



ORIGINAL

Artículo bilingüe español/inglés

Rev Esp Podol. 2018;29(2):70-74

DOI: 10.20986/revesspod.2018.1511/2018

Estudio *in vitro* de sensibilidad de la terbinafina en aislamientos clínicos de 38 pacientes oncológicos. A propósito del uso y praxis en podología

In vitro study of the sensitivity of terbinafine in clinical isolates of 38 oncological patients. About the use and practice in podiatry

Tomás García-Lozano^a, Sara Martínez-Arauz^b, Alicia Gavillero-Martín^b y Salvador Martín-Utrilla^c

^aServicio de Microbiología. Fundación Instituto Valenciano de Oncología (FIVO). Universidad Católica de Valencia "San Vicente Mártir". Sede la Inmaculada. Torrent. ^bUniversidad Católica de Valencia "San Vicente Mártir". ^cServicio de Hospitalización Domiciliaria (UHD). Fundación Instituto Valenciano de Oncología (FIVO). Universidad Católica de Valencia "San Vicente Mártir". Sede Virgen de los Desamparados. Valencia

Palabras clave:

Antifúngicos, susceptibilidad *in vitro*, paciente oncológico, resistencia, práctica podológica.

Resumen

Introducción: Las infecciones por levaduras han adquirido una gran relevancia en las últimas décadas. Este incremento de la frecuencia y morbimortalidad de las infecciones fúngicas ha hecho necesario disponer de nuevos antifúngicos. En la última década el consumo de antifúngicos se ha incrementado en un 12 % al año. El aumento de resistencias frente a una gran cantidad de antimicrobianos ha llevado a una creciente demanda de nuevos agentes antifúngicos de aplicación tópica u oral para profilaxis y tratamiento.

Material y métodos: Se ha realizado un estudio descriptivo y observacional para conocer la sensibilidad *in vitro* de 38 especies de *Candida* spp. El método utilizado fue Kirby-Bauer o método de difusión en agar Sabouraud[®]. Este método ha permitido caracterizar los niveles de resistencia de la terbinafina y otros antifúngicos afines a la práctica clínica podológica. Los antifúngicos estudiados fueron: terbinafina, ketoconazol, fluconazol, itraconazol, nistatina y ciclopirox-olamina.

Resultados: Todas las cepas fueron sensibles a ciclopirox-olamina y a clotrimazol. El 2.6 % de las especies de *C. albicans* fueron resistentes a ketoconazol y un 2.6 % en *C. glabrata*. El 5.3 % de los casos de *C. albicans* fueron resistentes a fluconazol y el 10.5 % en *C. glabrata*, *C. guilliermondii* y *C. parapsilosis*. En el grupo de estudio de la terbinafina, el 65.8 % de *C. albicans* fueron resistentes a este antifúngico, un 10.5 % de todas las *C. tropicalis* y un 13.2 % para el resto de especies. En resumen, existe un porcentaje amplio de resistencia de formas levaduriformes a la terbinafina.

Conclusiones: Es interesante analizar la cantidad de cepas estudiadas resistentes a los azoles, especialmente a fluconazol y terbinafina. Curiosamente, una gran mayoría de las especies son resistentes a terbinafina, a pesar de ser el antifúngico que más es prescrito en oncomicosis, como se evidencia en la mayor parte de los estudios realizados.

Keywords:

Antifungals, *in vitro* susceptibility, oncological patient, resistance, podiatric practice.

Abstract

Introduction: Yeast infections have become very important in recent decades. An increase in the frequency and morbidity and mortality of fungal infections has made it necessary to have new antifungals. In the last decade, the consumption of antifungals has increased by 12 % per year. The increase in resistance to a large number of antimicrobials has led to an increasing demand for new antifungal agents for topical or oral application for prophylaxis and treatment.

Material and methods: A descriptive and observational study was carried out to know the *in vitro* sensitivity of 38 species of *Candida* spp. The method used was Kirby-Bauer or Sabouraud[®] agar diffusion method. This method has allowed to characterise the resistance levels of terbinafine and other antifungals related to clinical podiatric practice. The antifungals studied were: terbinafine, ketoconazole, fluconazole, itraconazole, nystatin and cyclopirox-olamine.

