

# Actividad *in vitro* de anfotericina B, itraconazol y voriconazol frente a 20 especies de *Aspergillus* empleando el método de microdilución Sensititre®

Pedro García-Martos<sup>a</sup>, Lidia García-Agudo<sup>a</sup>, Jesús Gutiérrez-Calzada<sup>b</sup>, Jesús Ruiz-Aragón<sup>a</sup>, Abel Saldarreaga<sup>a</sup> y Pilar Marín<sup>a</sup>

Servicios de Microbiología. <sup>a</sup>Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz.

<sup>b</sup>Hospital de León. León. España.

**ANTECEDENTES.** La actividad *in vitro* de los antifúngicos frente a *Aspergillus* se ha investigado recientemente. Estudiamos la sensibilidad frente a la anfotericina B, itraconazol y voriconazol de 68 cepas pertenecientes a 20 especies diferentes de *Aspergillus*.

**MÉTODOS.** Se determinaron las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) para: 10, *A. fumigatus*; 9, *A. flavus*; 8, *A. niger*; 5, *A. tamarii*; 5, *A. versicolor*; 4, *A. terreus*; 3, *A. glaucus*; 3, *A. ochraceus*; 3, *A. oryzae*; 2, *A. candidus*; 2, *A. chevalieri*; 2, *A. rubrobrunneus*; 2, *A. sclerotiorum*; 2, *A. sydowii*; 2, *A. unguis*; 2, *A. ustus*; 1, *A. clavatus*; 1, *A. nidulans*; 1, *A. pseudofischeri*, y 1, *A. reptans*, utilizando el método de microdilución Sensititre YeastOne®.

**RESULTADOS.** El voriconazol fue más activo *in vitro* que la anfotericina B y el itraconazol, exhibiendo el 95,6% (65/68) de las cepas una CIM igual o inferior a 2 mg/l. Las especies *A. flavus*, *A. versicolor*, *A. terreus*, *A. ochraceus*, *A. sclerotiorum*, *A. ustus* y *A. reptans* presentaron una sensibilidad reducida frente a la anfotericina B (CIM  $\geq$  2 mg/l); *A. niger*, *A. versicolor*, *A. sclerotiorum* y *A. ustus* mostraron cierta resistencia *in vitro* frente al itraconazol (CIM  $\geq$  1 mg/l); *A. sclerotiorum* y *A. ustus* fueron poco sensibles frente al voriconazol (CIM  $\geq$  2 mg/l).

**CONCLUSIONES.** La sensibilidad de las especies de *Aspergillus* frente a itraconazol y voriconazol es buena, pero es significativa la sensibilidad reducida frente a la anfotericina B. Estos resultados sugieren que las pruebas de sensibilidad de *Aspergillus* a los antifúngicos están recomendadas para orientar un tratamiento.

**Palabras clave:** *Aspergillus*. Antifúngicos. Anfotericina B. Itraconazol. Voriconazol.

*In vitro* activity of amphotericin B, itraconazole and voriconazole against 20 species of *Aspergillus* using the Sensititre® microdilution method

**BACKGROUND.** The *in vitro* activity of antifungal agents against *Aspergillus* has been recently investigated. We studied the susceptibility to amphotericin B, itraconazole and voriconazole of 68 strains belonging to 20 different *Aspergillus* species.

**METHODS.** The minimum inhibitory concentrations (MICs) for 10 strains of *A. fumigatus*, 9 *A. flavus*, 8 *A. niger*, 5 *A. tamarii*, 5 *A. versicolor*, 4 *A. terreus*, 3 *A. glaucus*, 3 *A. ochraceus*, 3 *A. oryzae*, 2 *A. candidus*, 2 *A. chevalieri*, 2 *A. rubrobrunneus*, 2 *A. sclerotiorum*, 2 *A. sydowii*, 2 *A. unguis*, 2 *A. ustus*, 1 *A. clavatus*, 1 *A. nidulans*, 1 *A. pseudofischeri* y 1 *A. reptans*, were determined using the Sensititre® Yeast One microdilution method.

