

SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO DE DERMATOFITOS, CANDIDA Y OTROS HONGOS FRENTE A NATAMICINA

L. ZAROR²
M. A. GUTIERREZ²
F. N. SAEZ³

RESUMEN

Se investigó la actividad cuantitativa in vitro de Natamicina, un polieno de amplio espectro, frente a 98 cepas de Dermatófitos, Candida y otros hongos, aislados de muestras clínicas en Valdivia, Chile.

Los resultados obtenidos muestran que el 100% de las cepas de *Microsporum canis* fue susceptible a 25 microgramos o menos y el 93,70% a 12,5 microgramos de Natamicina por ml. de agar.

Trichophyton mentagrophytes fue inhibido en un 84,10% a 25 microgramos de Natamicina y *Trichophyton rubrum*, el 100% a 25 microgramos por ml. de agar.

Candida albicans fue inhibida en un 85 y 100% respectivamente a C.I.M. de 6,25 y 12,5 microgramos de Natamicina por ml. de agar.

ABSTRACT

Natamycin is a polyenic antibiotic with a broad spectrum of activity against fungi.

The study of M.I.C. with *Natamycin* by the dilution test showed that 100% of the strains of *Microsporum canis* were inhibited by 25 micrograms or less of the antibiotic and the 93,70% by 12,5 micrograms.

Trichophyton mentagrophytes were inhibited in a 84,10% by 25 micrograms and *Trichophyton rubrum* in a 100% by 25 micrograms or less of this drug.

Candida albicans were inhibited in a 85% and 100% by 6,25 and 12,5 micrograms of *Natamycin*.

INTRODUCCION

El tratamiento de las micosis se ve dificultado por problemas en establecer el diagnóstico y el uso, no del todo correcto, de un arsenal antimicótico aún limitado.

Por otra parte, al igual que en la terapia antibacteriana, en el tratamiento de las micosis, debe tenerse presente la localización del hongo, el género o especie de éste, el mecanismo de acción de la droga y su espectro antifúngico, la vía de administración, la farmacología del antimicótico y sus efectos colaterales.

Dentro de las drogas antimicóticas de amplio espectro contra hongos, está la Natamicina (o Pimaricina); polieno producido por el *Streptomyces natalensis*, el cual es un polvo blanco, inodoro e insípido que se oxida en presencia de oxígeno y que es fotosensible (1). Esta droga no se absorbe a nivel intestinal y es usada ampliamente en Europa en el tratamiento de las dermatomycosis (2), vaginitis (3, 4), micosis pulmonares, especialmente aspergiliares (5, 6) y preconizado como el antimicótico de elección en micosis oculares (7, 8), dada su gran actividad sobre *Fusarium* (9). Este antibiótico además, presenta la ventaja, respecto de

otros polienos, de ser activo contra *Trichomonas* y algunas bacterias (10).

No existiendo en nuestro medio información acerca de Natamicina, se estudia la susceptibilidad cuantitativa de 98 cepas aisladas de distintos procesos patológicos.

MATERIAL Y METODO

Se determinó por el método de dilución en agar (11), las Concentraciones Inhibitorias Mínimas (C.I.M.) de Natamicina frente a 98 cepas de hongos, cuyo origen se detalla en la tabla 1.

Se utilizó Natamicina (Gist-Brocades) NV, Holanda de potencia conocida.

Las C.I.M. estudiadas fluctuaron entre 1,56 y 200 microgramos por ml. de Agar Sabouraud dextrosado.

El método utilizado es el siguiente:

Se prepara una solución madre de Natamicina de 20.000 ug/ml. en 10 ml. de Metanol. Esta solución debe mantenerse en un lugar seco y oscuro. A partir de ella, se prepararon las soluciones de trabajo, las que fueron incorporadas al Agar Sabouraud dextrosado, dando una concentración final de 200-100-50-25-12,5-6,25-3,12- y 1,56 ug/ml. de agar respectivamente.

Los hongos han sido previamente incubados en Agar Sabouraud o Lactrimel. A estos medios se les agrega agua destilada estéril con Tween 80 al 10% con el objeto de remover el cultivo.

La suspensión es filtrada con gasa estéril (4 dobleces) y ésta a su vez es ajustada con agua destilada estéril a una turbiedad semejante al tubo 3 del Nefelómetro.

