

ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD DEL NEISSERIA GONORRHOEA E A LA PENICILINA Y OTROS NUEVE ANTIBIOTICOS*†

JAMES D. THAYER, Ph.D.,¹ FRANCES W. FIELD,² MIRIAM I. PERRY, B.S.,² JOHN E. MARTIN, JR., B.A.³ Y WARFIELD GARSON, M.D.⁴

Ante el aumento constante del número de cepas gonocócicas que, obtenidas en aislamientos habituales de pacientes, presentan reducida sensibilidad a la penicilina, y el creciente número de pacientes de los cuales se notifica que son alérgicos a la penicilina, se recurre cada vez con mayor frecuencia a otros antibióticos para el tratamiento de la blenorragia. Por consiguiente, es de importancia determinar la susceptibilidad de las cepas, tanto sensibles como relativamente "resistentes" a la penicilina con respecto a estos otros agentes quimioterápicos.

SENSIBILIDAD A LA PENICILINA

En 1955 informamos de que la sensibilidad a la penicilina de cepas gonocócicas obtenidas en aislamientos habituales procedentes de pacientes femeninos de Carolina del Sur, era de 0,005 u./ml. a 0,20 u./ml., o sea de una susceptibilidad máxima 40 veces mayor que la mínima. De estas cepas, el 20% necesitó de 0,10 u./ml. a 0,20 u./ml. para inhibir su crecimiento *in vitro*, concentraciones que indican un marcado descenso de susceptibilidad en comparación con los primeros informes de Lankford, en 1945 (1) y Romansky, en 1946 (2), y con los estudios de vigilancia hechos en Boston, de 1945 a 1954, por Love y Finland (3). Esos autores descubrieron que sólo en el caso de 3 de las 439 cepas some-

tidas a prueba se hubieran necesitado más de 0,06 u./ml. para inhibir su crecimiento *in vitro*.

En estudios ulteriores de sensibilidad gonocócica a la penicilina, hechos en Carolina del Norte y del Sur, las cepas comunes aisladas en 1957 y 1958 resultaron análogas a las sometidas a prueba en 1955, es decir, aproximadamente con el 20% de ellas se necesitaron de 0,10 u./ml. a 0,20 u./ml. para inhibir su crecimiento. En cambio, en 1959, con alrededor del 30% de las 368 cepas aisladas de pacientes en Charlotte, Carolina del Norte, se requirieron concentraciones similares para inhibir su crecimiento (cuadro No. 1), lo cual significa un aumento del 10% de las concentraciones requeridas para inhibir las cepas aisladas en los cuatro años precedentes.

Un aumento similar de la proporción de cepas de baja susceptibilidad a la penicilina se ha observado en Inglaterra (4, 5), Alemania (6) y Dinamarca (7); en este último país, la variación de sensibilidad ha llegado a ser de hasta 80 veces mayor y en el caso de algunas cepas, se necesitó hasta una unidad para inhibir completamente el crecimiento *in vitro*.

En 1959, se nos enviaron 85 cultivos de gonococos aislados cuyo tratamiento fracasó, para que determináramos su sensibilidad a la penicilina, por Departamentos de salud pública municipales y estatales de California, Georgia, Florida, Illinois, Michigan, Missouri, Carolina del Norte, Ohio, Carolina del

* Del laboratorio Experimental de Enfermedades Venéreas, Centro de Enfermedades Transmisibles, Servicio de Salud Pública de Estados Unidos, Universidad de Carolina del Norte, Chapel Hill, N. C., Estados Unidos.

† Publicado en inglés en el *Bulletin of the World Health Organization*, Vol. 24, No. 3, 1961.

¹ Jefe de Estudios Biológicos, Laboratorio Experimental de Enfermedades Venéreas, Chapel Hill, N. C.; y Profesor Asociado, Departamento de Medicina Experimental, Escuela de Salud Pública, Universidad de Carolina del Norte, Chapel Hill, N. C., Estados Unidos.

