

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS QUIMICAS

*E*studio Comparativo de los Diferentes  
Métodos Biológicos de Determinación  
de Potencialidad de la Penicilina,

*T E S I S*

Que para su Examen Profesional de  
Químico Farmacéutico Biólogo presenta

la Señorita

Celia Calderón Rodríguez

MCMXLVI



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*A mi padre:*

*Sr. Saúl Calderón*

*Justo tributo de mi gratitud y amor filial.*

*A mi madre:*

*Sra. Ana Ma. R. de Calderón*

*Con cariño, en humilde homenaje a sus desvelos.*

*Julio*

*Alexandro*

*Con el afecto que siempre nos une*

*A mis queridos hermanos:*

*Saúl,*

*Eberth,*

*Anita,*

*Judy,*

*Alejandro*

*Con el afecto que siempre nos une.*

A LOS C. C. MIEMBROS  
DEL H. JURADO

*Con profundo agradecimiento  
para todos mis maestros.*

EL SUPLENTE

## A LOS C. C. MIEMBROS DEL H. JURADO:

En ésta ocasión trascendental en mi vida, presento a la recta y docta consideración de Uds. el presente Trabajo.

Es indudable que se me encuentren errores, pero si los hay, son inconcientes.

Este trabajo es producto de intenso y arduo esfuerzo con la satisfacción propia del que ha cumplido con su deber, hecho con la esperanza de poner un grano de arena en el conocimiento de los antibióticos.

Espero pues Sres. Jurados su benevolencia en la réplica de este trabajo en el que están cifradas mis esperanzas.

A Uds. Sres. Jurados va también va dedicado con la estimación y afecto que merecen quienes cierran una etapa de mi vida.

EL SUSTENTANTE.

## CAPITULO I.

# HISTORIA.

*Generalidades.* — Uno de los problemas de mayor trascendencia, ha sido siempre el del tratamiento de las enfermedades infecciosas, sobre todo las producidas por los gérmenes que se habían mostrado resistentes a las drogas más potentes con que se contaba hasta hace todavía muy pocos años,

Sabemos perfectamente que los productos que la ciencia química había puesto a la disposición de la ciencia médica para el tratamiento de dichas enfermedades, por medio de la quimioterapia, algunos de ellos eran más o menos eficaces, otros eran de un peligro evidente en su manejo, y no pocos de ellos eran de un efecto verdaderamente tóxico y causaban algunos serios trastornos tisulares, por lo que en su empleo no daba los resultados que eran necesario obtener.

Por estas razones y otras de diversa índole siempre estaba en la razón de diferentes investigadores y por consecuencia en los experimentos llevados a cabo en los laboratorios y sobre todo en el deseo de los médicos el poder obtener una substancia que lograra con un mínimo de peligro hacer una cura de las temibles enfermedades infecciosas producidas por la serie de gérmenes que sabemos son poco o nada atacados por los antisépticos y substancias químicas de las hasta ahora usadas en su tratamiento.

Sabemos también que los memorables trabajos de Pasteur y Kooch, marcaron el punto de partida para el tratamiento de prevención o cura específica dirigida contra los agentes infecciosos. Desde entonces se había demostrado la nosividad de los agentes microbianos patógenos, y se hacía indispensable encontrar los medios capaces de

impedir su penetración al organismo y en su defecto puesto que considerarlo así era ideal evitar su proliferación y anular su actividad:

Se comprobó desde luego que ciertos medios físicos como el calor, destruían los gérmenes y se provocaba la asepsia, se descubrieron después sustancias dotadas de un alto poder desinfectante, pero como los germicidas y antisépticos para uso externo no podían ser impregnados internamente en concentración adecuada, sin causar en el organismo daños graves y algunas veces mortales.

Finalmente este obstáculo fué vencido por los trabajos de Erlich y algunos más, hace más o menos medio siglo descubrieron sustancias que introducidas al organismo infectado, podían destruir efectivamente a los microparásitos causa de la infección y al mismo tiempo salvaran al organismo infectado.

Así el adelanto de la inmunoterapia con el empleo de sueros y vacunas específicos. Fué Domagk, el verdadero iniciador de la quimioterapia antibacteriana, en 1935 con sus trabajos sobre la sulfamidocrisoidiana, la cual se usó después de la sulfanilamida.

Crecieron después una serie rápida de los derivados de la sulfonilamida y actualmente se tiene en estas poderosas armas de lucha contra las infecciones bacterianas. Desde hace muchos años se vienen haciendo pesquisas con respecto a los antagonismos microbianos.

Los trabajos de Metchnikow dieron impulso a la posibilidad de explotar estos antagonismos, creándose una nueva clase de agentes antibióticos. En efecto se sabe que las bacterias en los cultivos pueden producir sustancias dotadas de propiedades bacteriostáticas, bacteriolíticas y bactericidas. En los últimos años se han descubierto varias sustancias de este tipo siendo de todas ellas la más interesante la Penicilina.

### *Descubrimiento.*

El descubrimiento de la Penicilina data de 1929, este año Alejandro Fleming, profesor de bacteriología de la Universidad de Londres, publicó haber observado que un cultivo de hongos del género *Penicilium* producía en el cultivo una sustancia con acción bacteriostática altamente específicas sobre varias bacterias. Tal sustancia a la que le dió el nombre de Penicilina no inhibía el crecimiento del bacilo *Coli* ni al *Hemóphilus Influenzae* y otros organismos, más por las propiedades que se le observaron contra gérmenes piógenos, sugirió a Fle-

ming la idea que se le experimentara en el tratamiento local de las heridas infectadas. A Fleming le interesó durante toda su carrera la destrucción de las bacterias por los leucocitos. Durante la guerra de 1914 a 1918 pasó mucho tiempo investigando problemas en relación con las heridas infectadas y estudió el poder antibacteriano de los leucocitos, que contienen el pus de los exudados de las heridas infectadas. Resultaba así mismo claro de dichas investigaciones que los antisépticos químicos de uso corriente eran más destructivos para los leucocitos que para las bacterias.

En 1922, descubrió la lisocina poderoso fermento antibacteriano que se produce naturalmente en los tejidos humanos y secreciones de la clara de huevo.

En Septiembre de 1928, trabajando sobre una variación de un cultivo de las colonias de estafilococo a consecuencia de los trabajos del Dr. Bigger, quien había demostrado que podían producirse colonias de aspecto sumamente diferente partiendo del cultivo puro de estafilococo piógeno ordinario: En el curso de estas observaciones se vieron a intervalos placas de cultivo de estafilococo con un microscopio de disección lo cual requería quitar la tapa temporalmente y exponer el cultivo determinado tiempo a la contaminación por el aire. Después de examinarlas, algunas placas de cultivo se colocaban en la incubadora y otras se dejaban madurar a la temperatura ambiente.

El examen ulterior de una de las segundas demostró que se había formado una colonia hacia un lado de la placa de cultivo. Dicha contaminación con un hongo no era inesperada en tales condiciones; en esta placa de cultivo, las colonias estafilocócicas hasta una distancia bastante importante alrededor de los hongos se hallaban evidentemente sufriendo una lisis.

El siguiente paso fué tocar la colonia de hongos con un alambre de platino y trasladar algunos esporos a un medio de cultivo de Sabouraud, que para el bacteriólogo es el medio acostumbrado para hacer crecer los cultivos de hongos. Se sabe que, durante mucho tiempo toda la penicilina usada clínicamente había sido producida partiendo de subcultivos de este tubo original. Este primer cultivo puro del hongo no ha sobrevivido hasta estos años, pero la placa original con la colonia que provocara la disolución de la colonia de estafilococos todavía existe.

Obtenido este cultivo puro lo hizo crecer en caldo nutriente ordinario, creció en la superficie como una masa de aspecto de fieltro,

Al cabo de una semana se vió que el líquido del cultivo diluído unas 500 a 800 veces inhibía por completo el crecimiento de estafilococo y era por consiguiente unas dos a tres veces más fuerte en este sentido que el ácido ténico puro.

El hongo pertenecía al género *Penicillium*, de modo que la substancia activa se bautizó con el nombre de Penicilina. El hongo se identificó como *Penicillium Notatum*, especie que fué descubierta por Westling, en el hisopo de putrefacción en Noruega.

Por el aspecto de la placa original resultaba evidente, que la Penicilina era fácilmente difucible en agar.

En vista de los resultados obtenidos anteriormente con los anti-cépticos químicos de uso corriente, procedió a probar si como aquellos la Penicilina era venenosa para los leucocitos humanos, dando por resultado que carecía de estos efectos venenosos.

Lo utilización de este agente parecía quedar confinado al laboratorio cuando Fleming dijo que la Penicilina tenía propiedades antibacterianas marcadas y que era sumamente útil en el aislamiento de unos gérmenes de otros. Aquí se detuvo el asunto, hasta que Florey, Abrabrm, Chain, en 1940, 1941, en sus trabajos que llevaron a cabo en Oxford. Se preparó un plan para la investigación sistemática de substancias anti-bacterianas producidas por micro-organismos. Ya en 1880 Pasteur había observado que el crecimiento de determinados organismos transportados por el aire inhibía el desarrollo del antrax, desde entonces se ha visto muchos ejemplos de producción de una substancia por un microbio inhibe el crecimiento de otros. Estas inhibiciones son debidas a productos metabólicos denominados antibióticos

Para las primeras investigaciones de la labor de Oxford sobre antibióticos se eligieron las plocinasas y la Penicilina entre cierto número de antibióticos conocidos. La Penicilina era inestable y por consiguiente difícil de extraer, pero el hecho de ser activa contra una serie de organismos patógenos importantes hizo se desidieran por su estudio. En efecto Chain y Florey, y otros consiguieron obtener de los cultivos un líquido pardo, que en solución acuosa se conservaba por algún tiempo.

Se hicieron estudios sobre los métodos de producción del extracto y purificación, así como las experiencias en vitro en vivo y en infecciones piógenas del hombre.

En 1941 en una sección consagrada por la sociedad de Bioquímica de Oxford se descubrió por Chaing las propiedades químicas y físicas de la Penicilina, en relación con su efecto bacteriostático. Desde entonces numerosas investigaciones se han realizado tanto en Inglaterra como en Norte América.



## CAPITULO II.

### PENICILLIUM NOTATUM. (Breve Resumen)

*Características del Hongo.* Sobre medios sólidos una colonia de hongos aparece como una masa de pelusa blanca y aumenta rápidamente de tamaño y al cabo de algunos días esporula, volviéndose el centro verde oscuro y más tarde en cultivos viejos casi negro. En 4 o 5 días se produce un color amarillo vivo y se difunde en el medio.

Algunas veces en el medio puede observarse un color rojizo.

En caldo sembrando una suspensión de esporos de *Penicillium Notatum* e incubando a 24 grados centígrados se desarrolla el micelio permaneciendo sumergido durante 3 días y alcanzando luego a la superficie (la profundidad del líquido es de un centímetro) donde forma una capa continua. Si el medio se mueve incluso, suavemente, se retrasa la formación de dicha capa.

También en caldo crece sobre la superficie como una pelucilla blanca y en pocos días pasa a ser una masa como el fieltro verde oscuro.

El caldo se torna amarillo vivo. La reacción del medio se vuelve alcalina pH. 8.5 a 9. El crecimiento es lento a 37 grados centígrados.

Anaeróbicamente no se produjo el crecimiento.

CAPITULO II

PENICILLIUM NOTATUM (Bayer Research)

Características del Hongo. Sobre medios sólidos una colonia de  
forma espesa como una masa de pasta blanca y suave al tacto,  
lenta de crecer y al cabo de algunas días espesa, volviéndose al  
canto verde oscuro y más tarde en cultivos viejos casi negra. En 4  
o 5 días se produce un color amarillo vivo y se diluye en el medio.

A algunas veces en el medio puede observarse un color rojo.  
En cultivos en medio líquido una suspensión de esporas de Penicillium  
Notatum e incubando a 24 grados centígrados se desarrolla el hongo  
dormidamente durante 3 días y al crecer luego a la  
partida (la profundidad del líquido es de un centímetro) desde forma  
una capa continua. Si el medio se vuelve líquido nuevamente se  
retarda la formación de dicha capa.

También en caldo claro sobre la superficie como una película  
blanca y en pocas días pasa a ser una masa como el hongo verde de  
esta.

