ethanolic extract, alone and in combination with SeNPs. Propolis samples were collected from beehives located in Huehuetla, Hidalgo, Mexico. A 70% ethanolic extract was prepared, and its phenol, flavonoid, and antioxidant capacity were characterized. Reference strains of *M. canis* and *M. gypseum* were used. Antifungal activity was evaluated using the agar diffusion method with propolis extract (60 and 120 mg/mL), SeNPs (1 mg/mL), and their combination. ANOVA and Tukey's test were applied for statistical analysis. The ethanolic extract of propolis at 120 mg/mL showed significant growth inhibition of both dermatophytes. The combination with SeNPs increased the inhibition zones compared to the extract alone ($p < 0.05$). Chemical characterization revealed high contents of flavonoids and total phenols, correlated with the observed antifungal activity. The ethanolic extract of propolis exhibits antifungal activity against *M. canis* and *M. gypseum*, which is enhanced when combined with selenium nanoparticles. These findings support the potential use of this combination as a therapeutic alternative for veterinary dermatophytosis. Future studies should explore its clinical application, stability, and in vivo safety.

Keywords:

M. Canis, *M. Gypseum*, dermatomycosis, skin

Resumen:

Las dermatofitosis representan una de las principales infecciones fúngicas cutáneas en animales domésticos, siendo *Microsporum canis* y *M. gypseum* los agentes etiológicos más frecuentes. Frente a la creciente resistencia a los tratamientos convencionales, se requieren alternativas naturales y eficaces. El propóleo, rico en compuestos fenólicos, y las nanopartículas de selenio (SeNPs) han mostrado potencial antimicótico. Este estudio evaluó la actividad antifúngica in vitro del extracto etanólico de propóleo, tanto en

¹Area Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Avenida Universidad #133 colonia San Miguel Huatengo, CP 43775, Tulancingo, Hidalgo, México. Miriam N. López-Guazo, <https://orcid.org/0009-0003-3677-8703>, email: lo454030@uaeh.edu.mx; Gabriela Medina-Pérez, <http://orcid.org/0000-0001-8673-941X>, email: gabriela_medina@uaeh.edu.mx; Armando Zepeda-Bastida, <https://orcid.org/0000-0003-0572-5206>, email: azepeda@uaeh.edu.mx; Oscar J. Álvarez Contreras, <https://orcid.org/0009-0004-3680-6812>, email: al440432@uaeh.edu.mx.

²Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (Tropical Beekeeping Research Center) Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. Tel: (506) 2562-6339, Cel: (506) 8845-4995 P.O. Box: 475-3000, Heredia, Costa Rica. Hernández-Ching Paola, <https://orcid.org/0009-0007-0382-6069>, email: paola.hernandez.ching@una.cr.

³Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México, Ibarra-Sanchez Claudia L., <https://orcid.org/0009-0009-3140-0457>, email: ibsanchezcl@gmail.com.

*autor de correspondencia

monodosis como en combinación con SeNPs. Se recolectaron muestras de propóleo de colmenas ubicadas en Huehuetla, Hidalgo, México. Se elaboró un extracto etanólico al 70% y se caracterizó su contenido de fenoles y flavonoides, así como su capacidad antioxidante. Se utilizaron cepas de referencia de *M. canis* y de *M. gypseum*. La actividad antifúngica se evaluó mediante el método de difusión en agar, utilizando extracto de propóleo (60 y 120 mg/mL), SeNPs (1 mg/mL) y su combinación. Se aplicaron ANOVA y la prueba de Tukey para el análisis estadístico. El extracto etanólico de propóleo a 120 mg/mL mostró una inhibición significativa del crecimiento de ambos dermatofitos. La combinación con SeNPs incrementó los halos de inhibición en comparación con el extracto solo ($p < 0.05$). La caracterización química reveló altos contenidos de flavonoides y de fenoles totales, correlacionados con la actividad antifúngica observada. El extracto etanólico de propóleo presenta actividad antifúngica contra *M. canis* y *M. gypseum*, la cual se incrementa al combinarse con nanopartículas de selenio. Estos hallazgos respaldan el uso potencial de esta combinación como alternativa terapéutica en la dermatofitosis veterinaria. Los futuros estudios deberán explorar su aplicación clínica, estabilidad y seguridad in vivo.