² Bacteriólogo.

³ Biólogo.

⁴ Director del Laboratorio Experimental de Enfermedades Venéreas, Chapel Hill, N. C.; y Profesor de Investigaciones y Jefe del Departamento de Medicina Experimental, Escuela de Salud Pública, Universidad de Carolina del Norte, Chapel Hill, N. C., Estados Unidos.

Sur, Texas y Washington. El Laboratorio Experimental de Enfermedades Venéreas ofrece este servicio a cuantos deseen probar o verificar gonococos con respecto a su sensibilidad a la penicilina.

La sensibilidad a la penicilina de estos 85 cultivos aislados de 79 casos en que fracasó el tratamiento, oscilaba entre 0,01 u./ml. y 0,55 u./ml. El cuadro No. 2 indica que, para inhibir completamente su crecimiento *in vitro* el 85% de ellos requirió más de 0,10 u./ml.

Varias de estas cepas de sensibilidad atenuada entraron en Estados Unidos con marineros mercantes y con trabajadores inmigrantes de otros países.

La relación entre la sensibilidad de la cepa gonocócica y el fracaso del tratamiento puede ponerse de manifiesto en algunos casos escogidos tratados con penicilina de acción prolongada.

Bicilina

En el momento de su admisión, 15 pacientes varones, positivos al examen de frotis, fueron tratados con 1,2 megaunidades. Todos los pacientes regresaron a la clínica dentro de un período de 2 a 21 días (media 5,5 días) con hallazgos positivos clínicos y de cultivo. La sensibilidad de las cepas gonocócicas de estos pacientes osciló entre 0,10 u./ml. y 0,30 u./ml. En su mayor parte, los pacientes negaron la reexposición, pero la posibilidad de reinfección no puede excluirse. De los pacientes de este grupo, todos, menos dos de ellos, curaron después con una dosis combinada de 1,2 megaunidades de bicilina y 0,60 megaunidades de PAM.

PAM

Con 5 pacientes tratados con 0,6 megaunidades de PAM, se obtuvieron hallazgos similares a los de los pacientes tratados con bicilina. Los pacientes regresaron a la clínica entre los 4 y los 6 días siguientes. Los gonococos resultaron sensibles a la droga en dosis de 0,10 u./ml. a 0,30 u./ml.

Penicilina con procaína

Cinco pacientes varones tratados con 1,2

megaunidades, regresaron a la clínica dentro

CUADRO No. 1.—*Susceptibilidad a la penicilina de 368 cepas gonocócicas estudiadas en Charlotte, Carolina del Norte, Estados Unidos, 1959.*

Unidades por ml.	Cepas susceptibles	
	No.	%
0,20	2	0,6
0,15	14	3,8
0,10	94	25,5
0,05 ó menos	258	70,1

CUADRO No. 2.—*Susceptibilidad a la penicilina de 85 cultivos de gonococos cuya resistencia a la penicilina se sospechaba, aislados de 79 casos en que fracasó el tratamiento.*

No. de cultivos	Unidades por ml. inhibidoras del crecimiento <i>in vitro</i>
13	≤0,05
16	0,10
12	0,15
19	0,20
10	0,25
13	0,30
1	0,35
1	0,55

de un período de 4 a 10 días, con cultivos positivos. La sensibilidad de la cepa varió entre 0,10 u./ml. y 0,55 u./ml. Dos pacientes mujeres, positivas por cultivo, no respondieron a una dosis total de 3,6 megaunidades, administrada en 3 inyecciones de 1,2 megaunidades cada una durante un período de 4 días. Ambas pacientes resultaron positivas por cultivo 7 días después del último tratamiento. La sensibilidad de ambas cepas gonocócicas fue de 0,20 u./ml.