El caldo se torna amarillo vivo. La reacción del medio es alcalina  
ve alcalina pH. 8.5 a 9. El crecimiento es lento a 17 grados centígrados.  
dos.

Anatómicamente no se produjo el crecimiento.

### CAPITULO III,

## PENICILINA.

#### *Naturaleza, obtención, purificación, farmacodinamia*

La penicilina se encuentra en forma de un polvo amarillo claro. Se ha obtenido en forma de ácido libre y de sales de Ba, K, Ca, Ag, Amonio. Como ácido libre en solución acuosa es muy inestable, pero en forma de sales alcalinas y alcalinoterreas es estable entre pH de 5 y de 7.

Especialmente soluble en éter a un pH. de 7.2 y totalmente a pH. de 2 e insoluble en soluciones alcalinas. Es francamente soluble en agua, soluciones salinas débiles, alcohol, acetato de etilo y dioxan. Es menos soluble en benceno, cloroformo y tetracloruro de carbono. Las sales son higroscópicas, un poco menos la de bario. Absolutamente todas pierden su actividad con la exposición al aire. El ácido fuertemente dibásico es sumamente inestable, debido esto a la actividad de los grupos carboxilados libres. La penicilina en la forma de sus ácidos o de sus sales es fuertemente oxidada por el permanganato de potasio, y peróxido de hidrógeno, pero es menos sensible a los agentes reductores. Es inestable frente a los ácidos diluïdos, álcalis, iones de varios metales pesados y las sales orgánicas como la anilina, metil anilina y dimetil anilina. Se puede someter la penicilina a una temperatura de 56 grados C. por una hora o hervirla por unos minutos, sin que pierda su actividad; en el autoclave a 115 grados C por 20 minutos se destruye completamente.

La penicilina no reduce la solución de Feling, pero cambia su color azul a verde por la formación de complejcs. La sal de bario es ópticamente inactiva.

Al examen espectrográfico preparaciones altamente purificadas sugieren que en la molécula de penicilina se hallan presentes varios anillos hidroaromáticos. Por su complicada composición química y su inestabilidad para muchos reactivos químicos, no a podido realizarse todavía la síntesis de la penicilina.

La formula empírica que ha sido sugerida por Abraham y Chaing quienes analizaron la sal de bario desecada y cuyos resultados surgieron la formula siguiente:  $C_{23} H_{30} O_{10} N_2 Ba.$  o  $C_{25} H_{30} O_9 N_2 Ba.$  Estas fórmulas coinciden esencialmente con la enunciada por Catch, Cook Heilbrom:  $C_{23} H_{34} O_{11} N Sr.$  Por examen espectrográfico sugirió posibles características; anillo hidroaromático polisustituido; grupos ácidos y probablemente la presencia de un grupo no saturado de alfa y beta cetona, trisustituido.

### Obtención.

Se obtiene de los medios de cultivo en donde se desarrolla el hongo puede crecer y producir penicilina en muy variados medios, siendo la producción de la substancia más alta en unos que en otros. El medio en que se desarrolla mejor, con gran producción de penicilina es el medio sintético de Czapek-Dox, modificada por Cluterbuch;

Nitrato de Sodio .....	3,00 gr.
Fosfato Monopotásico .....	1,00 gr.
Cloruro de Potasio.....	0.50 gr.
Sulfato de Magnesio.....	0,50 gr.
Sulfato Ferroso .....	0,01 gr.
Sulfato de Zinc .....	0 01 gr.
Glucosa, melaza o —	
moscabado .....	40.00 gr.
Agua destilada .....	1000 gr.

Si se agrega extracto de malta, el crecimiento es más rápido. En el medio de cultivo de Czapek-Dox modificado, se necesita un promedio de 10 días para obtener la cantidad máxima en los cultivos.

El medio, esterilizado al autoclave, es sembrado con una suspensión de esporas del *Penicilium Notatum* y puesto en la incubadora, a una temperatura entre 22 grados C., que se conserva durante todo el tiempo de la incubación, ya que mayores temperaturas disminuyen el título final y aún impiden el desarrollo del hongo. El cultivo se efectúa en un lapso de 9 a 14 días:

A las 24 horas de la siembra se puede observar con cierta dificultad que existe un desarrollo del hongo, como una gasa en la superficie en el medio de cultivo. Se vuelve más voluminoso durante el día siguiente y al tercer día, si el medio líquido no tiene más de un centímetro de espesor, llega a la superficie del medio y aparecen micelios blancos generalmente en lugares aislados. Por lo general, al cuarto o al quinto día, toda la superficie del medio está cubierta de micelios blancos, los que 24 horas después, toman una coloración azul verdosa. El color aparece primero en el centro de los micelios blancos, pero se extiende rápidamente hacia el sexto y séptimo día. La parte superior consiste en una especie de fieltro compacto corrugado, cuya parte superior no está cubierta por el medio de cultivo. La superficie interior es de un café amarillento. No se deben mover los recipientes donde están los cultivos ya que el crecimiento que aparece se conglomerará y forma bolas si es movido. En este caso el crecimiento se efectuará directamente sobre las conglomeraciones y no se efectuará la capa firme sino hasta que un crecimiento secundario venga a llenar los vacíos en la superficie. Al continuar la incubación el color de los micelios tiende hacia el gris.

Cuando se ha obtenido el máximo de Penicilina en un cultivo es necesario separar inmediatamente la capa de hongo, porque este disminuirá, rápidamente la cantidad de penicilina hasta volver el líquido inactivo.

Existen sin embargo, cepas de *Penicilium* cuyo crecimiento es más rápido y la secreción de penicilina más abundante; así serán escogidas cepas de la máxima potencia, identificadas correctamente y serán controladas estrictamente para prevenir la degeneración. Un método conveniente de conservar los cultivos a un nivel alto, fue permitiendo la esporulación de la colonia patrón, mezclando las colonias con arena estéril y secando la mezcla a una temperatura tan baja como es necesaria. Esporas de esta raza maestra o superior fueron sembradas en un medio especial, frecuentemente se cultiva la colonia primero en un medio de Sabouraud inclinado de la cual se obtenía una suspensión de esporas agitando con agua estéril y sembrando nuevamente en un medio esterilizado.

La penicilina es secretada únicamente en la capa subyacente al hongo, en los cultivos en superficie de manera que no pueden aprovecharse más que medios de cultivo que tengan cuando mucho uno o uno y medio cc. de espesor. Por lo que se requieren grandes super-

ficies para su obtención.

De importancia capital es el pH. del medio de cultivo y del medio final ya que sus variaciones vuelven a la substancia completamente inactiva.

Una vez que se ha obtenido el desarrollo del *Penicilium* en las mejores condiciones, es necesario extraer la penicilina para reducir el volumen del líquido en donde esta disuelta y de ser posible obtener su desecación que es como permanece durante más tiempo estable y conservando su potencia.

La parte principal de la penicilina se obtuvo del substrato, aunque se encuentra una pequeña cantidad en los filamentos que integran el micelio del hongo.

La extracción de la penicilina se hace aprovechando la propiedad que tiene de ser absorbida por solventes orgánicos tanto como el acetato de amilo, la acetona, el éter, el cloroformo. Estas extracciones se efectúan en la siguiente forma: el líquido de cultivo, después de filtrado y de enfriado hasta cerca del punto de congelación, es acidificado con ácido fosfórico al 10% hasta un pH. de 1.9 y extractado en lote de 2 litros con un volumen igual de acetato de amilo la solución se mezcla con 400 cc. de agua. Se agregaba gradualmente N/30 agua de barita hasta llegar a un pH. de 6.2; la solución resultante de un color café rojizo se filtraba y trataba con carbón animal. Esta mezcla se filtraba y enfriaba a 4 grados C. y se agregaba un peso de su volumen de éter frío. El residuo acuoso acidificado a un pH de 1.9 con 10% de ácido fosfórico, se extractaba agitando intensamente.

En esta forma se hacían 3 extracciones y en seguida se pasaba por una columna de 50 cm. de largo, con la formación del siguiente cromatograma:

Depósito café obscuro            con pequeña cantidad de penicilina  
Depósito anaranjado o color lima con pequeña cantidad de penicilina  
Depósito púrpura            .....no contiene penicilina.

La segunda fracción, separada mecánicamente de las otras se diluye en una buffer de fosfato. Después la penicilina se volvía a la solución acuosa adaptándola a un pH. de 6 con N/30 de agua de barita.

El pigmento inactivo permanecía en el depósito de éter. La substancia activa se extractaba nuevamente con éter y la solución se

pasa por otra columna de alúmina. Esta vez únicamente se obtenían tres depósitos:

- I.—Café muy claro.
- II. — Café casi incoloro.
- III.—Amarilloso verdoso.

La penicilina se extractaba de la segunda fracción con el buffer de fosfato. Después de dos absorciones cromatográficas de acetato de amilo, la columna resulta casi incolora y homogénea. Después de este proceso mencionado anteriormente de N/30 de agua de barita se obtiene una sal bérica de penicilina ligeramente amarillenta.

### Absorción

La saliva no inactiva la droga, que es de sabor amargo, pero el ácido clorídrico rápidamente destruye la parte activa. Cuando se introduce directamente por sonda se absorbe sin dañar las células. La vía rectal fue excluida por la acción destructiva de la penicilina. Se absorbe lentamente por vía subcutánea y pasa algún tiempo antes de que aparezca en la sangre. La concentración no alcanza niveles al que llega cuando se administra por vía intramuscular o intravenosa.

La administración intermitente por vía intramuscular eleva rápidamente el nivel sanguíneo pero no a la altura como la inyección intravenosa.

La concentración tiende a permanecer en la cima durante 30 o 45 minutos. El uso intravenoso causa un ascenso rápido al máximo, inmediatamente después de la administración, pero vuelve a caer rápidamente; la absorción por cavidades es similar a la vía subcutánea.

En sujetos normales tanto la absorción como la eliminación es lenta administrada por vía intratecal, inyectando 5,000 a 10,000 unidades. La absorción es más rápida en meningíticos. También se introdujo sin perjuicio alguno por la vía externa y hasta se puede introducir la droga sólida en un absceso cerebral sin fenómenos tóxicos. Después de una inyección intravenosa la penicilina no puede encontrarse en el líquido cefalorraquídeo.

Aunque temperaturas elevadas inhiben la penicilina no parece que la hipertemia causada por padecimientos febriles produzca pérdida alguna durante el corto tiempo que la droga dura en el organismo.

La inyección intravenosa produce una alta concentración ini-

cial, en el plasma sanguíneo, la que va seguida de una rápida caída sin que aparezcan huellas de penicilina en el líquido céfalo raquídeo, la saliva o las lágrimas. La administración intraduodenal produce una absorción rápida pero la cantidad excretada es pequeña.

Rammelkam y Keefer asientan que por la inyección intravenosa de penicilina la concentración de esta substancia en el plasma sanguíneo se observa alta por solo 20 a 21 minutos y luego desciende de modo brusco.

La absorción en las cavidades pleural y articular es lenta.

Chain y colaboradores hicieron estudios sobre la absorción de la sal de sodio de la penicilina en conejos, gatos y en el hombre. Después de una inyección de 400 unidades por vía intravenosa no se encontró en la sangre de conejo cuando se provó a la media hora.

En el gato la sangre fue activa después de una y media horas después de la inyección. El hombre mostró en la absorción más semejanza con el gato.

Debido a la gran solubilidad de la penicilina se absorbe y se difunde a través de los tejidos.

La penicilina es absorbida en muy escasa proporción por los glóbulos rojos.

### *Excreción*

En los ensayos clínicos de Oxford se vió muy pronto que la rápida excreción de la penicilina por el riñón constituía un problema y una ventaja. Su rápida eliminación ha sido útil para determinar el tiempo que necesita la penicilina inyectada por diferentes vías para llegar a la circulación y una sola dosis para desaparecer.