- 1 Financiado en parte con fondos de la Dirección de Investigación de la Universidad Austral de Chile. Proyecto RSE-80-40.
- 2 Instituto de Microbiología Clínica. Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. Casilla 567. Valdivia, Chile.
- 3 Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Universidad Austral de Chile.

Tabla 1. Cepas de Dermatoftos, Candida y otros hongos y origen de ellas.

| | Esc. espacio interd. pie | Esc. uña (pie y mano) | Esc. espacio interd. mano | Esc. piel | Esc. y pelos cuero cab. | Sec. pseudo-membranosa-ótica | Sec. farin-go-bronquial | Sangre | Sec. endo-cervical | Deposición | Origen no precisado | Total |
|------------------------------------|--------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------|-------------------------|------------------------------|-------------------------|--------|--------------------|------------|---------------------|-------|
| <i>Microsporium canis</i> | | | | 7 | 9 | | | | | | | 16 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | 13 | | 2 | | 1 | | | | | | 3 | 19 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> | 6 | 7 | 2 | 1 | 1 | | | | | | 1 | 18 |
| <i>Trichophyton verrucosum</i> | | | | 1 | | | | | | | | 1 |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | | | | | | 4 | | | | | | 4 |
| <i>Aspergillus niger</i> | 1 | | | | | 4 | | | | | | 5 |
| <i>Aspergillus candidus</i> | | | | | | 2 | | | | | | 2 |
| <i>Aspergillus flavus</i> | | | | | | 1 | | | | | | 1 |
| <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> | | 6 | | | | | | | | | | 6 |
| <i>Fusarium sp.</i> | | 2 | | | | | | | | | | 2 |
| <i>Candida albicans</i> | 2 | 2 | | 1 | | 2 | 7 | 1 | 2 | 2 | 1 | 20 |
| <i>Rhodotorula sp.</i> | | | | | | | | | | | 1 | 1 |
| <i>Trichosporon sp.</i> | | | | | | | 2 | | | | | 2 |
| <i>Petriellidium boydii</i> | | | | | | 1 | | | | | | 1 |
| | 22 | 17 | 4 | 10 | 11 | 14 | 9 | 1 | 2 | 2 | 6 | 98 |

Tabla 2. Concentración Inhibitoria Mínima de Natamicina para Dermatoftos, Candida y otros hongos.

| HONGOS | C. I. M. (mcg/ml.) | | | | | | | | |
|------------------------------------|--------------------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | <1.56 | 1.56 | 3.12 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | Total |
| <i>Microsporium canis</i> | Nº | 2 | | 3 | 5 | 5 | 1 | | 16 |
| | o/o | 12.5 | | 18.75 | 31.25 | 31.25 | 6.25 | | 100 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | Nº | | | 1 | 3 | 5 | 7 | 3 | 19 |
| | o/o | | | 5.26 | 15.78 | 26.31 | 36.84 | 15.78 | 100 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> | Nº | 1 | 1 | | 3 | 9 | 4 | | 18 |
| | o/o | 5.55 | 5.55 | | 16.66 | 50 | 22.22 | | 100 |
| <i>Aspergillus spp.</i> | Nº | | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 1 | 12 |
| | o/o | | 8.33 | 16.66 | 25 | 3.33 | 8.33 | 8.33 | 100 |
| <i>Candida albicans</i> | Nº | | | | 17 | 3 | | | 20 |
| | o/o | | | | 85 | 15 | | | 100 |
| Otros * | Nº | 2 | | 3 | 6 | 1 | | 1 | 13 |
| | o/o | 15.38 | | 23.07 | 46.15 | 7.69 | | 7.69 | 100 |

* *Scopulariopsis brevicaulis*, *Fusarium sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Trichosporon sp.*, *Petriellidium boydii*

tro de Mac Farland, de acuerdo con Negroni (12).

Con esta suspensión se procedió a sembrar los medios con las diferentes concentraciones de Natamicina, a razón de 0,05 ml. de inóculo, además de un tubo control sin antibiótico. Los medios fueron incubados a 28° C.

La lectura de la C.I.M. se efectuó al primer esbozo de desarrollo en el tubo control, la que fluctuó entre 2-4 días. En los casos de duda, se realizó control microscópico de los cultivos.

RESULTADOS

La tabla 2 muestra la C.I.M. de Natamicina para Dermatofitos, Candida y otros hongos.

Microsporium canis fue inhibido en un 100% a una C.I.M. de 25 ug/ml. y en un 93,75% a una C.I.M. de 12,5 ug/ml.