Los resultados anteriores relativos a la sensibilidad de las cepas tendrían mayor valor si se conocieran los correspondientes índices de fracaso con respecto a la dosis y al tipo de penicilina de acción prolongada utilizados por la clínica que hizo el envío.

SENSIBILIDAD A LOS OTROS
NUEVE ANTIBIOTICOS

En un trabajo anterior de este laboratorio se indicó que los pacientes de blenorragia que manifestaban alergia, no eran tratados con

CUADRO No. 3.—*Susceptibilidad in vitro de los gonococos a nueve antibióticos.*

Antibiótico	No. de cepas	Margen de susceptibilidad (µg./ml.)	Promedio de CIM* (µg./ml.)
Canamicina	83	4,0-12,0	8,30
Leucomicina	76	0,20-1,0	0,55
Cloranfenicol	117	0,25-0,50	0,44
Dextrosulfanidol	73	0,25-0,50	0,28
Clorotetraciclina	56	0,12-0,50	0,26
Oxitetraciclina	70	0,06-0,50	0,19
Tetraciclina	70	0,06-0,25	0,18
Dimetilelorotetraciclina	70	0,03-0,12	0,09
Sinnematina B	54	0,15-1,83	0,98

* Concentración inhibitoria mínima.

penicilina, sino con otros antibióticos (8). Algunas clínicas atienden a un número cada vez mayor de estos pacientes. Además, se observó que se empleaban con fines terapéuticos otros antibióticos cuando el paciente dejaba de responder a dos o más series de penicilina con cura clínica o bacteriológica, o con ambas a la vez.

Como se indicó anteriormente, se ha descubierto que los fracasos clínicos con la terapéutica de la penicilina suelen estar en relación con cepas gonocócicas de baja susceptibilidad a la penicilina (85% en el cuadro No. 2). Otros laboratorios han hecho observaciones similares (5, 7, 9). Teniendo en cuenta el creciente número de estas cepas de reducida sensibilidad a la penicilina y la adversa reacción alérgica de pacientes a la penicilina, es importante determinar la susceptibilidad de las cepas habituales y de las de conocida baja susceptibilidad a la penicilina, con respecto a otros antibióticos y agentes quimioterápicos (8, 10, 11).

La actividad *in vitro* de los antibióticos canamicina, leucomicina, cloranfenicol, dextrosulfanidol (análogo al metilsulfonílico de cloranfenicol), oxitetraciclina, clorotetraciclina, dimetilclorotetraciclina⁵ y sinnematina B,⁶ se puso a prueba con los aisla-

mientos gonocócicos habituales y con cepas procedentes de casos de blenorragia que no respondieron a la penicilino-terapia.

El método de hacer pruebas de susceptibilidad relativas a los mencionados antibióticos y a la penicilina, consiste en añadir concentraciones variables del antibiótico purificado a un agar achocolatado de proteosa y peptona (Difco) y surcar la superficie del agar con un inóculo estandarizado de la cepa gonocócica que se somete a prueba (12). Tras 48 horas de incubación, se observa si hay crecimiento en las placas. La concentración de antibiótico que inhiba por completo el crecimiento visible, da la medida de la susceptibilidad de la cepa.

En el cuadro No. 3 figuran el margen de susceptibilidad y los promedios de concentración inhibitoria mínima (CIM) para las cepas sometidas a prueba.

Los gonococos de baja susceptibilidad a la penicilina fueron tan sensibles a los antibióticos probados—salvo a la sinnematina B—como los gonococos de alta sensibilidad a la penicilina.

La sinnematina B se comprobó con 54 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* de conocida sensibilidad a la penicilina G. Los resultados indican que con 27 cepas gonocócicas de reducida sensibilidad a la penicilina (0,10-0,35 u./ml.) se necesitaron altas concentraciones de sinnematina B para impedir el crecimiento, y que con 27 cepas de mayor sensibilidad a la penicilina (0,005-0,05 u./ml.) se requirieron bajas concentraciones de sinnematina B.

