

## Antagonismo entre la Penicilina y la Aureomicina Frente al *Diplococcus pneumoniae*, Tipo I-8045. Observaciones In Vitro.

J. V. SCORZA, L. M. SERPA SANABRIA y  
L. S. JORDAN

*Escuela de Ciencias.  
Facultad de Ciencias Matemáticas y Naturales.  
Universidad Central de Venezuela.*

Al lado de las investigaciones realizadas sobre la acción sinérgica entre dos antibióticos frente a determinados gérmenes, numerosas han sido las aportaciones en los últimos cuatro años sobre el antagonismo entre antibióticos.

En 1950 se demuestra que el cloramfenicol puede interferir *in vitro* la acción de la penicilina frente a estreptococos aislados de ratones (1, 2). Asimismo, se ha demostrado la interferencia *in vitro* de la acción de la aureomicina y terramicina junto con la penicilina cuando son enfrentadas a enterococos (3).

Se ha demostrado también (4) la efectividad de la aureomicina como tratamiento curativo en casos de neumonías neumocócicas; en efecto, Goeke y colaboradores han tratado 31 pacientes en el Boston City Hospital obteniendo resultados positivos en todos los casos, incluyendo la desaparición total de los neumococos en los esputos. Las dos terceras partes de

estos pacientes presentaron neumonías a neumococos de los tipos I al VIII, excluyendo el VI.

Recientemente, Leeper y Dowling (5) tratan 43 pacientes con meningitis neumocócica utilizando penicilina parenteral masiva y obteniendo éxito en el 70% de los casos; el resto, 13 pacientes (30%) murieron antes en las 48 horas a pesar del tratamiento. Catorce pacientes similares fueron tratados con las mismas dosis de penicilina más una fuerte dosis de aureomicina, muriendo 11 de los pacientes tratados (79%).

Catorce de los pacientes tratados con penicilina fueron tratados alternativamente con aureomicina, obteniéndose, en este grupo testigo, un 21% de defunciones. Concluyen los citados autores sospechando que la acción de la penicilina es interferida, *in vivo* por la acción de la aureomicina, considerando que

estos antibióticos. en los casos de meningitis neumocócica, se antagonizan.

El objeto de este trabajo ha sido el de estudiar tal posibilidad de interferencia. utilizando los procedimientos que Gunnison (4) y Jawetz (2) han seguido en estudios análogos haciendo nosotros, desde luego, las modificaciones necesarias que específicamente pueden aplicarse al estudio de *D. pneumoniae*.

**Organismos y medios**

Hemos utilizado una cepa de *D. pneumoniae* tipo I-8045, mantenida por pases, cada cuatro días, en cuñas de extracto de cerebro y corazón Difco reforzado con 1,7% de agar y 5% de sangre desfibrinada de conejo a temperatura de 37° C.

Las bacterias para inóculo fueron obtenidas en caldo nutritivo con sangre desfibrinada de carnero al 2% y cosechada entre las 18 y 36 horas de incubación a 37° C. El desarrollo en los platos se hizo en extracto de cerebro-corazón con agar al 1,5% y un 10% de sangre desfibrinada de conejo. Se utilizó como inóculo 1,0 cc. de la semilla o de sus diluciones en solución salina al 0,85%.

**Antibióticos**

Se utilizaron soluciones de Penicilina G. potásica Chas. Pfizer & Co. lote EKD 510373 en solución isotónica; Clorhidrato de Aureomicina Lederle del lote 4425-336 disuelta igualmente en solución salina al 0,85%. Cada antibiótico fué disuelto 10 minutos antes de comenzar la experiencia y el resto de las soluciones sobrantes fué desechado.

**Método**

a) Estudio de la posible interferencia de la acción bacteriostática.

