Revista Médica de Costa Rica XLV (465) 175-180

Antibióticos en Blenorragia

(actividad in vitro de cuatro antibióticos contra Nisseria Gonorrhoeae)

*Miguel Shadid Chaina** *Edgar Garrido Jiménez***
*Salvador Brealey Acosta****

INTRODUCCION

No obstante las numerosas publicaciones con estudios sobre la actividad antimicrobiana in vitro de los agentes antibióticos contra *Neisseria gonorrhoeae* en varios países del mundo, en Costa Rica, después de consultar la literatura, no encontramos ninguna publicación al respecto. Creemos importante este estudio, tanto por el valor que tiene desde un punto de vista de salud pública, como por su interés en la terapéutica, ya que durante muchos años de trabajo en el campo de la venereología, hemos podido observar que el clínico ha ido aumentando la dosis de penicilina y de los otros antibióticos para el tratamiento de la blenorragia, hasta multiplicar en treinta veces la dosis de penicilina usada por Mahoney[8], en 1943, alcanzando la dosis actual de 4.800.000 U.I. de penicilina G, recomendada por el Center for Disease Control de Atlanta, después de un estudio en gran escala[7].

El problema se agudiza con el aparecimiento, en el año 1975, de cepas productoras de betalactamasa (penicilinasa), primero en el Lejano Oriente y más tarde en los Estados Unidos[4], en Inglaterra[12] y otros países[16].

MATERIAL Y METODO

Se escogió el método de las diluciones en placas de agar, ya que con éste se obtiene una mejor reproductibilidad de los resultados y tiene la ventaja de poderse ensayar numerosas cepas simultáneamente, además de detectar cualquier contaminación con gran claridad[5]. El medio de cultivo es el Agar GC con hemoglobina al 2% enriquecido con Isovitalex al 1%[15]. Las placas pueden ser usadas hasta por dos semanas cuando se conservan a 4°C, ya que después de transcurrido este tiempo tienden a perder actividad antimicrobiana[13]. Por ser los más usados en el tratamiento de la blenorragia, se escogieron para este estudio los siguientes cuatro antibióticos: Penicilina G de Pfizer, ampicilina (Binotal) de Bayer, espectinomicina (Togamycin) de Upjohn y doxiciclina (Vibramicina) de Pfizer. A partir de las soluciones madres, se hicieron diluciones seriadas dobles y de éstas se tomaron cantidades exactas para mezclar con el medio de cultivo. Fueron incluidas la espectinomicina y la doxiciclina por ser drogas alternas muy valiosas, cuando la penicilina causa alergia o existe resistencia a la penicilina[6]. Se tomaron al azar 205 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* de pacientes, hombres y mujeres, que acudieron a la consulta externa del Departamento Antivenéreo del Ministerio de Salud, en San José, Costa Rica, durante los meses de setiembre, octubre y noviembre del año 1978. Empleando un espéculo apropiado, se procedió a la toma de las muestras con asa de platino estéril, en el canal endocervical en las mujeres y en la uretra masculina. El material fue inoculado en placas de Petri, conteniendo medio selectivo para *Neisseria sp.* descrito por Thayer y Martin[18]. Los cultivos fueron incubados a 35-36°C en atmósfera parcial de CO_2. La primera lectura se hizo a las 24 horas y la segunda lectura a las 48 horas. A las colonias sospechosas se les practicó la reacción de la oxidasa con tetrametilparafenilendiamina y la tinción diferencial de Gram[15]. Con el objeto de confirmar el diagnóstico específico, se realizó la prueba de anticuerpos fluorescentes directa del cultivo y la prueba de fermentación de azúcares[3]. A partir del cultivo primario, se tomaron colonias representativas y se inocularon por rayado en placas conteniendo agar GC con hemoglobina al 2% enriquecido con

* *Jefe de los Laboratorios del Departamento Antivenéreo del Ministerio de Salud, San José, Costa Rica.*
** *Subjefe de Laboratorios del Departamento Antivenéreo, Ministerio de Salud, San José, Costa Rica.*
*** *Microbiólogo Químico Clínico del Departamento Antivenéreo, Ministerio de Salud, San José, Costa Rica.*

