

Resistencia a compuestos azólicos de aislamientos clínicos de *Trichophyton* spp.

Luis Javier Méndez-Tovar¹, Patricia Manzano-Gayosso², Verónica Velásquez-Hernández³, Blanca Millan-Chiu², Francisca Hernández-Hernández², Rafael Mondragón-González¹ y Rubén López-Martínez²

¹Laboratorio de Investigación Médica en Dermatología y Micología "Dr. Ernesto Macotela", Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda", UMAE Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. ²Laboratorio de Micología Médica, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. ³Servicio de Dermatología y Micología, Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda", Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. México D.F. México

Resumen

Ante el aumento de pacientes con dermatofitosis y mala respuesta terapéutica, se estudió la sensibilidad antifúngica a itraconazol, ketoconazol y fluconazol por el método E-test, en 36 aislamientos clínicos de dermatofitos. Considerando los parámetros del Clinical Laboratory Standards Institute, se encontró resistencia a uno o más antifúngicos en siete aislamientos (19,4%): tres de *Trichophyton rubrum*, tres de *Trichophyton mentagrophytes* y uno de *Trichophyton tonsurans*. Un aislamiento de *T. rubrum* mostró resistencia a los tres azoles y los seis restantes únicamente a fluconazol. Es importante establecer la sensibilidad antifúngica como parte del protocolo de estudio de pacientes con dermatofitosis con mala respuesta terapéutica.

Palabras clave

Dermatofitosis, *Trichophyton*, Fluconazol, Antimicóticos, Resistencia antifúngica

Resistance to azolic compounds in clinical *Trichophyton* spp. strains

Summary

The increase of dermatophytosis in patients with poor therapeutic response leads us to study the antifungal susceptibility of 36 clinical isolates to itraconazole, ketoconazole and fluconazole by the E-test method. According to established parameters by the Clinical Laboratory Standards Institute, the resistance to one or more antifungal drugs was demonstrated in seven isolates (19.4%) as follows: three *Trichophyton rubrum*, three *T. mentagrophytes* and one *T. tonsurans*. A *T. rubrum* isolate was resistant to the three azolic drugs; the other six only to fluconazole. It's important to establish the antifungal susceptibility as part of the study procedures in patients with dermatophytosis and a poor antifungal response.

Key words

Dermatophytosis, *Trichophyton*, Fluconazole, Antifungal drugs, Antifungal resistance

La resistencia de los hongos a los antimicóticos se presenta cada vez con mayor frecuencia [6]. A partir de 1970, los tratamientos para las dermatofitosis de piel lampiña pasaron a ser muy efectivos, siendo el principal problema las onicomicosis. Esta situación mejoró con el ketoconazol, el itraconazol y el fluconazol. Recientemente, las

alilaminas han contribuido notablemente al tratamiento de esta patología [8,10]. Los casos de mala respuesta son debidos, generalmente, a factores como interacciones medicamentosas, dosificación inadecuada o síndrome de mala absorción [1,13].

En el Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI se ha observado un incremento de los casos con mala respuesta al tratamiento en las dermatofitosis de piel lampiña y de uñas, con recidivas comprobadas por estudios de laboratorio, aún en pacientes que recibieron tratamientos adecuados y en quienes fueron eliminados los factores que podrían interferir con la efectividad. Lo anterior obliga a repetir el tratamiento, prolongar el tiempo de administración o cambiar de fármacos y, aún así, en ocasiones, la respuesta es deficiente con un aumento considerable en el coste del tratamiento. Mukherjee y cols. [7], encontraron resistencia primaria de *Trichophyton rubrum* a la terbinafina en seis aislamientos de un paciente con nula respuesta terapéutica.

Dirección para correspondencia:
Dr. Luis J. Méndez Tovar
Apartado postal A-032
C.S.P.I. Coahuila,
Coahuila N° 5, Col. Roma
CP 06703. México D.F. México
Tel.: +52 5627 6900 ext. 21480
E-mail: ljmt@servidor.unam.mx

©2007 Revista Iberoamericana de Micología
Apdo. 699, E-48080 Bilbao (Spain)
1130-1406/01/10.00 €

El objetivo de este estudio fue determinar el porcentaje de resistencia a los azoles en dermatofitos obtenidos de pacientes atendidos en un hospital de la Ciudad de México.

Se estudiaron 36 aislamientos de dermatofitos causantes de infecciones superficiales localizadas en diferentes zonas corporales. Los pacientes fueron 23 mujeres y 13 hombres adultos. Las especies identificadas (y el número de aislamientos obtenidos) fueron *T. rubrum* (25), *Trichophyton mentagrophytes* (6), *Trichophyton tonsurans* (3), *Epidermophyton floccosum* (1) y *Microsporum canis* (1). Las dermatofitosis se localizaron en uñas (19 casos), cuerpo (8), plantas (6), ingle (2) y cabeza (1). Los aislamientos fueron conservados en agar dextrosa Sabouraud con antibióticos a 25 °C.