Palabras Clave:

M. Canis, *M. Gypseum*, dermatomycosis, piel

1. Introducción

La dermatofitosis, comúnmente conocida como “tiña”, es una infección micótica superficial que afecta la piel, el pelo y las uñas, causada por hongos queratinofílicos del grupo de los dermatofitos [1]. Esta afección representa una de las micosis más prevalentes en el mundo, tanto en humanos como en animales domésticos, con una incidencia estimada superior al 25% de la población humana global [2]. Aunque raramente causa complicaciones graves, su presencia puede generar molestias significativas y afectar la calidad de vida de los pacientes, especialmente cuando se manifiesta en áreas corporales visibles o en individuos inmunocomprometidos.

Los dermatofitos se agrupan ecológicamente en tres categorías: antropofílicos (adaptados al ser humano), zoofílicos (provenientes de animales) y geofílicos (originarios del suelo) [3]. Los dermatofitos zoofílicos y geofílicos son responsables de lesiones inflamatorias y suelen estar implicados en la transmisión zoonótica [4], sobre todo en el contexto de la convivencia con mascotas. En medicina veterinaria, la dermatofitosis es una causa común de consulta dermatológica, siendo *Microsporum canis* y *M. gypseum* los agentes etiológicos más frecuentemente aislados en perros y gatos [4, 5]. En gatos, incluso los animales clínicamente sanos pueden ser portadores asintomáticos, contribuyendo silenciosamente a la diseminación ambiental del hongo y al riesgo zoonótico [6, 7].

Frente a las limitaciones de los tratamientos antifúngicos convencionales —como la resistencia microbiana, los efectos adversos y el costo económico— ha aumentado el interés por el uso de

productos naturales como alternativas terapéuticas seguras y eficaces [8-10].

El propóleo, una sustancia resinosa producida por las abejas (*Apis mellifera*) a partir de exudados vegetales, ha sido tradicionalmente utilizado en medicina natural por sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias y antioxidantes [11, 12]. Su eficacia contra los hongos dermatofitos ha sido demostrada en múltiples estudios. Por ejemplo, [13] Se reportó que los extractos etanólicos del propóleo inhiben el crecimiento de *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum* y *Candida albicans*. Posteriormente, [14] confirmaron la eficacia del propóleo brasileño contra diversas levaduras y dermatofitos, sugiriendo que sus compuestos fenólicos (como flavonoides y ácidos cafeicos) son responsables de su actividad antimicótica [15]. Otros estudios, como el de [16, 17] señalaron que el propóleo posee un efecto fungistático dependiente de la concentración, siendo eficaz tanto en formulaciones tópicas. En veterinaria, aplicaciones tópicas de propóleo han mostrado buenos resultados en el tratamiento de lesiones dérmicas causadas por dermatofitos en animales de compañía, especialmente en casos leves o localizados [18, 19].

Por otro lado, la nanotecnología ha emergido como una estrategia innovadora para mejorar la biodisponibilidad y eficacia de agentes antimicóticos [20]. Las nanopartículas metálicas, como las de plata, cobre, zinc y selenio, han demostrado una potente actividad antifúngica [21] mediante mecanismos como la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) [22, 23], la alteración de la permeabilidad celular [24, 25] y la inhibición de enzimas esenciales [26, 27]. Las nanopartículas de selenio, en particular, han cobrado relevancia por su

perfil de seguridad y sus efectos antiinflamatorios, antioxidantes y antimicrobianos [28-30].

Estudios recientes han explorado el potencial sinérgico entre nanopartículas y productos naturales [31, 32]. [33] mostraron que la combinación de nanopartículas de plata con extracto de propóleo mejoró significativamente la inhibición de *Candida albicans* y *Trichophyton rubrum* frente a los tratamientos individuales. [34] Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), sintetizadas a partir de un extracto acuoso de propóleo, muestran una inhibición eficaz de patógenos fúngicos y de patógenos transmitidos por el agua, lo que sugiere su potencial como agente antimicrobiano natural y sostenible. [35] reportaron que la combinación de propóleo de Siwa y colistina en nanopartículas de quitosano mejora significativamente la actividad antimicrobiana, tanto *in vitro* como *in vivo*, frente a bacterias multirresistentes. En otro estudio [36] se reportó que las nanopartículas de plata estabilizadas con propóleo presentan menor toxicidad y una actividad antifúngica significativa. El estudio evaluó su biocompatibilidad y eficacia antimicrobiana, destacando el papel del propóleo como agente estabilizante y potenciador de la actividad terapéutica. En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de una formulación basada en propóleo en combinación con nanopartículas de selenio frente a *Microsporium canis* y *M. gypseum*, agentes etiológicos comunes de la dermatofitosis en animales domésticos. Esta estrategia terapéutica sinérgica busca integrar los beneficios de la medicina natural con los avances de la nanomedicina, proponiendo una alternativa innovadora, eficaz y segura para el tratamiento de las micosis cutáneas, tanto en el ámbito veterinario como en el de la salud pública.

