

# REVISTA CLÍNICA ESPAÑOLA

Director: C. JIMÉNEZ DÍAZ. Secretarios: J. DE PAZ y F. VIVANCO

Redacción y Administración: Antonio Maura, 13. Madrid. Teléfono 22 18 29

Editorial Científico-Médica.

TOMO XXIV

15 DE MARZO DE 1947

NUM. 5

## REVISIONES DE CONJUNTO

### ESTREPTOMICINA

J. M.<sup>a</sup> SEGOVIA DE ARANA y J. M. DE PALACIOS  
MATEOS

Clinica Médica Universitaria. Instituto de Investigaciones  
Médicas. Prof. C. JIMÉNEZ DÍAZ.

Comité Nacional de la Penicilina.

**INTRODUCCIÓN.**—El descubrimiento de la Estreptomicina ha sido el resultado del esfuerzo inteligente y decidido de un grupo de investigadores norteamericanos, cuyo núcleo principal pertenece al Departamento de Microbiología de la Estación Agrícola Experimental de Nueva Jersey, adscrita a la Universidad de Rutgers. Estos investigadores, al frente de los cuales figura SELMAN A. WAKSMAN, dedicaron su esfuerzo principal a la obtención de sustancias antibacterianas a partir de diferentes microorganismos, y más concretamente, al logro de un antibiótico capaz de ejercer acción bacteriostática y bactericida principalmente sobre los gérmenes Gram negativos, tanto "in vitro" como "in vivo". Estos estudios, comenzados en 1939, dieron por resultado el aislamiento de un determinado número de sustancias antibióticas de diferente origen, actividad y propiedades. Sucesivamente se fueron descubriendo: a) la *actinomicina*, aislada por WAKSMAN y WOODRUFF<sup>1</sup> del "Actinomyces antibioticus", y que poseía alta toxicidad (era seis veces más tóxica que el ácido cianídrico, y 3 egr. bastarían para matar a un hombre). b) La *tirotricina*, conseguida por DUBOS y HOTCHKIS<sup>2</sup> en el Instituto Rockfeller de Investigaciones Médicas, a partir del "Bacillus brevis", y que se compone de dos fracciones: la *gramicidina*, activa sobre gérmenes Gram positivos, y la *tirocidina*, eficaz tanto sobre bacterias Gram positivas como Gram negativas. Estudios experimentales en animales demostraron que era muy tóxica. c) La *clavacina*<sup>3</sup>, más acti-

va que la actinomicina sobre las bacterias Gram negativas, pero también tóxica. d) La *fumigacina*<sup>4-5</sup>, no tan tóxica, pero tampoco muy activa. e) La *cetomina*<sup>5</sup>, no tóxica, pero inactiva "in vivo". f) La *micromonosporina*, con escaso poder antibiótico. g) La *estreptotricina*, aislada también por WAKSMAN y WOODRUFF<sup>6</sup>, del "Actinomyces lavendulae", que posee gran actividad, tanto "in vitro" como "in vivo", pero excesivamente tóxica. Y finalmente h) La *estreptomicina*, cuyo descubrimiento fué comunicado en enero de 1944 por SCHATZ, BUGIE y WAKSMAN<sup>7</sup>, y es objeto de la presente revisión.

Para obtener estas sustancias fué preciso que WAKSMAN y sus colaboradores aislasen varios miles de actinomices, cientos de hongos y numerosas bacterias del suelo normal, de suelos de cultivo abonados con estiércol, suelos pantanosos, etc., así como de otros materiales naturales. Entre todos los microorganismos investigados, se encontró que los actinomices poseían un poder antibacteriano de un 20 a un 30 por 100 superior al de los demás organismos productores de sustancias antibióticas. Pero solamente un pequeño número de estos actinomices ofrecían posibilidades de producir sustancias antibacterianas que pudieran ser usadas clínicamente en las infecciones causadas por gérmenes Gram negativos. La primera entre éstas fué la "estreptotricina"<sup>8-9</sup>, que era activa no solamente "in vitro", sino también "in vivo", y parecía ofrecer grandes promesas en el tratamiento de las infecciones causadas por bacterias Gram negativas. Sin embargo, investigaciones posteriores revelaron su gran toxicidad en los animales de experimentación, como pudieron comprobar ROBINSON y GRAESSLE<sup>10</sup>, además de conocerse posteriormente que algunas bacterias, tanto Gram positivas como Gram negativas, eran naturalmente resistentes a grandes concentraciones del antibiótico.

Estos inconvenientes de la estreptotricina hicieron a WAKSMAN y colaboradores proseguir en

sus investigaciones con el fin de obtener una sustancia que estuviese libre de las desagradables propiedades de aquella y pudiera ser empleada en la clínica. Al mismo tiempo se conoció que algunas bacterias ácido-alcohol resistentes poco influenciables hasta entonces por la quimioterapia podían ser inhibidas en su crecimiento por ciertos hongos, especialmente por el "Aspergillus fumigatus"<sup>5</sup>. Era de desear, por tanto, que el antibiótico buscado, además de tener las propiedades de la estreptotricina, sin sus inconvenientes de toxicidad, ejerciese acción inhibidora sobre el "Mycobacterium tuberculosis". Se logró, por fin, aislar un actinomicetos<sup>7-11</sup> iden-

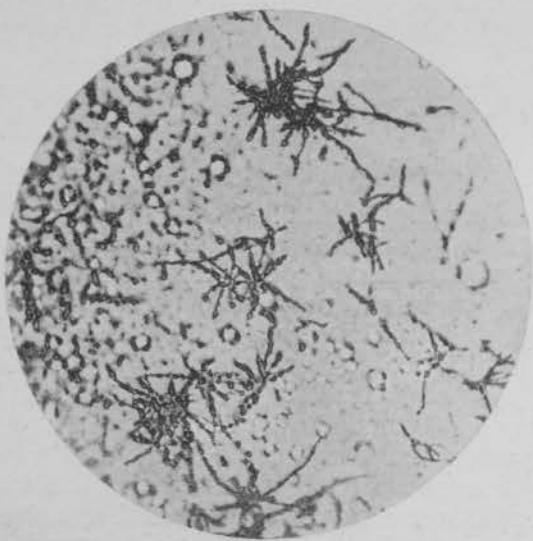


Fig. 1.—"Streptomyces griseus" 1 X 200. (Tomado de WAKSMAN, S. A.<sup>20</sup>.)

tificado como el "Streptomyces griseus" (fig 1), el cual producía una sustancia antibiótica que reunía todas las propiedades exigidas, es decir, ser eficaz contra ciertos gérmenes Gram negativos y sobre el "M. tuberculosis", tanto "in vitro" como "in vivo", y no ser demasiado tóxica. Esta sustancia se parecía mucho a la estreptotricina, pero poseía mayor actividad contra determinados gérmenes Gram negativos, principalmente "Proteus vulgaris" y "Pseudomonas aeruginosa", así como sobre algunas bacterias formadoras de esporas, tales como el "Bacillus mycoides", que eran resistentes a la estreptotricina. A esta sustancia se la denominó *estreptomicina*.

Las dos primeras cepas que se aislaron de "Streptomyces griseus" productoras de estreptomicina (no todas las razas la producen) lo fueron, la primera en un terreno de labranza abonado con estiércol, y la otra de la garganta de un pollo.

**PRODUCCIÓN Y OBTENCIÓN DE ESTREPTOMICINA.** La composición del medio de cultivo para el "Streptomyces griseus" tiene una gran importancia en la producción de estreptomicina, influyendo, sobre todo, la presencia de ciertas sustancias orgánicas que se hallan en los extractos de carne<sup>7-11</sup>, que favorecen esta producción. En

los cultivos agitados, el crecimiento máximo se obtiene a los dos días; en los estacionarios, el crecimiento es más gradual, alcanzándose la mayor producción de estreptomicina a los nueve días. El medio se hace alcalino en ambos casos.

Las razas de "Streptomyces griseus", productoras de estreptomicina, no son absolutamente estables, sino que experimentan marcadas variaciones, como han visto SCHATTZ y WAKSMAN<sup>12</sup>, que repercuten en su capacidad de producción de estreptomicina. Esta es nula cuando no se forman micelios aéreos esporulados (típicos del "Streptomyces"), sobreviniendo entonces una rápida lisis y muerte del microorganismo.

La estreptomicina es soluble en agua, y no lo es en los disolventes orgánicos, como el éter, cloroformo y acetona. WAKSMAN describe su obtención de la siguiente manera: Cuando el caldo de cultivo ha adquirido su máxima acción antibiótica, la incubación termina, momento en el cual la masa sólida originada del crecimiento del "Streptomyces" se separa del caldo por centrifugación o filtración. Este caldo, de reacción alcalina, se trata con carbón vegetal, el cual adsorbe el antibiótico completamente. El adsorbato se centrifuga o filtra, y lavado primero con alcohol para eliminar algunas impurezas, se trata más tarde con una mezcla de ácido-alcohol diluido, que disuelve la estreptomicina. Después de eliminarse el carbón, y, tras algunas purificaciones, a la solución resultante se añaden 10 volúmenes de éter que elimina el alcohol y deja a la estreptomicina en forma de una solución acuosa, amarillenta, oscura o rojiza. Un producto sólido puede obtenerse por la precipitación de la anterior solución con acetona o por la desecación al vacío. Así se logra una estreptomicina en bruto, que exige ulteriores manipulaciones para su purificación y cristalización, que no creemos necesario detallar. Gran número de los primeros trabajos experimentales en animales fueron hechos con este material impuro.

