ACCION ESTIMULANTE DE LAS SULFONAMIDAS-COBRE Y DE LA PENICILINA SOBRE EL DESARROLLO DE *Cryptococcus neoformans* Y *Sporotrichum schencki,* RESPECTIVAMENTE

ANTONIO GONZALEZ OCHOA, LUIS BOJALIL JABER y RENATO SOTO PACHECO
Laboratorio de Micología.
Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales.

Durante la ejecución de dos investigaciones realizadas en el Laboratorio de Micología del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, la una encaminada a estudiar el aspecto parasitario del *Sporotrichum Schencki* en la infección humana (González Ochoa y Soto Pacheco, 1950) y la otra tendiente a explorar la acción fungistática de los complejos sulfonamidas-cobre de Erdos (González Ochoa y Bojalil Jaber, 1950), observamos un hecho interesante: que la penicilina actuó como factor de crecimiento frente a S. *Schencki, y* las sulfonamidas-cobre favorecieron, en lugar de inhibir, el desarrollo de *Cryptococcus neoformans.*

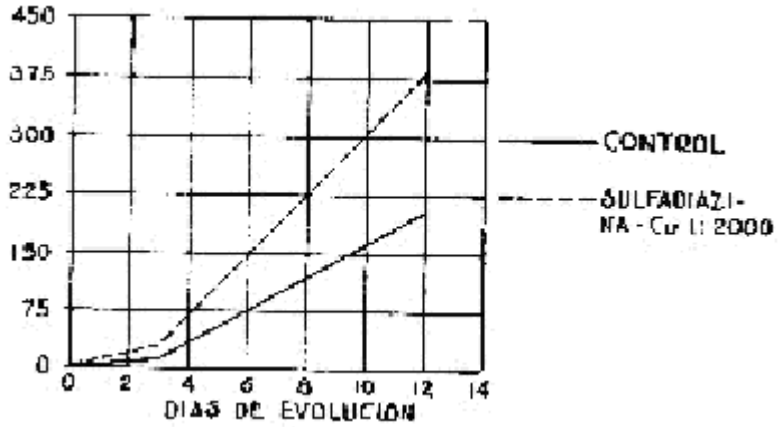
La observación anterior nos llevó a buscar literatura al respecto, es decir, literatura que señalara el hecho de que drogas elaboradas para destruir o inhibir gérmenes patógenos, y precisamente substancias que tienen una particular actividad antiinfecciosa, como son la penicilina y las sulfonamidas, obraran ante ciertos patógenos favoreciendo su desarrollo. Encontramos que algunos investigadores ya habían señalado el efecto paradójico de que la estreptomicina, puesta en presencia de ciertos gérmenes, actúa como factor necesario para su desarrollo, pero nada hallamos en relación con la penicilina ni sulfonamidas. Los primeros en mencionar el fenómeno fueron Miller y Bonhoff (1947) quienes observaron que algunas variantes de *Meningococcus* estreptomicina-resistentes, se desarrollaban más activamente en medios con el antibiótico. Posteriormente a este hallazgo se ha venido señalando el mismo fenómeno frente a diversas bacterias resistentes a la estreptomicina, y así Paine y Finland (1948) describieron variantes de *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa y Proteus morgani* estreptomicina-depedentes, o sea que su desarrollo depende de la presencia de estreptomicina; Vanderlinde y Yegian (1948) sugirieron el empleo de estas variedades de bacterias estreptomicina-dependentes para la identificación de cepas de *Streptomyces griseus* productoras de estreptomicina: Spendloy et al. (1948) aislaron una cepa de *M. tuberculosis* (var. *hominis*) que al tercer día de sembrada en medio líquido de Dubos, sólo se desarrolló en presencia de 10 ug. por c.c. de estreptomicina, mientras que en los controles no hubo desarrollo; Iverson y Waksman (1948) comprobaron que los ácidos pirúvico y fumárico al 1% capacitan el desarrollo, aun 1 ug./c.c. del antibiótico; Hobby y Dougherty (1948) aislaron un organismo estreptomicina-resistente, capaz de desarrollarse en estreptomicina como único nutriente.

En el campo de los hongos Campbell y Saslaw (1949) señalaron que la adición de estreptomicina a varios medios de cultivo micológicos produjo un desarrollo mayor de *Sporotrichum schencki, Coccidiodes immitis, Histoplasma capsulatum, Phialophora verrucosa y Trichophyton mentagrophytes,* habiéndose observado que el efecto estimulante del desarrollo fue proporcional a la cantidad el antibiótico hasta 2 mg./c.c., concentración con la que se obtuvo el mayor crecimiento.