Isovitalex al 1%. Se incubaron durante 24 horas a 35-36°C en atmósfera parcial de CO_2. Del cultivo anterior se inocularon sendos tubos con 1 ml de medio líquido de tioglicolato hasta obtener una turbidez similar al estándar de sulfato de bario correspondiente a una concentración de 10.000.000 a 50.000.000 bacterias por ml[2]. La superficie de las placas que contenían las diferentes diluciones de cada antibiótico en estudio fue inoculada con esta suspensión con asa de platino estéril calibrada para entregar 0.001 ml de suspensión. Como control de crecimiento, se inocularon placas conteniendo medio GC enriquecido, sin antibiótico. Asimismo, se usó una cepa de referencia de *Neisseria gonorrhoeae* de concentraciones inhibitorias mínimas conocidas y se consideró como resultado óptimo cuando no diferían en más de una dilución doble. El punto final que marcaba la concentración inhibitoria mínima era la menor concentración que no presentaba crecimiento.

RESULTADOS

El cuadro No. 1 indica las diferentes concentraciones de cada uno de los antibióticos utilizados en nuestro trabajo, necesarias para determinar la concentración inhibitoria mínima media.

CUADRO No. 1

CONCENTRACIONES UTILIZADAS DE LOS ANTIBIOTICOS

ANTIBIOTICO	CONCENTRACIONES EN MICROGRAMOS POR MILILITRO									
PENICILINA	0,001	0,003	0,006	0,012	0,024	0,048	0,096	0,192	0,384	0,768
AMPICILINA	0,002	0,005	0,01	0,02	0,04	0,08	0,16	0,32	0,64	1,28
DOXICICLINA	0,026	0,052	0,104	0,208	0,416	0,833	1,666	2,332		
ESPECTINOMICINA	0,5	1	2	4	8	16	32	64		

El cuadro No. 2 muestra las concentraciones inhibitorias mínimas para el total de 205 cepas de *N. gonorrhoeae*. Se obtuvieron concentraciones inhibitorias mínimas medias: para la penicilina 0.102 mcg/ml; para la ampicilina 0.188 mcg/ml; para la doxiciclina 0.421 mcg/ml y para la espectinomicina 12.2 mcg/ml.

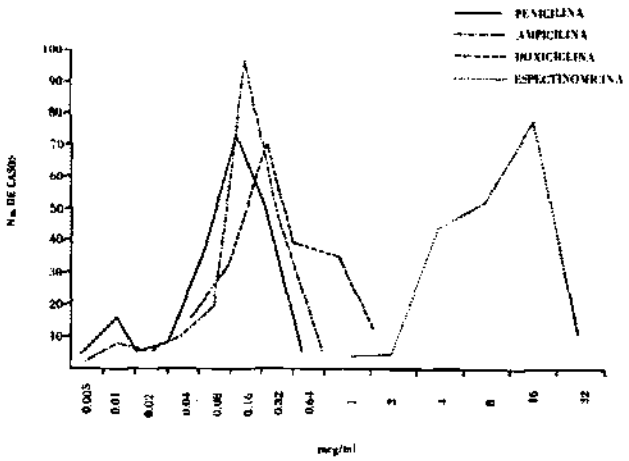
CUADRO No. 2

DISTRIBUCION DE CONCENTRACIONES INHIBITORIAS MINIMAS Y VALORES MEDIOS PARA 205 CEPAS DE *Neisseria gonorrhoeae*

ANTIBIOTICO	CIM MEDIA mcg/ml	NUMERO DE CEPAS CON CIMs EN mcg/ml									
		0,001	0,003	0,006	0,012	0,024	0,048	0,096	0,192	0,384	0,768
PENICILINA	0,102	–	5	16	6	9	36	73	53	5	–
		0,002	0,005	0,01	0,02	0,04	0,08	0,16	0,32	0,64	1,28
AMPICILINA	0,188	–	4	9	6	11	20	98	50	7	–
		0,026	0,052	0,104	0,208	0,416	0,833	1,666	2,332		
DOXICICLINA	0,421	–	17	33	66	40	36	13	–		
		0,5	1	2	4	8	16	32	64		
ESPECTINOMICINA	12,2	–	4	5	45	53	78	20	–		