La sensibilidad antifúngica se determinó por el método E-test (AB BIODISK, Solna, Suecia) para hongos filamentosos, siguiendo las indicaciones del fabricante [12]. Los aislamientos fueron cultivados en agar lactimel (leche descremada 200 g, harina de arroz 10 g, miel de abeja 10 g, cloranfenicol 10 mg, agua destilada q.b.p. 1000 ml) e incubados durante siete días a 28 °C. Los conidios fueron suspendidos en solución salina al 0,85%, y la concentración del inóculo se ajustó a 1×10^6 conidios/ml. Con un hisopo estéril, la suspensión fue aplicada de manera homogénea sobre placas de agar-RPMI 1640 suplementado con 2% de glucosa. Una vez seco el inóculo, se aplicaron las tiras impregnadas con ketoconazol, itraconazol o fluconazol (compuestos disponibles para el tratamiento de las dermatofitosis). Las placas fueron incubadas a 35 °C durante 24 horas y después a 28 °C durante cinco días, haciendo revisiones diarias para registrar finalmente la concentración mínima inhibitoria (CMI). La CMI fue considerada como la concentración de droga en la cual el borde de la zona de inhibición interseca la escala de la tira de antifúngico. Aunque no se conocen con precisión los puntos de corte para determinar la sensibilidad o resistencia de los dermatofitos, en este estudio seguimos los parámetros de resistencia establecidos para el fluconazol ($> 64 \mu\text{g/ml}$) y el itraconazol ($> 8 \mu\text{g/ml}$) por el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) en su documento M38-A para hongos filamentosos [2].

De los 36 aislamientos estudiados, siete (19,4%) mostraron valores de CMI que los ubicaron como resistentes a uno o varios de los compuestos azólicos (Tabla). Tres de los aislamientos (8,3%) correspondieron a *T. mentagrophytes* (dos de tiña del cuerpo y uno de tiña plantar), y fueron resistentes únicamente a fluconazol. Tres aislamientos de *T. rubrum* presentaron resistencia: dos aislamientos de onicomicosis fueron resistentes al fluconazol, y el tercer aislamiento fue obtenido de una tiña plantar recidivante tratada previamente con miconazol tópico y 100 mg de itraconazol al día durante 7 días; este aislamiento mostró unos valores de CMI elevados para los tres azoles (ketoconazol e itraconazol $> 32 \mu\text{g/ml}$; fluconazol $> 256 \mu\text{g/ml}$) (Figura). El aislamiento de *T. tonsurans* re-

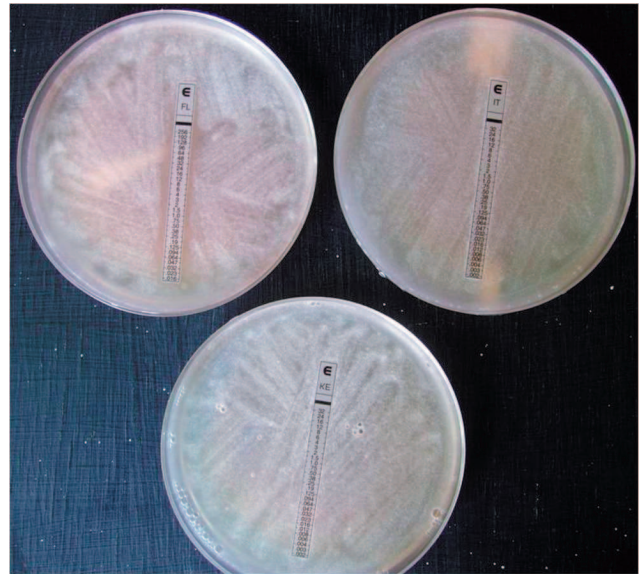


Figura. Estudio de sensibilidad de *T. rubrum* por el método de E-test. Se observa crecimiento uniforme en presencia de fluconazol, ketoconazol e itraconazol, por lo que se clasificó como un aislamiento multiresistente a los azoles.

sistente al fluconazol, fue obtenido de un caso de tiña de la cabeza.

Las dermatofitosis son las micosis más frecuentes y costosas por su diagnóstico y tratamiento [3]. Los tratamientos tópicos o sistémicos para las tiñas de piel lampiña son generalmente cortos (dos a tres semanas); las tiñas de la cabeza requieren de antimicóticos de dos a tres meses; las onicomicosis son más difíciles de erradicar y su tratamiento requiere de 3 a 6 meses.

En la década de los 80 los compuestos azólicos por vía bucal resolvieron en gran medida los problemas de tratamiento para todas las variedades clínicas de dermatofitosis, y no se conocía resistencia a estos agentes.