2. Materiales y métodos

2.1. Extracto etanólico de propóleo

Se recolectaron muestras de propóleo crudo de colmenas de *Apis mellifera sp.* ubicadas en la región de Huehuetla, Hidalgo (Figura 1). El extracto de obtuvo siguiendo la metodología de [37]; el propóleo fue limpiado manualmente, triturado y almacenado a -20 °C hasta su procesamiento. Para la elaboración del extracto, se pesaron 20 g de propóleo y se maceraron en 100 mL de etanol al 70%, el cual se agitó en un baño ultrasónico durante media hora. Posteriormente, la mezcla se congeló

durante 72 horas para la remoción de la cera residual. Posteriormente, se filtró con papel Whatman No. 1 y se almacenó en frascos de ámbar a 4 °C hasta su uso.

2.2. Nanopartículas de selenio (SeNPs)

Las nanopartículas de selenio se adquirieron de Materiales Nanoestructurados S.A. de C.V. (San Luis Potosí, México). Las características fisicoquímicas de las nanopartículas de selenio se presentan en la Tabla 1. Estas SeNPs se sintetizaron químicamente mediante el uso de selenito de sodio (Na_2SeO_3) como precursor y de ácido ascórbico como agente reductor.



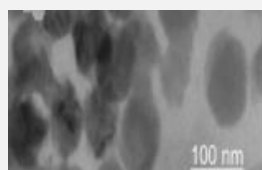
Figura 1. Propóleo en greña colectado en apiarios de la comunidad de Dos Caminos, Santa Úrsula y San Antonio el Grande en el municipio de Huehuetla Hidalgo

Tabla 1. Características fisicoquímicas de las nanopartículas de selenio de Materiales Nanoestructurados, S.A. de C.V.

Atributos	SeNPs
Formula química	Se
Color	Gris
Densidad (g/cm^3)	4.81
Peso molecular	78.96
Punto de fusión	960.8°C
Punto de ebullición	222.12°C
Propiedades magnéticas	débilmente ferromagnéticas
Tamaño de partícula	Menos de 100nm

Morfología

Esférica



2.3. Cepas fúngicas

Se utilizaron cepas de referencia de *Microsporum canis* (ATCC® 36299™) y de *Microsporum gypseum* (ATCC® 24102™), obtenidas del American Type Culture Collection (ATCC). Las cepas fueron cultivadas en medio de agar Sabouraud dextrosa (SDA) e incubadas a 28 °C durante 7 días. Posteriormente, se prepararon suspensiones fúngicas en solución salina estéril con Tween 80 al 0,05 %, ajustadas a una concentración de 1×10^6 UFC/mL mediante espectrofotometría.

2.3. Determinación del contenido fenólico total

La prueba de polifenoles se realizó con base en [38] con ligeras modificaciones. Se mezclaron 0.5 mL de extracto de propóleo con 2.5 mL de Folin-Ciocalteu (F9252, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) durante 7 minutos en oscuridad. Posteriormente, se añadieron 2 mL de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 7,5 % (PQ17881, Fermont, Monterrey, México). Los tubos con la mezcla se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente, en oscuridad, y la absorbancia se midió inmediatamente a 760 nm en un espectrofotómetro (JENWAY, modelo 6715, Dunmow, Reino Unido). Se utilizó agua destilada como blanco. Se preparó una curva estándar con una solución madre de ácido gálico (G7384, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.). Los resultados se expresaron en mg de equivalentes de ácido gálico/100 g (mg GAE/100 g). El cálculo se realizó mediante la ecuación (1)

$$\text{Fenoles totales (mgEAG 100g)} = \frac{\text{CAG} * V * \text{DF} * 100}{\text{Peso del propoleo crudo (g)}} \quad (1)$$

Donde CAG = concentración del estándar de ácido gálico de la curva estándar (mg/mL) V = volumen de la muestra (mL) DF = factor de dilución