Recibido: 07/02/2018

Aceptado: 12/05/2018



0210-1238 © Consejo General de Colegios Oficiales de Podólogos de España, 2018.
Editorial: INSPIRA NETWORK GROUP S.L.
Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND
(www.creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Correspondencia:

Tomás García-Lozano
tglmicro@gmail.com

Results: All strains were sensitive to ciclopirox-olamine and clotrimazole. 2.6 % of *C. albicans* species were resistant to ketoconazole and 2.6 % in *C. glabrata*. 5.3 % of the cases of *C. albicans* were resistant to fluconazole and 10.5 % in *C. glabrata*, *C. guilliermondii* and *C. parapsilosis*. In the study group of terbinafine, 65.8 % of *C. albicans* were resistant to this antifungal, 10.5 % of all *C. tropicalis* and 13.2 % for the rest of species. In summary, there is a broad percentage of resistance of yeast forms to terbinafine.

Conclusions: It is interesting to analyse the amount of strains studied resistant to azoles, especially fluconazole and terbinafine. Interestingly, a large majority of the species are resistant to terbinafine, despite being the antifungal agent that is most prescribed in onychomycosis, as evidenced in most of the studies conducted.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por levaduras han adquirido una gran relevancia en las últimas décadas. Esto puede ser debido no solo al aumento de la frecuencia en pacientes inmunodeprimidos o en pacientes sometidos a terapias medicamentosas agresivas, sino también a su alta prevalencia en cuanto a morbilidad y mortalidad. Este incremento de la frecuencia y morbimortalidad de las infecciones fúngicas ha hecho necesario disponer de nuevos antifúngicos.

En la última década, el consumo de antifúngicos se ha incrementado en un 12 % al año y, según algunos datos de la Agencia Europea del Medicamento, el coste anual mundial en antifúngicos asciende a 3.600 millones de euros¹. En paralelo y de forma colateral, se está detectando un porcentaje creciente de cepas que han desarrollado resistencia a estos antimicrobianos².

El aumento de resistencias frente a una gran cantidad de antimicrobianos ha llevado a una creciente demanda de nuevos agentes antifúngicos de aplicación tópica u oral para profilaxis y tratamiento; por lo tanto, han generado la necesidad de implementar nuevos antifúngicos en los sistemas de salud, si bien es cierto, muchos de los cuales presentan graves desventajas: alto coste, alta tasa de efectos adversos, ineficacia contra nuevas especies de hongos y desarrollo rápido de resistencias³.

Hoy en día, las infecciones por hongos causantes de micosis generan un importante gasto sanitario⁴. Se calcula que aproximadamente de un 5 al 10 % de las consultas dermatológicas son causadas por micosis⁴. Los tratamientos antifúngicos a lo largo del tiempo no han parado de evolucionar, mejorando su eficacia y espectro de acción fúngico.

Candida spp. (Figura 1) es uno de los agentes más frecuentemente implicados en las micosis graves de pacientes inmunodeprimidos y críticos. En los últimos 30 años hemos asistido a un notable incremento en la incidencia de candidiasis⁵. El uso racional y precoz de los antifúngicos debe ser combinado con procedimientos diagnósticos microbiológicos y de imagen⁶.

El motivo de nuestra publicación ha sido evaluar la eficacia de la terbinafina y otros antifúngicos utilizados en la praxis podológica.



Figura 1. Tinción de Gram de formas levaduriformes [100 X]. Imagen por cortesía Dr. Tomás García-Lozano, médico adjunto en microbiología, Fundación Instituto Valenciano de Oncología (FIVO), PDI Universidad Católica de Valencia "San Vicente Mártir".

