

# EVALUACION DE LA TERAPEUTICA ANTIBIOTICA A LARGO PLAZO EN LA BRUCELOSIS EXPERIMENTAL\*

G. MARY BRADLEY, M.B., B.S., y WESLEY W. SPINK, M.D.

Del Centro de Brucelosis de la OMS/FAO, Escuela de Medicina de la Universidad de Minnesota, Minneapolis, Minnesota, Estados Unidos

Se admite generalmente que la terapéutica antibiótica de la brucelosis humana es eficaz. El procedimiento terapéutico normal consiste en administrar un antibiótico de amplio espectro, por ejemplo, la tetraciclina en dosis orales de 2 g. durante un período de 21 a 28 días, con o sin estreptomycinina o dihidroestreptomycinina. Aunque los pacientes más graves mejorarán con este régimen, un considerable número de ellos tendrán recaídas, en especial los infectados con *Brucella melitensis*. Estudios hechos en nuestra clínica han mostrado que dichas recaídas no se deben a la aparición de brucelas resistentes a los antibióticos. Un factor que contribuye a la persistencia de brucelas en los tejidos es su emplazamiento intracelular en puntos protegidos contra las drogas antibrucélicas. A este respecto, la brucelosis es análoga a la tuberculosis. Otro punto de semejanza entre ambas es un estado crónico de enfermedad, con un tipo granulomatoso de reacción tisular. Tanto en la brucelosis, como en la tuberculosis, es posible conseguir resultados terapéuticos más favorables si el período de medicación antibiótica se prolonga. Con el objeto de corroborar este objetivo, se ideó un modelo experimental de brucelosis que sirviera para evaluar diversos antibióticos y para estudiar los efectos terapéuticos a largo plazo de la tetraciclina.

## METODOS DE ESTUDIO

Durante varios años se ha utilizado en este laboratorio una población de ratones, genéticamente estable, para llevar a cabo estudios sobre brucelosis. En el presente estudio, ratones hembra ABC, de peso entre 18 y 20 g., fueron infectados fácilmente, por vía intraperitoneal, con 50.000 brucelas de la cepa de *Br. melitensis* No. 368, sensible a los antibióticos y aislada por primera vez

de la sangre de un paciente humano. El tratamiento con antibióticos no se inició hasta cuatro semanas después de la infección. Para entonces, las brucelas se habían localizado intracelularmente; se podía evidenciar que había granulomas en el hígado, y del bazo se podían extraer fácilmente brucelas. El estudio terapéutico de más importancia se hizo con clorhidrato de tetraciclina (Lederle), aunque también se hicieron observaciones de corta duración con estreptomycinina (acompañada o no de tetraciclina), eritromycinina, novobiocina y cicloserina. Los ratones se alimentaron con una dieta normal de "Purina Chow" (Ralston Co., Minnesota), bien en forma de píldoras, o, cuando iba mezclada con antibióticos, de harina. Un ratón de 20 g. consumía una ración de unos 5 g. diarios. La tetraciclina se mezclaba con la comida de forma que el ratón obtuviera 60 mg./Kg. por día.

Grupos de ratones, normalmente de 10 cada uno, fueron tratados con tetraciclina durante períodos variables. Tres grupos recibieron tratamiento por uno, tres y seis meses, respectivamente; otros grupos fueron tratados de modo intermitente, es decir, lo fueron durante un mes, entonces se interrumpió la terapia por tres meses y a continuación se reanudó el tratamiento durante otro mes.

Se sacrificaron grupos de 10 ratones a intervalos mensuales y se les extrajo sangre del corazón para ver si contenía aglutininas de brucelas. Se molieron los bazo en solución salina y luego se extendió una capa de la substancia resultante sobre un platillo con agar Albimi de brucela. Al término del estudio se hizo la autopsia completa de todos los ratones supervivientes. Se hicieron cultivos de brucelas en hígado, riñón, pulmón y bazo, y estudios histológicos de hígado, riñón y pulmón.

