

RECYT

Año 22 / N° 34 / 2020 / 101–106

Evaluación de la sensibilidad de hongos dermatofitos aislados de muestras clínicas a los antifúngicos

Evaluation of the sensitivity of dermatophyte fungi isolated from clinical samples to antifungals

Beda E. Mereles Rodríguez^{1,*}, Jacqueline N. Fiedler¹, Azucena Bruquetas¹, Miriam E. Chade¹

1- Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Mariano Moreno 1375. Posadas. Misiones. Argentina.

*E-mail: bedamereles@gmail.com

Recibido: 09/03/2020; Aprobado: 02/11/2020

Resumen

Los dermatofitos causan infecciones que en ocasiones no responden adecuadamente al tratamiento antifúngico implementado, sin embargo, se han publicado muy pocos estudios de sensibilidad a nivel mundial. El objetivo de este trabajo fue evaluar *in vitro*, la sensibilidad de hongos dermatofitos aislados de muestras clínicas frente a tres antifúngicos de uso habitual. Se trabajó con 50 cepas de las especies: *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Nannizzia gypsea*, *Trichophyton tonsurans* y *Epidermophyton floccosum*. Los antifúngicos probados fueron terbinafina, itraconazol y fluconazol. Para el estudio de la sensibilidad se desarrolló la técnica de microdilución en caldo según el documento M38-3^a ed. del Clinical and Laboratory Standards Institute. El inóculo fue ajustado a 10³ UFC/ml. Se incubaron a 35° C con lecturas diarias hasta las 96 horas. Terbinafina fue la de mayor actividad antifúngica (CIM entre 0,03 y 0,50 µg/ml), seguida por itraconazol (CIM entre 0,12 y 4 µg/ml). Fluconazol mostró la menor actividad antifúngica (CIM de 8 a > 64 µg/ml). Se concluye que la terbinafina presenta la mayor actividad antifúngica *in vitro* frente a las cepas de dermatofitos estudiadas.

Palabras clave: Tiñas, dermatofitos, antifúngicos, sensibilidad.

Abstract

Dermatophytes cause infections that do not adequately respond to antifungal treatment. In spite of this fact, worldwide susceptibility researches are scarce. The objective of this work was to evaluate the *in vitro* susceptibility of dermatophytes which were isolated from clinical samples facing three commonly used antifungals. Fifty dermatophytes strains of the following species were used: *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Nannizzia gypsea*, *Trichophyton tonsurans* and *Epidermophyton floccosum*. The antifungals tested were terbinafine, itraconazole, and fluconazole. Antifungal susceptibility testing was performed by using the broth microdilution technique and following the document M38-3rd ed. that belongs to the Clinical and Laboratory Standards Institute. The inoculum was adjusted at 10³ CFU / ml. Plates were incubated at 35 ° C with ninety-six-hour daily readings. The terbinafine was the strongest antifungal drug (MIC values between 0.03 and 0.50 µg / ml), followed by the itraconazole (MIC values ranging from 0.12 to 4 µg / ml); while the fluconazole showed the weakest antifungal activity (MIC values from 8 to > 64 µg / ml). It can be concluded that the terbinafine has the best antifungal *in vitro* activity considering the dermatophyte strains under study.

Keywords: Ringworms, dermatophytes, antifungals, susceptibility

Introducción

Los dermatofitos (DMT) son hongos pluricelulares, hialinos, filamentosos y septados, patógenos para el hombre y los animales, que provocan una infección denominada dermatofitosis o, más comúnmente, tiña (1). Poseen gran capacidad de adaptación a condiciones ambientales diversas y tienen especial afinidad para parasitar estructuras queratinizadas (piel, pelo, uñas), por lo que reciben el nom-

bre de hongos queratinofílicos (2, 3, 4). Las dermatofitosis producidas por estos hongos suelen estar restringidas al estrato córneo de la piel y sus apéndices, aunque también pueden afectar la dermis y el tejido subcutáneo, causando granulomas o seudomicetomas. En individuos inmunocompetentes, solo afectan la capa córnea. Por razones desconocidas, hay individuos con mayor predisposición a padecer dermatofitosis que otros (3, 5).