La sinnematina B sólo difiere de la penicilina G por la substitución del radicalencil-metileno por la mitad D-4-amino-4-carboxil-n-butilo. A esta diferencia de estructura química se debe que la sinnematina B no sea reactiva cuando se inyecta en la piel de sujetos sensibles, activa o pasivamente, a la penicilina (13). Recientemente se ha comunicado el éxito del tratamiento de casos varones de blenorragia aguda mediante esta droga (14, 15).

El tiempo requerido por la canamicina, leucomicina, dextrosulfanidol, tetraciclina y dimetilelorotetraciclina para esterilizar los

⁵ Suministrada por el Dr. J. A. McMillen, Laboratorios Lederle, Nueva York, Estados Unidos.

⁶ Suministrada por el Dr. W. D. Henderson, División de Laboratorios, Departamento de Salud del Estado de Michigan, Estados Unidos.

caldos de cultivo, varió según la cepa de gonococos. Empleando concentraciones de antibióticos dobles de la dosis inhibitoria mínima de las cepas probadas, la destrucción empezó dentro de un plazo de 12 horas, pero a veces se necesitaron hasta 48 horas para esterilizar el cultivo. Han ocurrido fracasos clínicos con algunos pacientes tratados, por un período menor de 2 días, con la mayoría de las drogas notificadas anteriormente.

Mediante la dosificación adecuada de los antibióticos objeto de esta comunicación, pueden establecerse y mantenerse fácilmente las concentraciones en la sangre que excedan de la concentración inhibitoria mínima de la mayoría de las cepas gonocócicas resistentes sometidas a prueba.

OBSERVACIONES

En la actualidad, no es posible comparar la sensibilidad de los gonococos hallada por un autor con la hallada por otros. Esto se debe a la falta de un método común de prueba de sensibilidad; los métodos actuales son tantos como el número de autores que llevan a cabo la prueba. Es de apremiante necesidad la adopción de un método uniforme internacional de prueba de sensibilidad de gonococos que permita la comparación entre laboratorios y la vigilancia de la resistencia gonocócica en el estudio mundial de la blenorragia.

Se pueden mencionar los siguientes factores de las variaciones de la concentración inhibitoria mínima de una determinada cepa gonocócica dentro de un método de prueba prefijado: el medio puede no resultar conveniente para el desarrollo de cepas gonocócicas de crecimiento difícil a partir de un escaso número de gonococos; diferentes partidas de peptonas comerciales contienen sustancias tóxicas que refuerzan el efecto inhibitorio del crecimiento de la penicilina; algunos medios contienen sustancias que se combinan en exceso con la penicilina o la destruyen.

La sensibilidad del método de prueba depende del número de gonococos en el inóculo. Todas las cepas desconocidas y de con-

trol debieran estandarizarse en cuanto a su densidad.

El aumento de la concentración de penicilina más allá del margen probado no debe ser demasiado grande, pues se podría obtener una falsa impresión de sensibilidad gonocócica, especialmente en el margen superior, si llega a duplicarse dicha concentración. Desde luego, sólo debe emplearse penicilina G normal de potencia conocida, ya que las drogas inyectables comerciales pueden variar grandemente.

Los factores del propio medio de variaciones de sensibilidad, se pueden descubrir fácilmente utilizando en el ensayo diario de ésta dos cultivos de control, por ejemplo, una cepa de gonococos de reducida sensibilidad a la penicilina y *Sarcina lutea*, que es altamente sensible a la penicilina. Un grado de variación en el punto final de estos cultivos que exceda dos desviaciones estándar, indicará el fracaso del método de la prueba de ese día.