Después de inyección intramuscular o intravenosa la penicilina puede hallarse en la orina casi inmediatamente y después de su inyección intrapleural en el espacio de una hora. Es así mismo, concentrada por los riñones ya que después de una sola dosis pequeña, puede descubrirse en la orina durante bastante más de 24 horas aun cuando la concentración no haya sido en ningún momento lo suficientemente elevada para poder ser descubierta en la sangre por los métodos actuales. Por consiguiente su administración en la infección urinaria ha tenido éxito cuando solo se ha repetido una o dos veces en las 24 horas y mediante dosis que eran relativamente pequeñas se ha hecho desaparecer infecciones estafilococcicas y estreptococcias urinarias

Algo de penicilina se destruye en el cuerpo, posiblemente en el hígado, desconociéndose la localización exacta. La poca inactivación que existía, fue atribuida a la corta permanencia de la droga en el organismo

Rammelkamp y Keefer, estimaron que de 37 al 99% de la cantidad administrada, se elimina sin haber cambiado, principalmente dentro de la hora y como se ha dicho anteriormente por la orina. Se considera como eliminación media normal al rededor de 50%.

Un aumento del volumen urinario ayuda la eliminación de la penicilina; una falla renal dilata la eliminación y consecuentemente eleva la concentración sanguínea. Se ha sugerido que la rápida eliminación de la droga es causada por el paso de ella a través de los túbulos y glomérulos renales,

La administración de diatrast que se elimina por los tubos disminuye la pérdida de penicilina. La administración de fenol puede retardar la eliminación de la penicilina por el bloqueo de los túbulos:

El fenómeno observado de mutua depreciación de la excreción tubular es atribuida a una competencia de eliminación a través de un mecanismo tubular comun.

Tambien es excretada en proporción grande por la bilis. No se ha demostrado la penicilina en el jugo gástrico, pancreático ni en las lágrimas; pero si en la saliva.

### *Toxicidad*

Se considera que la penicilina suficientemente purificada no tiene toxicidad de ninguna clase y que puede ser empleada sin riesgo alguno.

Las reacciones tóxicas demostradas hasta ahora no son significativas. Cuando estas se manifiestan se deben principalmente al uso de un producto insuficientemente purificado. En pruebas experimentales en animales de laboratorio, usando preparaciones de alta pureza se encuentra que las relaciones tóxicas estan practicamente ausentes. Sin embargo, cuando se emplea la penicilina insuficientemente purificada se han notado reacciones tales como fiebre, urticaria, tromboflebitis en el sitio de la inyección y algunos otros síntomas de menor importancia; y naturalmente estas reacciones son debidas a las impurezas y no a la penicilina. Algunas reacciones de intensa fiebre que se han presentado pueden ser consideradas como impurezas de piróge

nas, ya sea de las ampollitas usadas o del disolvente, por lo que es muy importante efectuar las pruebas de pirógenos en todo material usado

Prueba de toxicidad y pruebas para investigar la presencia de pirógenos se hacen inyectando por vía endovenosa, conejos, se mantienen en reposo despues de la inyección para controlar la temperatura rectal de hora en hora, y una respuesta negativa de estas pruebas da la aceptación de la droga.

La penicilina es notablemente no tóxica para el ratón, un ratón de 20 gramos presentó poco o ningún trastorno despues de haber recibido una inyección de 10 miligramos de sal de sodio, pero se ha visto que puede darse hasta 20 miligramos de un extracto puro sin producir efectos nocivos. No solamente es relativamente inocua para todo el animal, sino que los leucocitos y los tejidos resisten por muchos cientos de veces la concentración necesaria para inhibir a organismos tales como el estreptococo.

La administración subcutánea a dos ratas no causó efecto general, aunque se observó una disminución temporal en el número de polinucleares y ciertos indicios histológicas de lesión de los túbulos renales. En un gato 40 miligramos, intravenosamente, no alteraron la presión sanguínea, el latido del corazón ni la respiración.

Un corazón de gato aislado se hizo más lento durante la perfusión de solución de 1:500 y 1:10000 pero se restableció tan pronto como se detuvo la perfusión con penicilina.

En todos los casos de Oxford tratados generalmente y en muchos de los tratados localmente se llevaron a cabo análisis de sangre con regularidad. En ningún caso hubo descenso en el recuento eritrocítico durante el tratamiento con penicilina y en todos los casos gravemente enfermos, excepto en un paciente puerperal, hubo un promedio de elevación de 250000 a 500000 eritrocitos por semana. El recuento leucocitario pareció dar una buena indicación del progreso del tratamiento. Si era bajo al principio de él, debido a toxemia, comenzó a elevarse en el espacio de 24 horas

### *Resistencia y Sensibilidad Bacterianas*

Hay que hacer una diferenciación entre las características de sensibilidad y de resistencias que cepas microbianas puedan presentar hacia un determinado producto quimioterápico. En el caso de la penicilina; la sensibilidad de diferentes cocos y bacilos Gram positivos

así como también de algunos diplococos Gram negativos ha sido establecida por numerosos autores. Esta susceptibilidad que ciertas bacterias presentan hacia esta substancia sustenta una de las columnas más sólidas de la quimioterapia moderna. La resistencia, por el contrario, es producida después de continua exposición a la acción de la penicilina. Un aumento de la resistencia del estafilococcus aureus como de otros agentes bacterianos puede presentarse durante el tratamiento y es interesante el hecho que ha medida que una cepa se va haciendo resistente, aun cuando conserve su susceptibilidad para otros agentes como las sulfadrogas la virulencia del germen va desapareciendo. Este fenómeno se enfatiza ya que en otros casos en que microbios como del conocido caso del gonococo, puede presentar resistencia hacia otros agentes como las sulfadrogas por ejemplo, pero mantienen sin embargo su virulencia.

En estos casos si los enfermos bajo tratamiento han sido controlados cuidadosamente desde el punto de vista bacteriológico pueden presentar facilmente fenómenos tóxicos por intolerancia a las drogas, como también el estacionamiento de un proceso infeccioso de tan alta repercusión social.

La penicilina en estos casos soluciona el problema ya que la mayoría de los casos de blenoragia tratados con este producto antibiótico han sido solucionados.

En lo que se refiere a la resistencia y susceptibilidad de los estreptococos es interesante anotar el hecho que dentro de este grupo se han encontrado que son sensibles a la acción de la penicilina la mayor parte de los estreptococos B. hemolíticos, mesófilos no hemolíticos y algunos de los alfa hemolíticos o viridans

Se han encontrado por otras partes tipos como el fecalis y ciertas cepas del grupo de los viridans que son resistentes a la acción de este agente antibiótico.

Schmidt y Sesler Mc Kee y Houck han inducido la resistencia del estafilococo, neumococo y estreptococo exponiendo estos gérmenes a la acción de cantidades variables de la droga ya sea en cultivos in vitro o en animales infectados.

En este último caso se observa a la vez que la resistencia adquirida equivalía a una pérdida gradual de la virulencia que no se recuperaba por pases sucesivos en animales. En los ensayos in vitro, la resistencia a la penicilina se acompañaba de cambios con disminución

de la velocidad de desarrollo lo mismo que variación en el aspecto de las colonias. El neumococo no perdió sin embargo sus características de solubilidad en bilis ni la fermentación de los hidratos de carbono. El neumococo puede también como el gonococo adquirir resistencia para otros agentes quimioterápicos como las sulfadrogas, y en estos casos se usa la penicilina.

### *Empleo.*

La penicilina se emplea:

I. — Para el aislamiento de bacterias no sensibles entre gran número de organismos sensibles.

II. — Para la demostración de ciertas inhibiciones bacterianas.

III. — Para el tratamiento de infecciones.

Aislamiento de los organismos no sensibles. — Los organismos patógenos los agruparemos en dos grupos:

Sensibles a la penicilina (estafilococo, estreptococo etc.)

No sensibles a la penicilina (B. tífico - paratíficos, coli etc.).

Un estudio de estos demuestra que es probable que sea en las vías respiratorias donde un medio diferencial que contenga penicilina tenga la mayor aplicación en bacteriología clínica. En este caso los estafilococos, estreptococos, neumococos y los bacilos dipteroides son sensibles a la penicilina. Estas son las bacterias que se encuentran más comunmente y si se las inhibe nos quedamos solo con el bacilo de Friedlander y unos cuantos cocos patógenos Gram negativos, y su aislamiento resulta fácil. La primera aplicación práctica de la penicilina fue el aislamiento del bacilo de Pfeiffer. En 1930 Maclean, pudo demostrar que en todas las bocas y gargantas humanas existían bacterias hemófilas. Se sugirió además su empleo en el aislamiento del bacilo Pertusis. Esto es de gran importancia en el diagnóstico bacteriológico preccz de la tos ferina. Los tipos patógenos, gonococo, meningococo y M. catarralis se encuentran entre las bacterias más sensibles pero los diversos tipos no patógenos hallados normalmente en la boca y gargantas humanas son insensibles.

Un medio de penicilina puede ser empleado en heridas infectadas para aislar diversos bacilos de entre los estafilococos y estreptococos que pudieran confundirse y se han hallado a veces bacilos Pfeiffer en heridas infectadas. En cambio no tiene aplicación en los cultivos intestestinales ya que aquí los organismos sobresalientes, son el coli y

sus afines, los cuales son todos ellos insensibles a la penicilina.

Sin embargo Fleming, demostró (1932) que el telurito de potasio tenía una acción inhibitoria específica sobre las bacterias que era casi opuesto a la de la penicilina, de manera que un organismo sensible a la penicilina era casi siempre resistente al telurito y viceversa. Excepción notable entre los organismos patógenos humanos son el gonococo, sensible a ambos y el enterococo que no es sensible a ninguno de los dos.

Así pues añadiendo una cantidad inhibitoria de telurito de sodio, los organismos no sensibles a la penicilina quedaron inhibidos y a continuación añadiendo cantidades graduales de penicilina pudieron obtenerse muchos resultados de cultivos interesantes.

Para llevar a cabo los cultivos diferenciales se utilizaron dos métodos:

I.— El material infectado se extendió sobre una placa que contenía un medio de cultivo adecuado y luego se extendieron sobre la mitad de la placa 5 ó 6 gotas de penicilina que contenga al rededor de 5 unidades por cc. La mitad de la placa dió por consiguiente un cultivo mixto ordinario, en cambio la mitad cubierta con penicilina solo hizo crecer los organismos insensibles a la penicilina.

II.— La penicilina puede incorporarse al medio de cultivo en una concentración de 0.5 a 1 unidad por c. c. En este los microbios sensibles a la penicilina no crecerán, y solo queda un cultivo de aquellos organismos que no son sensibles.

Graduando cuidadosamente la concentración de la penicilina pueden conseguirse cultivos selectivos, incluso entre organismos sensibles a la penicilina.

Así, Craddock demostró que, añadiendo penicilina a caldo de glucosa, en una concentración de dos veces mayor de la que había de inhibir los estafilococos, le era posible aislar al bacilo del acné procedente de pus que tenía el bacilo del acné y el estafilococo.

Las clostridias no son todas igualmente sensibles a la penicilina y mediante ajuste cuidadoso de la concentración, puede inhibirse un tipo mientras el otro crece libremente.

II.— Inhibiciones bacterianas por penicilina — Cuando se hacen cultivos del espacio post-nasal en algunas afecciones catarrales, y se trata la mitad de una placa de cultivo con penicilina se halla en uno

de los lados de aquella porción de la placa que está sembrada densamente, un cultivo puro de neumococo o estreptococo, y un cultivo puro de neumococo o estreptococo, y un cultivo puro de bacilo de Pfeiffer en el otro lado. De dicha placa se desprende que cuando se hace una fuerte siembra los neumococos y los estreptococos inhiben por completo al bacilo de Pfeiffer cuya presencia se revela cuando se evita mediante la penicilina que crezcan los cocos, naturalmente que si el bacilo de Pfeiffer se halla en número suficiente, crecerá y se identificarán cuando la siembra es tan escasa que las colonias individuales se encuentran suficientemente separadas de las colonias neumocócicas para hallarse fuera del alcance del poder de inhibición.

Resultados más notables se encuentran haciendo crecer una colonia del hongo sobre una placa de cultivo a temperatura ambiente durante por ejemplo 3 días. Durante este tiempo produce penicilina que se difunde por el medio de cultivo a una distancia como de 2 cm. entonces se mezclan en proporciones adecuadas 2 bacterias sumamente coloreadas, una sensible a la penicilina (*S aureus*) y una insensible (*B. violaceus*) y se siembran en surcos a través de la placa hasta la colonia del hongo. Cerca de esta última solo crecerá el organismo de color violeta (*B. violaceus*) puesto que el estreptococo es inhibido por la penicilina, pero fuera del alcance de esta se verá crecer al estafilococo aureus de un brillante color naranja, que inhibe completamente al bacilo violaceus. De este modo se puede obtener de una mezcla dos cultivos puros en diferentes lugares,

III.— El tratamiento de las infecciones se verá en el capítulo V.