Los dermatofitos se agrupan en tres géneros: *Trichophy-*

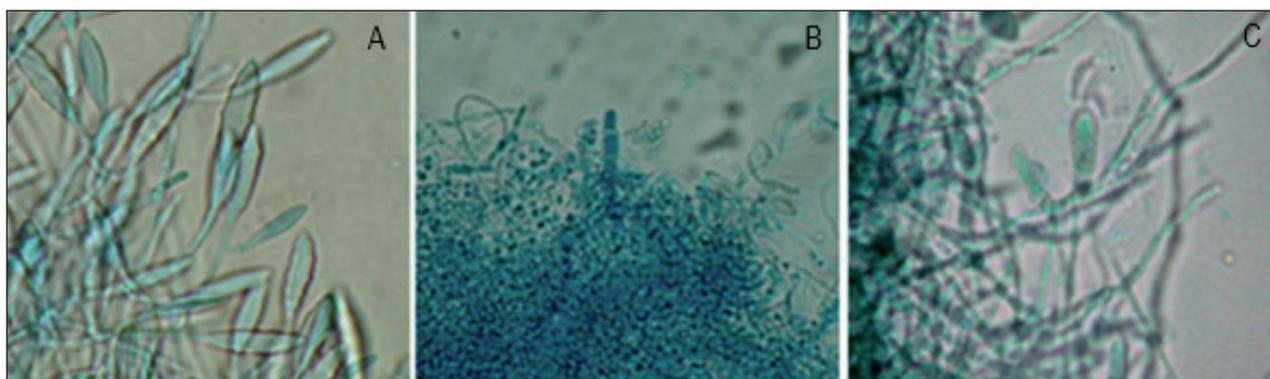


Figura N° 1: Morfología microscópica de A. *Nannizzia gypsea*, B. *Trichophyton mentagrophytes*, C. *Epidermophyton floccosum*

ton, *Microsporium* y *Epidermophyton*; diferenciándose por los elementos que intervienen en la reproducción asexual (microconidios y macroconidios) y por sus estructuras vegetativas. Los teleomorfos de los géneros *Trichophyton* y *Microsporium* pertenecen a los géneros *Arthroderma* y *Nannizzia*. No se ha descrito fase teleomorfa para el género *Epidermophyton* (1, 6, 7, 8, 9). (Figura N° 1).

De acuerdo a su hábitat natural, se clasifican en tres grupos: antropófilos, zoófilos y geófilos. El reservorio de las especies antropófilas es exclusivamente el ser humano y se transmiten de un ser humano a otro directamente o indirectamente por fómites. En el caso de los zoófilos su hábitat natural son los animales, pero ocasionalmente pueden afectar al ser humano. Los geófilos se encuentran en el suelo, sobre restos de queratina desprendidos de animales y personas, que caen al suelo y se descomponen, pudiendo parasitar al hombre esporádicamente (2, 5, 6, 8,10). Tabla N°1.

Tabla N° 1: Distribución ecológica de las especies de dermatofitos más frecuentes.

Geófilos	Zoófilos	Antropófilos
<i>Nannizzia gypsea</i>	<i>Microsporium canis</i>	<i>Epidermophyton floccosum</i>
<i>Microsporium cookei</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Microsporium audouinii</i>
<i>Microsporium fulvum</i>	<i>Microsporium equinum</i>	<i>Trichophyton violaceum</i>
	<i>Microsporium gallinae</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
	<i>Microsporium persicolor</i>	<i>Trichophyton interdigitale</i>
	<i>Trichophyton verrucosum</i>	<i>Trichophyton tonsurans</i>
	<i>Trichophyton equinum</i>	

Estas especies no se aíslan con la misma frecuencia en los laboratorios, ya que existe variabilidad climática, geográfica, socioeconómica etc., que generan cambios en la distribución de los agentes etiológicos de las dermatofitosis. Si bien su distribución es universal, predominan en zonas tropicales con climas cálidos y húmedos. En la provincia de Misiones (Argentina) las especies más frecuentes son: *M. canis* causante de más del 90% de las tiñas de cuero cabelludo en niños; *T. rubrum* y *T. mentagrophytes*, en lesiones interdigitales y de uñas y, en menor proporción: *T. tonsurans*, *E. floccosum*, *N. gypsea* y *T. verrucosum* (2).