**MÉTODOS DE DETERMINACIÓN. UNIDADES.**—Para la producción y aislamiento de este antibiótico, así como para las investigaciones farmacológicas y clínicas que con él se realizan, es preciso disponer de métodos apropiados para determinar la cantidad de estreptomicina que se encuentra en un medio problema. A este objeto se han señalado varios "test", muchos de ellos empleados ya en la determinación de penicilina y otros antibióticos. Mas antes de revisarlos es necesario que nos ocupemos de cómo se han establecido las unidades de estreptomicina.

En un principio WAKSMAN<sup>13</sup> propuso la llamada unidad S, que se definía como la cantidad de estreptomicina que inhibía el crecimiento de una raza determinada de "Escherichia coli" en un centímetro cúbico de medio de cultivo. Pero esta unidad resultaba demasiado pequeña para los usos farmacológicos y clínicos, y entonces se propuso la unidad L, que es la cantidad de estreptomicina capaz de inhibir el crecimiento de

la "Escherichia coli" en un litro de medio de cultivo. Cuando se dispuso de estreptomicina base cristalizada, pudo adoptarse una unidad de peso, la llamada unidad G, que equivale a un gramo de sustancia cristalizada. La unidad G (1 gr.) es igual a 1.000 unidades L y a un millón de unidades S. Por tanto, 1 unidad L = 1 mgr. y 1 unidad S = 1 microgramo o gamma. Nosotros nos referiremos a unidades S o a su equivalente en peso.

En realidad no puede compararse bien la acción de la estreptomicina con la de la penicilina, ya que ambas actúan preferentemente sobre gérmenes distintos, y, por otra parte, su standardización es diferente. Así tenemos que la unidad Oxford de penicilina se basa sobre la inhibición del crecimiento del "Stafilococcus aureus" (Gram positivo) en 50 c. c. del medio de cultivo, mientras que la unidad de estreptomicina se basa, como decimos, en la inhibición sobre una bacteria Gram negativa, la "E. coli" en sólo 1 c. c. del medio. En términos generales, la unidad Oxford representa una mayor actividad "in vitro" que la unidad S de estreptomicina. En cuanto al peso de la sustancia seca, una unidad de estreptomicina equivale a una milésima de milígramo (microgramo o gamma), en tanto que la unidad Oxford de penicilina es igual a 0,6 de gamma.

Para la determinación de estreptomicina se han empleado diferentes métodos de laboratorio: turbidimétrico, de diluciones seriadas usando la "E. coli" como organismo "test", de la dilución en agar, etc.

Un método sencillo para determinar la presencia de estreptomicina en cualquier muestra problema, no sólo cualitativa, sino también cuantitativamente, se basa en el estudio de las zonas de inhibición del crecimiento de determinadas bacterias (las más corrientemente empleadas son "E. coli", "S. aureus", "B. subtilis" y "B. mycoides"). Sobre placas de agar se siembra una o varias bacterias, depositándose luego, en puntos determinados de la placa la muestra problema, la cual, según la cantidad de estreptomicina que contenga, producirá en torno suyo un halo de inhibición del crecimiento de la bacteria sembrada, más o menos grande (figura 2), ya que puede compararse con la producida por cantidades conocidas de estreptomicina sobre los mismos microorganismos "test"<sup>14</sup>. Las bacterias más usadas en este método son el "S. aureus" y el "B. subtilis".

Para determinaciones de estreptomicina en los líquidos orgánicos se emplea bastante este método, aunque no puede fijarse el "B. subtilis" como microorganismo "test", ya que en los líquidos orgánicos normales hay sustancias que producen amplias zonas de inhibición sobre este germen. STEBBINS y ROBINSON<sup>15</sup>, utilizando el "S. aureus", encuentran que es un buen procedimiento para determinar estreptomicina en sangre. FORGAST y KORNNEGAY<sup>16</sup> preconizan un método con el mismo fundamento, en el que el mi-

croorganismo "test" es una raza especial de "B. subtilis" no inhibida por los líquidos orgánicos normales.

En investigaciones farmacológicas y clínicas, la estreptomicina puede ser determinada también cuantitativamente por el método de las microcámaras ("slide cell method"), usado ya por FLEMING en la determinación de penicilina. HEILMAN<sup>17</sup>, que ha sido el primero en emplearlo, señala su gran utilidad indicando que debe emplearse como microorganismo "test" el "Bacillus megatherium" en lugar del "Streptococcus pyogenes", sensible a la penicilina, pero no a la estreptomicina.

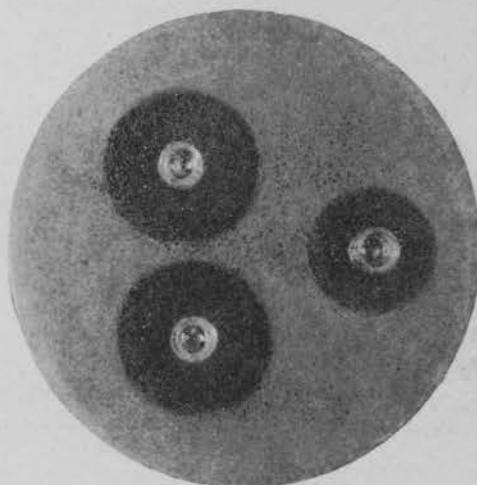


Fig. 2.—Placa de agar mostrando la inhibición del crecimiento del "B. subtilis" en torno de depósitos de estreptomicina. (Tomado de WAKSMAN, S. A.<sup>20</sup>.)

**PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS.**—Por su solubilidad en el agua, su insolubilidad en los disolventes orgánicos, la adsorción sobre carbón vegetal de una solución alcalina y su elución con ácidos diluidos, se sospechó desde un principio que la estreptomicina sería una base orgánica. El alto contenido en nitrógeno de los preparados concentrados afirmaba más esta idea primera, que quedó confirmada plenamente al disponerse de la estreptomicina cristalizada.

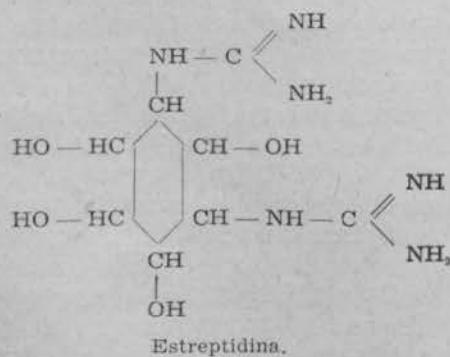
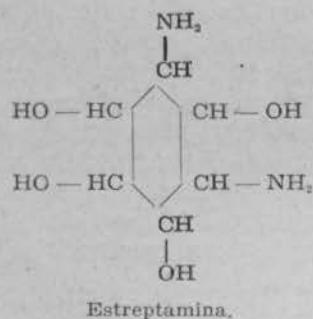
El clorhidrato de estreptomicina se caracteiza por una rotación específica de  $[\alpha]_D = -84^\circ$  y la ausencia de azufre o fósforo en su molécula. El sulfato de estreptomicina produce, según unos autores<sup>18</sup> 520 unidades por milígramo, en tanto que otros<sup>19</sup> encuentran 850 unidades por milígramo.

El reineckato de estreptomicina cristaliza en forma de finas agujas (fig. 3), y se descompone a los 162-164° C.<sup>19</sup>. La fórmula química de la estreptomicina no es bien conocida aún. WAKSMAN<sup>20</sup>, en septiembre de 1945, daba como probables las siguientes:  $(C_{14}H_{26}O_7N_9S_4Cr)_n$  o  $(C_{14}H_{26}O_8N_9S_4Cr)_n$ . BRINK y colaboradores<sup>21</sup> han comunicado que la estreptomicina se degrada en dos fracciones básicas, a las que denomina *estreptidina* y *estreptobiosamina* (estreptamina). La estreptidina es una base diguanidínica, representando la estreptamina su correspondiente compuesto diamínico. CARTER y CLARK<sup>22-23</sup>



Fig. 3. — Estreptomicina cristalizada. (Tomado de WAKSMAN, S. A. <sup>23</sup>.)

dan para la estreptamina la fórmula 1-3 diamino-tetra-hidroxicicloexano. La estreptidina es el compuesto diguanidínico, es decir: 1-3 diguanidino-tetra-hidroxicicloexano.



La estreptamina es ópticamente inactiva, y probablemente representa una de las ocho posibles *meso* formas. La estrecha correlación en-

tre la estructura química de la estreptamina y la del *meso*-inositol es un problema de gran interés, sobre el que actualmente se hacen estudios <sup>23</sup>.