Trichophyton mentagrophytes fue susceptible en un 100% y 84,19% a una C.I.M. de 50 ug/ml. y de 25 ug/ml. respectivamente.

Trichophyton rubrum fue inhibido en un 100% a una C.I.M. de 25 ug/ml. y en un 77,76% a una C.I.M. de 12,5 ug/ml.

Aspergillus fumigatus fue susceptible en un 100% a una C.I.M. de 25 ug/ml. y el 75% a una C.I.M. de 6,25 ug/ml.

Aspergillus niger fue inhibido en un 100% a una C.I.M. de 12,5 ug/ml., siendo el 40% inhibido a una C.I.M. de 6,25 ug/ml.

El total de los *Aspergillus* no evidenció desarrollo a una C.I.M. de 50 ug/ml.

Candida albicans fue inhibida en un 100% a una C.I.M. de 12,5 ug/ml. y en un 85% a una C.I.M. de 6,25 ug/ml.

DISCUSION

La Natamicina es un antibiótico producido por el *Streptomyces natalensis* y es ampliamente usada en Europa (2).

En la tabla 2 podemos observar que, en general, las concentraciones inhibitorias mínimas de Natamicina para los hongos estudiados, fluctúan entre menos de 1,56 a 50 mcg/ml., coincidiendo esto con los valores encontrados por otros autores.

En nuestro trabajo, hemos encontrado que *Candida albicans* es inhibida por concentraciones entre 6,25 y 12,5 mcg/ml. de droga. Estos datos, difieren un poco de los reportados por Raab (10), cuyos valores para el mismo hongo, tienen una mayor dispersión, fluctuando entre 1,5 - 20 mcg/ml.

Van den Driessche y Bottu en 1962, informan del tratamiento local con este antibiótico, en Candidiasis de recién nacidos y lactantes, señalando que esta droga, ha resultado ser muy eficaz (13).

Grupper a su vez, sostiene que el tratamiento de la Candidiasis y Pitiriasis, la Natamicina representa una de las mejores terapias (14).

En Candidiasis vaginal, Bret y Grimail (15), obser-

varon un 79% de negativización, controlada por cultivo posterior al tratamiento con Natamicina.

Otra ventaja que presenta este polieno es su espectro de acción contra *Trichomonas vaginales*, protozoo frecuentemente asociado a la Candidiasis vaginal y para el cual Raab (10) reporta una C.I.M. de 20 mcg/ml., similar algunas cepas de *Candida*.

Respecto a los Dermatofitos estudiados, tenemos que el 87,5% de *Microsporium canis* es inhibido por concentraciones que fluctúan entre 3,12 y 6,25 mcg/ml. El 12,5% restante, que representa solamente a 2 cepas fue inhibido por menos de 1,56 mcg/ml. Para esta misma especie, Raab (10) reporta valores que fluctúan entre 2,5 - 5 mcg/ml., lo cual se asemeja a nuestros resultados.

Para *Trichophyton mentagrophytes*, las C.I.M. obtenidas fluctúan entre 3,12 y 50 mcg/ml. En el estudio de Raab (10), éste obtiene para este mismo hongo, valores que fluctúan entre 12 y 100 mcg/ml., siendo por lo tanto, nuestras cepas más sensibles a Natamicina.

El 88,9% de las cepas de *Trichophyton rubrum* estudiadas son inhibidas por concentraciones que fluctúan entre 6,25 a 25 mcg/ml., habiendo una cepa (5,55%) inhibida por menos de 1,56 mcg/ml. y otra por 1,56 mcg/ml. de Natamicina. Estas cepas también serían más sensibles que las reportadas por el mismo autor (10), cuyos valores fluctúan entre 12 y 50 mcg/ml.

Jones et al. (9) usaron esta droga en la queratomicosis producida por *Fusarium solani*, encontrándola altamente efectiva en el tratamiento de esta afección, la cual a su juicio, debería ser considerada como la terapia inicial en esta patología, lo que es corroborado por Rippon (2). Estos autores, encontraron que el 72% de las cepas estudiadas eran susceptibles a 5 ug/ml., lo que está de acuerdo con nuestro hallazgo en 2 cepas de *Fusarium sp.* que fueron susceptibles a menos 1,56 ug/ml. y 3,12 ug/ml. respectivamente.

