

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA

351

LA PENICILINA

TESIS

que presenta el alumno

ALFONSO REYES MOTA

para obtener el título de
médico cirujano

MEXICO

1945



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A
mi padre

Al

Dr. Ignacio González Guzmán
*a cuya sabia dirección tanto debe
el presente estudio*



Figura A.

I

HISTORIA Y GENERALIDADES

SE CONOCE desde hace muchos años la acción antimicrobiana de algunos gérmenes respecto a otros, o mejor dicho, el antagonismo microbiano, y hace no menos de unos setenta años se encuentra en la literatura científica la primera sugestión de que el fenómeno de antagonismo microbiano sería capaz de posibles aplicaciones terapéuticas, cuando Pasteur y Joubert describen en 1877 (471) el efecto antagónico de algunos organismos contaminadores sobre el crecimiento del bacilo del ántrax. Estos autores concluyen: "Todos estos hechos autorizan tal vez las mayores esperanzas desde el punto de vista terapéutico".

Bouchard, en 1889 (72), descubre que el bacilo piocianico es antagónico respecto a otras especies bacterianas, demostrando que el medio de cultivo donde éste había estado reproduciéndose disolvía o destruía varias bacterias patógenas.

Emmerich y Löw (172), en 1899, hacen el primer intento de emplear estas sustancias del metabolismo microbiano, sustancias que últimamente han recibido el nombre de "antibióticos" (616), como agente terapéutico, usando precisamente el medio de cultivo del *Pseudomonas pyocyanea* contra el ántrax experimental y recomendándolo para el uso local contra la difteria y otras infecciones.

Much sugiere en 1924 (452) el uso clínico de sustancias antibacterianas producidas por el grupo de bacterias *Subtilis-Mesentericus*.

En realidad, el hecho más notable de antagonismo microbia-

no fué descubierto en 1929 por el Profesor A. Fleming (184), del St. Mary's Hospital de Londres. Fleming notó el crecimiento de una gran colonia de hongos que contaminaba una placa de Petri con gelosa para cultivo de estafilococos. Alrededor de la colonia de hongos, las colonias de estafilococos se fueron haciendo transparentes y terminaron en un fenómeno que el autor tomó por un caso de bacteriolisis.

Se trataba por lo tanto de la formación de una sustancia antibiótica producida por el hongo y que se había difundido por la gelosa vecina.

El hongo contaminador, según Fleming, era una especie muy cercana al *Penicillium rubrum*. Más tarde fué identificado por Thom (583), a petición de Clutterbuck (99), como *Penicillium notatum* Westling, de la serie *Penicillium chrysogenum* Thom.

En un medio de cultivo sólido, la colonia de moho tiene el aspecto de una pelusa blanca que aumenta rápidamente de tamaño y que esporula al cabo de unos días, tomando un color verde oscuro en el centro a medida que pasa el tiempo, y que llega a negro en los cultivos viejos. A los 4 ó 5 días aparece un color amarillo vivo que se difunde por todo el medio.

En un medio líquido, como el caldo, la colonia crece sobre la superficie como una película blanca que se va haciendo verde en pocos días. El caldo toma un color amarillo vivo.

Haciendo subcultivos en caldo, Fleming observó que éste adquiriría propiedades inhibidoras sobre ciertas bacterias.

La sustancia antibiótica derivada del *P. notatum* fué la que el autor nombró "Penicilina".

También probó el autor otros hongos de varias especies, así como otras ocho cepas de *Penicillium*, y sólo una, idéntica a la original, produjo sustancia antibiótica.

Para probar la actividad antibacteriana de la penicilina, Fleming usó dos métodos: 1) Se hace un surco en una placa de gelosa y se llena con gelosa mezclada a partes iguales con caldo que contiene penicilina. Después se siembran las bacterias a prueba por

estrías perpendiculares desde el surco hacia afuera. A partir del surco, la penicilina se difunde por la gelosa hasta determinada distancia, y el resultado es que, en las siembras de bacterias sensibles, la colonia no llega hasta el surco; las colonias de bacterias no sensibles llegan hasta el surco (Fig. 1).

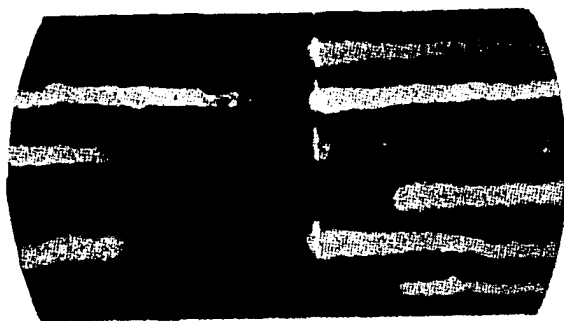


Figura 1.

2) Se hacen diluciones en serie del caldo activo en caldo simple y luego se inoculan los tubos con cantidades iguales de cultivo bacteriano.