## CAPITULO IV,

### Métodos de Determinación y Potencialidad

Uno de los puntos principales en el estudio de la penicilina, es determinar su pureza encontrándonos directamente con el problema de adaptar un método que llene los requisitos indispensables para poder cuantear de la manera más eficiente su potencia.

Se pueden distinguir dos tipos de ensayos para la determinación de la cantidad de penicilina. El primero comprende el ensayo en el caldo mismo del cultivo para asegurar una buena cosecha del producto y el segundo se refiere a la evaluación de la actividad en preparaciones purificadas de la droga.

El factor tiempo en el primer caso es muy importante ya que hay una serie de circunstancias dependientes del metabolismo del hongo y del medio de cultivo que pueden resultar en la disminución de la penicilina ya formada.

#### *Métodos Cualitativos.*

I.— Método en canalillo — Fué usado por Fléming, su interés es solo histórico o bien para usarlo en la selectividad de la bacteria.

Se corta una tira de agar, de una placa de cultivo, se siembran las diversas bacterias en vetas a ángulos rectos con el canal así formado, después se procede a llenar el canal con una mezola de agar y penicilina. La sustancia activa se difunde en el agar e inhibe las diferentes bacterias hasta una distancia variable según la sensibilidad de la bacteria a la penicilina.

II.— Método de hacer en hoyos.— Se inocula una placa de cultivo con estafilococos o cualquiera otra bacteria apropiada. Con un

perforador de tapones se extraen del agar discos y en el fondo del hueco así formado se depositan dos gotas de agar fundido. La solución que va a ensayarse se vierte en esta cavidad desde donde la sustancia activa se va difundiendo al agar circundante.

El caldo procedente de un cultivo satisfactorio de *Penicillium Notatum* inhibe el crecimiento hasta unos 15 mm. desde el borde de la cavidad. Diluciones graduadas de penicilina producen zonas cuya amplitud se haya en proporción directa a la concentración.

Este método se usa para probar cierto número de muestras frente a una especie. La aplicabilidad de la prueba depende sin duda de la difusibilidad de la sustancia activa en el agar. Hay ciertas indicaciones de que esta difusión se halla en relación con la difusibilidad en el organismo humano y por consiguiente con la actividad terapéutica.

### *Métodos Cuantitativos*

Estos métodos son los usados en la valoración de la penicilina en soluciones purificadas, y con estos haré una relación del trabajo llevado a cabo.

El material usado en estas determinaciones es el siguiente: (El particular a cada método se mencionará cuando se trate del respectivo)

- 1.— Muestra de penicilina.
- 2 — Matraces de 1000 cc.
- 3.— Tubos de ensayo de 20 x 150 mm.
- 4.— Tubos de hemolisis,
- 5.— Pipetas de 10, 5 y 1 cc. graduada en centésimos.
- 6.— Porta tubos de cuatro hileras de diez agujeros.
- 7.— Soporte, anillo y pinzas para bureta.
- 8.— Caja para hielo

### *Método del Cilindro en Placa*

Difiere del "cup" en que se emplea un pequeño cilindro de vidrio en lugar de perforaciones con sacabocados en la placa de agar. Los cilindros pueden ser de vidrio o de porcelana. La zona inhibitoria al rededor de los cilindros, marca la potencia de la penicilina.

Los cilindros tienen un cm. de largo por 7.9 mm. de diámetro externo, un extremo tiene bisel y el otro color para distinguirlo fácilmente.

Debe usarse la penicilina patrón con la cual la unidad Oxford

de cualquiera otra se determina. El patrón debe prepararse semanalmente, partiendo de una penicilina en polvo, que se ha valuado en unidades Oxfor por miligramo. No consideran necesario guardar la solución saturada con eter,

El agar utilizado es el siguiente:

Medio I.— Bacto peptona.....	5	gramos
Bacto extracto de levadura.....	3	gramos
Cerelesa (glucosa comercial hidratada .....	1	gramos
Bacto agar .....	15	gramos
Agua destilada c. b. ....	1000	cc.

Se prepara en cantidades de 500 gramos en frascos Erlenmayer estériles a 1 atm. Se prepara frecuentemente de manera que solo dure uno días, no necesitando por lo mismo guardarse en refrigeración: Las placas hechas con el mismo se preparan la víspera vertiendo con pipetas graduadas de boca amplia 22 cc. del medio por placa, en caja petri bien altas.

Para la inoculación uniforme de las placas se utiliza el medio.

II.— Bacto peptona .....	5	gramos
Bacto de levadura .....	1.5	gramos
Bacto Extracto de carne .....	1.5	gramos
Cerelesa .....	1	gramos
NaCl .....	3.5	gramos
Fosfato buffer al 1% pH.6.	500	cc.
Agua destilada c. b. ....	1000	cc.,

Se reparte en tubos a 10 cc. por tubo y se esteriliza a 1 atm. durante 15 minutos y en matraces de 100 cc,

El buffer se prepara de la siguiente manera:

KH <sup>2</sup> PO <sub>4</sub> .....	2.63	gramos
K <sup>2</sup> HPO <sub>4</sub> .....	7.36	gramos
Agua destilada.....	1000	cc.
pH <sub>i</sub> de 6.		

Se esteriliza por el calor y se guarda al abrigo de contaminaciones. Para mayor seguridad se puede guardar saturada con tolueno.

Preparación de las placas.—Las preparadas la víspera se bañan con 3 cc. de medio 1 fundido e inoculado a 48 o 50 grados C: con 1% de inoculum (cultivo de estafilococo Aureus) es decir 1 cc. de cultivo

de 24 horas en caldo por 100 cc. de agar. El baño debe abarcar toda la placa.

Las placas se colocan a nivel 5 a 10 minutos para endurecimiento, después se ponen los cilindros 3 por placa sin usar el centro de la misma, se dejan a la temperatura ambiente por 45 a 60 minutos.

Cuando se va a determinar la potencia de una solución de penicilina purificada se ponen 5 cilindros. Dos cilindros de cada placa se llenan hasta el tope con solución patrón de penicilina que tenga una unidad por cc: y los tres cilindros se llenan por la muestra por controlar.

Así preparadas las cajas se llevan a la estufa y se dejan en incubación a 37 grados C, por 15 a 16 horas

Pasado este tiempo ya se pueden efectuar las lecturas que consisten en la medición del círculo de inhibición. El diámetro se mide con aproximación de 0.25 mm. con un lente en caso necesario.

Las lecturas del patrón y muestras por controlar se promedian siempre que los cilindros funcionen bien

Los factores que afectan el diámetro de la zona en cada placa, afectan al mismo tiempo patrón y muestra en control, de manera que sin el valor de la unidad en cada placa, se calcula en terminos de su patrón respectivo, no se introduce error.

### *Factores que afectan el método.*

Grueso del medio — Si es muy grande, la zona inhibitoria decrece y el pigmento bacteriano aumenta. Con 25 cc. del medio propuesto, el contraste entre la zona y el resto de la placa es muy marcado. Con 15 cc. dicho contraste se pierde.

pH del medio — La penicilina es más activa en medio ácido que en medio alcalino, este efecto es más pronunciado en el método de las diluciones en serie que mencionaré más tarde, e influye también en las placas; pues el contraste es más claro a pH. de 6.5 naturalmente es mejor usar siempre medio neutro, es decir pH. de 7.

Cultivos del germen — El estafilococo aureus, se guarda en agar inclinado y de aquí se toma para inocular el caldo. Si se hacen los pasos por caldo se pierde el pigmento

Concentración de cultivo. — Determina hasta cierto punto la medida de la zona de inhibición; muy concentrado da círculos peque-

ños y mal limitados; muy diluido da círculos anchos de bordes mal definidos.

Relación entre la difusión de la penicilina y el desarrollo del germen.— Si ésta se hace antes de que el germen principie su desarrollo, las zonas inhibitorias son anormalmente grandes, lo produce cuando se guarda en refrigeración placas inoculadas, pues el frío retarda el desarrollo y permite mayor difusión de la penicilina. A la inversa incubación prolongada o secado prolongado producen reducción de las zonas.

Los mejores resultados se obtienen en placas listas para incubar, se de  $\frac{1}{4}$  a  $\frac{1}{2}$  hora después de inoculadas.

Por lo anterior los patrones en cada caja no deben omitirse excepción hecha cuando se trate de una dosificación de comprobación.

Condiciones de los cilindros.— Si están despostillados o de borde irregular, pueden producir zonas anchas e irregulares. Si están muy contaminados contaminan a su vez al agar, dando círculos anormalmente amplios.

Este método lo usé en la práctica con algunas modificaciones.

Viéndome precisada a partir de una cantidad de penicilina conocido puesto que los controles se llevaron a cabo empleando muestras de penicilina a las que se les efectuó una titulación de comprobación; por lo que únicamente se usaron 3 copitas en cada placa sin usar la penicilina patrón.

La preparación de la penicilina para llenar las copas se hizo de la siguiente manera.

Se partió de ampollitas de penicilina que tenían 100,000 unidades Oxford se diluía con solución salina al 7.5 x 1000, 10 cc. de éste servía para disolver la penicilina lo que se hacía en la misma ampollita y con suero estéril, de esta solución se toma 1 cc. y se pone en un tubo de ensayo con 9 cc. de suero a así sucesivamente se van haciendo las diluciones en 3 tubos más con lo que en el último tenemos 1 unidad por cc. de esta dilución tomamos para llenar las copas.

Las placas usadas fueron 3 con la lectura de las cuales efectuando un promedio se determina la potencia de la penicilina en control.

En este caso consideraba la penicilina controlada con el número de unidades Oxford marcadas cuando la inhibición es de 24 mm: como mínimo.

Según la definición de unidad Oxford se entenderá perfectamente por lo que haré mención de ella.

La adopción por los diferentes investigadores de unidades propias para la expresión de la actividad de los preparados farmacológicos da lugar a considerable confusión por lo que generalmente se toma una unidad internacional.

La llamada unidad Oxford o Florey, se determinó por los métodos de dilución seriada y el método en placa.

Según el método de dilución seriada, la unidad es la cantidad de penicilina que, cuando se disuelve en 50 cc de un medio líquido patrón, inhibe la proliferación de un inóculo patrón de un estafilococo patrón, bajo condiciones patrones.

En el método de placa, si el líquido en el cilindro de cierto diámetro y longitud que se coloca sobre la superficie de agar nutritivo que ha sido sembrada con el estafilococo patrón, contenía una unidad de penicilina por cc. la anchura de la zona de inhibición era de unos 24 mm. Por medio de la repetición de estos procedimientos con diluciones variables, fué posible aproximarse a una solución que contuviese una unidad por cc.

Por último se determinó cuidadosamente una preparación estable de penicilina y en adelante, una cantidad unitaria de esta preparación se tomó como patrón.

### *Método de las Diluciones en Serie.*

Para este método como en el de las copas de Oxford se mide la potencia de la penicilina valiéndose del poder de inhibición que sobre ciertas especies microbianas tiene,

Como su nombre lo indica se parte de una serie de diluciones, partiendo de una dilución en caldo (medio II) al 1/10, 1/100, 1/200, 1/300, 1/400, 1/500, 1/600, 1/700, 1/800, 1/900, 1/1000; para lo cual se toma 1 cc. de la muestra de penicilina y se mezcla con 9 cc. de caldo, de este tubo se toma 1 cc. y se pone en el segundo tubo que tiene 9 cc. de caldo, se sigue pasando así en este tubo de 1 cc. los 7 siguientes que tienen respectivamente 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 cc. de caldo y en los 2 restantes se pasa del tubo con la del 1/100 0.5 cc. conteniendo estos tubos 4 y 4.5 cc. de caldo Naturalmente que la muestra de penicilina debe estar libre de bacterias insensibles a ella. Las solu-

ciones se esterilizan por filtración en filtros Seitz. En caso que lo necesiten.

Se procede a la inoculación con *estafilococo aureus* con un cc. de un cultivo en caldo de 20 horas de edad en 200 cc. de caldo usando el medio II.