Diversas circunstancias favorecen estas infecciones: lugares húmedos, malos hábitos higiénicos, el hacinamiento, uso de duchas comunitarias, el uso de zapatos cerrados,

zapatillas, ropa sintética, etc. (2, 3, 5, 11). Por otro lado, existen enfermedades que predisponen a la aparición de dermatofitosis como la diabetes, Síndrome de Cushing, linfomas, pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) e inmunodeprimidos en general, como así también traumatismos (2, 8, 11).

Para el tratamiento se utilizan antifúngicos (ATF), acompañado de medidas higiénicas adecuadas que aseguren la limpieza de la zona afectada, manteniéndola seca, aireada, y que eviten la autocontaminación (8, 12, 13, 14). Estos medicamentos pueden ser de origen natural o sintético y tienen la capacidad de evitar el crecimiento o provocar la muerte del hongo. Su mecanismo de acción depende del sitio diana en la célula fúngica. Pueden ser de uso tópico o sistémico como la griseofulvina; ATF azólicos como el clotrimazol, itraconazol o el fluconazol; alilaminas como la terbinafina y nuevas moléculas antifúngicas (6, 7, 12, 13, 14, 15).

Sin embargo, existen casos de mala respuesta al tratamiento, que pueden ser atribuibles a deficiencias inmunológicas, baja biodisponibilidad o alteraciones metabólicas de los antifúngicos, interacciones medicamentosas y resistencia antifúngica primaria y/o secundaria, lo que obliga a repetir el tratamiento, prolongar la administración o cambiar de fármacos y, aun así, obtener una respuesta deficiente, aumentando considerablemente los costos. Por ello, al aumentar la frecuencia de la resistencia (primaria o secundaria) de estos microorganismos a los antimicóticos, surge la sospecha de que estas situaciones se manifiestan, principalmente en quienes reciben estos medicamentos como profilaxis (en casos de trasplantes, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), enfermedades autoinmunes tratadas con corticosteroides) o tratamientos repetidos por micosis recidivantes (16, 17,18, 19).

Al considerar estas situaciones, es necesario estudiar desde el punto de vista clínico, tanto la resistencia *in vitro*, como la resistencia clínica, ya que el tratamiento de estas afecciones, no solamente dependen de la concentración inhibitoria mínima (CIM) del ATF, sino también del huésped (18, 20, 21).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar mediante una técnica cuantitativa, la sensibilidad de hongos derma-

tofitos aislados de muestras clínicas, frente a fluconazol, itraconazol y terbinafina.