2.4 Determinación de fenoles totales

El método descrito por [39] se modificó para determinar el contenido total de flavonoides. Para esta determinación, se tomaron 0.5 mL de extracto de propóleo y se añadieron 75 μL de nitrito de sodio (NaNO_2) al 5% (Meyer, Ciudad de México, México), y se dejó reposar durante 5 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadieron 150 μL de tricloruro de aluminio (AlCl_3) al 10% (449598, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) y se dejó reposar nuevamente durante 6 min. Posteriormente, se añadieron 500 μL de hidróxido de sodio (NaOH) 1 M (Meyer, Ciudad de México, México) y 275 μL de agua destilada. La lectura se realizó a 415 nm en un espectrofotómetro (JENWAY, modelo 6705, Staffordshire, Reino Unido). Se utilizó una curva estándar de quercetina (1592409, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.). Los resultados se expresaron en mg de equivalentes de quercetina/100 g (mg QE/100 g). El cálculo se realizó mediante la ecuación (2):

$$\text{Flavonoides totales (mgEQ 100g)} = \frac{\text{CQ} * V * \text{DF} * 100}{\text{Peso del propoleo crudo (g)}}$$

(2)

Donde CQ = concentración de quercetina en la curva estándar (mg/mL), V = volumen de la muestra (mL) y DF = factor de dilución de la muestra.

2.5 Actividad antioxidante

Actividad de inhibición de radicales libres ABTS•+

La actividad antioxidante se determinó utilizando el compuesto cromogénico ácido 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) según [40]. Para los extractos, se diluyó un extracto de propóleo (1:1000 p/v) con etanol al 85 %; las muestras se homogeneizaron hasta su completa solubilidad. Posteriormente, los extractos se centrifugaron a $18.510 \times g$ durante 15 min a 4 °C (Hermle, Z 36 HK, Gosheim, Alemania). Se preparó un total de 20 mL de solución madre de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ a 7 mM (se añadieron 36 mg de reactivo $\text{ABTS}^{\bullet+}$ a 10 mL de agua destilada y 10 mL de persulfato de potasio a 2,45 mM (5,83 mg) al persulfato de potasio en 10 mL de agua destilada). La mezcla se mantuvo bajo agitación magnética durante 24 h, en total oscuridad, para generar radicales libres de $\text{ABTS}^{\bullet+}$.

Se colocaron 0,2 mL del sobrenadante con 2 mL de ABTS•+ estandarizado en un tubo de ensayo, se homogeneizó y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 6 min, sin luz.

Las muestras se leyeron a 734 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6715, Staffordshire, Reino Unido). Se utilizó ácido gálico como blanco para preparar la curva estándar (de 0 a 100 mg/L) con etanol al 20 %. Según la siguiente ecuación, la actividad antioxidante se expresó en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de extracto. Todas las muestras se analizaron en triplicado. El cálculo se realizó mediante la ecuación (3).

$$\text{Actividad antioxidante (mgAG 100g)} = \frac{\text{AG} * \text{V} * \text{DF} * 100}{\text{Peso del propoleo crudo (g)}}$$

(3)

Donde AG = concentración de ácido gálico de la curva estándar (mg/mL) V = volumen de la muestra (mL) DF = factor de dilución

2.6. Ensayo de actividad antifúngica

Se empleó el método de difusión en pozo en agar para evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo, de las nanopartículas de selenio y de su combinación. Las placas de Petri con SDA fueron inoculadas en superficie con 100 µL de la suspensión fúngica correspondiente. Luego, se perforaron pocillos de 6 mm de diámetro en el agar, en los cuales se depositaron 50 µL de cada uno de los tratamientos:

- T1: extracto etanólico de propóleo
- T2: nanopartículas de selenio (SeNPs)
- T3: mezcla de propóleo + SeNPs
- T4: control negativo (etanol al 70%)
- T5: control positivo (ketoconazol al 2%)

2.7 Análisis estadístico

Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Los resultados obtenidos en la caracterización del extracto etanólico de propóleo (pH, contenido fenólico total, contenido total de flavonoides y actividad antioxidante medida por IC₅₀) se procesaron mediante estadística

descriptiva, expresándose como media ± desviación estándar a partir de tres repeticiones independientes. Para el análisis de la actividad antifúngica, los datos correspondientes a los diámetros de los halos de inhibición obtenidos en el ensayo de difusión en agar fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía (ANOVA), con el objetivo de identificar diferencias significativas entre los distintos tratamientos: extracto de propóleo, nanopartículas de selenio, combinación propóleo-SeNPs, control negativo (etanol al 70%) y control positivo (ketoconazol al 2%). Las diferencias significativas entre medias se determinaron mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (p < 0.05). Todos los análisis se realizaron con el software GraphPad Prism, versión 9.0. Se consideró significancia estadística con un valor de p menor a 0.05 y los resultados se reportaron como media ± desviación estándar.