En contraste con la penicilina, la estreptomicina es bastante estable, tanto química como biológicamente. Preparados en polvo, de gran poder antibiótico, se han conservado en la nevera durante períodos superiores a seis meses, sin que perdiesen nada de su actividad. Asimismo, soluciones estériles de estreptomicina, mantenidas a 37° C. durante quince a dieciséis días, han conservado su actividad inicial. El calentamiento de soluciones de estreptomicina a 100° C. durante diez minutos, produce una inactivación menor del 50 por 100. No obstante, en su empleo clínico se aconseja la refrigeración.

La estreptomicina no es destruida por los microorganismos. A este respecto no es lábil, como acontece a otros antibióticos (penicilina, glicotoxina, piocianasa). Cuando se preparan soluciones de estreptomicina, en agua por una parte y por otra en caldos de cultivo y ambas se inoculan con "Aspergillus niger" o una mezcla de bacterias y hongos, la actividad de los cultivos, después de una incubación a 26° durante siete días, no es diferente que la de los controles estériles <sup>20</sup>.

Las condiciones exigidas a los preparados comerciales de estreptomicina por la "Food and Drug Administration of the Federal Security Agency" de los Estados Unidos son <sup>24</sup>: a) La potencia mínima de estos preparados debe ser por lo menos de 300 unidades de estreptomicina base por miligramo de polvo seco. b) Debe ser estéril. c) No piretógena. d) No tóxica. e) Su grado de humedad no mayor del 3 por 100. f) Cuando es inyectada por vía intravenosa al gato, en dosis de 300 unidades por kilogramo de peso, no debe producir un descenso de la T. A. mayor que el originado por 0,1 de gamma por kilogramo de histamina base. g) No debe contener estreptotricina. h) Cuando a la estreptomicina seca se le añade agua destilada, de tal modo que 50.000 unidades estén contenidos en 1 c. c., debe formarse una solución clara, con un pH entre 5 y 7. i) La duración de los preparados comerciales de estreptomicina es de 18 meses después de su obtención.

**ACCIÓN ANTIBACTERIANA "IN VITRO" Y EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.**—La acción que la estreptomicina ejerce sobre los microorganismos frente a los cuales tiene poder antibiótico, es generalmente bacteriostática en bajas concentraciones y bactericida en grandes cantidades. Aunque ejerce un efecto lítico sobre las células vivas del "Bacillus subtilis", no lo posee cuando están muertas, ni sobre las vivas del "S. aureus".

La estreptomicina es activa frente a un gran número de gérmenes Gram positivos y Gram negativos, pero apenas tiene acción sobre los gérmenes productores de esporos. En los estudios efectuados "in vitro" hay una diferencia notable de sensibilidad a este antibiótico; no ya de unas bacterias a otras, sino de razas distintas de un mismo germe aisladas de fuentes distintas, e incluso entre distintas células de una misma colonia, diferencias que van de la sus-

ceptibilidad extrema a la resistencia más extraordinaria.

Son muy numerosos los trabajos aparecidos sobre estudios "in vitro" y de experimentación animal con la estreptomicina. Resumiremos brevemente los principales, en especial los que se refieren a gérmenes susceptibles de ser atacados por este nuevo antibiótico.

*Escherichia coli*.—Ya desde los primeros trabajos experimentales de WAKSMAN y colaboradores<sup>7-25-26</sup>, se vió que este germen era sensible a la estreptomicina. E incluso, como hemos dicho antes, llegó a adoptarse la unidad S de estreptomicina referida a la inhibición que sobre el crecimiento de una raza standard de "E. coli" producía la droga.

BUGGS, BRONSTEIN, HIRSFELD y PILLING<sup>27</sup> encuentran que en 26 razas distintas de "E. coli", aisladas de enfermos diversos con infección urinaria, 19, es decir, un 73 por 100, eran sensibles a una concentración de 8 unidades o menos por centímetro cúbico del medio de cultivo adecuado. Seis razas eran inhibidas por concentraciones entre 12 y 32 unidades. Y una mostró una resistencia mayor de 256 unidades por centímetro cúbico, y puesto que había sido aislada del enfermo antes de ser sometido éste al tratamiento con estreptomicina, se deduce que poseía una resistencia natural.

PULASKI<sup>28</sup> llega a resultados similares, señalando lo variable de la sensibilidad de las diferentes razas. WAKSMAN ha señalado que algunos colibacilos requieren de 500 a 50.000 unidades por centímetro cúbico del medio de cultivo para ser inhibidos.

*Proteus vulgaris*.—Parece ser uno de los más sensibles. BUGGS y colaboradores<sup>27</sup>, en seis razas distintas, encuentran que 8 unidades o menos por centímetro cúbico son suficientes para inhibir el crecimiento de todas ellas. Algunas razas originalmente eran sensibles a 2 unidades, pero después de un tratamiento de doce días en el enfermo necesitaron 8 unidades.

*Pseudomonas aeruginosa*.—En términos generales, la sensibilidad varía entre 2,5 y 25 unidades por centímetro cúbico, pero gran número de cepas muestra una resistencia natural bastante acentuada, que llega a ser de 32 a 256 unidades en el 50 por 100 de las razas aisladas por HIRSHBEILD<sup>27</sup> y del 15 por 100 en las de PULASKI<sup>28</sup>.

*Aerobacter aerogenes*.—Su susceptibilidad es muy variable, pues hay cepas sensibles a concentraciones de 0,5 unidad por centímetro cúbico, en tanto que otras requieren 64 y más unidades<sup>27</sup>. Se ha observado el desarrollo de resistencias a la estreptomicina durante el tratamiento, a veces considerable.

*Eberthella typhii*.—Los trabajos de ROBINSON, SMITH y GRAESSLE<sup>29</sup> demostraron que este germen tiene una susceptibilidad a la estreptomicina que varía entre 1 y 37,5 unidades por centímetro cúbico del medio de cultivo.

Los estudios de WELCH, PRICE y RANDALL<sup>30</sup> en

ratones infectados con "E. typhii" muestran que cuando la estreptomicina se administra intraperitonealmente en dosis inferiores a las necesarias para actuar eficazmente sobre las bacterias tíficas, éstas experimentan un estímulo en su desarrollo, lo que se traduce en una mayor mortalidad de los ratones así tratados comparados con los controles. Este hecho tiene un gran interés práctico, que después recogeremos.

*Salmonellas*.—WEST, DOLL y EDWARDS<sup>31</sup>, estudiando la inhibición que se producía con salmonellas al añadirles diferentes cantidades de estreptomicina, encontraron que la mayor sensibilidad se veía en la "Salmonella enteritidis" inhibida por 0,5 unidad por centímetro cúbico; la "S. schottmüller", con 2 unidades; la "S. aertrycke", con 4 a 8 unidades. En cambio, la "S. suis" necesitaba concentraciones de 60 unidades por centímetro cúbico del medio.

*Brucellas*.—Los trabajos de JONES y METZGER<sup>32</sup> en la infección experimental de embriones de pollo con "Brucella abortus", y los de LIVE, SPERLING y STUBBS<sup>33</sup> en cobayas, demostraron que podía lograrse una protección excelente con la estreptomicina frente a la infección. Tanto la "Brucella abortus" como la "melitensis" y la "suis" son muy sensibles a la acción del antibiótico "in vitro", ya que bastan concentraciones de 0,5 unidad por centímetro cúbico para inhibir su crecimiento.

En los animales de experimentación no es posible eliminar las brucellas del bazo, incluso con grandes dosis de estreptomicina. La curación de esta infección experimental sólo es posible si se combina la esplenectomía con la administración de estreptomicina (HEILMAN<sup>34</sup>).

*Klebsiellas*.—En la infección experimental con "Klebsiella pneumoniae", HEILMAN<sup>35</sup> comprobó que la estreptomicina tenía una marcada acción protectora. Con dosis de 185 a 500 unidades administradas diariamente, durante dos o tres días, 42 de 49 ratones sobrevivieron a la inoculación intraabdominal de 1.000 a 10.000 dosis letales del germen patógeno; en contraste, los 49 ratones controles no tratados murieron.

DONOWICK, RAKE y colaboradores<sup>36-37</sup> encuentran que 0,056 unidad por centímetro cúbico inhibe el crecimiento de la "Klebsiella pneumoniae" en caldo triptona al 0,75 por 100, siendo esta inhibición mínima variable con el lote de gérmenes y la concentración de triptona en el caldo de cultivo.

Se han descrito resistencias de la "Kleb. pneumoniae" por encima de 256 unidades de estreptomicina por centímetro cúbico del medio.

*Pasteurella pestis*.—HORNIBROK<sup>38</sup> encuentra que la estreptomicina inhibe el crecimiento de la "Pasteurella pestis" en concentraciones variables entre 0,75 y 1,5 unidades por centímetro cúbico. En 10 ratones inoculados experimentalmente con "P. pestis" y tratados con 2.000 unidades antes de la inoculación y otras 2.000 unidades a las veinticuatro horas, logra una supervivencia de catorce días en todos ellos, en

tanto que los controles, infectados con la misma dosis, mueren en el 70 por 100 de los casos. Cuando da 2.000 unidades de estreptomicina diariamente dos días después de la inoculación y durante seis, 9 ratones del lote de 10 sobreviven durante catorce días.