A partir del incremento de factores de inmunosupresión y la pandemia del sida, las infecciones micóticas superficiales y sistémicas en pacientes con inmunosupresión grave tuvieron un incremento importante, constituyendo en muchos casos la causa de muerte; esto motivó el uso profiláctico de compuestos azólicos durante largos períodos. Evans [4], mencionó el riesgo de aparición de cepas resistentes de diversos hongos causantes de onicomicosis debido a la presión selectiva causada por estos tratamientos, o bien al abuso de los mismos, como ya había ocurrido con los antibióticos.

En relación a las dermatofitosis, aunque la comunicación de casos con mala respuesta terapéutica va en aumento, hasta el momento se han realizado pocos estudios de sensibilidad a nivel mundial para demostrar su resistencia, y ninguno de ellos en México.

Tabla. Dermatofitos resistentes a ketoconazol, itraconazol o fluconazol (valores en $\mu\text{g/ml}$).

Dermatofitos	Procedencia	Ketoconazol	Itraconazol	Fluconazol
<i>Trichophyton rubrum</i> (04-509)	Tiña plantar	> 32	> 32	> 256
<i>T. rubrum</i> (04-519)	Onicomicosis	0,032	0,25	> 96
<i>T. rubrum</i> (05-325)	Onicomicosis	0,003	0,064	> 128
<i>T. mentagrophytes</i> (04-504)	Tiña del cuerpo	0,003	0,012	> 64
<i>T. mentagrophytes</i> (04-537)	Tiña plantar	0,004	0,008	> 64
<i>T. mentagrophytes</i> (04-711)	Tiña plantar	0,012	0,125	> 96
<i>T. tonsurans</i> (05-83)	Tiña de la cabeza	0,006	0,016	> 128

Recientemente, Silva Barros y Hamdan [11] estudiaron la sensibilidad de *T. mentagrophytes* aislado de onicomiosis, y encontraron que las mejores alternativas de tratamiento eran la terbinafina y el itraconazol; además, los aislamientos mostraron baja sensibilidad al fluconazol. Santos y Hamdan [9] estudiaron la sensibilidad de *T. mentagrophytes* y *T. rubrum*; encontraron que el fluconazol tiene menor actividad que otros azoles. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el presente estudio, donde de los siete aislamientos resistentes a fluconazol tres pertenecían a la especie *T. mentagrophytes*.

Otros estudios han demostrado una buena correlación para compuestos azólicos entre el método E-test y microdilución [5]. Dada la facilidad de su realización, el E-test es un método adecuado en laboratorios clínicos para

una primera estimación de la sensibilidad antifúngica en los dermatofitos. La aparición de resistencia a uno o varios antimicóticos demuestra la importancia de realizar estudios de sensibilidad en las dermatofitosis a todo aislamiento obtenido de cualquier localización que no responda adecuadamente al tratamiento.

Este trabajo fue apoyado por el Programa de Apoyos a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica IN 215302 de DGAPA, UNAM, México.

Bibliografía

- Bradley MC, Leidich S, Isham N, Iewsky BE, Ghannoum MA. Antifungal susceptibilities and genetic relatedness of serial *Trichophyton rubrum* isolates from patients with onychomycosis of toenail. *Mycoses* 1999; 43(suppl 2): 105-110.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard M38-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
- Consenso Nacional de Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de Micosis Superficiales. Tercera Revisión 2006. Editado por Bayer de México/Facultad de Medicina, UNAM. ISBN: 970-32-3006-7.
- Evans EG. Causative pathogens in onychomycosis and the possibility of treatment resistance: a review. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38: 32-36.
- Fernández-Torres B, Carrillo-Muñoz A, Ortopeda M, Pujol I, Pastor FJ, Guarro J. Interlaboratory evaluation of the E-test for antifungal susceptibility testing of dermatophytes. *Med Mycol* 2003; 41: 125-130.
- Hudson MM. Antifungal resistance and over-the-counter availability in the UK: a current perspective. *J Antimicrobiol Chemother* 2001; 48: 345-350.
- Mukherjee PK, Leidich SD, Isham N, Leitner I, Ryder NS, Ghannoum MA. Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. *Antimicrobiol Agents Chemother* 2003; 47: 82-86.
- Sanabria JA, Bonifaz A, Saúl A. Terbinafine en el tratamiento de micosis superficiales. *Dermatología Rev Mex* 1990; 34: 189-198.
- Santos DA, Hamdan S. In vitro antifungal oral drug and drug-combination activity against onychomycosis causative dermatophytes. *Med Mycol* 2006; 44: 357-362.
- Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibley CM. Current and emerging azole antifungal agents. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 40-79.
- Silva-Barros ME, Hamdam S. Determination of susceptibility/resistance to antifungal drugs of *Trichophyton mentagrophytes* isolates by a macrodilution method. *Can J Microbiol* 2005; 51: 983-987.
- Szekely A, Jonson EM, Warnock DW. Comparison of E-test and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing molds. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1480-1483.
- Vesell ES. On the significance of the host factors that affect drug disposition. *Clin Pharmacol Ther* 1982; 3:1-7.