Se prepararon soluciones de penicilina de 6,0 u gr. y 12 ugr. y soluciones de aureomicina 10 ugr. y 20 ugr. por c.c. respectivamente que fueron enfrentadas a neumococos en platos de fondo plano de 9 cms. de diámetro y especiales para aforo de substancias antibióticas con 10 c.c. de agar-extracto de cerebro-corazón con 1,0% de sangre desfibrinada de conejo, utilizando la técnica de estimación por medio de penicilindros especiales de altura y diámetro uniformes, y de acero inoxidable. Los platos fueron incubados a 37°C. durante 24 horas al cabo de las cuales fueron medidas las zonas de inhibición. Para estimar la potencia se empleó un cultivo de neumococos cosechados en caldo nutritivo con sangre desfibrinada de cordero al 2,0% que había sido incubado a 37°C. durante 30 horas. Las lecturas se hicieron en 10 platos, cada uno con cuatro penicilindros llenados así: uno con solución de penicilina en solución isotónica de 6 ugr./c.c.; otro con solución de aureomicina en solución isotónica con 10 ugr./c.c.; otro con una mezcla de penicilina de 12 ugr./c.c. y aureomicina de 20 ugr./c.c. de modo que en cada centimetro cúbico hubiera 6 ugr. de penicilina y 10 ugr. de aureomicina; finalmente, un cuarto penicilindro recibió únicamente solución isotónica.

b) Estudio de la acción bacteriolítica de penicilina, de la aureomicina y de la combinación penicilina-aureomicina.

Se tomó un inóculo de 5.000 células de cultivo y se agregó a 50 c.c. de caldo triplosado con sangre de cordero al 2,0%, incubándose a 37°C. Cada 20 minutos se extrajo 1,0 c.c. del cultivo y se determinó el número de sus células mediante el volcamiento serial en platos hasta obtener 10<sup>8</sup> a 10<sup>9</sup> células por c.c.

Un centimetro cúbico de este cultivo fué suspendido en 20 c.c. de solución salina al 0,85%, agregándose 1 c.c. de una solución de penicilina de 6 ugr./c.c.; otro centimetro cúbico fué suspendido en 20 c.c. de solución salina junto con 1 c.c. de solución de aureomicina de 10 ugr./c.c.; otro centimetro cúbico fué agregado a 20 c.c. de solución salina junto con 1 c.c. de solución de penicilina de 6 ugr./c.c. y un c.c. de solución de aureomicina de 10 ugr./c.c.; finalmente, otro tubo con 20 c.c. de solución salina recibió tan sólo 1 c.c. de inóculo bacterial y sirvió como testigo.

Incubados los cuatro sistemas a 37°C., periódicamente les fueron extraídos a cada uno, 1,0 c.c. de la suspensión y partes alicuotas de los antibióticos, preparándose con ellos diluciones seriadas de 1: 10, 1: 1.000, 1: 100.000 y 1: 10.000.000 volcándose 1,0 c.c. de estas diluciones en platos para el recuento de las células viables. Los volcamientos, por quintuplicado, se hicieron hasta el doble del tiempo empleado por la penicilina para lisar todos los gérmenes de la suspensión.

c) Comparación de la dosis mínima letal de la penicilina, de la aureomicina y de la combinación penicilina-aureomicina frente al *D. pneumoniae* tipo 1.

Se determinó el punto final de la penicilina y de la aureomicina separadamente utilizando la técnica de Waskman, es decir, volcando platos con 10 c.c. de agar-extracto de cerebro-corazón con 5% de sangre desfibrinada de conejos sobre diluciones seriadas de estos antibióticos comenzando con 1 gamma hasta 50 gammas; dejando endurecer el agar, se hicieron sobre cada dilución en cada plato, 4 estrias de cuatro milímetros de anchura con neumococos cultivados durante 18 horas en caldo nutritivo con sangre de cordero al 2% para considerar, como punto final de cada antibiótico, la menor concentración que impidiera el desarrollo parcial de los gérmenes. Una vez calculado el punto final para cada antibiótico se volcaron 10 platos con el medio ya mencionado sobre las concentraciones equivalentes a los puntos finales de los dos antibióticos dentro de un mismo plato y se hicieron cuatro estrias con los gérmenes cultivados en las mismas condiciones.