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un estudio descriptivo y observacional para conocer la sensibilidad *in vitro* de 38 especies de *Candida* spp. (Figura 2), procedentes de 38 pacientes oncológicos y de 38 exudados de herida o tejidos blandos de miembro inferior. El número total de muestras procesadas por sospecha de infección fúngica fue de 38, por lo que la selección de pacientes fue dirigida clínicamente y confirmada en el departamento de microbiología mediante tinción de gram, existiendo por tanto un total del 100 % de exudados de herida positivos para formas levaduriformes. La población diana fueron pacientes ingresados en el Hospital Fundación Instituto Valenciano de Oncología (FIVO) de la Comunidad Valenciana. Los pacientes estudiados presentaron infección clínica y microbiológica por candidiasis. Los criterios de inclusión fueron: pacientes con patologías de base tumoral sólida, pacientes ingresados y pacientes con cualquier tipo de infección (celulitis, fascitis,

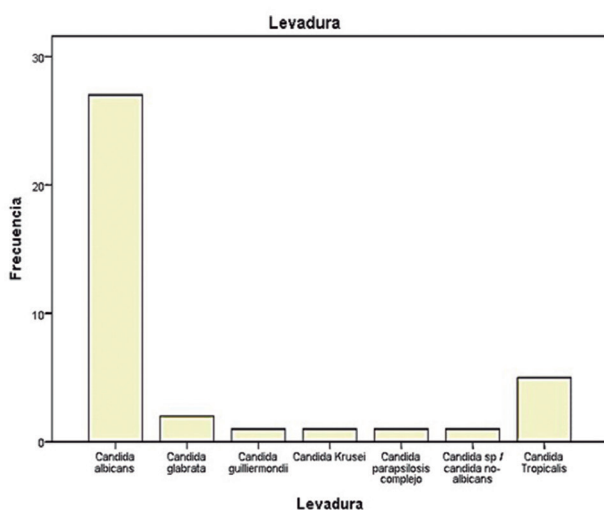


Figura 2. Especies fúngicas.

radiodermatitis) polimicrobiana con evidentes sospechas clínicas de infección fúngica y confirmación microbiológica a través de la tinción de gram. Los criterios de exclusión fueron: pacientes no oncológicos, no ingresados y con infección en miembro inferior sin sospecha de micosis en tejidos blandos. La toma de muestras se realizó en el periodo de tres meses aproximadamente, desde el 3 de febrero hasta el 27 de abril de 2017. El estudio se incluyó en un proyecto piloto y colateral al análisis de las colonizaciones por SARM (previa autorización de CEIC en FIVO; aprobado en 2012) y otras especies en pacientes oncológicos.

Los procedimientos de obtención de muestras se realizaron a través de la toma con hisopo (Amies-Viscosa, Deltalab®, Barcelona, Spain) procedente de herida y siembra directa mediante triple estría en medio de agar Sabouraud® (Becton Dickinson®, BD, Québec, Canadá). El estudio de sensibilidad se realizó a través del método Kirby-Bauer (Figura 3) o método de difusión en agar Sabouraud® (BD®). Este método ha permitido caracterizar los niveles de resistencia de la terbinafina y otros antifúngicos afines a la práctica clínica podológica. Los antifúngicos estudiados fueron: terbinafina, ketoconazol, fluconazol, itraconazol, nistatina y ciclopirox-olamina. Los antifúngicos empleados pertenecen a Rosco® (Taastrup, Dinamarca), en forma de tabletas estandarizadas de 9 mm de diámetro (NeoSesitabs®) con cargas difusibles de antifúngicos de 1 µg. Para realizar la interpretación de sensibilidad y/o resistencia se emplearon las normas del EUCAST y/o CLSI en su defecto del 2014 mediante la medición de los halos obtenidos en mm. La población de estudio fueron 38 pacientes oncológicos con distintos tipos de patologías de base tumoral (Figura 4). El estudio de sensibilidad fue realizado mediante la técnica de difusión en agar. Los inóculos fúngicos (mediante suero fisiológico) se



Figura 3. Método Kirby-Bauer. Placa agar Sabouraud con colonización de *Candida albicans*, muestra de orina. Medidas del halo: ciclo: 21, ctrim: 30, ketoc: 28, terb: 6, fucz: 28. Fuente propia. Imagen *in vitro* del presente estudio cortesía del Dr. Tomás García-Lozano. Médico Adjunto Microbiología (FIVO).