EXPERIENCIAS PERSONALES

1. *Sulfonamidas-cobre* y *C. neoformans*. En el trabajo ya mencionado (González Ochoa y Bojalil Jaber, 1950) estudiamos la acción de los complejos sulfonamidas-cobre: sulfamerazina, acetilsulfanilamida, sulfadiazina, sulfanilamida, succinilsulfatiazol, sulfametiltiazol, sulfapiridina, ptalilsulfatiazol y sulfatiazol-cobre, sales sintetizadas por Erdos (1948a y 1948b), sobre *C. neoformans,* cepa obtenida del National Institute of Health, colección de Emmons bajo el Nº 561. Se siguió un método ya empleado en experiencias similares (González Ochoa y Zozaya, 1942), y que consistió en preparar medio de cultivo de Sabouraud glucosado al 2% a doble concentración, al que se le añadieron las sulfonamidas mencionadas a concentraciones de 1:2000 o sea de 50 mgs./100 c.c. en la cantidad de agua necesaria para que al agregarla al medio, éste quedara a la concentración mencionada; los tubos se

sembraron con un inóculo que midiera aproximadamente 1 mm. en series de 13 tubos, 10 de los cuales contenían la droga y los 3 restantes sin la droga fueron usados como testigos: los tubos se mantuvieron a la temperatura del laboratorio, haciendo lecturas cada 3 días durante 21, tomando en cuenta el diámetro mayor de las colonias en cada tubo y promediándose los resultados. Las gráficas se hicieron tomando el diámetro al cuadrado de las colonias en mm. como ordenada y los días de evolución como abscisa.

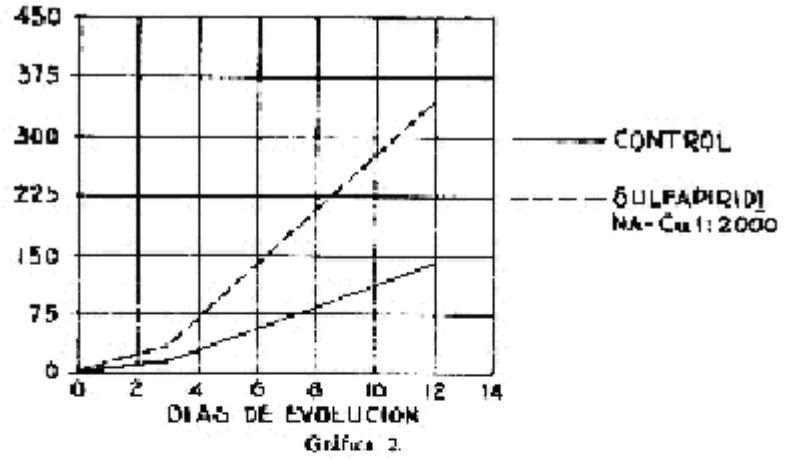


Gráfica 1.

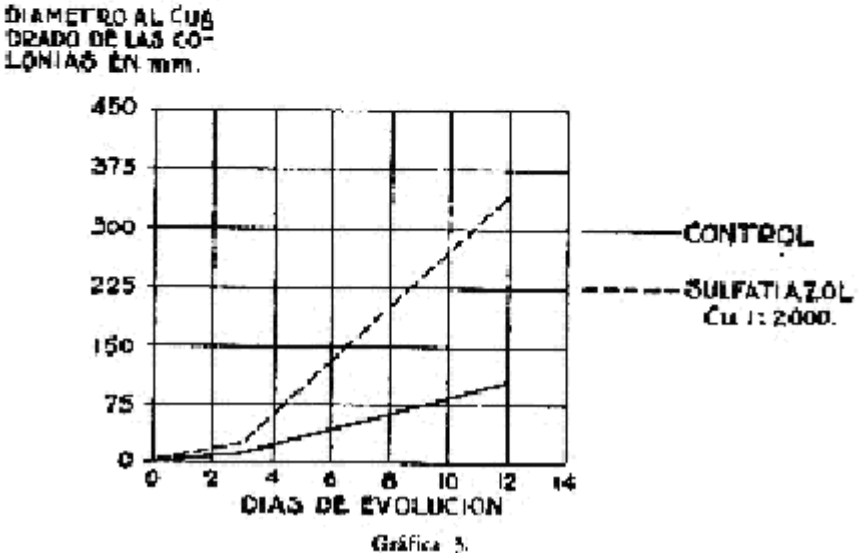
Contra lo que se esperaba, de que las drogas causaran inhibición, o cuando menos no actuaran sobre el desarrollo de C. *neoformans,* se observó un mayor crecimiento en los tubos problema que en los testigos, tal como si las sulfonamidas hubiesen estimulado el crecimiento del hongo, alcanzando las colonias en los tubos con sulfadiazina-cobre un desarrollo de 382 mm. de diámetro contra un desarrollo de 202 mm. en los testigos (Gráf. 1); en los tubos con sulfapiridina-cobre el desarrollo fue de 344 mm. en cambio en los testigos sólo alcanzaron 143 mm. (Gráf. 2), en sulfatiazol-cobre, *C. neoformans* tuvo un crecimiento de 337 mm. mientras que los testigos alcanzaron 105 mm. (Gráf. 3). Como se pensara en la posibilidad de que la porción cobre del complejo sulfonamida-cobre fuera la responsable del estímulo del crecimiento se cultivó *C. neoformans* en el mismo medio (Sabouraud glucosado al 2%) al que se añadió cobre bajo la sal de sulfato a la concentración de 1,05%, cantidad equivalente a la que contiene la sulfamerazina-cobre, cobre complejo frente al que se manifestó más claramente ese hecho; los resultados que obtuvimos, al cabo del mismo período de incubación, mostraron que el desarrollo del hongo en los tubos conteniendo cobre fue igual al de los testigos, por lo que quedó eliminada la hipótesis de que el estímulo del crecimiento fuera debido al cobre.