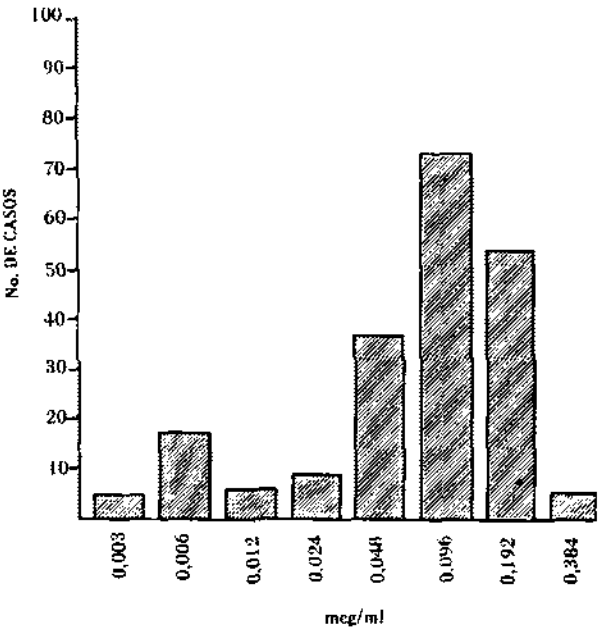
El gráfico No. 1 da la distribución de sensibilidad para los cuatro antibióticos. Se observa una gran correlación entre la penicilina y la ampicilina. La doxiciclina presenta una correlación menor, pero importante, con la penicilina. Finalmente, no hay ninguna correlación entre esta última y la espectinomicina[10].

GRAFICO No. 1
DISTRIBUCION DE SENSIBILIDADES DE PENICILINA, AMPICILINA, DOXICICLINA Y ESPECTINOMICINA



Las concentraciones inhibitorias mínimas para la penicilina obtenidas en el presente trabajo, están representadas en el gráfico No. 2.

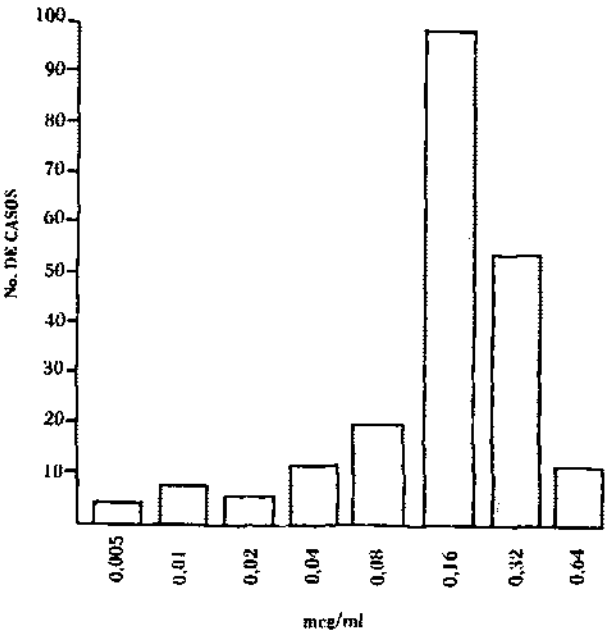
GRAFICO No. 2
DISTRIBUCION DE SENSIBILIDAD DE LA PENICILINA



Puede verse claramente el carácter bimodal típico de la penicilina. La primera moda corresponde a 0.006 mcg/ml y la segunda a 0.096 mcg/ml. El mayor número de resultados corresponde a esta segunda moda. El 79% de las cepas se encuentra entre un estrecho rango de 0.048 a 0.192 mcg/ml.

El gráfico No. 3 corresponde a la ampicilina y es igualmente de tipo bimodal. La primera moda se halla en 0.01 mcg/ml y la segunda en 0.16 mcg/ml. Esta segunda moda corresponde a la frecuencia más alta. Hay un 81% de resultados acumulados entre 0.08 y 0.32 mcg/ml.