Materiales y Métodos

Se utilizaron aislamientos de hongos dermatofitos obtenidos a partir de muestras clínicas de pacientes del área del Gran Posadas, derivados al servicio de diagnóstico micológico "Aislamientos Fúngicos de Interés Médico" de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales (Universidad Nacional de Misiones), durante el período 2016-2019. Tipo de estudio es descriptivo transversal, con muestreo no probabilístico por conveniencia. Los aislamientos fúngicos fueron identificados mediante métodos micológicos clásicos, que incluyeron observación microscópica directa del material clínico en busca de elementos fúngicos; cultivos en una batería de medios de cultivo que aseguren el aislamiento del hongo (agar Sabouraud dextrosa 4% (Merck-Merck Química Argentina), agar hongos y levaduras (Britania), agar selectivo para hongos patógenos (Merck-Merck Química Argentina). Los cultivos se incubaron a 28° C. Los controles se efectuaron periódicamente hasta detectar el crecimiento. La identificación de las especies fúngicas se realizó en base a características morfológicas macroscópicas, microscópicas y fisiológicas de los cultivos desarrollados. Para diferenciar *T. rubrum* de *T. mentagrophytes* se realizaron prueba de ureasa y perforación del pelo *in vitro*. Las cepas aisladas fueron conservadas en agar agua (AA) y agar harina de avena (AHA) para evitar el pleomorfismo o pérdida de capacidad de esporulación y refrigeradas a 4-8° C. Para las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos se utilizó el método de microdilución en caldo estandarizado según el documento M 38-3ra ed. del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (22). Para la obtención de los inóculos a utilizar, los aislamientos fueron subcultivados en medio AHA durante 7 días a 30 °C. Las colonias obtenidas se cubrieron con 1-2 ml de solución fisiológica estéril, raspando con un ansa la superficie para obtener suspensiones del micelio aéreo de las colonias. La suspensión fúngica así obtenida de conidios e hifas se transfirió a un tubo cónico estéril dejando reposar durante 10 min para permitir la precipitación de las partículas más pesadas. El sobrenadante se transfirió a otro tubo estéril y se agitó en vórtex (15 seg). Para ajustar el inóculo fúngico, se realizaron conteos de conidios en cámara de Neubauer. La suspensión de conidios tuvo el doble de concentración que la concentración final para la prueba ($1-3 \times 10^3$ UFC/ml). Por otro lado, en los pocillos de las placas de microdilución se añadieron 100 µl del medio RPMI1640 y del respectivo ATF. Una vez obtenida la suspensión, se inocularon 100 µl por pocillo. La columna N° 12 se utilizó como control de esterilidad. Inoculadas las placas, se incubaron a 35°C, sin agitación, dentro de una caja de plástico con papel de filtro humedecido para prevenir la evaporación del medio. Las lecturas se reali-

zaron a las 24, 48, 72 y 96 h en forma visual (Figura N° 2). Se emplearon los siguientes antifúngicos: fluconazol, terbinafina e itraconazol.

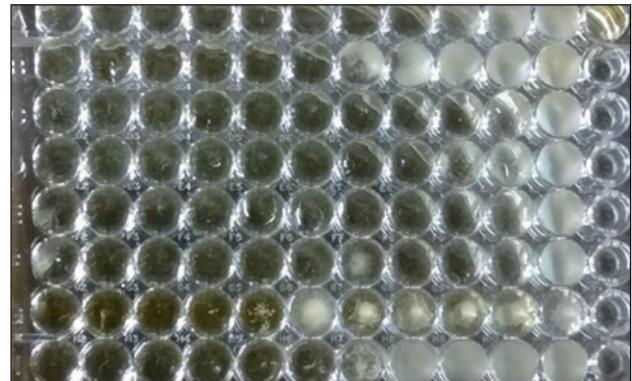


Figura N° 2: Placa de microcultivo con 96 h de incubación.

Resultados

Se recuperaron 50 cepas puras de dermatofitos de diferentes sitios anatómicos (piel lampiña, pelo y uñas), 12 cepas de *T. mentagrophytes*, 13 cepas de *T. rubrum*, 16 cepas de *M. canis*, 6 cepas de *N. gypsea*, 3 cepas de *T. tonsurans* y 2 de *E. floccosum*.

En la tabla N° 2 se observa el número de las diferentes especies de aislamientos clínicos de hongos DMT y el % acumulativo de inhibición frente a los antifúngicos probados. La terbinafina mostró una CIM que osciló entre 0,03-0,50 µg/ml, itraconazol CIM entre 0,12-4 µg/ml y fluconazol CIM entre 8 a > 64 µg/ml frente a las cepas de dermatofitos estudiadas.

