

# Sensibilidad de 202 cepas de *S. typhi* al cloranfenicol (\*)

Por los Dres.:

A. GUERRA CHARAU, J. GARCÍA LANDA Y R. MONTÉ

Se ha empezado a observar la resistencia de la *S. typhi* al cloranfenicol en los últimos tiempos, particularmente en la India, <sup>1,2</sup> habiendo ya sido motivo de preocupación del Comité de Expertos en Antibióticos de la OMS, el cual en su segundo informe publicado en 1961, recomienda entre una serie de estudios a realizar sobre resistencia de distintos patógenos a los antibióticos, precisamente el que se refiere a la resistencia de *S. typhi* al cloranfenicol.<sup>3</sup>

Con el objeto de investigar la susceptibilidad de nuestras cepas de *S. typhi* a la droga, emprendimos este trabajo, ya que consideramos de interés clínico y epidemiológico averiguar si en verdad existían cepas resistentes. Se ha facilitado la observación en breve tiempo, por contar con buen número de cepas provenientes de un brote epidémico ocurrido en Sagua la Grande, además de algunas cepas enviadas por los hospitales de La Habana.

## MATERIAL Y METODOS

**Cepas estudiadas.** De las 202 cepas estudiadas, 187 procedieron del brote

de Sagua la Grande y 15 de hospitales habaneros, aisladas de casos clínicos de distintas localidades. La mayoría fueron obtenidas por hemocultivos. Entre las cepas de La Habana, once procedían de hemocultivos, 1 de médulocultivo, 1 de líquido pleural y 2 de coprocultivos.

**Determinación de la sensibilidad.** Se realizó por el método de dilución del antibiótico en placa utilizando siete concentraciones distintas del mismo. Para poder comparar los resultados, se utilizaron medios iguales a los empleados por Agarwal,<sup>1</sup> que no son otros que los recomendados por la Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos, identificados como medios Nos. 1 y 3 por esa institución.<sup>4</sup>

El medio No. 1 se utilizó para hacer las placas con la droga y su composición fue la siguiente:

Peptona . . . . .	6 g.
Digerido pancreático de caseína* . . . . .	4 g.
Extracto de levadura . . . . .	3 g.
Extracto de carne . . . . .	1.5 g.
Glucosa . . . . .	1 g.
Agar . . . . .	15 g.
Agua destilada . . . . .	hasta 1,000 ml.

\* Se usó el Casitone Difco.

(\*) Trabajo del laboratorio de investigaciones "Tomás Romay" del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Escuela de Medicina de la Universidad de la Habana. Presentado en la XVI Jornada Pediátrica Nacional, Varadero, 1964.

Se distribuyó en 8 frascos con 125 ml. cada uno. Se preparó con un pH antes de la esterilización de 6.75.

El medio No. 3 se utilizó para preparar los inóculos de los microorganismos y su composición fue la siguiente:

Peptona . . . . .	5 g.
Extracto de levadura . . .	1.5 g.
Extracto de carne . . . .	1.5 g.
Cloruro de sodio . . . . .	3.5 g.
Glucosa . . . . .	1 g.
Fosfato dibásico de potasio . . . . .	3.68 g.
Fosfato monobásico de potasio . . . . .	1.32 g.
Agua destilada . . . . .	hasta 1,000 ml.

Este medio se distribuyó en tubos conteniendo 5 ml. cada uno. Se preparó con un pH de 7.2 antes de la esterilización.

*Solución de cloranfenicol.* La droga fue obtenida como polvo cristalino, del Instituto Nacional de Higiene, donde por análisis se encontró que poseía un 99.42% de pureza. La solución de cloranfenicol se preparó disolviendo 100 mg. de éste en 200 ml. de agua destilada, obteniendo así una concentración de 500 mcg. por ml., filtrándola después por bujía Chamberland. La solución del antibiótico se mantuvo en refrigeración aproximadamente a 8°C.