WAYSON y McMAHON<sup>39</sup> hacen un estudio comparativo de la acción de la estreptomicina, sulfadiazina y sulfapirazina en 334 ratones y 154 cobayas inoculados experimentalmente con "P. pestis", encontrando que la estreptomicina tiene un gran valor en el tratamiento de estos animales, la mayoría de los cuales sobreviven, en tanto que todos los controles, menos tres, mueren. La estreptomicina es de eficacia superior a la sulfapirazina y sulfadiazina.

*Pasteurella tularensis*.—HEILMAN<sup>40</sup> comunica que la "P. tularensis" es muy sensible a la estreptomicina tanto "in vitro" como "in vivo". Bastan de 0,15 a 0,40 unidades por centímetro cúbico de medio de cultivo contenido 5 millones de gérmenes para que se inhiba el crecimiento de éstos. En un experimento donde la mortalidad de 30 ratones inoculados con "P. tularensis" era de un 100 por 100 a las noventa y seis horas de la infección, se logró la supervivencia de otro lote igual de 30 ratones en el 100 por 100 de los casos cuando se les administró 1.000 unidades diariamente durante diez días.

La clínica humana ha confirmado plenamente lo que se esperaba de estos resultados experimentales.

*Hemophilus pertussis*.—HEGARTY y colaboradores<sup>41</sup>, estudiando el efecto de la estreptomicina sobre este germen, encuentran que es bacteriostática en concentraciones de 3 unidades por centímetro cúbico y bactericida con 15 unidades por centímetro cúbico del medio de cultivo.

Infectando a ratones con dosis de 40.000 gérmenes, y tratados con 500 unidades de estreptomicina por día durante 5, el tiempo de supervivencia de los animales es doble que en los controles, habiendo al final una mortalidad de 90 por 100. En cambio, empleando dosis infectantes de 5.000 microorganismos, y tratando luego a los ratones con 2.000 unidades de estreptomicina al día durante diez, se salvan el 50 por 100 de los animales. Los que mueren lo hacen, aproximadamente, a los veintidós días, en tanto que los controles fallecen a los cinco días.

BRADFORD y DAY<sup>42</sup>, del Departamento de Pediatría de la Universidad de Rochester, comunican también buenos resultados con el empleo de la estreptomicina en las "Pertussis murina" experimental, aunque encuentran variabilidad de una cepa a otra y desarrollo de resistencia con el tratamiento, en ocasiones del 50 por 100 de la sensibilidad inicial.

*Estafilococos*.—La mayoría de los estafilococos dorados estudiados por BUGGS y colaboradores<sup>27</sup> mostraron ser muy sensibles a la estreptomicina, ya que el crecimiento de la mayoría de

ellos era inhibido por menos de 0,1 unidad por centímetro cúbico. De 27 cepas diferentes, 22 (81 por 100) eran inhibidas por concentraciones menores de 6 unidades del antibiótico por centímetro cúbico. Se trataba de estafilococos hechos resistentes en enfermos sometidos a tratamiento con estreptomicina.

Veintiuna de 26 cepas de estafilococos blancos (81 por 100) eran sensibles a concentraciones de una unidad o menos de estreptomicina. En cuatro veces se demostró una resistencia superior a 256 unidades por centímetro cúbico del medio de cultivo, siendo todas ellas razas aisladas de enfermos sometidos a tratamiento.

*Estreptococos*.—En 37 cepas diferentes de estreptococos hemolíticos alfa, 26 (70 por 100) eran sensibles a 8 unidades o menos de estreptomicina por centímetro cúbico del medio. Los ocho restantes requirieron 16 unidades o más para su inhibición. También se observó el desarrollo de resistencia durante el tratamiento<sup>27</sup>.

En los estreptococos hemolíticos, var. beta, 11 de 15 cepas (73 por 100) fueron sensibles a 8 unidades o menos de estreptomicina por centímetro cúbico. Dos razas resistentes a concentraciones hasta de 32 unidades por centímetro cúbico se aislaron de un mismo enfermo antes de iniciarse el tratamiento, lo que indica que puede haber resistencias naturales.

El "Estrep. viridans" es de escasa sensibilidad, ya que requiere<sup>20</sup> concentraciones mínimas de 16 unidades de estreptomicina por centímetro cúbico para ser inhibido.

*Mycobacterium tuberculosis*. — Ya desde los primeros ensayos experimentales que se hicieron con la estreptomicina pudo reconocerse por SCHATZ y WAKSMAN que este nuevo medicamento inhibía el crecimiento "in vitro" del bacilo tuberculoso humano en una concentración de 0,15 unidad por centímetro cúbico del medio de cultivo. Muy pronto los trabajos fundamentales de FELDMAN, HINSHAW y MANN<sup>43-44-45</sup>, de la Clínica Mayo, hechos en animales, demostraban las grandes posibilidades terapéuticas que se presentaban con este antibiótico. Cobayas y ratones infectados con dosis letales de "M. tuberculosis" y tratados con estreptomicina, sobrevivían a la infección, y en muchos casos curaban. Para comparar los resultados que se obtenían, los citados autores establecían arbitrariamente un índice de infección, sobre la base del estudio microscópico de las lesiones, en el que 100 representaban la máxima extensión posible de la tuberculosis. Los animales controles, sacrificados a los dos meses de la inoculación, exhibieron un índice de infección de 67, que contrastaba con el de 5,8 de los que habían recibido estreptomicina. En otro experimento los valores hallados fueron de 81,9 para los no tratados y 2,8 para los tratados. La dosis diaria de estreptomicina varió entre 1.387 y 6.000 unidades.

Observaciones posteriores de estos mismos autores<sup>46</sup> han confirmado los primeros resultados obtenidos, y que demuestran la poderosa activi-

dad antibacteriana que ejerce la estreptomicina en los animales de laboratorio. En efecto, el estudio microscópico de los órganos demuestra que se ha producido resolución, fibrosis o calcificación de las lesiones tuberculosas e incluso una aparente desaparición de la infección en un 30 por 100 de los animales. Las reacciones de tuberculina, previamente positivas, se hicieron negativas en aquellos animales en cuyos órganos no pudo encontrarse el "M. tuberculosis" empleando los métodos bacteriológicos más finos.

*Espiroquetas.* — HEILMAN<sup>47</sup> estudia la acción de la estreptomicina en la infección experimental de ciertas razas de marmotas con "Borrelia novyi" y "Leptospira icterohemorragiae", demostrando que, efectivamente, este antibiótico es eficaz, ya que si se administra en dosis de 800 unidades al día durante diez, comenzando diecisiete horas después de la inoculación, los animales se encuentran protegidos contra una cantidad de espiroquetas 1.000 veces mayor que la letal. Pero comparando estos resultados con los obtenidos en condiciones similares de experimentación con la penicilina, ésta es mucho más eficaz que la estreptomicina.

JOHNSON y ADCOCK<sup>48</sup> tratan a dos conejos sifíticos con estreptomicina durante setenta y dos y noventa y seis horas, respectivamente, con 42.550 unidades por kilogramo y día y 45.500 unidades por kilogramo y día, respectivamente. Las reacciones de Kahn experimentaron un rápido descenso en los animales tratados, en tanto que permanecía positiva en los controles.

DUNHAM y RAKE<sup>49</sup>, también en conejos infectados experimentalmente, encuentran que la estreptomicina tiene acción antisifilitica, pero que la penicilina G es unas 3.000 veces más eficaz.

En muchos otros microorganismos ha sido investigada la acción de la estreptomicina. Mas para no hacer demasiado árida esta relación, nos limitamos a los más intererantes.

En resumen, podemos decir que la estreptomicina inhibe "in vitro" el crecimiento de numerosos gérmenes Gram positivos y Gram negativos. Cepas diferentes de un mismo microorganismo muestran variaciones de sensibilidad muy amplias, apareciendo en muchos casos resistencias naturales considerables. La presencia de líquidos orgánicos (sangre, suero, etc.) aumenta de cuatro a ocho veces la tolerancia de los cocos Gram positivos a la estreptomicina, mientras que la inhibición de los Gram negativos no es modificada (PULASKI<sup>28</sup>). Seguramente ésta es una de las razones por la que la penicilina es más eficaz que la estreptomicina sobre los gérmenes Gram positivos. En líneas generales puede decirse que los cocos resistentes a la penicilina son sensibles a la estreptomicina, y viceversa.

La acción antibiótica de la estreptomicina "in vitro" es influída mucho por la composición del medio, por su pH y por la presencia o ausencia de ciertas sustancias. El pH óptimo para la ac-

ción de la estreptomicina es 9. Es debido esto a que, siendo la estreptomicina una base, no es tan activa en forma de sal como en el estado de base libre. La presencia de glucosa tiende a reducir su actividad de un modo notable.