3. Resultados y discusión

3.1 Caracterización del extracto de propóleo

Con base en la literatura, se extrajeron los compuestos bioactivos del propóleo mediante etanol acuoso (80-20) y sonación durante media hora, con un rendimiento del 48%. En la tabla 2 se detalla el perfil de compuestos bioactivos de las muestras ensayadas. El contenido de compuestos fenólicos determina la capacidad antioxidante, farmacológica, antibacteriana, antifúngica, antiparasitaria, anticancerígena, antiviral y protectora al funcionar como inhibidor de enzimas [41]. El contenido de fenoles está reportado entre 3000 y 20000 mg/GAE por 100 g de propóleo [42]. Los flavonoides presentes en el extracto etanólico de propóleo desempeñan un papel fundamental en su actividad antifúngica, al ejercer efectos directos sobre la estructura y la función de las células fúngicas. El contenido de flavonoides oscila entre los 3000 y los 7000 mg GAE/100 g de propóleo [42].

Tabla 2. Perfil de compuestos bioactivos extraídos del propóleo muestreado en las comunidades de Dos Caminos, Santa Úrsula y San Antonio el Grande, en el municipio de Huehuetla, Hidalgo.

	Fenoles totales	Flavonoides totales	Actividad antioxidante
Localidad de muestreo	mg GAE/100g	mg QE/100g	ABTS•+ mg GAE/100g
Dos Caminos	12,340±158 ^a	8,091±21 ^a	14,904±436 ^a

Santa Ursula	11,040±127 ^b	7,859±21 ^b	12,874±328 ^b
San Antonio el Grande	11,812±222 ^c	8,001±21 ^c	11,501±45 ^c

Los valores presentados corresponden a la media \pm el error estándar de las pruebas realizadas en triplicado. Las letras indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) según lo determinado por la comparación de medias de Tukey. mg GAE/100 g (miligramos de equivalentes de ácido gálico por cada 100 g de muestra) y mg QE/100 g (miligramos de equivalentes de quercitina por cada 100 g de muestra).

Diversos estudios han demostrado que estos compuestos polifenólicos pueden alterar la permeabilidad de la membrana citoplasmática de los hongos, provocando fugas de componentes intracelulares esenciales y comprometiendo la viabilidad celular [43]. Además, algunos flavonoides, como la galangina, la quercetina y la pinocembrina, han mostrado capacidad para inhibir la síntesis de ergosterol, un lípido estructural clave de la membrana fúngica, lo que afecta la estabilidad y la función de la célula [44]. Asimismo, se ha observado que estos compuestos inhiben enzimas extracelulares, como las queratinasas y las proteasas, implicadas en la invasión de tejidos queratinizados por dermatofitos [45]. Por otro lado, la elevada capacidad antioxidante de los flavonoides contribuye a neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS), modulando la respuesta inflamatoria del hospedador y coadyuvando a la acción antifúngica [46]. En conjunto, estos mecanismos sugieren que los flavonoides no solo poseen efectos fungistáticos o fungicidas directos, sino que también pueden potenciar la eficacia de agentes antimicóticos cuando se usan en combinación, como en el caso del propóleo asociado a nanopartículas de selenio.

3.2 Ensayo de la actividad antifúngica

En cuanto a la actividad antifúngica de los extractos, los resultados obtenidos del ensayo con el extracto etanolico del propóleo de la comunidad de Dos Caminos con dos concentraciones: 60 y 120 mg/ml en los discos aplicados en los medios probados, reportan que solo el extracto etanolico crudo de 120 mg/ml de propóleo presentó actividad antifúngica contra las cepas de dermatofitos, por lo que se procedió a probar este único extracto en combinación con una suspensión de nanopartículas de selenio a una concentración de 1mg/ml, los resultados de la actividad antifúngica tanto del extracto etanolico de propóleo como la mezcla con nanopartículas de

selenio contra *M. gypseum* y *M. canis* se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Actividad antifúngica de los extractos alcohólicos del propóleo de *Apis mellifera* sp. Obtenidos en la comunidad de Dos Caminos, en el municipio de Huehuetla, y en combinación con nanopartículas de selenio.