*Preparación de las placas con antibiótico.* Estas se prepararon echando las siguientes cantidades de la solución de cloranfenicol a frascos conteniendo 125 ml. del medio No. 1, mezclando con cuidado y vertiendo el contenido del frasco en 5 placas, es decir, 25 ml. por cada placa. Se usaban 7 frascos del medio para añadir a cada uno distintas cantidades de la solución de cloranfenicol, obteniendo cinco placas de cada concentración en la forma siguiente:

Solución de cloranfenicol (500 mcg. por ml.)	Concentración final en las placas
0.25 ml. . . . .	1 mcg. por ml.
0.50 ml. . . . .	2 mcg. por ml.
1 ml. . . . .	4 mcg. por ml.
2 ml. . . . .	8 mcg. por ml.
3 ml. . . . .	12 mcg. por ml.
6 ml. . . . .	24 mcg. por ml.
12 ml. . . . .	48 mcg. por ml.

*Siembra.* Se dividió cada placa en 8 áreas, cada una de las cuales se sembró con una cepa distinta y a su vez cada una de las cepas se sembró en una de las 7 placas con distinta concentración del antibiótico. Se probaron 40 gérmenes por día, sembrando en todas las concentraciones de antibiótico para uniformar resultados el mismo día. El inóculo consistió en una asada de 2 mm. de diámetro de un cultivo de 18 horas en el medio No. 3, incubado a 37°C. Después de sembradas las placas se colocaban a 37°C, por 24 horas para su lectura.

*Lectura.* Todas las lecturas se hicieron a las 24 horas, considerándose como positivas las que tenían crecimiento uniforme y abundante, ya que las lecturas de 48 horas resultaron irregulares, habiendo algunas veces crecimiento escaso uniforme o de colonias aisladas en la placa de concentración más alta inmediata.

## RESULTADOS

A continuación aparece el resultado de las pruebas sobre las 202 cepas:

No. de cepas	Sensibles a:
26 . . . . .	1 mcg. por ml.
175 . . . . .	2 mcg. por ml.
1 . . . . .	4 mcg. por ml.

*Datos adicionales.* La cepa sensible a 4 mcg. por ml. provino de un caso en que el germen se aisló del líquido pleu-

ral, después de dos meses y medio de fiebre. Reportamos además los días de enfermedad previo al aislamiento y la procedencia de las muestras de 10 de las cepas de los hospitales de la Habana, en este caso del hospital antiinfeccioso:

Cepas	Días de enfermedad previos al aislamiento	Procedencia de la muestra
X 211	10	Hemocultivo
X 209	17	Hemocultivo
X 142	26	Hemocultivo
X 46	>12	Hemocultivo
X 213	>10	Hemocultivo
X 143	14	Hemocultivo
X 157	45	Coprocultivo
X 144	>15	Hemocultivo
X 99	> 8	Hemocultivo
X 158	34	Coprocultivo

#### COMENTARIOS

Todas las cepas han mostrado una sensibilidad a 2 mcg. de cloranfenicol o menos por ml., excepto una que fue sensible a 4 mcg. por ml. Esto demuestra que las cepas que circulan en nuestro medio no presentan el fenómeno de resistencia hasta ahora —aceptando el criterio de considerar como resistentes a las cepas que crecen en presencia de más de 10 mcg. por ml.<sup>2</sup>— lo que sí se ha observado en la India<sup>1</sup>,

Ahora bien, las dosis habituales de cloranfenicol consiguen niveles en sangre superiores a la cantidad de droga necesaria para inhibir las cepas que hemos estudiado, ya que niveles de 6 a 8 mcg. por ml., por lo menos y en forma mantenida, se consigue con 2 g. diarios<sup>5</sup>, y hasta se llega a niveles de 45 mcg. por ml. con dosis de 3 g.<sup>6</sup>, por lo que estamos en condiciones adecuadas para el tratamiento de la enfermedad de acuerdo con la sensibilidad de nuestras cepas.

Debemos aclarar que aunque la inmensa mayoría de las cepas del brote de Sagua fueron obtenidas por hemocultivos, muchas de ellas son sin duda de casos clínicos secundarios, habiendo seguramente recibido tratamiento con la droga el caso primario, por lo que los gérmenes ya habían tenido contacto previo con el cloranfenicol. De las cepas de la Habana, como se observa en los datos adicionales, hay dos aisladas 34 y 45 días respectivamente después del comienzo de la enfermedad, y otra aislada de un líquido pleural dos y medio meses después del comienzo de la enfermedad, en las que puede afirmarse con mucha probabilidad de que ya habían recibido una buena dosis de cloranfenicol y sin embargo, se han mantenido sensibles al mismo.