**RESULTS.** Voriconazole was more active *in vitro* than amphotericin B and itraconazole, with 95.6% (65/68) of strains exhibiting MICs of  $\leq$  2 mg/l. *A. flavus*, *A. versicolor*, *A. terreus*, *A. ochraceus*, *A. sclerotiorum*, *A. ustus* and *A. reptans* species presented reduced susceptibility to amphotericin B (MIC  $\geq$  2 mg/l); *A. niger*, *A. versicolor*, *A. sclerotiorum* and *A. ustus* showed *in vitro* resistance to itraconazole (MIC  $\geq$  1 mg/l); and *A. sclerotiorum* and *A. ustus* displayed poor susceptibility to voriconazole (MIC  $\geq$  2 mg/l).

**CONCLUSIONS.** The susceptibility of *Aspergillus* species to itraconazole and voriconazole was generally good; nevertheless, susceptibility to amphotericin B was low. These results suggest that *Aspergillus* susceptibility testing to this antifungal agent would be advisable to guide treatment.

**Key words:** *Aspergillus*. Antifungal agents. Amphotericin B. Itraconazole. Voriconazole.

## Introducción

Durante los últimos años se aprecia un significativo incremento de la incidencia de infecciones fúngicas, incluidas las causadas por hongos filamentosos y, particularmente, por *Aspergillus*. Las infecciones ocasionadas por

Correspondencia: Dr. P. García-Martos.  
Ana de Viya, 13-2 B. 11009 Cádiz. España.  
Correo electrónico: pedromartos@hotmail.com

Manuscrito recibido el 18-12-2003; aceptado el 30-4-2004.

especies del género *Aspergillus* son diversas y revisten gravedad en pacientes inmunodeprimidos. *A. fumigatus* es la especie que causa la mayoría de las infecciones, especialmente en aspergilosis invasiva, aunque otras especies también se han descrito en estos procesos, como *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. nidulans* y algunas más<sup>1,2</sup>. La aspergilosis invasiva se asocia con una elevada mortalidad debido al estado inmunitario de los pacientes, principalmente, y otros factores entre los que se considera la variable actividad de los antifúngicos frente a las especies de *Aspergillus*. En la actualidad se dispone de cuatro fármacos para el tratamiento: anfotericina B, itraconazol, voriconazol y caspofungina.

En este trabajo se evalúa la sensibilidad de un amplio número de especies de *Aspergillus* frente a anfotericina B, itraconazol y voriconazol, determinando la concentración inhibitoria mínima (CIM) mediante el sistema Sensititre YeastOne® (Diagnostic Systems, Inglaterra), un método admitido recientemente por la Food and Drug Administration (FDA) que presenta, en la mayoría de las especies de *Aspergillus* y para anfotericina B e itraconazol, un elevado grado de concordancia<sup>3-6</sup> con el método de referencia de microdilución M38-A propuesto por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)<sup>7</sup>. Este método colorimétrico se ha considerado como una buena alternativa al método de referencia por ser más asequible a los laboratorios de Microbiología, por su sencillez de realización y la facilidad de lectura de los resultados.

## Métodos

Se estudió la sensibilidad a la anfotericina B, itraconazol y voriconazol de un total de 68 cepas del género *Aspergillus*, que incluye 20 especies: 10, *A. fumigatus*; 9, *A. flavus*; 8, *A. niger*; 5, *A. tamarii*; 5, *A. versicolor*; 4, *A. terreus*; 3, *A. glaucus*; 3, *A. ochraceus*; 3, *A. oryzae*; 2, *A. candidus*; 2, *A. chevalieri*; 2, *A. rubrobrunneus*; 2, *A. sclerotiorum*; 2, *A. sydowii*; 2, *A. unguis*; 2, *A. ustus*; 1, *A. clavatus*; 1, *A.*

*nidulans*; 1, *A. pseudofischeri*, y 1, *A. reptans*. Estas cepas se aislaron de diversas muestras clínicas: 32 exudados óticos, 22 secreciones respiratorias, 7 exudados cutáneos, 4 de heridas, 2 uñas y 1 muestra de sangre, aunque muchas de ellas no se relacionaron con infección.