2. Penicilina *y Sporotrichum schencki.* En la prosecución del estudio emprendido para tratar de averiguar los aspectos que pudiera tomar el *S. schencki* al estado parasitario en la infección humana (González Ochoa y Soto Pacheco, 1950) ya también mencionado, procedimos a hacer observaciones del pus tomado de gomas esporotricósicas no abiertas, para lo cual se extrajo el pus por punción aséptica de la goma y se colocó en tubos de ensayo estériles de 10 por 75 mm., en cantidades de 0.5 a 1 c.c. aproximadamente, añadiendo a la mitad de los tubos 3 c.c. de penicilina en solución salina a la concentración de 500 u/o por c.c., y la otra mitad únicamente con 3 c.c. de la solución salina. Se dejaron los tubos a la temperatura del laboratorio y se hicieron frotis a partir de las 6 hrs. de incubación, continuando esta práctica mañana y tarde. Los frotis fueron teñidos con Gram, para el que *S. schencki* tiene marcada afinidad; la observación seriada de las láminas mostró que a partir del segundo día aparecieron, en los tubos correspondientes al pus con penicilina, unas formaciones que no existían en los tubos carentes del antibiótico, formaciones de las que nos hemos ocupado en el trabajo mencionado, y que condujeron a la génesis de la fase micelial del hongo; ésta se tradujo macroscópicamente a los 4 ó 5 días de evolución por una nebulosidad en la parte superior del contenido en los tubos, nebulosidad que posteriormente (12 días) se transformó en gruesos copos algodonosos que correspondían a un abundante y clásico desarrollo del *Sporotrichum,* contrastando con los tubos sin penicilina en los que no hubo desarrollo. El hecho relatado fue comprobado en tres ocasiones: dos a partir de un mismo enfermo, con 20 días de intervalo, durante el cual se sometió al tratamiento yodurado, y la tercera ocasión en un segundo caso clínico. Añadimos la penicilina con la

finalidad de inhibir el desarrollo bacteriano que pudiera existir, aunque posteriormente nos dimos cuenta del diferente papel que jugó el antibiótico en nuestra experiencia, ya que en los tubos sin penicilina, en los que no había desarrollo del hongo, tampoco hubo crecimiento de bacterias debido a las condiciones de asepsia en que se tomó el producto patológico.



Gráfica 2.



Gráfica 3.

DISCUSION

Aunque algunos autores (Keeney, Ajello y Lankford, 1944) reportaron haber encontrado inhibición de *C. neoformans* por sulfonamidas, nosotros no solamente no comprobamos esos resultados con las sulfonamidas-cobre, sino que por el contrario en nuestras experiencias el hongo se desarrolló con mayor abundancia que en los controles. Revisando la literatura al respecto, como ya se dijo, no encontramos trabajos realizados “in vitro” que confirmasen los resultados que obtuvimos y que tal vez estén de acuerdo con los hechos clínicos mencionados por Connant et al. (1937) quienes asientan que el tratamiento de dos casos de criptococosis pulmonar primaria con sulfadiazina, administrada de manera discontinua, dio por resultado que la infección se generalizara y los pacientes murieran en corto plazo.