	Extractos etanólicos de propóleo (mg/ml)			Control
Cepa	60	120	120 + 1mg/ml NpSe	ketokonazol 200mg/ml
<i>M. gypseum</i>	0	11.702±0.133	12.281±0.325	23.0±00.12
<i>M. canis</i>	0	12.663±0.025	14.110±0.012	24.5±00.09

Los valores presentados son la media \pm error estándar de las pruebas realizadas por triplicado

Los resultados del ensayo in vitro mostraron que el extracto etanolico de propóleo a una concentración de 120 mg/mL presentó actividad antifúngica significativa frente a *Microsporum canis* y *M. gypseum*, con halos de inhibición de 12.66 ± 0.03 mm y 11.70 ± 0.13 mm, respectivamente. Estos hallazgos coinciden con reportes previos que han demostrado la eficacia del propóleo como agente antimicótico, atribuida a su alto contenido de compuestos fenólicos, en particular flavonoides como pinocembrina, galangina y quercetina, que alteran la integridad de la membrana fúngica y interfieren en la síntesis de ergosterol (Silva-Carvalho et al., 2015; Marchese et al., 2016).

Al combinar el extracto de propóleo con nanopartículas de selenio (1 mg/mL), se observó un incremento significativo en la actividad antifúngica frente a ambas cepas, con halos de inhibición de 14.110 ± 0.01 mm para *M. canis* y 12.28 ± 0.32 mm para *M. gypseum*. Este efecto sinérgico puede explicarse por la acción conjunta de los compuestos fenólicos del propóleo con las propiedades físicoquímicas de las SeNPs, como su tamaño nanométrico (<100 nm), que favorece la penetración en la pared celular del hongo e induce estrés oxidativo mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Boroumand et al., 2019; Padilla-Vaca et al., 2018).

Las SeNPs también han demostrado interferir con enzimas esenciales y alterar la homeostasis celular, lo

que refuerza el efecto fungistático del propóleo (Malhotra et al., 2016).

La actividad observada en este estudio concuerda con trabajos previos en los que combinaciones de nanopartículas metálicas y extractos naturales han mejorado la eficacia antifúngica frente a los tratamientos individuales. Por ejemplo, Osman et al. (2023) reportaron una inhibición efectiva de hongos patógenos mediante nanopartículas de óxido de zinc biosintetizadas a partir de propóleo. Igualmente, Kischkel et al. (2020) encontraron que las nanopartículas de plata estabilizadas con propóleo presentan una mayor biocompatibilidad y actividad antimicótica.

Aunque los halos de inhibición del tratamiento combinado fueron menores que los del control positivo (ketoconazol al 2%), que mostró halos de 24.5 ± 0.09 mm y 23.0 ± 0.12 mm frente a *M. canis* y *M. gypseum*, respectivamente, los resultados obtenidos respaldan el potencial terapéutico del propóleo y su combinación con SeNPs como una alternativa natural, segura y efectiva en el tratamiento de dermatofitosis en medicina veterinaria.

5. Conclusiones

El presente estudio confirma que el extracto etanólico de propóleo proveniente de Huehuetla, Hidalgo, posee una notable actividad antifúngica frente a *Microsporum canis* y *M. gypseum*, la cual se potencia significativamente al combinarse con nanopartículas de selenio (SeNPs). La sinergia observada entre ambos agentes puede atribuirse a la interacción entre los compuestos fenólicos del propóleo y las propiedades fisicoquímicas de las SeNPs, las cuales favorecen la penetración celular y la generación de especies reactivas de oxígeno. Esta combinación ofrece una alternativa prometedora para el desarrollo de terapias naturales y sostenibles contra la dermatofitosis en medicina veterinaria, reduciendo la dependencia de antifúngicos sintéticos y los riesgos de resistencia microbiana. Además, el uso de nanomateriales biocompatibles, como el selenio, contribuye a ampliar el espectro de aplicaciones terapéuticas seguras y ambientalmente responsables. Las futuras investigaciones deberán enfocarse en validar la eficacia in vivo, optimizar las formulaciones tópicas y evaluar la estabilidad, la toxicidad y los mecanismos moleculares de acción, con el fin de establecer bases sólidas para su aplicación clínica y veterinaria.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo el apoyo técnico y logístico brindado durante el desarrollo de esta investigación. Asimismo, se reconoce la valiosa contribución de los apicultores de las comunidades de Dos Caminos, Santa Úrsula y San Antonio el Grande, en el municipio de Huehuetla, Hidalgo, por su generosa disposición a proporcionar las muestras de propóleo utilizadas en este estudio.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses económico, personal o académico que haya influido en los resultados ni en la interpretación de los datos presentados en este estudio.