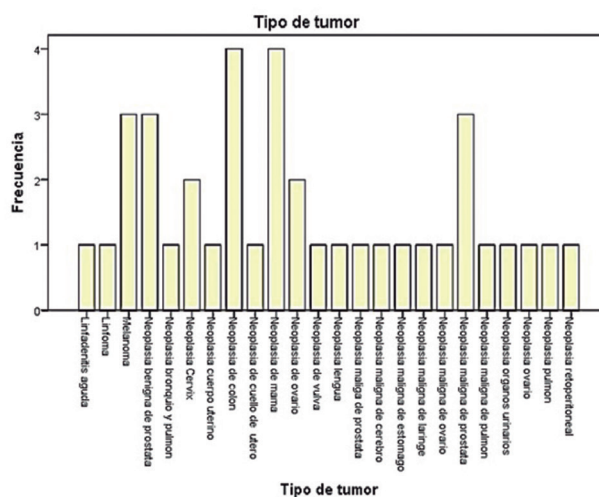


Figura 4. Patologías de base tumoral.

obtuvieron de cultivos de 24 horas en agar Sabouraud®. Los inóculos incluyeron 5×10^5 unidades formadoras de colonias (UFC/ml) equivalente a 0.5 de la escala McFarland. La incubación se realizó a 37 °C durante 24 horas y la lectura de los halos de inhibición permitió la interpretación de la sensibilidad *in vitro*. Los valores obtenidos se procesaron mediante estadística descriptiva mediante el paquete estadístico SPSS PC® versión 19.0.

RESULTADOS

Se obtuvieron 38 muestras de 38 pacientes, 50 % hombres y 50 % mujeres. La edad media de los pacientes fue de 65.3 años. La distribución de las patologías de base tumoral se representa en la Figura 2. El estudio de las especies fúngicas se representa en la Figura 1. Con respecto al análisis de la sensibilidad antifúngica, motivo de nuestra publicación, destacan varios aspectos de gran trascendencia: primero, todas las cepas fueron sensibles a ciclopirox-olamina (Figura 5) y a clotrimazol (Figura 6); un 2.6 % de las especies de *C. albicans* fueron resistentes a ketoconazol y un 2.6 % en *C. glabrata*. El 5.3 %

de los casos de *C. albicans* fueron resistentes a fluconazol y el 10.5 % en *C. glabrata*, *C. guilliermondii* y *C. parapsilosis*. En el grupo de estudio de la terbinafina, el 65.8 % de *C. albicans* fueron resistentes a este antifúngico, un 10.5 % de todas las *C. tropicalis* y un 13.2 % para el resto de especies. En resumen, todas las cepas fueron sensibles a clotrimazol y ciliopirox-olamina y un gran porcentaje de formas levaduriformes (*Candida* spp.) fueron resistentes a la terbinafina (Figura 7).

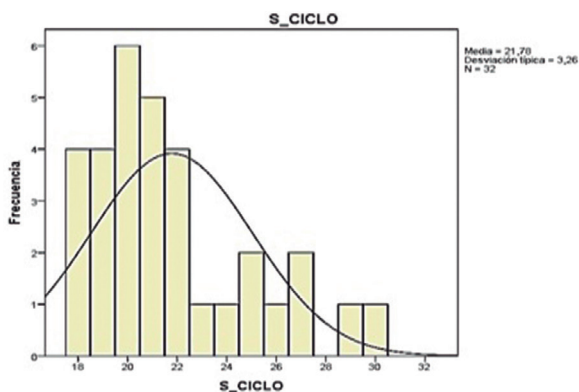


Figura 5. Los halos de inhibición se sitúan alrededor de 20 mm, considerando que la gran cantidad de especies con sensibles al ciclopirox-olamina.