En el cuadro No. 2 se observará que se habían supuesto "resistentes" el 15% de las cepas aisladas de casos en que había fracasado el tratamiento, si bien, en realidad, resultaron sensibles en alto grado, pues para inhibir su crecimiento sólo se necesitaron 0,05 u./ml. o menos. Si bien algunas de estas cepas podían proceder de pacientes reinfectedos por exposición sexual durante el período de observación consecutivo, entrevistas llevadas con todo cuidado negaron tales reexposiciones. La vuelta de estos pacientes a la clínica antes de 5 días, como máximo, tiende a reforzar el diagnóstico de recaída, más bien que el de reinfección.

A fin de comprender por qué fracasó una dosificación que se creía adecuada para la cura de infecciones gonocócicas debidas a cepas sensibles en alto grado a la penicilina, o, a la inversa, para entender la satisfactoria curación de pacientes infectados por cepas relativamente "resistentes", es preciso examinar otros factores, además de la susceptibilidad de la cepa gonocócica. El estudio de la relación de ciertos factores del huésped con la droga y con el parásito, puede arrojar luz sobre estas anómalas observaciones.

Tal vez el factor más importante del huésped que contribuye a explicar los anteriores hallazgos, es la manera y el grado en que los pacientes sometidos a tratamiento adquieren concentración de penicilina en la sangre y en los tejidos.

Las penicilinas de acción prolongada se elaboraron para obtener una absorción lenta y continua que mantuviera su concentración en la sangre muy por encima del índice de su excreción. Pero el grado de concentración de tales penicilinas en la sangre de cada paciente es muy variable. Se pueden mencionar dos ejemplos de dicha variación individual de los pacientes a la inyección de penicilina procaína G en monoestearato de aluminio y aceite (PAM) y de penicilina benzatina G (bicilina).

Thayer, Field, Magnuson y Garson (16) notificaron la concentración media de 98 pacientes tratados con 0,60 megaunidades de PAM, que fue de 0,20 u./ml. Sin embargo, el examen del nivel sanguíneo de pacientes individuales a las 24 horas mostró que 1% de ellos arrojaba niveles por debajo de 0,03 u./ml., y 9%, por debajo de 0,10 u./ml. En el otro extremo, 7% tenían concentración por encima de 0,40 u./ml. El segundo ejemplo se refiere al trabajo de Wright y colaboradores (17), quienes inyectaron a sujetos 1,2 megaunidades de penicilina benzatina. En este caso, la concentración media de 21 pacientes resultó ser 0,10 u./ml. Sin embargo, el estudio de la respuesta de pacientes individuales a las 24 horas mostró gran variabilidad; 2,6% de los casos no acusó nivel perceptible, 11% presentaron concentración por debajo de 0,05 u./ml. y otros 2,6% tenían concentración por encima de 0,40 u./ml. Además, la inyección de 2,5 megaunidades de penicilina benzatina a 9 pacientes dio una variabilidad parecida de nivel en la sangre (18).

Teniendo en cuenta que los gonococos sobreviven y se multiplican a un nivel de penicilina inferior a la concentración inhibitoria mínima, se echa de ver que ello puede ocurrir a pacientes cuyo grado de concentración de

penicilina en la sangre sea bajo en exceso. Podría así haber fracaso terapéutico si otros factores de resistencia del huésped no entraran en juego. De modo similar, puede ocurrir que una cepa gonocócica relativamente "resistente" a la penicilina, sucumba fácilmente a la concentración en extremo elevada que adquieran algunos pacientes, lo cual da lugar al éxito de la terapéutica.

Otro factor del huésped que en ocasiones puede militar contra la idoneidad del tratamiento, en particular en casos femeninos, es la incapacidad de la penicilina de destruir gonococos que se han fagocitadas por células de tejidos fijas (19, 20).

Aunque la penicilina sigue siendo la droga indicada para el tratamiento de la blenorragia, los problemas planteados por el creciente número de pacientes alérgicos y la progresiva disminución de susceptibilidad de los gonococos, obligan al clínico a no perder de vista la posibilidad de recurrir a otros antibióticos para el control de esta enfermedad.