No se conoce el mecanismo íntimo de la acción antibiótica que la estreptomicina ejerce sobre los microorganismos. Se sabe que no es absorbida por éstos y que los gérmenes Gram negativos sometidos a su acción experimentan un alargamiento de su protoplasma (ROBINSON, et-cétera<sup>50</sup>). Como estos cambios son inducidos ya con las concentraciones que alcanzan el nivel mínimo de inhibición, es de suponer que la estreptomicina actúe sobre el grado normal de división de los gérmenes, radicando aquí su poder patógeno para los mismos. Por lo que se conoce de su fórmula química, no es ilógico suponer que la estreptomicina actúe por una interferencia en mecanismos enzimáticos necesarios para la vida de los microorganismos.

En el siguiente cuadro, tomado en parte de WAKSMAN y SCHATZ<sup>29</sup>, se agrupan los gérmenes sensibles a la estreptomicina que ofrecen mayor importancia clínica, indicándose los límites más corrientes entre los cuales varía su sensibilidad.

CUADRO I.—Grado de sensibilidad de diferentes gérmenes Gram positivos y Gram negativos a la acción bacteriostática de la estreptomicina.

Microorganismos	Unidades de Estreptomicina (*)	
<i>Gram negativos.</i>		
Aerobacter aerogenes .....	0,5	64
Bacillus anthracis .....	0,375	
B. subtilis .....	0,12	1
Brucella abortus .....	0,5	3,75
Brucella melitensis .....	0,5	
Brucella suis .....	0,5	
Eberthella typhi .....	1	37,5
Escherichia coli .....	0,3	3,75
Hemophilus influenzae .....	1,56	5
Hemophilus pertussis .....	1,25	3
Klebsiella pneumoniae .....	0,625	256
Neisseria gonorrhoeae .....	5	
Neisseria intracellularis .....	5	
Pasteurella pestis .....	0,75	1,5
Pasteurella tularensis .....	0,15	0,3
Proteus vulgaris .....	0,4	3,2
Pseudomonas aeruginosa .....	2,5	25
Salmonella aertrycke .....	4	10
Salmonella enteritidis .....	0,5	
Salmonella shottmüller .....	2	
Salmonella suispefifer .....	60	
Shigella paradysenteriae .....	0,25	3,75
Vibrio comma .....	6	37,5
<i>Gram positivos.</i>		
Corynebacterium diphtheriae .....	0,375	3,75
Clostridium tetani .....	> 104	
Diplococcus pneumoniae .....	8	
M. tuberculosis, var. hominis.....	0,15	
Staphylococcus aureus .....	0,15	> 16
Strept. hemolyticus .....	2	> 16
Strept. viridans .....	> 16	120

(\*) Unidades de Estreptomicina que se requieren para inhibir el crecimiento del germen en 1 c. c. del medio de cultivo adecuado.

Si la sensibilidad o resistencia que un microorganismo determinado posee frente a la estreptomicina es una de las condiciones previas indispensables que es preciso conocer antes de instituir un tratamiento, no es, sin embargo, el único factor que deba tenerse en cuenta. La localización anatómica de la infección, la presencia o no de bacteriemia, el peso y edad del paciente, etcétera, son factores muy importantes. Como lo son igualmente para el logro del mejor resultado terapéutico las vías de administración que se elijan, los niveles que se alcanzan en sangre de estreptomicina, su eliminación y reacciones tóxicas que puede producir, la adquisición de resistencia por diferentes microorganismos, etcétera, cuestiones todas ellas que pasamos a revisar a continuación.

**FORMAS DE ADMINISTRACIÓN DE LA ESTREPTOMICINA** <sup>51-52-53-54</sup>.—La estreptomicina, bien en forma de clorhidrato o sulfato, es suministrada habitualmente bajo el aspecto de un polvo fino, seco, dentro de ampollas que contienen un millón o más de unidades. El modo de preparación para su uso es igual que el de la penicilina.

**Vías.** — a) *Parenteral*: La estreptomicina puede ser administrada por inyección intramuscular intermitente, en soluciones que contengan de 100.000 a 200.000 unidades por centímetro cúbico de solución salina isotónica cada tres, cuatro, o cinco horas, o intramuscular continua, en cuyo caso la dosis diaria de uno a dos millones de unidades puede ser disuelta en 500-1.000 c. c. de suero fisiológico.

La vía subcutánea se puede emplear también en soluciones similares a la intramuscular, siempre que la estreptomicina usada esté libre de impurezas, pues de lo contrario se produce irritación y dolor en el sitio de la inyección. En este caso es aconsejable añadir 1 c. c. de clorhidrato de procaína al 1 por 100 a 4 c. c. de la solución de estreptomicina para disminuir el dolor.

La vía intravenosa se emplea también de manera intermitente o continua. En la intermitente se adopta la misma dosificación e intervalos que para la intramuscular y subcutánea, y no presenta sobre éstas ninguna ventaja, más bien inconvenientes, sobre todo si se da rápidamente o se emplea estreptomicina impura en soluciones concentradas. La administración intravenosa continua se ha usado en algunos casos por el método gota a gota, con dosis de 1 a 4 millones diarios. La mitad de la dosis total diaria se disuelve en un litro de suero salino fisiológico, que se administra con un ritmo de 25 gotas por minuto, aproximadamente. De este modo se dan dos litros de suero al día. Pueden producirse fenómenos de irritación local.

b) *Vía oral*: Veremos seguidamente que, tras la administración oral, la estreptomicina apenas pasa a la sangre, incluso dándola en dosis altas, ya que por el tracto gastrointestinal se absorbe muy pequeña cantidad. Como por otra parte no es destruida por los jugos digestivos, pue-

de lograrse una concentración alta en la luz intestinal, en la que ejerce un efecto bacteriostático. Debido a esto, las bacterias intestinales pueden ser reducidas considerablemente en número tras la administración oral de estreptomicina, lo que ha sido usado en la preparación de enfermos que iban a ser operados de colon. Puede darse en zumo de naranja u otros líquidos sin ningún inconveniente.

c) *Vía intratecal*: Esta vía puede emplearse cuando se desee alcanzar altas concentraciones de estreptomicina en el L. C. R. Como veremos luego, la cantidad de droga que pasa la barreira hematoencefálica cuando es dada por vía parenteral es muy pequeña. Suele administrarse una inyección de 100.000 a 150.000 unidades en 5-10 c. c. de solución salina, agua destilada o L. C. R. cada veinticuatro-cuarenta y ocho horas, sin que se produzcan reacciones serias.

d) *Nebulización*: La insuflación o nebulización de estreptomicina directamente dentro del árbol tráqueobronquial, puede hacerse satisfactoriamente de una manera similar a la nebulización de penicilina. Suelen emplearse concentraciones de 25.000-50.000 unidades por centímetro cúbico de suero fisiológico, sin que se produzca irritación de la mucosa bronquial.

e) *Administración local*: La estreptomicina se puede emplear localmente o ser inyectada directamente dentro de un empiema, cavidades de abscesos, peritoneo, etc. En estos casos se indican concentraciones de 10.000 a 100.000 unidades por centímetro cúbico de suero fisiológico.

**NIVELES SANGUÍNEOS.**—La concentración de estreptomicina que se alcanza en los diferentes líquidos orgánicos tras su administración parenteral, es difícil de valorar en conjunto, ya que los autores que se han ocupado de este asunto emplean casi siempre métodos distintos para la valoración de la droga.

ZINTEL, FLIPPIN y colaboradores <sup>51</sup> ven que después de la inyección intravenosa de 600.000 unidades de estreptomicina en una sola vez, en el hombre, se logra una concentración en la sangre que a los quince minutos es de 32,8 unidades por centímetro cúbico, y que desciende paulatinamente durante las seis horas siguientes. Al final de estas seis horas, en la mayoría de los casos se puede demostrar aún pequeñas cantidades, alrededor de 4,9 unidades por centímetro cúbico.

Cuando la misma dosis se administra por vía subcutánea, el nivel máximo en la sangre no se alcanza hasta las dos-tres horas. Por vía intramuscular, las concentraciones sanguíneas y duración son las mismas que por vía intravenosa.

BUGGS, MATTEW y PILLING <sup>52</sup> dan inyecciones intravenosas de 50.000 unidades. Al fin de la primera hora, en sangre hay menos de 3 unidades por centímetro cúbico, y a las cuatro horas no hay nada. Dando 500.000 unidades por vía intramuscular o intravenosa cada seis horas, lo-

gran mantener niveles sanguíneos de 5 a 7,5 unidades por centímetro cúbico.