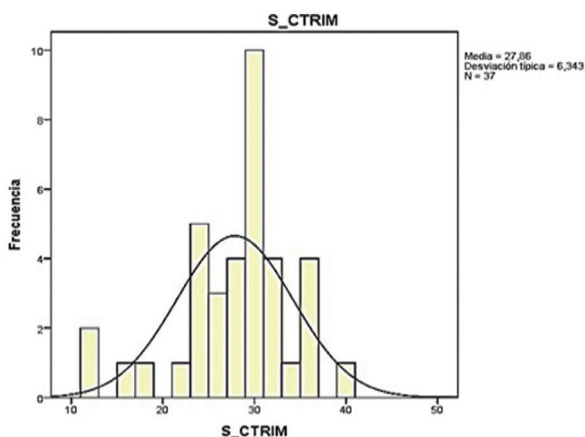


Figura 6. Los halos de inhibición se sitúan alrededor de 30 mm, considerando que la gran cantidad de especies con sensibles al clotrimazol.

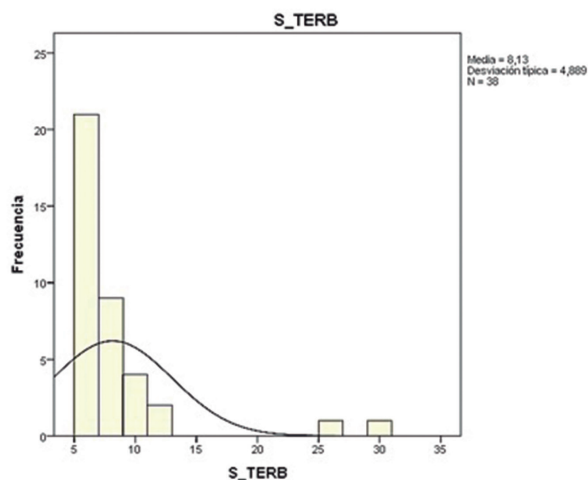


Figura 7. Los halos de inhibición se sitúan alrededor de 5 mm, considerando que la gran cantidad de especies son resistentes a la terbinafina.

DISCUSIÓN

La infección fúngica más frecuentemente descrita en el paciente oncológico o inmunodeprimido es debida al género *Candida* spp⁷, y especialmente *C. albicans*. También se está observando incrementos en otras formas levaduriformes y especies emergentes.

Actualmente, uno de los problemas que están originando mayor número de resistencias es el uso desmesurado de antifúngicos por vía oral y de aplicación tópica, especialmente en azoles y terbinafina, cuya resistencia, objetivo de nuestro análisis, es debida a una o varias mutaciones en los genes ERG1⁷.

A pesar de la multitud de factores implicados en la actividad *in vitro* de los antifúngicos, las técnicas de estudio de sensibilidad están siendo estudiadas con cierto interés, así como las medidas de normalización y estandarización⁸. Existen multitud de factores demográficos sobre las tasas de resistencias publicadas, como por ejemplo la resistencia a la anfotericina B con el uso previo de azoles por vía oral⁹ o la influencia que tiene el inóculo fúngico o el pH de medio de cultivo en la lectura e interpretación de la sensibilidad *in vitro* frente a azoles⁸.

En este punto, es interesante analizar la cantidad de cepas estudiadas resistentes a los azoles y alilaminas, especialmente a fluconazol y terbinafina respectivamente (Chi cuadrado de Pearson, $p = 0.001$ y test de V de Cramer, $p = 0.001$ respectivamente) y curiosamente, casi todas las especies son resistentes a terbinafina, a pesar de ser el antifúngico que más es prescrito para onicomicosis, como se evidencia en la mayor parte de los estudios realizados.