Hechas las diluciones los tubos se agitan.

Incubación.— Aunque cualquier tiempo de incubación puede emplearse, con tal de incluir un patrón y llegar a un pronto final, es preferible inocular a 37 grados C. por 18 a 40 horas prefiriendo el último período.

Lectura a las 18 horas.— El cálculo se basa en la mayor dilución que "no desarrolló". Corresponde a 0.4 unidades Oxford por cc. para inhibir el desarrollo bacteriano

Para convertir las diluciones en unidades se multiplica la recíproca de la dilución por el factor 0,04,

La lectura a las 40 horas — Los resultados se leen mejor y están mejor definidos. Los resultados se basan en la mayor dilución que queda clara. En cultivos así, 0.1 de unidad por cc. se requiere para inhibir el desarrollo.

Para este método usé 10 tubos de ensayo con las siguientes diluciones: 1/10, 1/100, 1/200, 1/300, 1/400, 1/500, 1/600, 1/700, 1/800 y 1/900.

Para lo cual de la solución de penicilina conteniendo 100 unidades por cc. se toma y 1 cc. y se mezcla con 4 cc. de suero fisiológico, por lo que cada cc. de esta solución contiene 20 unidades por cc.

De esta solución partí para hacer las diluciones anteriormente expuestas para el método, y de la misma manera indicada en la técnica del método.

Además de los tubos propios de la reacción se usa otro más que sirve de testigo, en este únicamente tiene caldo y el inóculo.

### *Método de las Diluciones en Serie Modificado.*

Se procede a desarrollar el método de las siguiente manera se colocan en una gradilla los tubos necesarios para hacer las diluciones de la penicilina poniéndoles la cantidad de caldo (medio II) según la tabla I.

T A B L A No. I.

Tubo No.	cc. de caldo
1	2.3
2	1
3	1
4	1
5	1
6	1

Con una pipeta de 1 cc. graduada en décimos, tomamos 0.2 de la dilución de penicilina que tiene 1 unidad por cc.; se mezcla perfectamente bien y se toma 1 cc. y se pasa al tubo No. 2 se procede en este caso también a mezclar y así se van pasando del tubo anterior al inmediato posterior 1 cc. en el último tubo el cc. se tira.

Una vez preparadas las diluciones de la penicilina ya estamos en condiciones de efectuar la siembra que como en el método anterior se efectúa con el estafilococos aureus.

En el tubo No. 6 que sirve de testigo no se siembra.

Las diluciones de la penicilina en los diferentes tubos, quedan de la siguiente manera: 1/12.5, 1/25, 1/50, 1/100.

Se agitan los tubos y se ponen a incubar a 37 grados C por 24 horas para que pasado este tiempo se puedan hacer las lecturas.

En este caso se considera la penicilina controlada con el número de unidades Oxford marcadas cuando la inhibición se produce en la dilución del tercer tubo o sea de 1/50

Como quedó indicado, para todos los métodos descritos se usa el Estafilococo aureus F. D. A. 209, que se conservó en gelosa simple haciendo siembras de la cepa original cada 8 días a un tubo de gelosa inclinada; diariamente se siembra una asa del cultivo de gelosa en 10 cc. de caldo y algunas ocasiones se efectúan pruebas de pureza, para comprobar si el cultivo sigue siendo puro.

Fecha	Nombre	Método de las diluciones en serie.		Método de las copas de Oxford. Zona de inhibición en agar.	Método de las diluciones en serie modificado. Inhibición en caldo positiva hasta dilución.	Peso	Núm. de unidades por milig.
		Inhibición en caldo positiva hasta dilución 18 h.	40 h.				
7 -II- 45	A	1/500	1/200	24.4 mm.	1/25	.1412	715
8 -II- 45	B	1/500	1/200	25 0 mm.	1/50	.1032	1007
13 II- 45	C	1/500	1/200	25 4 mm.	1/50	.896	117
13 -II- 45	D	1/600	1/200	28.6 mm:	1/200	.127	937
118 -II- 45	E	1/500	1/200	26.6 mm.	1/50	.1358	810
19 -II- 45	F	1/600	1/200	27.3 mm.	1/50	.628	179
22 -II- 45	G	1/500	1/200	25.0 mm.	1/50	.140	742
23 -II- 45	H	1/500	1/200	24 0 mm.	1/50	.1131	884
3 -III-45	I	1/500	1/200	24.3 mm.	1/50	.076	1328
8 -III-45	J	1/500	1/200	24 2 mm.	1/50	.144	694
10 -III-45	K	1/500	1/200	26.0 mm.	1/50	.186	580
16 -III-45	L	1/500	1/200	25.2 mm.	1/50	.153	686
17 -III-45	O	1/500	1/200	25.0 mm.	1/50	.215	483
20 -III 45	P	1/600	1/200	26.7 mm.	1/50	.133	834
23 -III-45	Q	1/500	1/200	23.9 mm.	1/50	.264	375
23 -III-45	R	1/500	1/200	25.0 mm.	1/25	.943	110
24 -III-45	S	1/600	1/200	27.0 mm.	1/50	.072	1555
25 -III-45	T	1/500	1/200	25,0 mm'	1/50	.127	818
3 -IV-45	U	1/600	1/300	29.0 mm.	1/100	.255	470
3 -IV-45	V	1/600	1/200	27.0 mm.	1/50	.195	574
7 -IV-45	X	1/500	1/200	25.0 mm.	1/12.5	.102	1019
10 -IV-45	Y	1/600	1/200	27.5 mm.	1/50	.110	1036
10 -IV-45	Z	1/600	1/200	27 5 mm.	1/50	.202	564
11 -IV-45	A'	1/100	1/10	6.0 mm.	1/50	.994	25
12 -IV-45	B'	1/500	1/200	25.0 mm.	1/50	.123	845
18 -IV-45	C'	1/600	1/200	28.0 mm.	1/100	.278	416
19 -IV-45	D'	1/500	1/200	24 0 mm.	1/50	.111	900
27 -IV-45	E'	1/600	1/200	28.0 mm	1/200	.161	720

NOTA:

I.— Respetando las conveniencias propias de los Laboratorios productores de las muestras utilizadas en este trabajo me reservo la procedencia de dichas muestras por lo que las designo por letras,

NOTA: 1.- Respetando las conveniencias propias de los laborantes productores de las muestras utilizadas en este trabajo no se han procedido de dichas muestras por lo que las designo por letras.

Fecha	Nombre	Método de las diluciones en agua	Método de las diluciones en agua	Método de las diluciones en agua	de miligramos por litro
27-IV-45	E	1/500 1/200	28.0 mm	1/500 1/200	181
19-IV-45	D	1/500 1/200	24.0 mm	1/500 1/200	111
18-IV-45	C	1/500 1/200	28.0 mm	1/500 1/200	278
13-IV-45	E	1/500 1/200	25.0 mm	1/500 1/200	138
11-IV-45	A	1/100 1/10	8.0 mm	1/500 1/200	994
10-IV-45	Z	1/500 1/200	27.5 mm	1/500 1/200	251
10-IV-45	Y	1/500 1/100	27.5 mm	1/500 1/200	110
7-IV-45	X	1/500 1/200	25.9 mm	1/100 1/10	101
6-IV-45	V	1/500 1/200	27.0 mm	1/500 1/200	410
3-IV-45	U	1/500 1/200	25.0 mm	1/100 1/10	255
29-III-45	T	1/500 1/200	25.0 mm	1/500 1/200	117
29-III-45	S	1/500 1/200	27.0 mm	1/500 1/200	652
28-III-45	R	1/500 1/200	25.0 mm	1/500 1/200	942
23-III-45	Q	1/500 1/200	23.9 mm	1/500 1/200	181
20-III-45	P	1/500 1/200	26.1 mm	1/500 1/200	133
17-III-45	O	1/500 1/200	25.0 mm	1/500 1/200	415
16-III-45	L	1/500 1/200	26.3 mm	1/500 1/200	153
10-III-45	K	1/500 1/200	26.0 mm	1/500 1/200	158
8-III-45	J	1/500 1/200	24.2 mm	1/500 1/200	144
8-III-45	I	1/500 1/200	24.5 mm	1/500 1/200	976
23-II-45	H	1/300 1/200	24.0 mm	1/500 1/200	1181
22-II-45	G	1/500 1/200	26.9 mm	1/500 1/200	146
19-II-45	F	1/500 1/200	25.5 mm	1/500 1/200	638
18-II-45	E	1/500 1/200	26.8 mm	1/500 1/200	1428
13-II-45	D	1/500 1/200	28.8 mm	1/500 1/200	167
12-II-45	C	1/500 1/200	25.4 mm	1/500 1/200	106
8-II-45	B	1/500 1/200	26.6 mm	1/500 1/200	1082
7-II-45	A	1/500 1/200	28.4 mm	1/500 1/200	1412

## CAPITULO V.

### PROPIEDADES CLINICAS Y TERAPEUTICAS.

Actualmente están aceptadas como eficientes vías de introducción, la intravenosa y la intramuscular; además, quirúrgicamente, la aplicación "in-situ" en infecciones expuestas o accesibles, Como la dosis de penicilina es variable, dependiendo del grado de la naturaleza de la infección que va a ser tratada así como el modo de su administración, trataré primero este punto.

Antes de la aplicación se requiere tener un estudio bacteriológico para la identificación de los gérmenes causantes del padecimiento por tratar.

Los gérmenes sensibles a la penicilina son los siguientes:

Estafilococo	Neumococo
Estreptococo piógeno	Meningococo
Estreptococo hemolítico	Gonococo
Estreptococo viridians	M. catarralis
Estreptococo no hémolítico	Bacilo diftérico
Bacilos difteroides	Bacilo del antrax
Bacilo Welchi	

Entre los gérmenes no sensibles a la penicilina son los siguientes:

Las salmonelas	B. proteo
Los diséntericos	Las brucelas
B. coli	B. tuberculoso
B. colérico	Las levaduras
B. de Friedlander	Los hongos en su
B. piociánico	mayor parte

Los cuadros patológicos que son tratados con la penicilina son los siguientes:

1).— Todas las infecciones estafilocócicas, con o sin bacteremia.

Osteomielitis aguda.

Carbuncos abscesos de tejidos blandos

Meningitis

Trombosis del seno cavernoso de los senos laterales

Neumonía empiema

Carbunco del riñón

Infecciones de heridas.

2).— Todos los casos de infecciones por clostridias:

Edema maligno

Gangrena gaseosa

3).— Todas las infecciones estreptocócicas hemolíticas con bacteremia y todas las infecciones locales serias:

Celulitis

Mastoiditis con complicaciones intracraneanas (meningitis, trombosis de los senos, etc.)

Pneumonía y empiema

Sepsis puerperal

Peritonitis

4).— Todas las infecciones neumocócicas de

Meninges

Pleura

Endocardio

Todos los casos de neumonía resistentes a la sulfanomidas,

Sepsis puerperal

6).— Todas las infecciones gonocócicas complicadas por:

Artritis

Oftalmia

Endocarditis

Peritonitis

Epididimitis

Asi mismo en todos los casos de gonorrea resistentes a la sulfonamida

Igualmente se ha determinado que la penicilina es efectiva en los siguientes padecimientos, pero no ha sido definido en forma concluyente:

- 1).— Sífilis
- 2).— Actinomicosis
- 3).— Endocarditis bacterianas

Entre los padecimientos en los que la penicilina es de valor dudoso estan las infecciones mixtas del peritoneo e hígado cuyo organismo predominante pertenece a los Gram negativos como:

- 1)—Ruptura del apéndice
- 2)—Abscesos hepáticos
- 3)—Infecciones del conducto urinario.
- 4)—Asi mismo es de valor dudoso en las fiebres causadas por mordeduras de rata debida al *Streptobacillus moniliformis*.

### *Acción Antimicrobial en el Hombre*

Rene Dubos describe los agentes antimicrobianos de origen biológicos diciendo que pueden presentar efecto bacteriostático o bactericida.

La penicilina posee la característica de presentar su acción antibacterial causando completa inhibición del crecimiento de los gérmenes y ofreciendo así, las mejores condiciones para que el mecanismo de defensas orgánicas se imponga a la infección. Además despues se efectúa la lisis de las bacterias.