\* Documento WHO/Bruc/198, enero 15, 1959.

RESULTADOS

*Tetraciclina*

El cuadro No. 1 indica el porcentaje de bazos con brucelas al sacrificar los ratones a intervalos mensuales. Debe hacerse notar que, después de un mes de tratamiento, el número de colonias de brucelas aisladas de los bazos fue menor; asimismo, en el período comprendido entre 8 y 12 semanas descendió rápidamente el recuento de colonias de los grupos no sometidos a tratamiento. Las cifras subrayadas representan recuentos elevados de colonias de la magnitud de  $7 \times 10^4$  a  $1 \times 10^5$ . Tras un mes de tratamiento, y el transcurso de otro mes sin tratamiento, o sea, 12 semanas después de la infección, el número de colonias de brucelas en la mayoría de los bazos variaba de  $10$  a  $8 \times 10^2$  colonias por bazo. En todos los grupos, tan sólo algún ratón que otro tuvo recuentos más altos de colonia obtenidas del bazo.

Uno de los hallazgos más significativos en favor de la terapia con tetraciclina tuvo lugar en los grupos de ratones tratados al comienzo del curso de sus infecciones. En los ratones de control no tratados, las brucelas se multiplicaron de 4 a 8 semanas después de la infección, pero en los grupos sometidos a tratamiento, todos los recuentos de colonias fueron bajos, aun cuando todos los bazos de dos grupos contenían brucelas. No se obtuvieron brucelas de los bazos de uno de los grupos tratados.

Doce semanas después de la infección no había diferencias bacteriológicas de significación estadística entre los que fueron tratados durante un mes y los que no recibieron

tratamiento. De 28 a 32 semanas después de la infección hubo en cada uno de estos grupos un incremento del número de bazos positivos o con colonias, seguido de nuevo por un descenso del número de microorganismos.

Se obtuvieron resultados terapéuticos ligeramente mejores en ratones tratados durante períodos más largos. Los tratados durante 6 meses consecutivos tuvieron bazos estériles durante los 3 últimos meses de tratamiento, pero 4 semanas después de la terminación del tratamiento se extrajeron de 1 a  $4 \times 10^3$  microorganismos de los ratones. Esto coincidió con la "recaída" observada en los ratones de control no tratados, pero podría también estar relacionado con la falta o cese de la droga. Después de este período hubo un descenso del número de cultivos positivos de los bazos.

Los ratones tratados de un modo intermitente, es decir, durante un mes y luego dejados sin tratamiento durante 3 meses para, a renglón seguido, tratarlos durante otro mes, acusaron aproximadamente los mismos resultados que los ratones sometidos a tratamiento prolongado sin interrupción.

Los grupos de ratones cuyo tratamiento se inició en el momento de la infección, tenían todos brucelas en el bazo a las 4 semanas de tratamiento, pero los recuentos de colonias, de 1 a  $8 \times 10^2$ , fueron bajos en comparación con los recuentos, de  $10^4$  a  $10^5$ , de los grupos de control no tratados. Es interesante que el tamaño del bazo de los ratones al cabo de 4 semanas de tratamiento, fuera un tercio del de los ratones no tratados.

Al concluir el estudio, los cultivos de bru-

CUADRO NO. 1.—Porcentaje de cultivos de bazo positivos de ratones infectados con *Brucella melitensis* y tratados con clorhidrato de tetraciclina (60 mg./Kg. diarios por vía oral).

Duración del tratamiento	Semanas transcurridas después de la infección									
	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
Controles no tratados.....	100	100	100	70	30	40	30	70	60	33
un mes.....		90	60	40	20	40	40	40	20	40
tres meses.....		100	80	40	20	0		20		20
seis meses.....		100	20	20	0	0	0	50	20	0
intermitente*.....		60	100	80	80	0	20	0		20

\* Un mes de tratamiento, tres meses de intervalo y otro mes de tratamiento.

celas en hígado, pulmón y riñón fueron todos estériles.