Discusión

Es sabido que las especies de dermatofitos pueden presentar variación en cuanto a su distribución geográfica. Las especies aisladas y estudiadas en el presente trabajo, son las especies que con mayor frecuencia están involucradas en dermatofitosis en la provincia de Misiones, Argentina (2).

Para el tratamiento de estas micosis se emplean antifúngicos tópicos y orales, entre ellos los más utilizados en la práctica médica son fluconazol, itraconazol, terbinafina, griseofulvina y clotrimazol (6, 7, 16). Para el correcto tratamiento de las dermatofitosis, es conveniente conocer el perfil de sensibilidad a los antifúngicos disponibles mediante la ejecución de técnicas estandarizadas como la utilizada en el presente trabajo. Este tipo de estudio, podrá permitir también la identificación de especies resistentes a medicamentos específicos, así como la aparición de nuevas resistencias (23-25). A pesar de que las dermatofitosis son afecciones muy frecuentes, de tratamiento costoso y en el caso de las onicomicosis muy difíciles de erradicar, se encuentran pocas publicaciones de estudios de sensibilidad a los antifúngicos a nivel mundial y ninguno de ellos en Misiones.

Tabla Nº 2: Número de aislamientos de especies de DMT y % acumulativo de inhibición frente a los ATF probados

ATF	Especie	Valores de CIM (µg/ml)													n
		Nro de aislados (% acumulado de inhibición)													
		0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	>64	
Terbinafina	<i>T. mentagrophytes</i>	6(50)		1(58)	2(75)	3(100)									12
	<i>T. rubrum</i>	6(46)	4(77)			3(100)									13
	<i>M. canis</i>		10(63)	5(94)	1(100)										16
	<i>N. gypsea</i>		3(50)		2(83)	1(100)									6
	<i>T. tonsurans</i>	1(33)	2(100)												3
	<i>E. floccosum</i>		1(50)	1(100)											2
Itraconazol	<i>T. mentagrophytes</i>			1(8)	3(33)	8(100)									12
	<i>T. rubrum</i>				4(31)	9(100)									13
	<i>M. canis</i>					5(31)	2(44)	8(94)	1(100)						16
	<i>N. gypsea</i>						2(33)	4(100)							6
	<i>T. tonsurans</i>					1(33)	1(66)		1(100)						3
	<i>E. floccosum</i>					1(50)		1(100)							2
Fluconazol	<i>T. mentagrophytes</i>										2(17)	7(75)	1(83)	2(100)	12
	<i>T. rubrum</i>									2(15)	5(54)	2(69)	1(77)	3(100)	13
	<i>M. canis</i>										6(38)	4(63)	1(69)	5(100)	16
	<i>N. gypsea</i>											3(50)		3(100)	6
	<i>T. tonsurans</i>													3(100)	3
	<i>E. floccosum</i>											1(50)	1(100)		2

En este trabajo, se decidió probar la sensibilidad de los DMT frente a terbinafina, itraconazol y fluconazol, teniendo en cuenta que los dos primeros ATF son considerados como los más efectivos para las dermatofitosis, y el fluconazol como de tercera línea (26, 27). Todas las cepas de *T. mentagrophytes* probadas en este estudio frente a la terbinafina fueron inhibidas a una CIM < 1 µg/ml, en coincidencia con lo reportado por varios autores (28-32). Asimismo, frente a todas las cepas de la misma especie, el itraconazol presentó CIM < 1 µg/ml, valores comprendidos dentro del rango establecido para la combinación *T. mentagrophytes* ATCC MYA-4439/itraconazol en el documento del CLSI M61, 1st ed. (33) y coincidentes con lo informado por Díaz Jarabrán y Perez-Cardenas y cols (30, 31). Otros autores reportaron valores < 4 µg/ml (29, 32). El fluconazol, para *T. mentagrophytes*, presentó CIM con valores > 16 µg/ml; resultados comparables a los de Perez-Cardenas, pero inferiores a los publicados por Santos y cols. que fueron > 64 µg/ml y muy discordantes con los reportados por Díaz Jarabrán que informaron valores < 1 µg/ml (29-31).