Desde luego la acción de la penicilina no es inmediata. Se diferencia de las sulfadrogas, que también tienen acción bacteriostática en que la penicilina actúa en presencia de pus, grandes cantidades de bacterias y tejidos autolizados. Esta droga no interrumpe la actividad de los leucocitos.

Su acción bactericida es aumentada por la presencia de sangre o suero a condición que se efectúe la multiplicación bacteriana.

No es destruída ni absorbida por las bacterias. En bajas diluciones afecta la morfología de las bacterias e interfiere su división.

Es evidente que en la selectividad de acción antimicrobial ciertas propiedades de la célula tales como permeabilidad de su membrana, metabolismo, actividad enzimática etc. contribuyen a su susceptibilidad; asi algunos gérmenes no son afectados, como el bacilo coli, es

porque hay enzimas segregadas por estos gérmenes y que tienen la propiedad de destruir la penicilina.

Se han hecho experimentos para demostrar la acción bacteriolítica de la penicilina; Rantý y Kerby en 1944 usando los métodos foto-eléctricos y turbidimétricos encontraron que la acción de la penicilina podía ser dividida en las siguientes fases:

Usando un cultivo de estafilococo y penicilina, al principio el estafilococo se multiplicó en el caldo con penicilina como en el caldo simple, después la multiplicación es lenta y cesa, finalmente la bacteriolisis progresiva es observada.

Himmelwit encontró que los cultivos jóvenes de estafilococo en caldo eran lisados mucho más rápidamente que los cultivos viejos.

Así se han utilizado cultivos lo suficientemente opacos para observar la bacteriolisis en el caldo digerido con tripsina, y puesto a incubación, variando de 1 a 5 horas de acuerdo con el modo de crecimiento del organismo

Los patrones de turbiedad se preparan añadiendo formalina en una solución de 1 a 100 mezclando cantidades de caldo con organismos haciendo un volumen total de 1 cc.

Se hace la dilución del problema con 1.0 cc. de penicilina añadido de la porción del cultivo hasta que el volumen sea de 1 cc.

Los tubos son incubados al Baño María a 37 grados centígrados, algunos crecen otros decrecen en turbiedad y son vistos a cortos intervalos por comparación con los patrones formolizados.

Neumococo.—Un cultivo de tres horas de neumococo tipo I, fué mezclado con una cantidad de penicilina. La turbidez del cultivo aumentada durante la primera hora de incubación fue regresada a su nivel original y dos horas después había comenzado la lisis progresiva. Después de 4½ horas de incubación fue completamente lisado; si el cultivo se desarrollaba en placa de agar sangre el cultivo se llenaba de anillos claros cuando estas placas se habían tratado previamente con penicilina. Una placa control de cultivo sin penicilina desarrollaba numerosas colonias.

El mismo experimento con neumococo tipo II dió un resultado similar. Al principio la opacidad aumentaba y la lisis progresiva comienza a 1½ horas siendo completa en 4½ horas. Una placa de agar sangre se observa llena de anillos claros de los cultivos lisados

después de 4½ horas de incubación quedando estéril.

Neumococos del tipo III fueron lisados en mayor tiempo. El aumento de turbidez persiste por dos horas la lisis comienza a las 3 horas y fue completa en 6 horas.

La rápida lisis del neumococo por la penicilina depende de la edad del cultivo. Un neumococo tipo II de 16 horas mezclado con una unidad de penicilina; durante las primeras 10 horas de incubación no aumentó ni disminuyó la turbidez. Después de 24 horas fue observado un principio de lisis y no fue aumentada después de 48 horas de incubación. En un experimento hecho paralelamente en el mismo tiempo con 4½ horas de cultivo del mismo, la lisis fue completa dentro de las 4 horas.

La rápida multiplicación de los organismos parece favorecer la pronta bacteriolisis por la penicilina.

Esto es nuevamente demostrado en el siguiente experimento un cultivo de 4½ horas de neumococo tipo III fue dividido en dos partes. Una parte fue centrifugada lentamente siendo después lavada con solución salina y puesta a su volumen original con solución salina.

Cuando se mezcló con una unidad de penicilina como se describió anteriormente en el caldo de cultivo aumentó la turbidez. La lisis empezó a las 6 horas y fue completa en menos de 20 horas.

En la otra parte no hubo multiplicación en la solución salina y el valor total de la lisis después de 20 horas no fue más grande con penicilina que con la suspensión salina control.

Desde que la lisis aparece; el movimiento activo de multiplicación de los organismos en experimentación se ha podido ver que sea mucho más rápida, con la adición de suero normal de conejo, pudiéndose llevar también más rápida la lisis.

Estreptococo Viridans.— Un cultivo joven de estreptococo viridans cuando tenía 3 horas de incubación fue mezclado con una unidad de penicilina en un volumen total de 1 cc.

La turbidez aumentó durante la primera hora comenzando la lisis progresiva siendo esta completa en 3 horas.

Un segundo cultivo de estreptococo viridans cuando fue más resistente a la lisis por la penicilina fue tratado al mismo tiempo con una unidad de penicilina.

Un tubo adicional del cultivo fue experimentado conteniendo

una cantidad de penicilina y 10% de suero normal de conejo para acelerar la lisis.

El cultivo sin suero mostró aumento en la turbidez durante las 3 primeras horas y despues de 24 horas se había lizado cerca de la mitad de la turbidez original. El cultivo que contenía el suero aumentó de turbidez por 1½ horas comenzando la lisis y fue completa en 24 hs,

Un tercer cultivo de estreptococo viridans fue todavía más resistente a la lisis por la penicilina fue tratado, en la misma forma.

El cultivo sin suero mostró aumento de la turbidez por horas y despues de 24 horas había vuelto a la turbidez original. El cultivo de suero al principio aumentó la turbidez, la lisis principió despues de 3½ horas y el cultivo fue lisado casi la mitad despues de 24 horas de incubación.

Estreptococo Hemolítico.— La lisis del estreptococo hemolítico por la penicilina no fue obtenido con los numerosos cultivos ensayados a menos que se les añadiera suero para activar el crecimiento de los cultivos jóvenes al mismo tiempo que la acción de la penicilina.

Cultivo de 3 horas del grupo "A" del estreptococo hemolítico fueron mezclados con 100, 10, 1 y 0.1 unidades y 10% de suero normal de conejo. Despues de 19 horas de incubación un cultivo demostró una lisis parcial y otro demostró una lisis dudosa. Despues de otra incubación de 24 horas todos los cultivos mostraron una lisis parcial

Se apreciaron pequeñas diferencias en el grado de la lisis por las diferentes dosis de penicilina.

El estreptococo hemolítico del grupo C y S también sufrieron lisis lenta parcial por la penicilina en caldo suero. Un cultivo del grupo C fue completamente lisados en la sexta hora.

Estafilococo — Los cultivos jóvenes de estafilococo en su etapa de multiplicación activa, son rápidamente lizados por la penicilina.

Con los cultivos viejos que han sido incubados por 16 a 24 horas despues de haberles añadido la penicilina la lisis es más lenta y no llega a ser completa a pesar de que la incubación ha sido continuada por 3 o 4 días.

Como en el caso del neumococo la rápida multiplicación inicial es seguida de un aumento de la lisis.

En un cultivo con 0.025 unidad de penicilina en un volumen to-

tal de un cc. la multiplicación rápida fue seguida de lisis rápida; que no pudo seguir a pesar de ello procediendo a su lisis total y fue seguido de un segundo período de multiplicación.

Con 0.16 unidades de penicilina el corto período de multiplicación rápida fue seguido de lisis rápida que fue completa en 3 horas.

Con una cifra 10 veces mayor 1.6 unidades de penicilina por cc. la multiplicación fue dilatada y menos pronunciado que en el tiempo de la subsecuente lisis que no fue completa a pesar de que el cultivo fue incubado por 6 horas.

Así que todos los organismos sensibles a la penicilina tratados son sensibles de sufrir la bacteriolisis por la misma.

Es interesante notar que la dosis de penicilina cuando es considerablemente pequeña al aumento requerido para producir bacteriostasis en la prueba usual de laboratorio tiene una acción bacteriolítica sobre el estafilococo. Esta sucesión de la multiplicación y lisis y renobada multiplicación de una solución débil de penicilina, puede también demostrarse en el neumococo.

Si lo mismo ocurre en el suero humano cuando sea restringida la multiplicación la bacteriolisis continuara, después con un nivel o concentración de penicilina en suero o en sangre puede producirse la bacteriolisis. Esta debe ser la verdadera razón por lo que la penicilina es efectiva en casos en que cultivos jóvenes en el estudio de multiplicación activa sean más susceptibles a la acción bacteriolítica de la penicilina que los cultivos viejos. Todd (1926) y (1931) mostraron que los cultivos viejos eran matados y fagocitados por el suero sanguíneo normal, por el contrario los cultivos jóvenes eran altamente resistentes a este mecanismo de defensa sanguínea. Es esta sin embargo una fortuna para el organismo cuando en este estado puede ser imbadido rápidamente el suero sanguíneo humano en el justo estado en que es más susceptible a la acción bacteriolítica de la penicilina.

La lisis más rápida ocurre con organismos en la fase de mayor multiplicación.

Esta debe ser la verdadera razón para que la penicilina sea efectiva en el tratamiento.

### *Vías de Administración*

Las vías de administración se eligen según el tipo de infección de que se trate. Como se trata de una sustancia tan soluble y en con-

secuencia tan fácilmente excretada, se prefiere al instituir un tratamiento dar varias dosis más pequeñas repetidas periódicamente que dosis mayores y espaciadas. Como lo que se pretende es mantener una concentración alta por un período de tiempo más largo, se prefiere en muchos casos la vía intramuscular aunque el nivel de su concentración en la sangre no es tan alto como el que se obtiene inicialmente después de la inyección intravenosa. Sin embargo en casos de septicemia el procedimiento más recomendable es el intravenoso gota a gota.

En tratamientos locales ha sido administrada por vía intrapleural, intratecal, intrarticular y en casos de heridas infectadas que se aplica también directamente en la superficie. En infecciones oculares se ha empleado también en forma de instilaciones bañando la córnea o bien cuando se trata de infecciones intraoculares de mayor importancia se han alcanzado concentraciones altas por medio del método ionto-forético; ya que la córnea debido a su escasa vascularización retiene la droga por un espacio mayor de tiempo obteniendo un máximo de acción terapéutica.

La rapidez de penetración bajo la influencia de la corriente eléctrica ha sido evidenciada por los resultados de la determinación de penicilina en el humor acuoso 15 minutos después de la aplicación.

Tratamiento general con penicilina.— La penicilina puede ser administrada mediante inyección parenteral de modo que circule en la sangre y llegue a todas partes del organismo humano. Este método es seguro en sus efectos pero más costoso que el local necesitándose por lo general 50 veces la cantidad necesaria para tratamiento local.

Se probó la vía gastro-intestinal; por la boca mediante cápsulas preparadas especialmente para resistir la disolución por el ácido del jugo gástrico y mediante tubo duodenal, aunque evidentemente tuvo lugar cierta absorción, la velocidad variable a la cual el medicamento fue absorbido hizo inconstante e incierta la concentración bacteriostática en la sangre cuando se usaron dosis de la magnitud practicable hasta la fecha.

En los primeros trabajos se evitó la inyección subcutánea, debido al dolor que la acompaña, aunque pudiera haber ciertas ventajas en usar esa vía ya que al parecer se mantiene un nivel sanguíneo suficiente durante más tiempo que con la inyección intramuscular o intravenosa.

Para obtener los mejores resultados por vía intravenosa, es esencial emplear un preparado libre de pirógeno, que puede eliminarse durante la purificación puede darse intermitente o gota a gota continuamente.

Es corriente la trombosis en el lugar de la inyección después de un período variable de terapia intravenosa aunque con buenas muestras el tratamiento puede continuarse por varios días. A condición de emplear una buena técnica, la mayor parte de las muestras producen escasa reacción local o general.

### *Administración Local*

Cuando la inyección se haya claramente localizada y existe una cavidad o superficie que habrá de retener un preparado de penicilina puede aplicarse una concentración mucho mayor al lugar de la infección y utilizando un vehículo apropiado, la acción de una sola dosis puede prolongarse hasta 24 horas; para lo que se pueden utilizar los siguientes preparados:

I.— Un polvo seco de penicilina de baja potencia.