Las secciones histológicas de hígado indicaron que el de los ratones tratados contenía menos granulomas; éstos eran, además, pequeños y compactos. Hubo mayor número de lesiones en el hígado de los ratones de los grupos no tratados, y en un 20 % aparecieron infiltraciones linfocíticas por todo el parénquima. Hubo poca diferencia entre el número de lesiones de los ratones tratados con arreglo a planes de dosis variable. Resultó que la fase inicial del tratamiento determinó el número de lesiones hepáticas aparecidas en un período posterior. No se vieron lesiones en el hígado de 3 de los 9 ratones que recibieron tratamiento de 4 semanas desde el primer día de la infección y que fueron luego sacrificados. Los otros 6 ratones tenían tan sólo alguna pequeña lesión aislada en alguna que otra sección de hígado. En cambio, sólo un ratón de entre los 10 que no recibieron tratamiento mostraba una sección de hígado sin lesión alguna. Cuatro de los ratones restantes tenían pequeños granulomas hepáticos, mientras que los otros 5 presentaban lesiones mayores.

Los ratones tenían buen aspecto y ganaron peso durante el curso del experimento. No parece que los diversos esquemas de tratamiento alteraran el comportamiento o la nutrición de los animales. Los títulos de aglutininas de brucelas no se alteraron por un tratamiento prolongado de tetraciclina.

#### *Otros antibióticos*

En estudios a corto plazo se exploraron otros antibióticos. El procedimiento fue similar al de los estudios anteriores. Se infectó a los ratones y, tras un período de espera de 4 semanas, se les sometió a tratamiento de 3 a 4 semanas. Al término de este período, los ratones fueron sacrificados y se hicieron cultivos cuantitativos de sus bazos.

No produjo efectos terapéuticos la estreptomycin empleada como droga única en inyecciones diarias durante 3 semanas. Cuando, además de las inyecciones diarias de estreptomycin, se alimentó simultáneamente a los ratones con tetraciclina por un

período de tiempo similar, los resultados obtenidos con la combinación de antibióticos no fueron mejores que los conseguidos con la tetraciclina a secas. No pudimos confirmar anteriores estudios hechos en este laboratorio según los cuales la combinación de estreptomycin y clorotetraciclina (aureomicina) daba mejores resultados que la clorotetraciclina sola.\*

La eritromicina, la novobiocina y la cicloserina resultaron ineficaces al ser administradas a ratones, por vía oral, durante 4 semanas.

#### OBSERVACIONES

Hay que tomar considerables precauciones al extrapolar los resultados obtenidos con animales de experimentación a aplicaciones terapéuticas en el hombre. Sin embargo, los resultados que anteceden sirven para confirmar ciertas observaciones hechas sobre la terapéutica de la brucelosis humana. La acción del grupo de antibióticos de la tetraciclina sobre las brucelas parece ser más supresiva que destructiva. Con estas drogas la infección se domina, pero no se elimina. Las recaídas entre los animales experimentales y en el hombre, no se deben a la aparición de brucelas resistentes a los antibióticos. En los presentes estudios, los mejores resultados terapéuticos se obtuvieron en aquellos animales que fueron tratados por un largo período o que recibieron tratamiento intermitente. A falta de drogas más eficaces, se sugiere la iniciación de ensayos terapéuticos en pacientes humanos infectados con *Br. melitensis*, con la administración continua de tetraciclina durante 3 meses. Otra sugerencia es la de tratar a los pacientes con tetraciclina durante un mes y, tras un intervalo de 1 a 3 meses, volver al tratamiento con tetraciclina durante otro mes, sin tener en cuenta el estado clínico del paciente. Incluso los pacientes que se encuentran bien y con buen aspecto después del primer mes de tratamiento, deben someterse a un segundo período de tratamiento, a fin de evitar recaídas.

\* Shaffer, Kucera, y Spink: *Jour. Immunol.*, 70: 31, 1953.