Referencias

1. Sánchez-Saldaña, L., R. Matos-Sánchez y H. Kumakawa Sena, *Infecciones micóticas superficiales*. Dermatol Peru, 2009. **19**(3): p. 226-66.
2. Matamoros Suárez, R.E., *Una revisión de la literatura sobre la histoplasmosis: la micosis del viajero*. 2021.
3. LOPEZ-MARTINEZ, R., *Investigación de algunas fuentes de infección en las dermatofitosis. Estudio de suelos, animales y animales*. 2025.
4. Cárdenas Montesino, M.C., *Dermatomycosis en pequeños animales: Agentes etiológicos comúnmente aislados y su relación con el desarrollo de la infección, la eficiencia diagnóstica y los desafíos futuros*. 2025.
5. Cornejo, L.M.A.T., *UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR, FACULTAD DE MEDICINA, MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA*. 2019.
6. Cabañes, F.J., *Dermatofitosis en animales. Recientes avances*. Rev. Iberoam. Micol., 2000. **17**(1): p. 8-12.
7. Sosa Monsalve, D., *Dermatofitosis felina causada por Microsporum canis*. 2016, Corporación Universitaria Lasallista.
8. Cortés, M., *Micosis sistémicas por hongos pluricelulares oportunistas: tratamiento actual y perspectivas desde las plantas medicinales*. 2024.
9. Guzmán Álvarez, W.A. y L.M. De Lima Cairoza, *Revisión bibliográfica del efecto del aceite esencial de orégano (Origanum vulgare) en el tratamiento de la candidiasis causada por las especies Candida albicans y Candida parapsilosis*. 2024.
10. Lacueva Arnedo, M., *Historia y evolución del tratamiento frente a Trichomonas vaginalis: desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas*. 2024.
11. Montenegro, J.F., *AVANCES Y PERSPECTIVAS DEL USO DEL PROPÓLEO EN ANIMALES DOMÉSTICOS*. 2024.
12. Rodríguez Pérez, B., et al., *Composición química, propiedades antioxidantes y actividad antimicrobiana de propóleos mexicanos*. Acta universitaria, 2020. **30**.
13. Kujumgiev, A., et al., *Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin*. Journal of Ethnopharmacology, 1999. **64**(3): p. 235-240.
14. Sforzin, J.M., *Biological properties and therapeutic applications of propolis*. Phytotherapy research, 2016. **30**(6): p. 894-905.