Los estudios hechos por ELIAS y DURSO<sup>54</sup> en enfermos con fiebre tifoidea sometidos a tratamiento con estreptomicina, son de resultados similares en cuanto a las concentraciones alcanzadas en sangre tras la administración parenteral de la droga. Igualmente los experimentos de GRAHAM, VANDER BROK y KUIZENGA<sup>55</sup> en perros, y los de KORNÉGAY, FORGAES y HENLEY<sup>56</sup> en ratones, cobayas, conejos y hombres, demuestran que el máximo nivel sanguíneo de estreptomicina aparece en sangre de los quince a sesenta minutos después de la inyección subcutánea o intramuscular, desapareciendo casi del todo a las cuatro horas. Estos últimos autores observan variaciones a veces considerables de los niveles sanguíneos de estreptomicina para una dosis determinada, no ya sólo de un animal a otro, sino también en el mismo animal en días diferentes. Esto también se ha observado en el hombre.

En líneas generales se admite que cuando se administran 100.000 unidades de estreptomicina en inyección intramuscular cada tres horas, puede esperarse que la concentración sanguínea en el período de esas tres horas sea de 2-3 unidades por centímetro cúbico. Si se da 200.000 unidades por inyección en la misma forma, el nivel es de 5-6 unidades por centímetro cúbico (mínimo, 3 u.; máximo, 10 u.). Si se aumenta a 300.000 unidades, la concentración sanguínea es de 6-8 unidades por centímetro cúbico (mínimo, 4 u.; máximo, 12 u.). Para 500.000 unidades por inyección, los niveles que pueden esperarse son de 9-10 unidades por centímetro cúbico (mínimo, 6 u.; máximo, 20 u.). Cuando se da 600.000 unidades por inyección intravenosa cada tres horas, la concentración puede ser de 12-16 unidades por centímetro cúbico (mínimo, 10 u.; máximo, 26 u.).

Cuando se administran 3 millones de unidades (3 gr.) de estreptomicina diarios en infusión venosa continua (en 3 litros de sol. de glucosa al 5 por 100), los niveles sanguíneos varían generalmente entre 20 y 60 unidades por centímetro cúbico de sangre<sup>51</sup>.

Todas las observaciones son unánimes en reconocer que la estreptomicina dada por vía oral no atraviesa, o lo hace en cuantía insignificante, la pared gastrointestinal. ANDERSON y JEWELL<sup>57</sup> administran 600.000 unidades disueltas en 100 centímetros cúbicos de agua sin encontrar estreptomicina en el suero en ningún momento. ZINTEL y colaboradores<sup>51</sup> dan un millón de unidades diariamente a 6 enfermos, y encuentran que sólo ocasionalmente aparece estreptomicina en la sangre en cantidades mínimas, 1 a 6 unidades por centímetro cúbico de sangre. Los trabajos en animales<sup>58-59</sup> demuestran lo mismo. GRAHAM, tras la administración oral, no pudo demostrar estreptomicina en la sangre de cobayas, aunque el 3,9 por 100 de la dosis fué reabsorbida en la orina. Aparentemente, la estrep-

tomicina atraviesa mal la pared gastrointestinal, pues no sólo no pasa del intestino a la sangre cuando es dada por vía oral, sino que tampoco aparecen cantidades apreciables en las heces cuando se administra parenteralmente.

DIFUSIÓN.—Cuando se da estreptomicina por vía parenteral, difunde poco en el L. C. R.<sup>58</sup>. Por esto, en el tratamiento de las meningitis debe administrarse por vía introrraquídea al mismo tiempo que la intramuscular. Dosis de 20.000 unidades no producen signos de irritación meníngea, llegándose a dar 100.000-150.000 unidades diarias, o cada cuarenta y ocho horas, sin trastornos serios. La estreptomicina se absorbe muy lentamente del espacio subaracnoidal. BUGGS y PILLING<sup>58</sup> han visto que a las veinticuatro horas de administrar intratecalmente 100.000-200.000 unidades de estreptomicina hay concentraciones de 0,875 a 25,4 unidades por centímetro cúbico en el L. C. R.

La estreptomicina penetra en la cavidad peritoneal en cantidades apreciables tras la inyección aislada de 500.000 unidades, en casos de peritonitis consecutivas a úlceras pépticas perforadas<sup>53</sup>. En el líquido ascítico se ven concentraciones de 1,75 a 12,5 unidades por centímetro cúbico después de dar parenteralmente 500.000 unidades de estreptomicina.

Lo mismo que con la penicilina, se ve que la estreptomicina no penetra en las cavidades de empiema, aunque pueden apreciarse rastros de la droga en el pus.

La estreptomicina pasa a la bilis en pequeña cantidad, y seguramente la totalidad de la que se encuentra en las heces después de la administración parenteral de la droga proviene de esa vía. A diferencia de lo que ocurre con la penicilina, la estreptomicina no es concentrada por el hígado, y los niveles que en la bilis se encuentran son siempre más bajos que los de la sangre (ZASLOW, CONSELLER, HEILMAN<sup>59</sup>).

En los líquidos oculares se encuentran cantidades apreciables de estreptomicina tras su administración general. LEOPOLD y NICHOLS<sup>60</sup>, experimentando en conejos a los que dan 10.000 unidades por kilogramo de peso en dosis aisladas, encuentran la estreptomicina en concentraciones demostrables en conjuntiva, esclerótica, músculos extraoculares y humor acuoso, concentraciones que aumentan si lo inyectado son 100.000 unidades por kilogramo. La iontoporfosis, con una solución conteniendo 5.000 unidades por centímetro cúbico de solución salina isotónica, durante tres minutos, permite encontrar altas concentraciones en el humor acuoso.

La estreptomicina pasa también a la circulación fetal y al líquido amniótico a través de la placenta. WOLTZ y WILEY<sup>61</sup> la han demostrado en el cordón umbilical a los diez minutos de la inyección intravenosa a la madre, siendo la concentración menos de la mitad que en la sangre materna.

**EXCRECIÓN.**—La estreptomicina dada por vía subcutánea, intravenosa o intramuscular, se elimina abundantemente por la orina en cantidades que varían del 50 al 70 por 100 del total de la dosis administrada. ZINTEL<sup>51</sup> observó que la concentración más alta obtenida en la orina a las tres horas de ser inyectadas intravenosamente 600.000 unidades, fué de 520 unidades por centímetro cúbico y la más baja de 16 unidades por centímetro cúbico durante un período de doce horas.

Esta alta concentración que se alcanza en la orina es una de las circunstancias favorables que hacen a la estreptomicina tan indicada en el tratamiento de las infecciones urinarias producidas por gérmenes Gram sensibles a este antibiótico.

**ADQUISICIÓN DE RESISTENCIA.**—Ya desde las primeras experiencias, tanto de laboratorio como clínicas, con la estreptomicina, se pudo ver que la adquisición de resistencia por diversas bacterias sensibles previamente a este antibiótico era una contingencia que se daba frecuentemente y en un grado superior a la resistencia que diferentes microorganismos podían desarrollar frente a las sulfamidas o penicilina. Rápidamente comenzaron a aparecer comunicaciones de clínicos e investigadores sobre este problema, seguramente uno de los más importantes que pueden aparecer en el manejo de la estreptomicina, ya que puede hacer fracasar por completo el uso terapéutico de la misma.

HERREL y NICHOLS<sup>62</sup> fueron los primeros en describir la persistencia de la infección después de un tratamiento con estreptomicina y la aparición de cepas resistentes. En el trabajo de BUGGS y colaboradores<sup>27</sup>, al que nos hemos referido antes, se demuestra el rápido desarrollo de resistencia a la estreptomicina por casi todos los microorganismos investigados, resistencia que en algunos casos, como en los "Proteus vulgaris", es pequeña (de 2 a 8 unidades), pero que en otros, como en la "Pseudomonas aeruginosa", "Aerobacter aerogenes", "E. coli" y diferentes tipos de estafilococos y estreptococos, se hizo superior a la concentración de 256 unidades de estreptomicina por centímetro cúbico del medio de cultivo. Esta resistencia se desarrolló en enfermos que padecían infecciones producidas por esos gérmenes sometidos a tratamiento con estreptomicina.

FINLAND y colaboradores<sup>63</sup> observan también la aparición rápida de resistencia en grados extremos durante el curso de un tratamiento de varios casos consecutivos de infecciones urinarias producidas por bacterias Gram negativas, que inicialmente eran sensibles a la estreptomicina. Se trataba de ocho enfermos con pielonefritis crónica, en los que el o los gérmenes infectantes fueron aislados por cultivo antes y después del tratamiento. El grado de sensibilidad inicial estaba entre 12 y 25 unidades por centímetro cúbico del medio. Las dosis adminis-

tradas a los enfermos fueron de 250.000 unidades cada seis horas por vía intramuscular; mas posteriormente, al verse que no mejoraban, dieron 250.000 unidades cada cuatro horas, y, por último, al comprobarse que seguían sin ninguna mejoría, se subió la dosis a 500.000 unidades cada cuatro horas, también sin resultado. En algunos casos el tratamiento se comenzó por la inyección intravenosa de un millón de unidades, seguida cada cuatro horas de la inyección intramuscular, también de un millón, hasta que se vió claramente que este tratamiento era inútil. Determinada "in vitro" la sensibilidad de las bacterias después del tratamiento, se encontró que poseían una resistencia extraordinaria a la estreptomicina hasta de 50.000 unidades por centímetro cúbico del medio de cultivo.