**Resultados**

a) La estimación de la potencia bacteriostática de 6 ugr. de penicilina, de 10 ugr. de aureomicina y de 6 ugr. de penicilina más 10 ugr. de aureomicina se expresa en el siguiente cuadro:

*Diámetros en mms. de las áreas de inhibición producidas*

Antibióticos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Prom.
Penicil. 6 ugr.	16	16	17	17	17	17	17	18	18	19	17,3
Aureom. 10 ugr.	24	26	26	27	27	27	29	28	29	26	26,9
Penicil. 6 ugr. y Aureomicina, 10 ugr.	20	20	21	21	22	24	24	25	26	21	22,4

Los promedios de estos diámetros, corresponden, expresados en milímetros cuadrados, a las siguientes áreas:

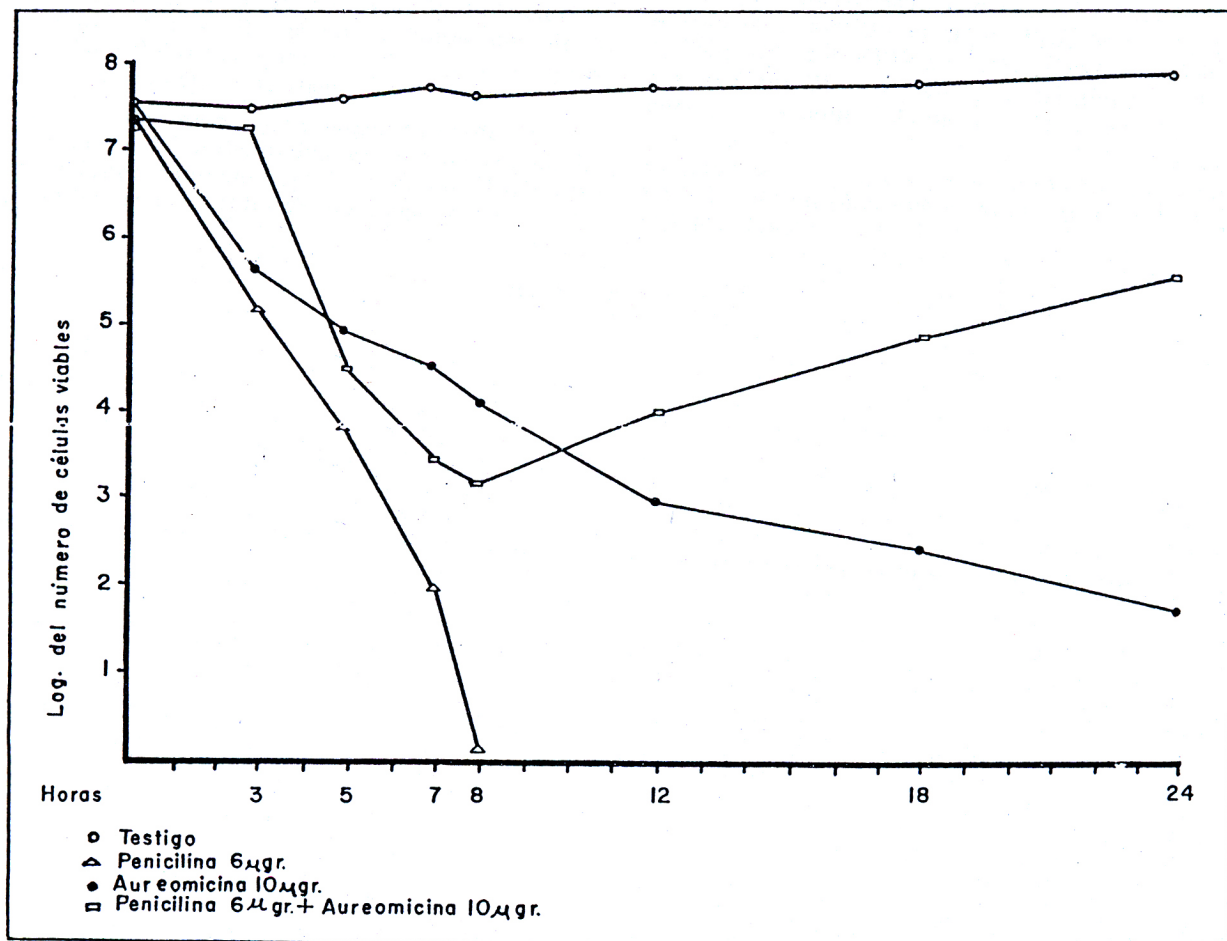
Penicilina, 6 ugr.:	234,44 mms <sup>2</sup> .
Aureomicina, 10 ugr.:	536,64 mms <sup>2</sup> .
Penicilina, 6 ugr. y Aureomicina, 10 ugr.:	490,62 mms <sup>2</sup> .