15. Mateo Aldama, J.A., et al., *Daño estructural en Cryptococcus neoformans producido por un propóleo mexicano*. Nova scientia, 2020. **12**(25).
16. David, L.J.M., *El propóleo de Zapotitlán inhibe el crecimiento de Candida*. 2024, Universidad Nacional Autónoma de México.
17. Mendoza Carranza, E.M., *Estudio comparativo del efecto antifúngico del extracto etanólico de propóleos de la sierra y costa liberteña sobre cepas de Candida albicans ATCC 10231, Trujillo–2018*. 2019.
18. La Guardia García, M.R., *Actividad in vitro de seis tipos de propóleos nacionales frente a los principales hongos dermatofitos y levaduriformes que afectan la piel y sus anexos en perros*. 2011, Universidad de San Carlos de Guatemala.
19. Torres, L.C.C. and K.M.T. Gutiérrez, *Perfil de Resistencia Antibiótica y Antifúngica de Caninos y Felinos de un Laboratorio*. infection. **11**: p. 771510.
20. Castrillón Rivera, L.E. and A. Palma Ramos, *Actividad antimicótica de nanopartículas*. Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología, 2014. **7**(12): p. 6-18.
21. Padilla-Vaca, F., et al., *El mundo micro en el mundo nano: importancia y desarrollo de nanomateriales para el combate de las enfermedades causadas por bacterias, protozoarios y hongos*. Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología, 2018. **11**(21): p. 15-28.
22. Mantilla, T.M.S., *Actividad Antifúngica de Nanopartículas de Plata Biosintetizadas y Suspendidas en Extractos de Hojas de Moringa oleifera: Efectos Sobre el Cambio Dimórfico y Biopelículas de Candida spp. Resistentes al Fluconazol*.
23. García-Marín, L.E. and E. Castro-Longoria, *Nanopartículas metálicas: una alternativa para combatir la resistencia de especies causantes de la candidiasis*. Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología, 2023. **16**(31).
24. Villagrán Villegas, A.J., *Análisis de toxicidad y efecto inhibitorio de microorganismos mediante la adición de nanopartículas de óxido de zinc y plata en polimetilmetacrilato*. 2022.
25. Romero, L. and V. Brillitt, *Sensibilidad de Candida albicans cepa ATCC 10231 a nanopartículas de plata obtenidas por síntesis verde de Moringa oleifera*. 2019.
26. Jiménez, E.d.R.C., *Biosíntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de cobre y su actividad antifúngica contra Botrytis cinerea*. 2024.
27. Cortes Pirazan, L.J., *Estudio de la sensibilidad antimicótica de Aspergillus Flavus a nanopartículas de plata obtenidas por síntesis verde*. 2018.
28. Cabrera Cortés, C.A., *Aplicación de nanopartículas de Se y su efecto sobre la calidad fisicoquímica y el comportamiento del sistema antioxidante en verdolaga (Portulaca oleracea L.)*. 2023.
29. Boroumand, S., et al., *Selenium nanoparticles: synthesis, characterization and study of their cytotoxicity, antioxidant and antibacterial activity*. Materials Research Express, 2019. **6**(8): p. 0850d8.
30. Malhotra, S., et al., *In vitro and in vivo antioxidant, cytotoxic, and anti-chronic inflammatory arthritic effect of selenium nanoparticles*. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 2016. **104**(5): p. 993-1003.
31. Díaz Palma, L.M., *Nanoterapias frente a microorganismos intracelulares. Desde la Leishmaniasis a la Listeriosis*. 2020.
32. Salama, S.A., et al., *Nano propolis, zinc oxide nanoparticles, and their composites: A novel green synthesis with synergistic antioxidant and anticancer properties*. Journal of Composites Science, 2023. **7**(11): p. 480.
33. Kalil, M.A., et al., *Brazilian green propolis as a therapeutic agent for the post-surgical treatment of caseous lymphadenitis in sheep*. Frontiers in veterinary science, 2019. **6**: p. 399.
34. Osman, M.S., et al., *Effective inhibition of waterborne and fungal pathogens using ZnO nanoparticles prepared from an aqueous extract of propolis: Optimum biosynthesis, characterization, and antimicrobial activity*. Applied Nanoscience, 2023. **13**(6): p. 4515-4526.
35. Elnaggar, Y.S., et al., *Novel Siwa propolis and colistin-integrated chitosan nanoparticles: Elaboration; in vitro and in vivo appraisal*. Nanomedicine, 2020. **15**(13): p. 1269-1284.
36. Kischkel, B., et al., *Silver nanoparticles stabilized with propolis show reduced toxicity and potential activity against fungal infections*. Future Microbiology, 2020. **15**(7): p. 521-539.
37. Hernández-Martínez, J.A., et al., *Potential Antidiabetic Activity of Apis mellifera Propolis Extraction Obtained with Ultrasound*. Foods, 2024. **13**(2): p. 348.
38. VI, S., *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent*. Methods in Enzymology, 1999. **299**: p. 152-178.
39. Espinosa-Muñoz, V., et al., *Ultrasonic-assisted extraction of phenols, flavonoids, and biocompounds with inhibitory effect against Salmonella typhimurium and Staphylococcus aureus from Cactus pear*. Journal of Food Process Engineering, 2017. **40**(2): p. e12358.
40. Pimentel-González, D., et al., *Potential of bioactive compounds and antioxidant activity in artisanal honeys using specific heat treatments*. Journal of Food Biochemistry, 2016. **40**(1): p. 47-52.
41. Anjum, S.I., et al., *Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review*. Saudi journal of biological sciences, 2019. **26**(7): p. 1695-1703.
42. Kocot, J., et al., *Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: Possible medical application*. Oxidative medicine and cellular longevity, 2018. **2018**(1): p. 7074209.
43. Silva-Carvalho, R., F. Baltazar, and C. Almeida-Aguiar, *Propolis: a complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015. **2015**(1): p. 206439.
44. Marchese, A., et al., *Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature*. Food chemistry, 2016. **210**: p. 402-414.
45. Bankova, V., B. Trusheva, and M. Popova, *Propolis extraction methods: A review*. Journal of apicultural research, 2021. **60**(5): p. 734-743.
46. Wagh, V.D., *Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials*. Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences, 2013. **2013**(1): p. 308249.