BONDI y colaboradores<sup>64</sup> refieren también dos casos de infección urinaria, debidas al "Aerobacter aerogenes", que desarrollaron resistencia a la estreptomicina. En el primero de ellos, la sensibilidad del microorganismo "in vitro" antes del tratamiento era de una unidad por centímetro cúbico. A las seis horas de iniciado éste, la sensibilidad descendió a 2 unidades por centímetro cúbico, y a las veinticuatro horas la resistencia era de 1.000 unidades por centímetro cúbico, resistencia que persistía sin modificación a los seis meses de suprimirse el tratamiento. En otro caso, la sensibilidad inicial "in vitro" era de 0,5 unidades por centímetro cúbico, desarrollándose una resistencia de 1.000 unidades después de nueve días de tratamiento, con una dosis total de 15 millones de unidades.

Como vemos, la resistencia a la estreptomicina es el contratiempo más importante que puede sobrevenir en la terapéutica con este antibiótico, ya que obliga a abandonarla por completo.

Dos explicaciones pueden darse sobre la aparición de esta resistencia: primera, los microorganismos que se aislaron eran originalmente sensibles, habiendo sufrido después algún cambio en sus requerimientos metabólicos y de crecimiento por la exposición al antibiótico, o segunda, resulta de la multiplicación de bacterias que desde un principio eran resistentes a la estreptomicina, pero que estaban en menor número que las sensibles, y al desaparecer éstas merced al tratamiento, experimentan un crecimiento más fácil.

La primera explicación es muy posible, ya que "in vitro" se han logrado producir experimentalmente grandes resistencias a la estreptomicina en gérmenes primitivamente sensibles por pasos sucesivos en medios que contenían concentraciones progresivas crecientes del antibiótico, las primeras de las cuales no inhibían por completo el crecimiento. De esta manera, MILLER y BONHOFF<sup>65</sup> logran producir razas resistentes de gonococos y meningococos sensibles al principio entre 8 y 40 unidades por centímetro cúbico, y 1 y 40 unidades por centímetro cúbico, respectivamente, que después de seis pasos pudieron crecer en medios con una concentración

de 75.000 unidades de estreptomicina por centímetro cúbico. Estos gérmenes conservaban por completo su virulencia, ya que produjeron infecciones mortales en animales de experimentación con sepsis generalizadas, a pesar de darles estreptomicina en dosis de 15.000 unidades, la máxima tolerada por dichos animales (equivalentes a dosis de 55 millones en un hombre de 70 kilogramos).

También KNOPP<sup>66</sup> logra producir "in vitro" el desarrollo de resistencia a la estreptomicina por algunas bacterias encontradas habitualmente en las infecciones urinarias ("E. coli", "A. aerogenes", "Strept. fecalis", "Pseudomonas aeruginosa" y "Proteus"), resistencia que a veces es considerable.

YOUNANS y colaboradores<sup>67</sup>, al estudiar el aumento de resistencia del bacilo tuberculoso a la estreptomicina, encuentran también que "in vitro" por pasos sucesivos en medios con concentraciones crecientes del antibiótico que inhiben parcialmente su desarrollo, pueden obtenerse razas de "Mycobacterium tuberculosis" 1.000 veces más resistentes que las primitivas.

Vemos, por tanto, que si "in vitro" manejan una misma raza, pueden desarrollarse resistencias, no es difícil admitir que "in vivo" ocurría algo parecido, y probablemente con mayor facilidad, unas veces por dosis insuficientes al principio, otras porque los niveles sanguíneos que se alcancen efectivamente con dosis que se piensa son altas, sean menores que lo que se esperaban (ya hemos señalado que las variaciones individuales son muy amplias) y, sobre todo, porque no conociéndose aún bien la manera de actuar la estreptomicina, no se pueden prever todos los factores que son capaces de hacerla fracasar. A este respecto es muy interesante lo que señala FINLAND<sup>68</sup> de que casi todas las muestras de orina de sus ocho enfermos con infección urinaria que desarrollaron resistencia a la droga tenían una reacción ácida. Y como hemos dicho antes, y ha sido señalado por diferentes autores (WAKSMAN<sup>1-20</sup>, PULASKI<sup>28</sup>, LOO<sup>68</sup>, ABRAHAM<sup>69</sup>), la estreptomicina es menos eficaz en medios ácidos que en los alcalinos. Bastó a FINLAND, al tratar a otros tres enfermos también con infección urinaria, alcalinizar la orina antes de iniciar el tratamiento con la estreptomicina para obtener una rápida y completa eliminación de los microorganismos infectantes. REIMAN, PRICE y ELIAS<sup>70</sup> ya mencionan esta contingencia entre las posibles causas del fracaso de la terapéutica estreptomicínica en las infecciones urinarias.

La segunda posibilidad de que las bacterias resistentes resulten de la proliferación de razas naturalmente no sensibles es también verosímil. El rápido desarrollo de resistencia "in vivo" en uno de los casos de BONDIN<sup>64</sup>, en el que a las veinticuatro horas ya se habían encontrado "A. aerogenes" resistentes a 1.000 unidades de estreptomicina por centímetro cúbico, habría en favor de esta segunda hipótesis. KLEIN y

KIMMEIMAN<sup>71</sup>, al estudiar el desarrollo de resistencia a la estreptomicina por algunas razas de "Shigellae", dan también esta explicación, hablando de una selección natural de las bacterias frente al antibiótico, en el sentido que empleaba DEMEREC cuando estudiaba la resistencia de los estafilococos a la penicilina.

Clínicamente, la aparición de resistencia tiene un gran interés práctico. Si antes de comenzar un tratamiento determinamos la sensibilidad de un germe aislado del enfermo y encontramos que su crecimiento es inhibido por pequeñas cantidades de la droga, sería lógico que diésemos dosis no demasiado grandes y con intervalos más grandes. Pero conociendo este fácil desarrollo de resistencia, nuestra conducta debe ser mantener las concentraciones más altas que podemos en los líquidos orgánicos.

Una vez adquirida la resistencia, ésta persiste durante mucho tiempo, tal vez indefinidamente, por lo que es inútil repetir la administración de estreptomicina pasado un cierto tiempo, una vez que se haya demostrado la resistencia.

Según han podido observar MILLER y BONHOFF<sup>62</sup>, en los gérmenes resistentes a la estreptomicina no se ven las anomalías microscópicas que aparecen en las bacterias resistentes a la penicilina. Por este hecho, junto a la mayor rapidez de adquisición de resistencia frente a la estreptomicina y la no disminución de virulencia de las razas resistentes a este antibiótico (cosa que no ocurre con la penicilina, ya que los microorganismos resistentes a ella son, por lo general, menos virulentos), estos autores concluyen que el modo de acción de ambos medicamentos es distinto.

Si un germe es sensible al mismo tiempo a la penicilina y a la estreptomicina y adquiere resistencia frente a uno de ellos, sigue siendo sensible para la acción del otro.

Todo lo anterior indica la necesidad de emplear dosis altas desde un principio. Pero no es sólo el temor de la aparición de resistencia lo que debe dictar esta conducta. Ya hemos dicho que algunos autores han observado (PULASKI<sup>28</sup>) que al añadir sangre o suero a los medios de cultivo la sensibilidad de los cocos Gram positivos frente a la estreptomicina disminuía, es decir, que se requieren dosis de 4 a 8 veces mayores para inhibir el crecimiento de dichos gérmenes. Por esta razón se aconseja alcanzar niveles de estreptomicina en la sangre 4 a 8 veces superiores a los que se requieren "in vitro". También para los Gram negativos es aconsejable esta conducta<sup>72</sup>.

Otro hecho, al que ya nos hemos referido, y que aconseja igualmente el empleo de dosis máxima desde el comienzo, es el llamado "efecto estimulante" de la estreptomicina en el crecimiento de las bacterias. Los estudios de WELCH, PRICE y RANDALL<sup>30</sup> demuestran claramente que cuando se administran suspensiones de bacilos tíficos y estreptomicina en determinadas proporciones por vía intraperitoneal a ratones, los mi-

croorganismos experimentan un estímulo en su crecimiento, que se traduce en el aumento de la mortalidad de los ratones así tratados, con relación a los controles a los que no se dió estreptomicina. Por estas observaciones, WELCH sugiere que la adopción de esquemas de tratamiento impropios, con dosis pequeñas, puede conducir a efectos desastrosos.

En resumen, podemos decir que la estreptomicina fracasa en los siguientes casos: 1.º Cuando los gérmenes productores de la infección no son susceptibles a la acción de la droga. 2.º Empleo de dosis inadecuadas. 3.º Desarrollo de resistencia a la estreptomicina "in vivo". 4.º Cambio de las especies microbianas infectantes durante el tratamiento. 5.º Localización de la infección en un sitio que no es alcanzable por la estreptomicina (conveniencia de la aplicación local además de su administración general).