En todas las cepas se determinó la CIM utilizando el sistema de microdilución Sensititre YeastOne® 03 (Diagnostic Systems Ltd., Inglaterra) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El inóculo se preparó tras cultivo de las cepas en agar de Sabouraud durante 7 días a 30 °C. La superficie del agar fue inundada con 1 ml de solución salina estéril que contenía 0,05% de *tween* 80 y frotada suavemente con un escobillón para obtener una suspensión de conidios en 5 ml de agua destilada estéril. Esta suspensión fue filtrada a través de gasa estéril de cuatro dobleces para eliminar las hifas acompañantes, y diluida para ajustar la concentración del inóculo en un espectrofotómetro a 530 nm hasta obtener una transmitancia del 80-82%, equivalente a una concentración de  $4 \times 10^5$  a  $5 \times 10^6$  conidios/ml. A partir de esta suspensión se efectuó una dilución en caldo RPMI 1640 tampinado con MOPS a pH 7 hasta alcanzar un inóculo final de  $0,4-5 \times 10^4$  conidios/ml. La inoculación de los pocillos de la placa Sensititre se efectuó con 100 µl de esta suspensión, y las placas se incubaron a 35 °C durante 48 y 72 h, antes de realizar la lectura definitiva. Todas las pruebas se realizaron por duplicado para evitar errores de técnica. Como control de calidad se incluyó en el estudio las cepas *Candida albicans* ATCC 68548 y *C. krusei* ATCC 6258 y *A. flavus* ATCC 204304, realizando en ellas las mismas determinaciones. Como CIM se consideró la concentración más baja que produjo ausencia del crecimiento en comparación con el crecimiento del pocillo control sin antifúngico, lo que se interpreta en este sistema por el cambio de color azul (ausencia de crecimiento) a rojo (crecimiento).

## Resultados

Todas las cepas de *Aspergillus* crecieron bien a las 48 h de incubación, menos una de *A. rubrobrunneus*, una de *A. pseudofischeri* y una de *A. reptans* que necesitaron prolongar la incubación hasta 72 h para realizar la lectura de resultados. Las CIM de las cepas control estuvieron dentro de los valores esperados. En la tabla 1 se reflejan los resultados del estudio de sensibilidad considerando el in-

TABLA 1. Sensibilidad de 20 especies de *Aspergillus* a anfotericina B, itraconazol y voriconazol

Especies de <i>Aspergillus</i> (cepas)	Anfotericina B		Itraconazol		Voriconazol	
	Intervalo	CIM <sub>50</sub> (mg/ml)	Intervalo	CIM <sub>50</sub> (mg/ml)	Intervalo	CIM <sub>50</sub> (mg/ml)
<i>A. fumigatus</i> (10)	0,125-1	0,5	0,06-0,5	0,125	0,06-0,5	0,125
<i>A. flavus</i> (9)	1-2	1	0,25-0,5	0,25	0,125-1	0,25
<i>A. niger</i> (8)	0,25-1	0,5	0,25-1	0,5	0,06-0,25	0,125
<i>A. tamarii</i> (5)	0,25-1	0,5	0,125-0,5	0,25	0,25-0,5	0,25
<i>A. versicolor</i> (5)	1-2	1	0,5-1	0,5	0,125-0,5	0,25
<i>A. terreus</i> (4)	0,5-2		0,125-0,5		0,125-0,25	
<i>A. glaucus</i> (3)	0,125-0,5		0,25-0,5		0,125-0,25	
<i>A. ochraceus</i> (3)	1-2		0,25-0,5		0,25-0,5	
<i>A. oryzae</i> (3)	0,25-1		0,125-0,25		0,125-0,5	
<i>A. candidus</i> (2)	0,5-1		0,25-0,5		0,125-0,25	
<i>A. chevalieri</i> (2)	0,125-0,5		0,125-0,25		0,125-0,25	
<i>A. rubrobrunneus</i> (2)*	0,06-0,125		0,03-0,06		0,06	
<i>A. sclerotiorum</i> (2)	2-4		0,5-1		1-2	
<i>A. sydowii</i> (2)	1-0,5		0,06-0,125		0,06	
<i>A. unguis</i> (2)	0,5-1		0,25-0,5		0,125	
<i>A. ustus</i> (2)	0,5-2		2-4		2-4	
<i>A. clavatus</i> (1)	0,06		0,25		0,5	
<i>A. nidulans</i> (1)	1		0,5		0,125	
<i>A. pseudofischeri</i> (1)*	1		0,25		0,25	
<i>A. reptans</i> (1)*	2		0,25		0,125	

\*Lectura de la CIM a las 72 h de incubación.  
CIM: concentración inhibitoria mínima.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/9277269>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/9277269>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)