No deja de ser un hecho interesante el que la penicilina actúe como factor de crecimiento, y no es posible invocar la hipótesis de que el antibiótico hubiese obrado evitando la competencia bacteriana para facilitar el

crecimiento, pues como la recolección del pus se hizo de gomas cerradas y se aseguró la conservación del producto, durante la incubación, no hubo desarrollo de bacterias, ni en los tubos carentes de antibiótico, por lo menos en dos de nuestras experiencias, y en la tercera que las había muy escasas, no llegaron a multiplicarse. Por la misma razón no podría suponerse el tan en boga papel del antagonismo.

Los hechos anteriores de que las sulfonamidas favorezcan el desarrollo de *C. neoformans*, y la penicilina haya actuado como factor de crecimiento frente a *S. schecnki*, tiene un particular interés académico, ya que viene a complicar enormemente la biología de los microorganismos y la manera de actuar de las sulfonamidas y de los antibióticos, los que no tienen un modo único de acción, sino que probablemente varían frente a grupos de gérmenes, frente a cada uno de los gérmenes y aun frente a diferentes cepas de un mismo germen; por otra parte, estos hechos tienen trascendencia al terreno práctico, puesto que indican que el uso injustificado de las sulfonamidas y de los antibióticos puede ser no sólo inútil sino nocivo.

RESUMEN

Los autores señalan dos hechos: que las sulfonamidas-cobre actúan favoreciendo el desarrollo "in vitro" de *Cryptococcus neoformans*, y que la penicilina actúa como factor de crecimiento de *Sporotrichum schencki* cultivado en pus colectado de gomas esporotricósicas sin adición de nutrientes.

SUMMARY

The AA. pointed out two fats: that sulfonamide-copper compounds act increasing the growth of *Cryptococcus neoformans*, and that penicillin acts as growth factor of *Sporotrichum schencki* cultured ir pus collected from gummatous lesions, without addition of nutrients.

REFERENCIAS

CAMPBELL, C. C., and S. SASLAW, 1949. "Enhancement of Growth of Certain Fungi by Streptomycin". Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 70: 562-563.

CONANT, N. F., D. S. MARTIN, D. T. SMITH, R. D. BAKER, and J. L. CALLAWAY, 1944. "Manual of Clinical Mycology". Saunders Co. Pha.

ERDOS, J., 1948a. "Sales complejas de las sulfonamidas con metales pesados". Ciencia, 8: 265-267.

— 1948b. "Sobre dos nuevos complelos de las Sulfonamidas con el cobre" An. de la E.N.C.B., 5: 105-108.

GONZÁLEZ OCHOA, A. y R. SOTO PACHECO, 1950. "Desarrollo del *Sporotrichum schencki* en el pus obtenido de gomas esporotricósicas. Algunos datos sobre su ciclo evolutivo". Próximo a aparacer en Rev. Inst. Sal. y Enf. Trop.

— y L. BOJALIL JABER, 1950. "Actividad 'in vitro' de complejos Sulfa-cobre sobre algunos hongos patógenos". Próximo a aparacer en Rev. Inst. Sal. y Enf. Trop.

HOBBY, G. L. and N. DOUGHERTY, 1948. "Insolation of a Streptomycin Resistant Organism Capable of Utilizing Streptomycin for Growth". Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 69: 544-548.

IVERSON, W. P. and S. A. WAKSMAN, 1948. "Effect of Nutrients Upon Growth of Streptomycin-Sensitive, Resistant and Dependent Strains of *Escherichia coli*". Proc. Soc. Exp. Biol and Med., 69: 586-590.

MILLER, P. L. and M. BONHOFF, 1947. "Development of Streptomycin-resistant Variants of Meningococcus". Science, 105:620-621.

PAINE, T. F., and M. FINLAND, 1948. "Streptomycin-sensitive, dependent, and resistant bacteria". Science, 107: 143-144.

SPENDLOVE, G. A., M. M. CUMMINGS, W., B FACKLER, JR., and M. MICHAEL, JR., 1948. “Enhancement of Growth of a Strain of *M. tuberculosis* (Var. Hominis) by Streptomycin”. Pub. Health Rep, 63: 1177-1179.

VANDERLINDE, R. J. and D. YEGIAN, 1948, “Streptomycin-dependent Bacteria in the Identification of Streptomycin-producing Microorganisms”. J. Bact., 56: 357-361.