\* \* \*

Queda aún mucho por conocer sobre la estreptomicina, pero es bastante lo que ya conocemos para que podamos manejarla terapéuticamente con una cierta seguridad. Sus aplicaciones en la clínica humana después de los primeros tanteos y vacilaciones parecen ir ya por caminos más seguros. Y aunque parece que no es la droga maravillosa que los excesivamente optimistas esperaban, sí creemos que en algunas ocasiones puede hacer maravillas que justifican plenamente el gran interés que en todo el mundo ha despertado.

De los resultados terapéuticos que se han obtenido con ella, así como de sus indicaciones y toxicidad, nos ocupamos en otro trabajo (\*).

#### BIBLIOGRAFIA

1. WAKSMAN, S. A. y WOODRUFF, H. B.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 45, 609, 1940.
2. DUBOS, R. J. y HOTCHKIS, R. D.—J. Expt. Med., 73, 629, 1941.
3. WAKSMAN, S. A., WOODRUFF, H. B. y HORNING, E. S.—J. Bacter., 42, 816, 1941.
4. WAKSMAN, S. A.—Bacteriol. Rev., 5, 231, 1941.
5. WAKSMAN, S. A.—Microbial antagonism and antibiotic substances. New York, 1945.
6. WAKSMAN, S. A. y WOODRUFF, H. B.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 49, 207, 1942.
7. SCHATZ, A., BUGIE, E. y WAKSMAN, S. A.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 55, 66, 1944.
8. WAKSMAN, S. A.—J. Bact., 46, 299, 1943.
9. METZGER, H. J. y WAKSMAN, S. A.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 51, 251, 1942.
10. ROBINSON, H. J., GRAESSLE, O. E. y SMITH, D. G.—Science, 99, 540, 1944.
11. WAKSMAN, S. A., BUGIE, E. y SCHATZ, A.—Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic, 19, 537, 1944.
12. SCHATZ, A. y WAKSMAN, S. A.—Proc. Nat. Acad. Sci., 31, 129, 1945.
13. WAKSMAN, S. A.—Science, 102, 40, 1945.
14. REILLY, H. C., SCHATZ, A. y WAKSMAN, S. A.—J. Bact., 49, 585, 1945.
15. STEBBINS, R. B. y ROBINSON, H. J.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 59, 255, 1945.
16. FORGAST, J., KORNNEGAY, G. B. y HENLEY, T. F.—J. of Lab. and Clin. Med., 31, 514, 1946.
17. HEILMAN, D. H.—Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic, 20, 145, 1945.
18. KUEHL, F. A., PECK, R. L., WALT, A. y FOLKERS, K.—Science, 102, 34, 1945.
19. FRIED, J. y WINTERSTEINER, O.—Science, 101, 613, 1945.
20. WAKSMAN, S. A. y SCHATZ, A.—J. Am. Pharm. Ass., 34, 273, 1945.
21. BRINK, J., NORMAN, G. y KUEHL, H.—Science, 102, 506, 1945.
22. CARTER, H. E., CLARK, R. K. y DICKMAN, S. R.—Science, 103, 53, 1946.
23. CARTER, H. E., CLARK, R. H., DICKMAN, S. R.—Science, 103, 540, 1946.
24. A report of one thousand cases.—Journ. Am. Med. Ass., 132, 3, 1946.
25. WAKSMAN, S. A. y REILLY, H. C.—J. Inf. Dis., 75, 150, 1944.
26. SCHATZ, A. y WAKSMAN, S. A.—Science, 100, 103, 1944.
27. BUGGS, C. W., BRONSTEIN, B., HIRSHFIELD, J. W. y PILLING, A. U.—Journ. Am. Med. Ass., 130, 64, 1946.
28. PULASKI, J. E.—Journ. Am. Med. Ass., 132, 206, 1946.
29. ROBINSON, H. J., SMITH, D. G. y GRAESSLE, O. E.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 57, 226, 1946.
30. WELCH, H., PRICE, C. W. y RANDALL, W. A.—J. Am. Pharm. Ass., 35, 155, 1946.
31. WEST, M. G., DOLL, E. R., EDWARDS, P. R.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 60, 363, 1945.
32. JONES, D., METZGER, H. J., SCHATZ, A. y WAKSMAN, S. A.—Science, 100, 103, 1944.
33. LIVE, I., SPERLING, F. G. y STURRS, E. L.—Am. J. Med. Sci., 211, 267, 1946.
34. HEILMAN, F. R.—(Cit. NICHOLS, D. R. y HERRELL, W. E.)—Journ. Am. Med. Ass., 132, 200, 1946.
35. HEILMAN, F. R.—Proc. Staff. Meet. Mayo Clin., 20, 33, 1945.
36. DONOWICK, R., HAMRE, D., KAVANAGH, F. y RAKE, G.—J. Bact., 50, 623, 1945.
37. HAMRE, D., RAKE, G. y DONOWICK, R.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 62, 25, 1946.
38. HORNIBROOK, J. W.—Publ. Health Reports, 61, 473, 1946.
39. WAYSON, N. E. y McMAHON, M. G.—J. Lab. and Clin. Med., 31, 323, 1946.
40. HEILMAN, F. R.—Proc. Staff. Meet. Mayo Clin., 19, 553, 1944.
41. HEGARTY, C. P., THIELE, E. y WERWEY, W. F.—J. of Bact., 50, 651, 1945.
42. BRADFORD, W. L. y DAY, E.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 60, 324, 1945.
43. FELDMAN, W. H. y HINSHAW, H. C.—Proc. Staff. Meet. Mayo Clin., 19, 593, 1944.
44. FELDMAN, W. H., HINSHAW, H. C. y MANN, F. C.—Am. Rev. Tuberc., 52, 269, 1945.
45. YOUNMANS, G. P. y MAC CARTER, J. C.—Am. Rev. Tuberc., 52, 432, 1945.
46. HINSHAW, H. C., FELDMAN, W. H. y PFUETZE, K. H.—Journ. Am. Med. Ass., 132, 778, 1946.
47. HEILMAN, F. R.—Proc. Staff. Meet. Mayo Clin., 20, 169, 1945.
48. JOHNSON, S. A. M. y ADCOCK, J. D.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 62, 109, 1946.
49. DUNHAM, W. B. y RAKE, G.—Science, 103, 365, 1946.
50. ROBINSON, H. J., SMITH, G. H. y GRAESSLE, O. E.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 57, 326, 1944.
51. ZINTEL, H. A., FLIPPIN, H. F., NICHOLS, A. C., WHILE, M. M. y RHOADS, J. E.—Am. J. Med. Sci., 210, 421, 1945.
52. HEILMAN, D. H., HEILMAN, F. R., HINSHAW, H. R., NICHOLS, D. R. y HERRELL, W. E.—Am. J. Med. Sci., 210, 576, 1945.
53. BUGGS, C. W., MATTHEW, F., PILLING, A.—J. Clin. Invest., 25, 94, 1946.
54. ELIAS, W. F. y DURSO, J.—Science, 101, 589, 1945.
55. GRAHAM, B. H. y WANDER BROCK, M. J.—Science, 103, 364, 1946.
56. KORNNEGAY, G. B. y FORGYS, J.—J. Lab. and Clin. Med., 31, 514, 1946.
57. ANDERSON, D. G. y JEWELL, M.—New England J. Med., 233, 485, 1945.
58. ADCOCK, J. D. y HETTING, R. A.—Arch. Int. Med., 77, 179, 1946.
59. ZASLOW, J., CONSELLER, V. S. y HEILMAN, F. R.—Proc. Staff. Meet. Mayo Clin., 21, 96, 1946.
60. LEOPOLD, I. H. y NICHOLS, A.—Arch. of Ophthalm., 35, 33, 1946.
61. WOLTZ, J. H. E. y WILEY, M.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 60, 106, 1945.
62. HERRELL, W. E. y NICHOLS, D. R.—Proc. Staff. Meet. Clin., 20, 449, 1945.
63. FINLAND, M. y MURRAY, R.—Journ. Am. Med. Ass., 132, 16, 1946.
64. BONDIN, OTTENBERG, D. y DIETZ, C. C.—Journ. Am. Med. Ass., 132, 634, 1946.
65. MILLER, C. P. y BOHNHOFF, B. S.—Journ. Am. Med. Ass., 130, 485, 1946.
66. KNOPP, C.—Proc. Staff. Meet. Mayo Clin., 21, 273, 1946.
67. YOUNMANS, G. P., WILLINSTON, E. H. y FELDAMNA, W. F.—Proc. Staff. Meet. Mayo Clin., 21, 126, 1946.
68. LOO, J. H.—J. Bact., 50, 701, 1945.
69. ABRAHAM, E. P. y DUTHIE, E. S.—Lancet, 1, 455, 1946.
70. REIMAN, H. A., PRICE, A. A. y ELIAS, W. F.—Arch. Int. Med., 76, 269, 1945.
71. KLEIN, M. y KIMMELMAN, L. J.—J. Bact., 51, 581, 1946.
72. Committee of Chemotherapeutics.—Journ. Am. Med. Ass., 132, 70, 1946.

(\*) Se publica en este mismo número.