En el caso de las cepas de *T. rubrum*, frente a la terbinafina e itraconazol nuestros resultados arrojaron valores de CIM < 1 µg/ml y para el fluconazol valores > 8 µg/ml, estos resultados son similares a los publicados por otros grupos de investigación (30-32). En el caso del fluconazol, nuestros resultados son coincidentes con los de Perez-Cardenas e inferiores a los informados por Santos y cols. Sin embargo, se observó mucha discrepancia con lo publicado por otros autores donde comunicaron CIM muy

inferiores a nuestros resultados (32, 34).

Frente a las cepas de *M. canis*, la terbinafina presentó valores de CIM < 1 µg/ml; el itraconazol valores más elevados que llegaron hasta 4 µg/ml y el fluconazol, CIM > 16 µg/ml, resultados similares fueron reportados por algunos autores (28, 29). Manzano Gayosso, informó resultados similares a los nuestros para terbinafina e itraconazol; no así con la CIM del fluconazol donde hallaron resultados inferiores a los nuestros.

Frente a las cepas estudiadas de *T. tonsurans*, la terbinafina, el itraconazol y el fluconazol presentaron valores de CIM < 1 µg/ml, hasta 4 µg/ml y > 64 µg/ml respectivamente. Algunos investigadores publicaron valores de CIM comparables a los nuestros pero con valores inferiores (29, 32).

Con las cepas de *N. gypsea*, la terbinafina, el itraconazol y el fluconazol presentaron CIM < 1 µg/ml, hasta 2 µg/ml y > 32 µg/ml respectivamente. Nuestros resultados para terbinafina e itraconazol son similares a los obtenidos por otros autores (28, 32). Cabe destacar que Serrano Martino informa CIM muy similares a las nuestras en el caso de fluconazol frente a esta especie fúngica.

Con las cepas de *E. floccosum*, la terbinafina presentó valores de CIM < 1 µg/ml, el itraconazol hasta 2 µg/ml y el fluconazol > 32 µg/ml. Frente a esta especie fúngica, Gupta y cols. (35) informaron valores de CIM para terbinafina < 2 µg/ml, para itraconazol < 8 µg/ml y para fluconazol hasta 64 µg/ml. Por otro lado, Petranyi y cols. (36) experimentaron solamente con terbinafina y hallaron valores de CIM mucho más bajos que los nuestros que oscilaron entre 0,0015 y 0,006 µg/ml.

Los resultados obtenidos permiten posicionar a la terbinafina y al fluconazol como los antifúngicos de mayor y de menor actividad antidermatofítica respectivamente, frente a los aislamientos clínicos evaluados. Sin embargo, es necesario continuar el estudio con un mayor número de cepas para conocer con certeza el perfil de sensibilidad de estos hongos dermatofitos aislados en el área del Gran Posadas.

Conclusión

Se concluye que la terbinafina es el antifúngico más activo frente a los dermatofitos estudiados, seguido por el itraconazol. Siendo el fluconazol el antifúngico que muestra menor actividad.