GRAFICO No. 3
DISTRIBUCION DE SENSIBILIDAD A LA AMPICILINA



Los hallazgos para la doxiciclina se muestran en el gráfico No. 4. La moda y mayor frecuencia están en 0.208 mcg/ml. Entre 0.208 mcg/ml y 0.833 mcg/ml se acumula el 69% de las concentraciones inhibitorias mínimas.

GRAFICO No. 4
DISTRIBUCION DE SENSIBILIDAD
A LA DOXICICLINA

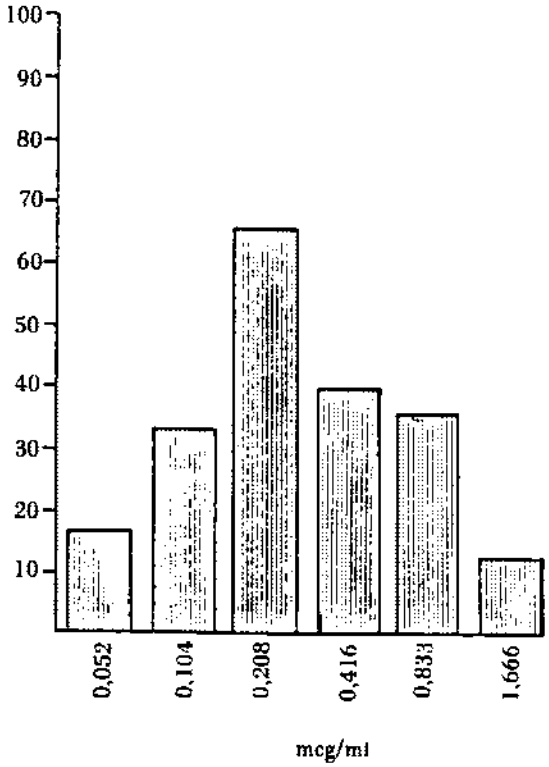
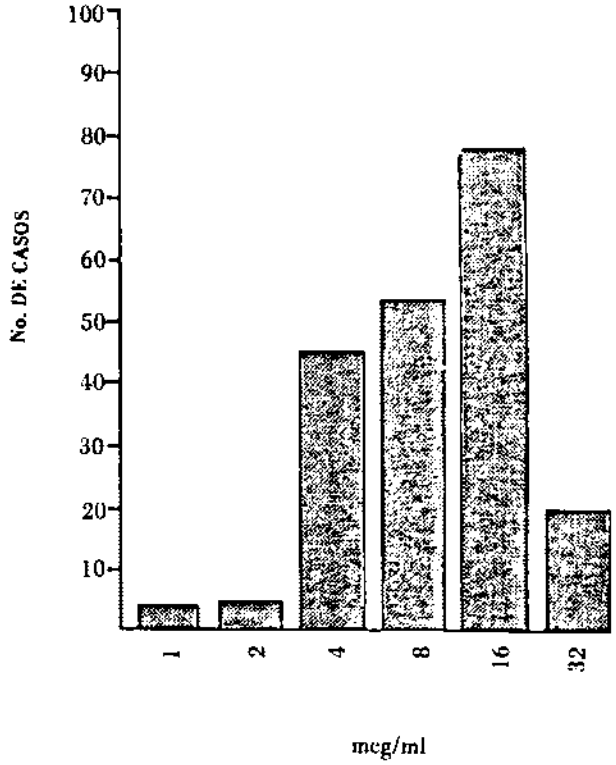