RESUMEN

Los autores dan cuenta de un estudio de la actividad *in vitro*, contra aislamientos habituales de gonococos y sus cepas procedentes de casos de blenorragia cuyo tratamiento con la penicilina fracasó, de los antibióticos siguientes: canamicina, leucomicina, cloranfenicol, dextrosulfanidol, oxitetraciclina, clorotetraciclina, tetraciclina, dimetilclorotetraciclina y sinnematina B. Se descubrió que las cepas de baja susceptibilidad a la penicilina eran tan sensibles a estos antibióticos—salvo a la sinnematina B—como las cepas de elevada sensibilidad a la penicilina.

Se subraya la necesidad de establecer con carácter internacional un método estándar de pruebas de sensibilidad gonocócica; con él sería posible lo que a menudo no lo es en la actualidad: comparar los resultados obtenidos en diferentes laboratorios.

También se estudia la relación entre la respuesta al tratamiento y el grado en que se acumula penicilina en la sangre y tejidos de los pacientes

REFERENCIAS

- (1) Lankford, C. E.: *Am. Jour. Syph.*, 29:56, 1945.
- (2) Romansky, M. J.: *Am. Jour. Med.*, 1:395, 1946.
- (3) Love, B. D., y Finland, M.: *Arch. Intern. Med.*, 95:66, 1955.
- (4) Cradock-Watson, J. E., Shooter, R. A., y Nicol, C. S.: *Brit. Med. Jour.*, 1:1091, 1958.
- (5) Curtis, F. R., y Wilkinson, A. E.: *Brit. Jour. Vener. Dis.*, 34:70, 1958.
- (6) Schummer, H., y Hubbes, A.: *Hautarzt*, 2:500, 1951.
- (7) Reyn, A.; Korner, B., y Bentzon, M. W.: *Brit. Jour. Vener. Dis.*, 34:227, 1958.
- (8) Thayer, J. D.; Perry, M. I.; Field, F. W., y Garson, W.: *Antibiot. Ann.*, pág. 477, 1959-60.
- (9) Willecox, R. R.: *Practitioner*, 182:328, 1959.
- (10) Thayer, J. D.; Field, F. W., y Garson, W.: *Antibiot. & Chemother.*, 9:176, 1959.
- (11) Hirsch, H. A.; Finland, M., y Wilcox, C.: *Am. Jour. Med. Sci.* 239:41, 1960.
- (12) United States Public Health Service, Division of Special Health Services: *Gonococcus: isolation and identification procedures*, Washington, D. C. (US Public Health Service Publication No. 499), 1956.
- (13) Berryman, G. H., y Sylvester, J. C., *Antibiot. Ann.*, 1959-60, pág. 521.
- (14) Schwimmer, B., y Henderson, N. D.: *Brit. Jour. Vener. Dis.*, 35:258, 1959.
- (15) Henderson, N. D.; Schwimmer, B., y Olson, B. H.: *Treatment of gonorrhoea in males with synnematin B* (Trabajo leído ante el 11º Simposio Anual sobre Progresos Recientes en el Estudio de las Enfermedades Venéreas, Chicago, Ill., abril de 1960).
- (16) Thayer, J. D.; Field, F. W.; Magnuson, H. J., y Garson, W., *Antibiot. & Chemother.*, 7:306, 1957.
- (17) Wright, W. W.; Welch, H.; Wilner, J., y Roberts, E. F.: *Antibiot. Med.*, 6:235, 1959.
- (18) Elias, W.; Price, A. H., y Merrion, H. J., *Antibiot. & Chemother.*, 1:491, 1951.
- (19) Thayer, J. D.; Perry, M. I., Magnuson, H. J., y Garson, W.: *Antibiot. & Chemother.*, 7:311, 1957.
- (20) Thayer, J. D.; Perry, M. I.; Field, F. W., y Garson, W.: *Antibiot. Ann.*, 1956-57, pág. 513.