Referencias bibliográficas

1. Cabañes Saenz F J. *Identificación de hongos dermatofitos*. En: Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. 2da ed. Bilbao, España: Rev Iberoam Micol. Asociación española de Micología. 2007; Cap. 12. p.1-11.
2. Medvedeff M, Mereles B E, Vedoya M C y Chade M E. *Micosis superficiales y cutáneas*. Argentina: Editorial Universitaria UNaM; 2003.
3. Sánchez-Saldaña L, Matos-Sánchez R y Kumakawa Sena H. *Infecciones Micóticas Superficiales*. Dermatología Peruana 2009. 19 (3):226-266. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v19_n3/pdf/a09v19n3.Pdf. Acceso: 10/06/20.
4. Vilata Corell J J. *Micosis cutáneas*. Madrid, España: Ed Médica Panamericana. 2006.
5. Ausina Ruiz V. y Moreno Guillén S. *Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana; 2006.
6. Arenas Guzmán R. *Dermatofitosis*. En: Micología Médica Ilustrada. 5ta ed. Madrid, España: Ed. Mc Graw Hill; 2014. p. 61-89.
7. Bonifaz Trujillo J A. *Micosis superficiales. Dermatofitosis*. En: Micología Médica Básica. 4ta ed. Madrid, España: Ed. Mac Graw Hill. 2012; p 93-134.
8. Velasco Pastor M., García-Melgares Linares M. L., Gimeno Carpio E., Roche Gamón E. y J. Vilata Corell. *Dermatofitosis*. En: Vilata Corell J. *Micosis Cutáneas*. Madrid, España: Ed Panamericana. 2006; p. 49-69.
9. Sybren de Hoog G, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, Hendrickx M, Kupsch, C., Stielow, B., Freeke, J., Göker, M., Rezaei-Matehkolaei, A., Mirhendi, H. y Gräser, Y. *Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes*. Mycopathologia. 2017. 182:5-31 DOI 10.1007/s11046-016-0073-9. Acceso: 10/08/2020.
10. Sandoval N, Arenas R, Giusiano G, Chávez L y Zúñiga P. *Diagnóstico y tratamiento de dermatofitosis y pitiriasis versicolor*. Rev Med Hondur. 2012; 80 (2): 66 -73.
11. Prats G. *Microbiología Clínica*. Buenos Aires; Madrid: Editorial Médica Panamericana. 2007; p. 83-107.
12. Garrote A. *Micosis Cutáneas*. Rev Offarm. 2002; 21 (8):82-90. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-micosis-cutaneas-13035868> Acceso: 10/08/2020.
13. Crespo-Erchiga V. y Delgado-Florencio V. *Micosis cutáneas*. Dermatomicosis. Rev Med Clin. 2005; 125 (12):467-74. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-micosis-cutaneas-13079613> Acceso: 08/07/2020.
14. Lumbrerasa C, Lizasoaina M, Aguado J M. *Antifúngicos de uso sistémico*. Rev Enferm Infecc Microbiol Clin. 2003; 21 (7):366-80.
15. García V. *Introducción a la microbiología*. 2da ed. Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia. 2014.
16. Allevato M A J, Negroni R y Galimberti R. *Antifúngicos: Ayer, hoy y mañana*. Act Terap Dermatol. 2007; 30 (8): 1-12. Disponible en: http://www.atdermae.com/pdfs/atd_30_01_02.pdf Acceso: 10/06/2019.
17. Gregori Valdes B.S. *Estructura y actividad de los antifúngicos*. Rev Cubana Farm. 2005; 39(2). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v39n2/far12205.pdf> Acceso: 08/06/2019.
18. Méndez-Tovar L J, Manzano-Gayosso P, Velásquez-Hernández V, Millan- Chiu B, Hernández- Hernández F, Mondragón-González R y López-Martínez R. *Resistencia a compuestos azólicos de aislamientos clínicos de Trichophyton spp*. Rev Iberoam Micol. 2007; 24 (4): 320-322.
19. Manzano-Gayosso P, Méndez-Tovar L J, Hernández- Hernández F y López-Martínez R. *La resistencia a los antifúngicos: un problema emergente en México*. Gac Méd Méx 2008; 144 (1): 23-26. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2008/gm081e.pdf> Acceso: 05/02/2019.
20. Pontón J y Quindós G. *Mecanismos de resistencia a la terapéutica antifúngica*. Rev Med Clin Barcelona. 2006; 126(1):56-60.
21. Mukherjee P, Leidich S, Isham N, Leitner I, Ryder N, Ghannoum M. *Clinical Trichophyton rubrum Strain Exhibiting Primary Resistance to Terbinafine Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2003; 47 (1) 82-86. Disponible en: <https://aac.asm.org/content/47/1/82> Acceso: 08/06/2020.
22. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi*. CLSI document M38, 3rd ed. Wayne, PA, USA. 2017.
23. Córdoba S B, Davel G e Isla M G. *Manual Curso a Distancia y Taller "Determinación de la resistencia a los antifúngicos en el laboratorio"*. Departamento de Micología. INEI. Dr. C. G. Malbrán. 2016.
24. Guelfand L, Cataldi S, Arechavala A y Perrone M. *Manual Práctico de Micología Médica*. Pruebas de sensibilidad Antifúngica. Acta Bioquím Clín Latinoam. 2015;