GRAFICO No. 5
DISTRIBUCION DE SENSIBILIDAD
A LA ESPECTINOMICINA

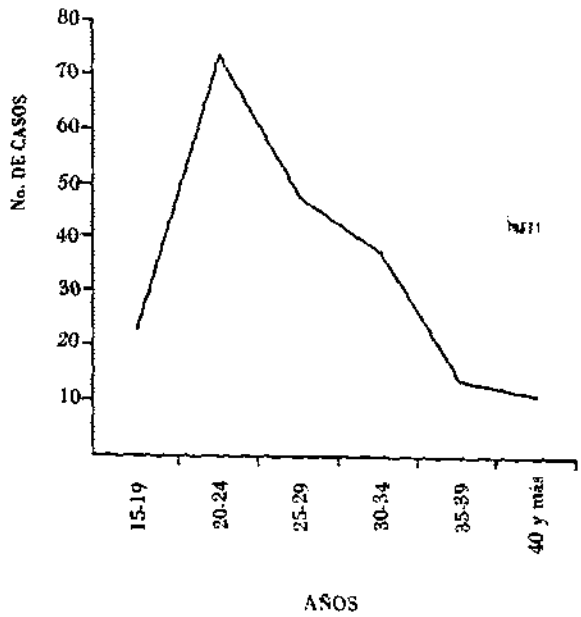


El gráfico No. 5 corresponde a la espectinomicina. La moda está en los 16 mcg/ml. El rango para este antibiótico es de 1 mcg/ml a 32 mcg/ml y se aleja totalmente de los otros tres antibióticos, dando esto una medida de la resistencia del gonococo a esta droga[20].

Como complemento del presente trabajo, se determinó, en los casos estudiados, la distribución por grupos de edades en clases de cinco años. La mayor frecuencia se encontró en el grupo que corresponde a edades de 20 a 24 años. Esto concuerda con los estudios publicados en nuestro país[14].

GRAFICO No. 6

DISTRIBUCION DE LA POSITIVIDAD POR
Neisseria gonorrhoeae
SEGUN GRUPOS DE EDADES



DISCUSION Y CONCLUSIONES

De acuerdo con nuestros resultados, observamos que la penicilina presentó la concentración inhibitoria mínima (CIM) media más baja, lo que concuerda con la obtenida para la ampicilina, aunque ésta ligeramente más alta. Martin, Lester, Price y Schmale, en el año 1970, en Estados Unidos, encontraron, en un estudio de 721 cepas, CIM media igual o mayor a 0.10 UI/ml. Amies, en el año 1969, en Canadá, encontró en un estudio con 1976 cepas, CIM igual o mayor a 0.10 UI/ml. Panikabutra y Suvanmalik, en el año 1972, en Tailandia, en 96 cepas encontraron CIM iguales o superiores a 0.128 UI/ml. Smithurst, en 1974, en Australia, en 199 cepas, encontró CIM iguales o superiores a 0.125 UI/ml[9-11-17]. Nuestra CIM media para la penicilina nos sitúa muy cerca de las comunicadas por los autores antes mencionados y corresponde a 0.102 mcg/ml o sea 0.17 UI/ml. La CIM media de la doxiciclina de 0.421 mcg/ml muestra una buena sensibilidad al gonococo in vitro, siendo estos valores menores a los que algunos autores reportan para la tetraciclina[10]. La alta CIM de la espectinomicina de 12.2 mcg/ml no es un hallazgo de excepción, puesto que en general, sus niveles medios de CIM son altos y absolutamente excluidos de las correlaciones con la penicilina que muestran otros antibióticos[10].

El carácter bimodal de las curvas de distribución de la penicilina y la ampicilina en nuestro estudio, es lo que se espera encontrar en un estudio de este tipo. No se detectó resistencia total a la penicilina por producción de betalactamasa (penicilinasa), tanto en las pruebas de concentración inhibitoria mínima como en la prueba yodimétrica para detección de betalactamasa[19]. No existen hasta la fecha en Costa Rica estudios anteriores que nos permitan una mejor comparación y evaluación in situ de estos resultados.

RESUMEN

Se estudió las concentraciones inhibitorias mínimas de 205 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* tomadas al azar de pacientes que acudieron a la consulta externa del Departamento Antivenéreo del Ministerio de Salud de San José, Costa Rica. Se estudió cuatro antibióticos, dos de los cuales son penicilina y ampicilina y dos drogas alternas, doxiciclina y espectinomicina. Se obtuvo una CIM media para la penicilina de 0.102 mcg/mlk una CIM media de 0.188 mcg/ml para la ampicilina, ligeramente mayor que la de la penicilina. La doxiciclina dio una media de 0.421 mcg/ml y la espectinomicina dio una CIM media de 12.2 mcg/ml. Como subproducto de este estudio, se determinó la prevalencia de la blenorragia por edades, con la mayor positividad en el grupo de 20 a 24 años. Se discuten los resultados obtenidos en este trabajo con relación a los de otros países.