II.— Un polvo compuesto de un preparado de penicilina calcio mezclado con polvo de sulfanilamida o sulfatiazol a una concentración de 2000 a 5000 unidades de penicilina por cc.

IV.— Una pasta hecha con cera, aceite y agua a la que se añe de penicilina en una concentración de 150 a 250 unidades por cc.

V.— Mezclada con vaselina 500 a 800 unidades por cc.

Se han empleado diversos métodos de aplicación local: compresas sencillas impregnadas con pasta, insuflación de polvo o espolvoreando sobre la superficie infectada

Se puede aspirar el pus e inyectar una solución. Un método alternativo es el de quitar el tejido purulento dañado de un absceso o cavidad o herida suturar los bordes e insertar 1 o más tubos estrechos de goma, sujetándolo con una sutura, que llegue hasta lo más profundo de la cavidad; así se aspira la cavidad y la solución de penicilina, se inyecta a través de los tubos por medio de una geringa.

A continuación se pasará revista a los principales padecimientos infecciosos sensibles a la penicilina.

### *Infecciones Estafilocócicas*

Abraham, Cbain, Florey y colaboradores en 1941 fueron los pri-

meros investigadores que aplicaron la penicilina en infecciosos debidas al estafilococo. De los experimentos hechos in vivo e in vitro estos autores insinuaron la posibilidad de emplear la penicilina en casos de infecciones debidas a gérmenes sulfamido resistentes

Ellos también demostraron, que el suero, la sangre y el pus asi como líquidos de tejidos autolizados no inhibian la acción de la penicilina.

En casos de bacteremia, la penicilina ha dado resultados sorprendentes Herrell, Heilman y Williams relatan un caso debido a estafilococcus aureus en el que la enferma no había respondido a la sulfadiazina por lo que la concentración en la sangre había subido a 144 mgr. por mil. Estos autores procedieron a tratar a la enferma con penicilina gota a gota por vía intravenosa durante dos días consecutivos. Cada litro de solución fisiológica contenía 160,000 unidades Oxford y se inyectaban dos litros diarios a una velocidad de 20 a 30 gctas por minuto. El hemocultivo previo había demostrado la presencia del germen ya mencionado. Después de 4 horas del comienzo del tratamiento el hemocultivo demostró escasos gérmenes y 18 horas más tarde fué completamente negativo. Likely, Swirsky y Morgan han comunicado también el caso de un enfermo con septicemia de estafilococcus aureus y en el cual no había logrado mejoría con el sulfatiazol. Cuando se empezó el tratamiento con penicilina el enfermo estaba completamente grave y se le administraron por vía endovenosa 500,000 unidades en un período de 16 días. La mejoría se fué acentuando ya desde las 12 horas del comienzo del tratamiento y los hemocultivos se le hicieron lentamente negativos

Keffer' Blake y Marshall y colaboradores han comunicado 137 casos de enfermos con cuadro infeccioso debido a estafilococo sin bacteremia que fueron tratados con penicilina. El 80% de estos mejoraron 8% fallecieron el 12% no mostró efectos dignos de mención. De los 55 enfermos con osteomielitis, 4 sanaron.

Florey y Florey comunicaron un caso de trombosis del seno cavernoso debido a estafilococcus aureus, se trata de un hombre joven de 28 años de edad que 6 días antes de que se instituyera el tratamiento había notado un fúnculo dentro de la nariz del lado izquierdo presentando la sintomatología clásica de la afección ya mencionada, Este enfermo presentó intolerancia para la sulfapiridina y por lo mismo fué tratado por la penicilina durante 10 días inyectada por vía intramuscu-

lar e intravenosa completando un total de 1693 unidades. La infección estafilocócica en este caso fué dominada.

Godhil también relata un caso del seno cavernoso de un niño de 5 años de edad que tampoco había respondido al tratamiento con sulfamida y heparina. Por esto se comienza el tratamiento con penicilina dando 100,000 unidades por vía intravenosa las 12 primeras horas. Se siguió el tratamiento durante 14 días recibiendo un total de 975,000 unidades.

Bennett y Parkes comunican un caso de neumonía estafilocócica en que una sola inyección de 20,000 unidades de la sal de calcio en la cavidad pleural mejoró este cuadro clínico. Estos mismos autores se refieren a otro caso de una niña con empiema que presentaba un exudado masivo, purulento complicado con neumonía de estafilococo. En este caso inyecciones intramusculares de sal de sodio e inyección local de la sal de calcio en la cavidad pleural después de aspirar el pus fué seguido de una gran mejoría.

Florey y Florey se refieren a casos de conjuntivitis aguda 4 de los cuales eran debido a estafilococcus aureus y una de ellas también presentaba estreptococo hemolítico y otra estaba infectada con estafilococo albus. En estos casos la penicilina fué aplicada en unguento o disuelta en agua conteniendo de 600 a 800 unidades por gramo o por cc. Se prefirió el unguento que se aplicaba cada 2 horas día y noche. Todos estos casos mejoraron entre una y cinco semanas y a medida que mejoraban se disminuía su aplicación. Otros casos tratados por estos mismos autores fueron 46 casos de blefaritis que después del tratamiento local con unguentos conteniendo penicilina curaron en su mayor parte. Las incurrencias debidas a insuficiencias en la aplicación del medicamento no fueron importantes.

Dowson y Hobby comunicaron 3 casos de infecciones por estafilococcus aureus de los cuales 18 presentaban bacteremia que fueron tratados con penicilina con resultados satisfactorios.

### *Infecciones Estreptocócicas.*

La acción de la penicilina fué estudiada por los investigadores de Oxford en estos casos. Con este tratamiento en endocarditis lentas causada por estreptococo viridans la mejoría que se observa durante el tratamiento, cesa con la interrupción del mismo.

Florey y Florey relatan el caso de un hombre joven de 24 años con endocarditis aguda. El germen era susceptible a la penicilina. A

la semana de haber sido instituido el tratamiento el hemocultivo se hizo negativo. Cuando el tratamiento se interrumpió el enfermo clínicamente estaba mejor y volvió a su estado de gravedad anterior. Se continuó entonces el tratamiento pero como en ocasiones el hemocultivo fué positivo se observó al hacer la prueba de susceptibilidad que la cepa había variado en el sentido de hacerse resistente a la droga.

Herrel también se refirió a otro caso de endocarditis bacterial lenta tratada con penicilina y en la cual se observó la eliminación de la bacteriemia pero como los autores anteriores, Herrel también observó recidivas en la suspensión transitorias del tratamiento. En este y en los casos de infecciones producidas por estafilococcus aureus, el presente autor hace notar que no se presentaron reacciones tóxicas. En varios casos en que el cuadro infeccioso se acompañaba de moderada leucopenia el recuento de los leucocitos aumentó durante la terapia con penicilina, siendo esta característica paralela a la mejoría. En un caso de aleucocitosis polimorfo nuclear antes del tratamiento se notó en seguida un aumento progresivo de los neutrófilos.

Keefer y Blake y colaboradores que se refieren al mayor número de endocarditis lenta llegan a la conclusión que el tratamiento con penicilina no es del todo alentador. Ellos dicen con respecto a 17 enfermos que 4 fallecieron en 10 no se observó ningún resultado favorable, y los 3 restantes mejoraron temporalmente mientras estaban bajo tratamiento con penicilina, observándose recidivas luego que éste se suspendió.

La cantidad de droga administrada varió entre 40 a 760,000 unidades en el período de 9 a 26 días según los casos. Hay evidencia suficiente que algunas cepas de estreptococcus viridans son más susceptibles que otras y que el torrente sanguíneo puede ser esterilizado por un corto tiempo. Pero en resumen el resultado es desalentador.

Lyons estudió 11 casos de infecciones a estreptococo hemolítico entre los que se pueden distinguir 5 casos de celulitis 1 caso de empiema, 1 de ericipela, 2 mastoiditis 1 osteomielitis y el último de pansinucitis. 10 de estos casos curaron; el enfermo con ericipela falleció. Las cantidades administradas fueron de 90,000 repartidas en dosis de 15,000 inyectadas intramuscularmente cada 4 horas.

Williams y Nichols se refieren a un caso de osteomielitis del hueso frontal cuando despues del tratamiento con 44,000 unidades Oxford de la droga sanó. El agente infectante de este caso fue el estreptococo anaerobio de cadena corto.

Chester Keefer y colaboradores describen otros 23 casos de infecciones estreptocócicas caracterizados porque las cepas infectantes eran sulfamido resistentes. Entre éstos había 23 casos debidos a estreptococo hemolítico, 6 casos a estreptococo anaerobio y los últimos 4 casos a estreptococo indiferente. Del primer grupo 13 mejoraron, 7 fallecieron y en 3 no se observó resultado. De los 6 casos debido a estreptococo anaerobio 5 eran infecciones al útero de las cuales 3 mejoraron y 2 murieron. Uno de estos casos presentó embolia pulmonar múltiple. De los casos producidos por estreptococo no hemolítico, 2 enfermos presentaban abscesos cerebral y uno meningitis que había seguido a un empiema. Estos 3 enfermos murieron. El cuarto presentaba una pielonefritis con endocarditis y tampoco mostró mejoría.

Mitchell y Kainester describen un caso de septicemia puerperal debido a estreptococo hemolítico sulfamido resistente, 42,400 unidades fueron administradas en las primeras 24 horas repitiéndose también al segundo día por vía intravenosa. En los 11 días de tratamiento recibió 3.585000 unidades. La temperatura volvió a lo normal.

Lewis describe un caso de septicemia post-aborto sulfamido resistente que bajo la terapia con penicilina curó rápidamente.

Bennett y Parkes se refieren a 2 casos de empiema en que este tratamiento fue efectivo. En el exudado sero purulento pleural se encontró estreptococo B. hemolítico. El exudado pleural se aspiró en varias ocasiones. En cada uno de estos casos a la dosis de penicilina que se inyectó se le agregó la aplicación de dosis menores localmente en la cavidad pleural. Los enfermos entraron en estado franco de convalecencia reabsorbiéndose el líquido residual.

### *Infecciones Neumocócicas.*

Un estudio muy amplio sobre el tratamiento de la neumonía lobar y el empiema neumocócico con penicilina ha sido llevado a efecto por Tillet, Cambier y Mc. Cormack.

El alto grado de actividad antibacterial de la penicilina contra el neumococo fué demostrado por Fleming. Posteriormente diversos investigadores han hecho repetidamente la misma observación in vitro, Hoobky Meyer y Chaffe estudiaron la actividad quimioterápica en lauchas infectadas demostrando su acción curativa, Tillet, Cambier y Harris comunican un interesante trabajo sobre el estudio de cepas de diferentes tipos sulfamido resistentes a la acción curativa de la penicilina en infecciones producidas por ellas.

Tillet y colaboradores se refieren a 46 casos de neumonía lobar y a 8 casos de empiema. En el primer grupo las observaciones se dirigieron no solo a la avaluación de la penicilina como agente terapeú-tico sino que también a determinar los límites de su dosificación.

La penicilina en inyecciones repetidas, ya por vía intravenosa o muscular variando la dosis desde 10,000 a 25,000. Los intervalos de tiempo generalmente de 3 horas o sea 8 inyecciones diarias. Entre los enfermos del primer grupo 14 presentaban bacteremia. Del total de 46 enfermos 43 presentaron una mejoría rápida. Con el objeto de evitar recidivas la duración del tratamiento era por término medio de 3 a 4 días y a veces se extendía un poco más según los casos. El segundo grupo de enfermos comprende 8 casos de empiema neumocócica que fueron tratados con inyecciones intrapleurales de penicilina. La infección fué eliminada en 7 de estos casos sin requerir drenaje quirúrgico.

Koffer y colaboradores se refieren a otros casos de infecciones debidas a neumococo y presentaban por ejemplo 23 casos de meningitis neumocócica de las cuales 7 sanaron, 2 casos estaban acompañados de endocarditis y 16 casos fueron fatales.

Los resultados en el tratamiento de endocarditis debidas a este gérmen han sido en general desalentadoras.