b) Los resultados obtenidos por acción de la penicilina, de la aureomicina y de la penicilina-aureomicina frente a una masa microbiana representada por una cifra oscilante entre 40 y 60 millones de células neumocócicas, puede representarse por el siguiente gráfico:

fiesta de modo ostensible y en grado tal que su efecto es el promedio aritmético de sus acciones separadas.

4.—A partir de la quinta hora el poder bacteriolítico de la mezcla penicilina-aureomicina se va perdiendo progresivamente y se extingue totalmente a las 8 horas de exposición.

c) El punto final de la penicilina utilizada para el *D. pneumoniae* tipo I-8045 es de 32 ugr. por platos de Petri con 10 c.c. de agar-extracto de cerebro-corazón más 5% de sangre desfibrinada de conejo a 37°C durante 24 horas. El punto final de la aureomicina para la misma bacteria y en las mismas condiciones, fué de 2 ugr. en 10 c.c. del medio sólido.



En este gráfico pueden apreciarse cuatro puntos críticos:

1.—Durante las tres primeras horas la penicilina y la aureomicina separadamente, ejercen una acción efectiva sobre los gérmenes, lo cual no se observa en el caso de la combinación penicilina-aureomicina.

2.—A partir de las tres primeras horas, la penicilina y la aureomicina por acción separada, actúan casi paralelamente durante dos horas o más.

3.—Entre la tercera y la quinta hora, la acción bacteriolítica del par penicilina-aureomicina se mani-

Sumando en 10 c.c. del medio sólido 32 ugr. en penicilina y 2 ugr. de aureomicina, la potencia bacteriostática conjunta de estos dos antibióticos no fué suficiente para evitar el desarrollo de las estrias hechas con neumococos en 10 platos a razón de 4 estrias por cada plato.

#### Conclusiones

Los resultados obtenidos permiten concluir:

1º Que la acción bacteriostática de la aureomicina frente a *D. pneumoniae* tipo I-8054 es más potente que

su equivalente en penicilina y que dicho efecto es interferido por esta última hasta el grado de notarse una reducción de 46,02 mms<sup>2</sup>. de acción inhibitoria en la aureomicina, cifra que corresponde a una reducción de potencia equivalente al 8,5%.

2º Que la acción bacteriolítica de la penicilina, la cual alcanza su mayor grado al cabo de 8 horas, es tres veces más poderosa que la de la aureomicina en equivalente concentración, la cual alcanza dicho nivel al cabo de 30 horas.

3º Que actuando conjuntamente la penicilina y la aureomicina hasta el grado de alejar la extinción de los neumococos más allá de las 72 horas, cuando se autolisan las células bacterianas en la misma forma en que lo hacen las células testigos.

4º Que existe una acción antagónica evidente entre la penicilina y la aureomicina cuando se suman las concentraciones equivalentes a los puntos finales ya que permiten el desarrollo de los neumococos.

#### Referencias

1. Jawetz, E., Gunnison, J. B. and Coeman, V. N. The combined action of Penicillin with Streptomycin or Chloromycetin on Enterococci *in vitro*. Science. III: 254 (1950). — 2. Jawetz, E. and Speck, R. S. - Joint action of Penicillin with Chloramphenicol on an Experimental Streptococcal Infection of Mice. Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med. 74: 93 (1950). — 3. Gunnison, J. B., Coleman, V. R. and Jawetz, E. - Interference of Aureomycin and the Terramycin with the Action of Penicillin *in vitro*. Proc Soc. Exptl. Biol. & Med. 75: 549 (1950). — 4. Gocke, T., Collins, H. and Finland M. - Aureomycin treatment of Pneumococic Pneumonia. Arch. Int. Med. 84: 857 (1949). — 5. Leeper, M., and Dowling, H. - Treatment of Pneumococic Meningitis with Penicillin Combined with Penicillin plus Aureomycin. Arch. Int. Med. 88: 489-494 (1951).