SUMMARY

The minimal inhibitory concentrations (MICs) of 205 strains of *Neisseria gonorrhoeae* taken at random from outpatients of the Antivenereal Department of the Ministry of Health, San José, Costa Rica, were studied. Four antibiotics were studied, two of them were penicillin and ampicillin and two alternate drugs, doxycycline and spectinomycin. A median MIC of 0.102 mcg/ml was obtained for the penicillin. A median MIC of 0.188 mcg/ml for the ampicillin, a little larger than that of the penicillin. The doxycycline gave a median of 0.421 mcg/ml and the spectomycin gave a median MIC of 12.2 mcg/ml. The prevalence of blennorrhagia by ages in this study was

determined, finding a major positivity in the group from 20 to 24 years old. The results obtained in this study in relation to the other countries are discussed.

BIBLIOGRAFIA

1. Amies, C.R. In Brit. J. Vener. Dis. 45:216. 1969.

2. Bauer, A.W., Perry D.M. and Kirby W.M. Single dish antibiotic sensitivity testing of staphylococci. Arch. Intern. Med. 104:208-216. 1959.

3. Beck A., Fluker J.L. and Platt D.J. In Brit. J. Vener. Dis. 50:367. 1974.

4. Center for Disease Control. Penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 25(33):261. 1976.

5. Erickson H.M. and J.C. Sherris. Antibiotic sensitivity testing. Report of an International Collaborative Study. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. Suppl. 217. 1971.

6. Kaney W.W., Pederson A.H.B., Nelson M., Adams H., Pfeifer R.T. and K.K. Holmes. Spectinomycin versus Tetracyclin for the Treatment of Gonorrhea. Engl. J. Med. 296(16):889-894. 1977.

7. Kaufman R.E., Johnson R.E., Jaffe H.W., et al. National gonorrhea therapy monitoring study: treatment results. N. Engl. J. Med. 294:5-9. 1976.

8. Mahoney J.F., Ferguson C., Buchholtz M. et al. The use of penicillin sodium in the treatment of sulfonamide-resistant gonorrhea in men: a preliminary report. Am. J. Syphil. Gonorr. Vener. 27:525-528. 1943.

9. Martin J.E., Lester A., Price E.V. and Schmale J.D. In J. Infec. Dis. 122:459. 1970.

10. Meheus A., Piot P., Pattyn S., Van Dyck E., Vanden Berghe D. Activity in vitro of ten antimicrobial agents against *Neisseria gonorrhoeae*. Brit. J. Vener. Dis. 52:329-332. 1976.

11. Panikabutra K., Suvanmalik S. In Brit. J. Vener. Dis. 49:209. 1973.

12. Phillips T. Beta-lactamase-producing, penicillin-resistant gonococcus. Lancet. 2:657. 1976.

13. Ryan K.J., Neeham G.M., Dunsmor C.L. and J.C. Sherris. Stability of Antibiotics and Chemotherapeutics in Agar Plates. Appl. Microbiol. 20:447-451. 1970.

14. Thornsbury C., Jaffe H., Brown S.T., Edwards T., Boddle J. and Sumner E.T. Spectinomycin-resistant Neisseria gonorrhoeae. JAMA. 237:2405-2406. 1977.

15. Shadid M. Manual de Técnicas de Laboratorio para las Enfermedades Venéreas. C.C.S.S. San José, 1977.

16. Siegel M.S., Thompson S.E., Perine P.L. Penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. Sex Trans. Dis. (in press in 1977). 1977.

17. Smithurst B.A. In Antimicrob. Ag. Chemother. 6:653-654. 1974.

18. Thayer J.D. and Martin J.E. Improved medium selective for cultivation of *Neisseria gonorrhoeae* and *N. meningitis*. Public Health Rep. 81:559-562. 1966.

19. Thornsbeery C. and I.A. Kirven. In antimicrob. Ag. Chemother. 6:653-654. 1974.

20. Thornsbury C., Jaffe H., Brown S.T., Edwards T., Boddle J. and Sumner E.T. Spectinomycin-resistant Neisseria gonorrhoeae. JAMA. 237:2405-2406. 1977.