- Supl.1: 65-81.
25. Cantón Lacasa E, Martín Mazuelos E y Espinel-Ingroff A. *Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos*. En: Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. 2da ed. Bilbao, España: Rev Iberoam Micol. Asociación española de Micología. 2007; Cap.15. p.1-24.
 26. Carrillo-Muñoz A J, Tur-Tur C, Hernández-Molina J M, Santos P, Cárdenas D y Giusiano G. *Antifúngicos disponibles para el tratamiento de las micosis ungueales*. Rev Iberoam Micol. 2010; 27(2), 49-56.
 27. Eisman S y Sinclair R. *Fungal nail infection: diagnosis and management*. Clinical Review. BMJ. 2014; 348, g1800. Disponible en <https://doi.org/10.1136/bmj.g1800> Acceso: 10/02/2020.
 28. Serrano-Martino M, Chávez Caballero M, Valverde Conde A, Claro R, Pemán J y Martín-Mazuelos E. *Actividad in vitro de voriconazol y otros tres antifúngicos frente a dermatofitos*. Rev Enferm Infecc Microbiol Clin. 2003; 21(9), 484-487. Disponible en <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-actividad-in-vitro-voriconazol-otros-13052331> Acceso 20/06/2020.
 29. Santos P E, Córdoba S, Rodero L, Carrillo-Muñoz A J y Lopardo H A. *Tinea capitis. Experiencia de 2 años en un hospital de pediatría de Buenos Aires, Argentina*. Rev Iberoam Micol. 2010; (27):104 -106.
 30. Pérez-Cárdenas J E, Hoyos Zuluaga A M y Cárdenas Henao C. *Sensibilidad antimicótica de diferentes especies de hongos aislados de pacientes con micosis ungueal en la ciudad de Manizales*. Caldas, Colombia. Rev Biosalud. 2013; 11 (2): 26-39.
 31. Díaz Jarabran M C, Díaz Gonzalez P, Espinoza Rodríguez J y Carrillo Muñoz A.J. *Evaluación del perfil de sensibilidad in vitro de aislamientos clínicos de Trichopython mentagrophytes y Trichophyton rubrum*. Santiago de Chile. Rev Iberoam Micol. 2015; 32:83-87.
 32. Manzano-Gayosso P, Zabicky-López J, Hernández-Hernández F, Méndez-Tovar L J, Bazán-Mora E, Córdova-Martínez E y López-Martínez R. *Reactivación morfológica de algunas especies de dermatofitos y su sensibilidad a antifúngicos*. Rev Mex Mic. 2015; (41): 47-53.
 33. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antifungal susceptibility Testing of Filamentous Fungi*. CLSI document M61, 1st ed. Wayne, PA, USA. 2017.
 34. Gross Martínez N, Ureña Sanchez M y Chaves Madrigal O. *Sensibilidad al Fluconazol de aislamientos de Trichophyton rubrum*. Acta Médica Costarricense. 2014; 56 (1): 23-26.
 35. Gupta A K, Kohli Y y Batra R. *In vitro activities of posaconazole, ravuconazole, terbinafine, itraconazole and fluconazole against dermatophyte, yeast and non-dermatophyte species*. Medical Mycology. 2005; 43 (2): 179-185.
 36. Petranyi G, Meingassner J G y Mieth H. *Antifungal activity of the allilamine derivative terbinafine in vitro*. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1987; 31 (9): 1365-1368.