No hemos hecho estudio sobre la evolución de la sensibilidad en la cepa del caso individual, es decir, antes del tratamiento y después de varios días o semanas de iniciado el mismo, cuando sea posible aislarla de heces, orina o médula ósea, lo cual pretendemos hacer en el futuro. Hay un caso reportado por Colquhoun y Weetch<sup>7</sup>, en que se observó este fenómeno de resistencia *in vivo*.

Debemos recordar a los clínicos que nuestras observaciones son sobre sensibilidad *in vitro* de los gérmenes, ya que las llamadas "resistencias clínicas" tienen explicaciones conocidas: ya sea dosis insuficiente por tratamiento temeroso o por preparados farmacéuticos con cubierta de difícil digestión, lo que se está viendo con alguna frecuencia; ya sea por inhibición de los mecanismos formadores de anticuerpos y aparición posterior de la recaída.

Ramanarayana<sup>2</sup>, ha observado por lo menos un caso, en el cual la infección fue adquirida en el hospital y el germen era resistente desde el comienzo. Además Agarwal<sup>1</sup>, señala un aumento pro-

gresivo en la resistencia de las cepas de *S. typhi* en la India desde 1959 a 1961, datos que hacen resaltar el interés epidemiológico que tiene el que circulen gérmenes resistentes, siendo causa de nuevas infecciones. Así, aunque nosotros hemos encontrado todas nuestras cepas sensibles al cloranfenicol hasta el presente, recomendamos hacer una determinación de la sensibilidad de cepas representativas de distintas localidades del país cada seis meses para sorprender cualquier cambio en la droga-sensibilidad de los gérmenes.

#### RECONOCIMIENTO

Agradecemos al Instituto Nacional de Higiene el envío de las cepas del brote de Sagua, así como de reactivos utilizados en las pruebas; y al mismo tiempo, a los bacteriólogos de los hospitales de La Habana por las cepas enviadas.

#### RESUMEN

Se reporta la sensibilidad al cloranfenicol por el método de dilución en placas, de 202 cepas de *S. typhi*, de las cuales 187 provenían de un brote epidémico y 15 de casos aparentemente es-

porádicos de hospitales de la Habana. Resultaron sensibles a 1 mcg. por ml. de la droga 26 cepas; 175 lo fueron a 2 mcg., y una a 4 mcg. por ml. Se comparan estos resultados con los hallazgos en la India de buen número de cepas de *S. typhi* resistentes al cloranfenicol. Recomendamos realizar una evaluación de la sensibilidad a un número de cepas representativas cada seis meses para sorprender cualquier cambio en el sentido de la resistencia.

#### SUMMARY

Sensitivity to chloramphenicol by the plate dilution method of 202 strains of *S. typhi* is reported. 187 cases from an epidemic outbreak and 15 from apparently sporadic cases of Havana hospitals. 26 strains were sensitive to 1 mcg. per ml. of the drug; 175 strains were sensitive to 2 mcg. and 1 was sensitive to 4 mcg. per ml. Results are compared with findings in India reporting chloramphenicol resistant strains of *S. typhi*. We recommend sensitivity evaluation on a representative number of strains every 6 months, to detect any change towards resistance.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1.—*Agarwal, S. C.*: Chloramphenicol resistance of *Salmonella* species in India, 1959-61. *Bull. Wld. Hlth.*, 27:331, 1962.
- 2.—*Ramanarayana Murti, B., Rajyalokshmi, K. and Bhaskaran, C. S.*: Resistance of *Salmonella typhi* to Chloramphenicol. *J. Clin. Path.*, 15:544, 1962.
- 3.—Unificación de métodos para las pruebas de sensibilidad microbiana. Ser. de Inf. Téc. No. 210, OMS, Ginebra, 1961.
- 4.—*Grove, D. C. and Randall, W. A.*: Assay Methods of Antibiotics. A laboratory manual, p. 220., Medical Encyclopedia Inc., New York, 1955.
- 5.—*Pedro-Pons, A.*: Tratado de Patología y Clínica Médicas, VI, p. 334. Salvat Editores, S. A., Barcelona, 1960.
- 6.—*Krantz, J. C. y Carr, C. J.*: Los principios farmacológicos en la práctica médica. Cooperativa del Libro, FEU, Habana.
- 7.—*Colquhoun, J. and Weetch, R. S.*: Resistance to Chloramphenicol developing during treatment of typhoid fever. *Lancet*, CCLIX: 621, 1950.