En la Aspergilosis pulmonar, la Natamicina ha sido preconizada por Edwards y Touche (5) y por Henderson y Pearson (6), ya que la mayoría de los *Aspergillus* son inhibidos por C.I.M. que fluctúan entre 1 - 20 ug/ml. y además, no se ha observado resistencia.

Las cepas de *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus niger* por nosotros estudiadas, aisladas principalmente de otomicosis fueron en un 100% susceptibles a C.I.M. iguales o inferiores a 25 ug/ml. y a 12,5 ug/ml. respectivamente.

Aún cuando no hemos encontrado información sobre la Onicomosis oportunista por *Scopulariopsis brevicaulis*, parecería ser que la Natamicina podría constituir una alternativa, ya que el 100% de nuestras cepas fueron susceptibles a C.I.M. iguales o inferiores a 12,5 ug/ml.

La Natamicina es activa frente a Dermatofitos a concentraciones mayores que la Griseofulvina y frente a levaduras; la Nistatina es cuatro veces más activa, pero ambas son inactivas respecto a levaduras la primera y Dermatofitos la segunda. La Natamicina en cambio, cubre el espectro de ambas drogas, de donde derivaría su ventaja, además de actuar sobre *Trichomonas*.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- HENDRIKS, B. and BERENDS, W. (1958). On the Sensivity to light of polyene fungicides. *Ree. trov. Chim.* 77: 145-153.
- 2.- RIPPON, J.W. (1974). *Medical Mycology*. W.B. Saunders Co. Philadelphia, U.S.A.
- 3.- CAZEMIER, C. et al. (1959): The treatment of Trichomonal on Monilial vaginitis with Pimaricin. *Antibiot. Med.* 6: 601-605.
- 4.- Van LEENWEN, D.P.; LUBBERS, G.J.; KOK, P.C. (1959): "*The treatment of Trichomonal and Monilial vaginitis with Pimaricin*". *Antibiot. Med.* 4, 10: 601-605.
- 5.- EDWARDS, G.; LA TOUCHE, C.P.J. (1964): "*The treatment of Bronchopulmonary Mycoses with a new Antibiotic-Pimaricin*". *The lancet*, June 20, 1349: 1353.
- 6.- HENDERSON, A.H.; PEARSON, J.E.G. (1968): "*Treatment of Bronchopulmonary Aspergillosis with observations on the use of Natamycin*". *Thorax*, 23, 519: 523.
- 7.- CUENDET, J.F. et NOURI, A. (1963): Traitement local en ophtalmologie par un nouvel antibiotique fongicide, la pimaricine. *Ophthalmologica* 145: 297-300.
- 8.- A.J.P.M. De ROOY (1961): Pimaricin, a new fungistatic *Ophthalmologica*. 141: 489.
- 9.- JONES, D.B.; FORSTER, R.K. and REBELL, G. (1972): Fusarium solani keratitis treated with Natamycin (Pimaricin). *Arch. Ophthalmol.* 88: 147-154.
- 10.- RAAB, W. (1972): Pimaricin, un Antibioticum gegen Pilze und Trichomonaden. *Arzneimittel-Forsch*, 17: 538.
- 11.- CHMEL, H, and LOURIA, D. (1980): Antifungal antibiotics: Mechanism of action, resistance, susceptibility testing and assay of activity in Biological fluids. In Lorian, V.: *Antibiotics in Laboratory Medicine*: 170-192. Williams and Wilkins. Co. Baltimore. U.S.A.
- 12.- NEGRONI, P. y RODRIGUEZ, Z.J. (1973): Ensayos sobre la acción fungistática y fungicida del Miconazol. *Bol. A.N. de Medicina*. 51, 123-130.
- 13.- VAN DEN DRIESSCHE, A.; BOTTU, I. (1962): "*Traitement des moniliasés du nourrisson par un nouvel antifongique: la Pimaricine*". *Acta Paediatrica Belgica*. 16, 321-328.
- 14.- GRUPPER, M. CH. (1965): "*Un nouvel antifongique: la Pimaricine. Etude clinique*". *Bulletin de Dermatologie*. 75^e Année, 72: 253-259.
- 15.- BRET, A.J.; GRMAIL, PH. (1965): "*Traitement des candidoses vaginales de la femme enceinte par la Pimaricine*". *Revue française de gynécologie et al Obstétrique*. 6, 463-475.

AGRADECIMIENTOS:

Agradecemos a GIST-BROCADES NV. Pharmaceutical Division (Holanda) por habernos proporcionado la Natamicina.