



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica

**Estandarización de la prueba de susceptibilidad
antifúngica in vitro en cepas nativas de dermatofitos
por el método de microdilución**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Juvisan Medalith AGUEDO ARIZA

ASESORES

Julio Reynaldo RUIZ QUIROZ

Vilma Ruth BEJÁR CASTILLO

Lima, Perú

2012

RESÚMEN

El objetivo del presente trabajo fue estandarizar una prueba de susceptibilidad antifúngica *in vitro* para cepas nativas de dermatofitos por el método de microdilución, siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) y con algunas modificaciones. Para lograr el óptimo crecimiento y desarrollo de los hongos dermatofitos se probaron 3 tipos de medios de cultivo, Agar Dextrosa Sabouraud 4% (SAB), Agar Papa Dextrosa (PDA) y Agar Oatmeal incubados a Temperatura ambiente (17 - 22 °C) y a 28 °C. Se observó que todas las cepas crecieron mejor en el medio SAB a 28°C con un tiempo de incubación de 7 días. Para la prueba de susceptibilidad antifúngica, se utilizó un inóculo de $0.2 - 5 \times 10^4$ UFC/mL; una temperatura de incubación de 35 °C y un tiempo de incubación de 7 días. Para establecer la lectura de susceptibilidad o resistencia de las cepas, se utilizó la concentración mínima inhibitoria al 80% (CMI 80). Se determinó el perfil de sensibilidad *in vitro* de las seis cepas de dermatofitos tales como, *E.floccosum*; *M.canis*; *M.gypseum*; *T.rubrum*, *T.mentagrophytes* y *T.tonsurans* frente a tres antifúngicos Fluconazol, Itraconazol y Terbinafina. Los valores obtenidos de CMI 80 mediante la técnica de microdilución en caldo oscilaron entre 0.25 µg/mL a 64 µg/mL para Fluconazol, varió de 0.002 a 0.063 µg/mL para Itraconazol y entre 0.002 a 0.032 µg/mL para Terbinafina. De todas los antifúngicos utilizados, la Terbinafina fue la droga con mayor actividad *in vitro* seguida de Itraconazol y finalmente Fluconazol.

Palabras Clave: *Dermatofitos, Concentración Mínima Inhibitoria CMI, Susceptibilidad antifúngica, Microdilución y Agar Dextrosa Sabouraud 4% (SAB).*

SUMMARY

The aim of this study was to standardize an *in vitro* antifungal susceptibility test in dermatophytes native strains by microdilution method, according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recommendations, with some modifications. To obtain an optimal growth and development of fungi dermatophytes three types of culture media were tested, Sabouraud Dextrose Agar 4% (SAB), Potato Dextrose Agar (PDA) and Oatmeal Agar incubated at room temperature (17-22 ° C) and 28 ° C. we observed that all the strains grew better in SAB medium at 28 °C with an incubation time of 7 days. For antifungal susceptibility testing was used an inoculum of 0.2 to 5 x 10⁴ CFU / mL, an incubation temperature of 35 ° C and a incubation time of 7 days. To establish the reading of susceptibility or resistance of the strains the minimum inhibitory concentration 80% (MIC 80) were used. We determined the *in vitro* sensitivity profile of the six strains of dermatophytes such as *E.floccosum*; *M.canis*; *M.gypseum*; *T.rubrum*, *T.mentagrophytes* and *T.tonsurans* against three antifungal Fluconazole, Itraconazole and Terbinafine. The MIC 80 values obtained by broth microdilution ranged from 0.25 µg / mL to 64 µg / mL for Fluconazole ranged from 0002-0063 µg / mL for Itraconazole and between 0002-0032 µg / mL for Terbinafine. Of all antifungals used, Terbinafine was the most active drug *in vitro* followed by Fluconazole and finally Itraconazole.

Keywords: *Dermatophytes, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Antifungal susceptibility, Microdilution and Sabouraud Dextrose Agar 4% (SAB).*