Dawson y hobby refiriéndose a 3 grupos de infecciones neumocócicas por ellos estudiados, recomiendan el siguiente dosaje:

a).— Neumonía 1,000 unidades cada 4 horas intramusculares. 10 inyecciones frecuentemente son suficientes para la continuación del tratamiento por 2 a 3 días puede ser necesario.

b).— Empiema 20,000 unidades intrapleural en 30 a 40 cc. de solución salina cada 2 días a 3 a 4 inyecciones. Además inyecciones intramusculares o endovenosas como antes indicamos.

c).— Meningitis 20,000 unidades intratecal diariamente 2 a 3 inyecciones, son suficientes. El tratamiento por vía muscular es igual al indicado.

### *Gangrena Gaseosa*

Lucila Hac. quien anteriormente estudió la acción de las sulfadrogas así como también el peróxido de zinc y la tirotricina en el tratamiento experimental de la gangrena gaseosa en lauchas y cobayos, después de una inyección intramuscular de una cepa de Cl. Welchii

cuya virulencia y propiedades necrotisantes fueron anteriormente comunicados. La infección en los dos grupos de animales fue muy rápida gangrena gaseosa con crepitación edema y necrosis se extendía desde el muslo hasta el cuello y los animales morían dentro de las 24 horas. La acción de la penicilina se empezó a estudiar, dirigiendo los experimentos hacia la determinación de la cantidad mínima para detener la infección cuando se inyectaba esta después de la inoculación. El porcentaje de animales sobrevivientes aumentaba paralelamente con la cantidad de unidades Oxfor administradas. 90% fue el máximo que se alcanzó con un mínimo de 250 unidades Oxford. El efecto alcanzado era mayor cuando la penicilina se administraba en dosis más pequeñas y repetidas. Así por ejemplo; usando 5 unidades obtenía un 54% de sobrevivencia así se daba la droga en una sola dosis, pero el porcentaje subía a 92 cuando la misma cantidad era dada en dosis pequeñas y espaciadas. Simultáneamente con estos experimentos de protección esta autora hizo estudios sobre el tratamiento de gangrena gaseosa en lauchas y cobayos. Dosis pequeñas de penicilina inyectadas directamente en los tejidos infectados eran más eficaces. Así por ejemplo se obtenía el mismo porcentaje de animales sobrevivientes cuando se inyectaban 5 unidades de penicilina en la extremidad infectada que cuando se inyectaban 15 unidades en el lado opuesto. De los numerosos experimentos llevados a efecto comparativamente a otros agentes bactericidas esta autora dice que la penicilina es muy superior en valor terapéutico a cualquiera de los agentes quimioterápicos hasta ahora investigados en el tratamiento de infecciones debidas al *Cl. Welchii*.

Florey y Florey y Cairns ya habían comunicado la acción de esta droga en el tratamiento de heridas infectadas de gangrena gaseosa con excelentes resultados. Todas estas investigaciones han sido altamente consideradas dado el gran número de estas infecciones.

En todos los casos considerados anteriormente es de importancia el hecho de que la penicilina actúe en presencia de sangre líquidos purulentos o líquidos autolizados ya que otros agentes quimioterápicos con alto valor bactericida para diferentes especies microbianas no actúan siempre en igual forma.

### *Infecciones Gonocóccicas*

Entre los casos seleccionados de infecciones gonocóccicas para tratamiento con penicilina estan aquellos casos de infecciones producidas por gérmenes sulfamido resistentes o aquellos casos en que los

enfermos han presentado fenómenos tóxicos de intolerancia a los derivados de la sulfanilamida. El resultado ha sido muy eficiente. El gonococo como el meningococo son especies bacterianas muy sensibles a la acción de este agente antibacterial.

Keefer y Blake y colaboradores hacen referencia a 129 casos de blenorragia en el hombre, estudiados por Mahony y colaboradores, en los cuales han obtenido un resultado excelente. Los exámenes bacteriológicos eran negativos a las 48 horas después del tratamiento. Los resultados satisfactorios en 125 casos. Las dosis administradas variaban entre 100,000 y 160,000 unidades Oxford. Estas se repartían ya fuera dado por vía intramuscular dosis de 10,000 unidades cada 3 horas (16 dosis en total) o 20,000 unidades cada 3 horas (5 dosis) o 25,000 unidades cada 3 horas (en 3 dosis)

Cook, Porly y Herrel han obtenido también resultados buenos en 14 casos sulfamidos resistentes de gonorrea en el hombre y en tres casos de mujeres. Los cultivos se hicieron negativos después de 14 a 18 horas de empezado el tratamiento. Estos autores usaron la vía intravenosa gota a gota de 30 a 40 por minuto. Las dosis máxima y mínima en el hombre fueron de 110,000 unidades y 650,000 unidades y en la mujer de 162,000 y 113,000.

Priest trató 9 casos de gonorrea en el hombre con gérmenes sulfamido resistentes. 12 dosis de 15,000 unidades por vía intramuscular cada 4 horas fueron muy eficaces.

Van Slike y Buschealtz comunican haber tratado 178 de gonorrea en su mayor parte producidas por gérmenes sulfamido resistentes inyecciones intramusculares cada 3 horas hasta 1:0,000 fue óptimo aunque con dosis menores también obtuvieron curas. El total de penicilina inyectada fue de 200,000 unidades.

Dowson y Habby relatan casos de septicemia gonocócica tratados con dosis de 10 a 15,000 unidades cada 4 horas durante 2 días.

En la gonorrea crónica de la mujer este tratamiento tiene gran importancia dado que es un problema arduo para obtener su curación

Cohn Studdiford y Grunstein han tratado 45 enfermos con gérmenes resistentes a las sulfadrogas. Después del tratamiento fueron controladas bacteriológicamente siendo negativos.

En la oftalmía gonocócica del recién nacido el tratamiento con penicilina ha dado también resultados muy buenos. Un caso de Flo-

rey fue tratado con instilación de solución de penicilina conteniendo 1,200 unidades por cc.

### *Acción Espiroquetica de la Penicilina*

La penicilina es activamente espiroquetica in vitro, sin embargo cepas de treponeme pálido pueden desarrollar resistencia a la penicilina como lo han demostrado Dunham Hanere y Rake Augustine etc. demostraron experimentalmente la acción espiroquetica de esta droga.

Por infección con Spirochoeta novy fiebre recurrente en lauchas. El tratamiento se empezaba despues de 24 horas a intervalos de 3 horas por 2 días. Despues de 27 hors de comienzo del tratamiento ni se evidenciaron espiroquetas en la sangre ni se logró producir la infección en animales nuevos.

Dada la evidencia en animales de experimentación Mahony Arnold Harrys aplican la penicilina en 4 casos de enfermos sifilíticos se administraron inyecciones de 25,000 unidades por vía intramuscular cada 4 horas por un período de 8 días. Exámenes ultramicroscópicos se efectuaron cada 4 horas. Estos fueron negativos 16 horas despues del principio del tratamiento. Durante las primeras 8 horas los enfermos presentaron molestias generales y cefáleas sin importancia. La elevación de la temperatura tambien fue leve, las reacciones cerológicas fueron negativas en numerosas oportunidades, se efectuaron nuevos exámenes 6 meses despues en el que se hizo un estudio principalmente de líquido cefalorraquídeo. Los autores no han observado recidivas en estos enfermos en un período transcurrido entre 86 y 101 días. El tratamiento fue inocuo. Se observó la reacción de Hersheiner.

O Leary y Herrell comunican el caso de una mujer de 42 años con una goma sifilítico en la nariz. Ella ignoraba su enfermedad, el exámen serológico fue positivo intenso así como el del cefalorraquídeo. Fue hospitalizada 8 días recibiendo 20,000 unidades Oxford 2 veces por día o sea un total de 320,000 unidades. Los resultados fueron satisfactorios. La penicilina se mostró más efectiva que los diferentes arsenicales empleados en estos casos. A los 8 días del tratamiento se notó una gran mejoría y 3 semanas más tarde no se notó sino una ligera pigmentación

... el efecto de los medicamentos...  
... el efecto de los medicamentos...

### Acción Especifica de la Medicina

La medicina es una ciencia que se ocupa de la salud y el bienestar de los seres humanos. Su objetivo principal es prevenir, diagnosticar y tratar las enfermedades, así como promover la salud y el bienestar general. La medicina se divide en varias ramas, como la medicina interna, la cirugía, la pediatría, la ginecología, etc. Cada rama se especializa en el estudio y el tratamiento de enfermedades específicas. La medicina también se ocupa de la prevención de enfermedades y la promoción de la salud. Esto se logra a través de la educación, la vacunación y el diagnóstico temprano. La medicina es una profesión que requiere un alto nivel de formación y ética. Los médicos deben estar comprometidos con el bienestar de sus pacientes y seguir los principios de la ética médica. La medicina es una ciencia que evoluciona constantemente. Los avances en la investigación científica y tecnológica han permitido el desarrollo de nuevos tratamientos y medicamentos. Esto ha mejorado significativamente la calidad de la atención médica y el pronóstico de los pacientes. La medicina es una profesión que requiere un alto nivel de formación y ética. Los médicos deben estar comprometidos con el bienestar de sus pacientes y seguir los principios de la ética médica. La medicina es una ciencia que evoluciona constantemente. Los avances en la investigación científica y tecnológica han permitido el desarrollo de nuevos tratamientos y medicamentos. Esto ha mejorado significativamente la calidad de la atención médica y el pronóstico de los pacientes.

## CAPITULO VI.

### CONCLUSIONES

La elección del método que debe usarse en la determinación de la potencia será de acuerdo con la exactitud que se desee.

Así tenemos el método de las diluciones en serie, no es exacto, ni da valores específicos de actividad, pero naturalmente para el uso práctico en los preparados de utilidad terapéuticas que no requieren mayor exactitud, el método es aceptable.

El método de la copa de Oxford es el método práctico excelente ofrece las siguientes ventajas:

- I.— Es fácil de ensayar diariamente gran número de muestras.
- II.— No es necesario que las muestras sean estériles.
- III.— Las muestras requieren relativamente pocas diluciones.
- IV.— Tiene bastante aceptable exactitud.

La combinación de los dos métodos se usa cuando se trata de obtener con precisión la potencia de alguna muestra



## BIBLIOGRAFIA

- 1.— Revista de Sanidad y Servicios Coordinados del Estado de Veracruz. No. 443 - Dic. - 10 - 1944.
- 2.— Anais Paulistas de Medicina Cirugia. Vol. 45. Junio 1943: No. 6.
- 3.— Actas Teraupécticas. Año I - No. 2. Mayo 1944.
- 4.— Fleming Lancet. 20 de Enero 1945.
- 6.— Hobby Mayer, Proc. Soc. for Exp. Biol, 1942 50 - 281.
- 7.— Hobby Mayer. Proc. Soc. for Exp. Biol. 1942 50 - 277.
- 8.— Marco Antonio Mena Brito. Prensa Médica Mexicana: 99 Año. No. 12. 15 Dic. 1944.
- 9.— Heilman. A: J. of Med. Soc. 1944. 207 - 477.
- 10 — Rammel Kamps C. H. Proc. Soc. for Exp. Biol. 1942, 51-95
- 11.— Fleming Lancet. 8 de Enero 1944.
- 12,— Mc. Mahang J. R. J. of Biol Chomestry 1944. 153 - 249.
- 13.— Foster J. W. Jour. Biol. Che. 1942. 144 - 285.
- 14.— Foster J. W. Jour. of Bacteriology 1943. 40 - 421.
- 15.— Bodenham. Lancet. 2 - 275, Dic. 11 1943:
- 16.— José Gómez Pagola. Sugestiones 109:
- 17.— José Gómez Pagola. Sugestiones 110.
- 18.— William H, Schmidt Journal of Bast. Febr. 1944.
- 19.— Taylor. Proc. Soc. Exper. Biol, Abril 1943. 52 - 299.
- 20,— Vicent. Proc. Soc. for Exp. Biol 1944. 55 - 162.
- 21.— Fleming Lancet. Junio 20 - 1942 1 - 732:
- 22,— Foster. J. of Bacteriology 1943. 46 - 187.
- 23.— Mc. Kee. J. of, Inmunology 1944. 48 - 259.
- 24.— S. Morcnes. Penicilina, Mayo 15 - 1944.
- 25.— Heatlay. Jour. Bact. 1944. 43 - 645.
- 26 — Kocholaty W. Jour Bact. 1942. 44 - 469.
- 27.— Tauber. Jour. Am. Chem. Soc. 1942. 64 - 2218.