Teniendo en cuenta la gran trascendencia del uso y espectro antifúngico de la terbinafina como antifúngico (elección para el tratamiento de dermatofitos, onicomicosis en pies y zonas distales de las uñas onicomicosis disto-laterales)^{10,11}, los principales estudios se basan básicamente en comparar la eficacia clínica, pero pocos evidencian erradicación micológica. La gran mayoría concluyen, y aun existiendo discrepancias sustanciales entre ellos, que el uso de terbinafina es el más adecuado solo o en combinación con otros antifúngicos como la amorolfina, más incluso que con el itraconazol, especialmente en infecciones por dermatofitos y formas no dermatofíticas o mohos; si bien es cierto, esta controversia está candente en multitud de publicaciones referenciadas con onicomicosis por *Candida* spp., motivo de nuestra comunicación. Aun así, y a pesar de las discrepancias existentes en el uso de multitud de fármacos y tratamientos físicos, se unen al mercado terapias novedosas o métodos diagnósticos, más bien “especulativas” que reales, asegurando eficacia clínica con distintos niveles de evidencia y ausencia de descripciones microbiológicas *in vitro* objetivables^{12,13}. En relación a este punto, a pesar de las resistencias encontradas en la muestra estudiada ($n = 38$), debemos indicar que son formas levaduriformes y no dermatofitos, ratificando que el uso de la terbinafina sigue siendo, hasta la actualidad, eficaz clínicamente en infecciones micóticas por dermatofitos, como se avala en la gran mayoría de los estudios realizados.

A la vista de nuestros resultados podemos afirmar que existe un predominio claro de cepas resistentes a la terbinafina y un fenómeno de resistencia cruzada entre antifúngicos azólicos.

Y para concluir, es interesante tener en cuenta que los estudios de sensibilidad a antimicrobianos, los estudios de monitorización y los estudios genéticos o de taxonomía son necesarios para poder llevar a cabo una práctica asistencial adecuada con una buena base científica complementaria, especialmente en el manejo de antifúngicos por vía oral y/o tópica.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

FINANCIACIÓN

Ninguna.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ausina Ruiz V, Moreno Guillén S. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2006.
2. Aznar-Marín P, Galán-Sánchez M, Marín-Casanova P, García-Martos P, Rodríguez-Iglesias M. *Candida nivariensis* as a New Emergent Agent of Vulvovaginal Candidiasis: Description of Cases and Review of Published Studies. *Mycopathologia*. 2016;181(5-6):445-9. DOI: 10.1007/s11046-015-9978-y.
3. Rivas P. Pruebas de sensibilidad antimicótica en aislamientos clínicos de *Candida* spp. de pacientes con cáncer. *Rev Colomb Cáncer*. 2004;8(1):22-8.
4. Maestre Vera J, R, Alou Cervera L. Ventajas y desventajas de los antifúngicos de uso tópico. *Rev Esp Quim*. 2001;14(3):340-4.
5. Fridkin SK. The changing face of fungal infections in health care settings. *Clin Infect Dis*. 2005;41(10):1455-60.
6. Fortún J. Actualización en terapia antifúngica: nuevos fármacos e indicaciones. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29(Supl. 5):38-44.
7. Díaz-López M.M, Oliveros-Garay O.A y Orozco-Díaz O. Análisis SSCP (ITS2, ERG11) de aislamientos clínicos de *Candida* spp. de cavidad oral en pacientes oncológicos. *Rev Iberoam Micol*. 2004;21:182-6.
8. Rodríguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. ¿Ha servido para algo una década estandarizando las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002;20(5):191-3. DOI: 10.1016/S0213-005X(02)72787-0.
9. Ruiz-Camps I, Cuenca-Estrella M. Antifúngicos para uso sistémico. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(6):353-62. DOI: 10.1016/j.eimc.2009.04.001.
10. Fortún J. Actualización en terapia antifúngica: nuevos fármacos e indicaciones. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29(Supl. 5):38-44. DOI: 10.1016/S0213-005X(11)70042-8.
11. Seebacher C. Action mechanisms of modern antifungal agents and resulting problems in the management of onychomycosis. *Mycoses*. 2003;46(11-12):506-10.
12. El-Tatawy RA, Abd El-Naby NM, El-Hawary EE, Talaat RAZ. A comparative clinical and mycological study of Nd-YAG laser versus topical terbinafina in the treatment of onychomycosis. *J Dermatol Treat*. 2015;26(5):461-4. DOI: 10.3109/09546634.2014.998607.
13. Crawford F, Hollis S. Topical treatments for fungal infections of the skin and nails of the foot. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;18(3):CD001434.