Se comprobó por estos medios que el estafilococo era muy sensible y muy apropiado como germen de prueba.

Fleming probó además muchas otras bacterias y encontró que las más sensibles eran el estafilococo, el estreptococo y el neumococo; seguían después el bacilo diftérico y el bacilo del ántrax; y por último, casi insensibles, el colibacilo, el *B. typhosus*, la *Ps. pyocyanea*, el *B. proteus*, el *V. cholerae* y el *St. faecalis*.

También observó Fleming la variable sensibilidad de diferentes cepas de *St. viridans*. El meningococo y el gonococo resultaron asimismo muy sensibles.

Como el *H. influenzae* fué insensible a la penicilina, Fleming recomienda el uso de esta sustancia para aislarlo en cultivos mixtos.

Por último, hace notar que el caldo de penicilina inhibe los gérmenes sensibles en diluciones mayores que el fenol y que otros muchos antisépticos químicos conocidos; que no es irritante ni tóxico y que es de utilidad en bacteriología, especialmente para el cultivo selectivo del *H. influenzae*.

También se dió cuenta Fleming de que la penicilina podía ser útil para aplicación local como antiséptico en heridas infectadas, lo que ensayó, llegando a la conclusión de que la sustancia era superior a los remedios a base de potentes agentes químicos (185).

Siguiendo los trabajos de Fleming, Clutterbuck *et al.* trataron de aislar la penicilina (99). Describen la producción de esta sustancia en un medio de cultivo sintético y llegan a la conclusión de que se trata de un compuesto muy inestable, por lo que no continuaron sus investigaciones. Sin embargo, se debe a estos autores la identificación del hongo productor hecha por Thom como ya hemos dicho.

Después de este trabajo, el interés por la penicilina fué muy escaso, a pesar de las investigaciones de Reid (510) en 1935, y sólo en 1940 renace con gran impulso gracias a los estudios de Chain, Florey, Gardner, etc. (136), de la "Escuela de Patología Sir William Dunn", de Oxford.

En realidad, el interés por la penicilina se había reavivado ya con los estudios de Dubos, en 1939, (161, 162, 163) sobre un agente fuertemente inhibidor del desarrollo de gérmenes piógenos, producido por el *Bacillus brevis*. Esta sustancia fué llamada gramicidina y, posteriormente, tyrotricina.

Todo esto sirvió de base para una serie de estudios que se han llevado a cabo sobre gran número de hongos y bacterias, habiéndose obtenido diferentes extractos con mayor o menor actividad antibacteriana y con mayor o menor toxicidad. Algunos, por su toxicidad, no se pueden emplear en terapéutica; otros son inhibidores, pero en menor grado que la penicilina, y por último, muchos están todavía en estudio con halagüeñas perspectivas. En el

siguiente cuadro se enumeran las principales sustancias que se han obtenido por extractos de bacterias y hongos (132, 135, 614).

CUADRO I

ANTIBIÓTICOS PRODUCIDOS POR BACTERIAS

<i>Especie</i>	<i>Antibióticos</i>	<i>Actividad antibacteriana</i>
<i>Pseudomonas pyocyanea</i>	{ Piocianina Piocianasa α -hidroxifenazina	Débil Bacteriolítica Inhibidora de protozoarios
<i>Bacillus brevis</i>	{ Tirotricina Tiroidina Gramacidina	Tóxica bacteriana Bacteriostática de grampositivos
<i>Chromobacterium iodinum</i>	Clororafina	Bacteriostática específica del <i>St. hemolyticus</i> y de <i>E. coli</i>
<i>Bacillus pleomorphicus</i> (no identificado)	Enzina	Lisis de la cápsula del neumococo tipo III.
Bacilo no identificado	H. I.	Bactericida de grampositivos

ANTIBIÓTICOS PRODUCIDOS POR ACTINOMICETOS

<i>Especie</i>	<i>Antibióticos</i>	<i>Actividad antibacteriana</i>
<i>A. albus</i>	Actinomicetina	Bacteriolítica
<i>A. violaceus</i>	Actinomicetina B	Bacteriostática
<i>A. antibioticus</i>	{ Actinomicina A Actinomicina B	Bacteriostática Bacteriostática para los grampositivos
<i>A. lavendulae</i>	Estreptotricina	Bacteriostática
<i>Proactinomyces Gardner</i>	Proactinomicina	

ANTIBIÓTICOS PRODUCIDOS POR ASPERGILOS

<i>Especie</i>	<i>Antibióticos</i>	<i>Actividad antibacteriana</i>
<i>A. fumigatus</i>	{ Fumigatina Fumigacina	Bacteriostática del <i>V cholerae</i> y del <i>B anthracis</i>
<i>A. fumigatus</i> mut. <i>Helvola</i> Yuill		
	Acido helvólico	Bacteriostática
<i>A. clavatus</i>	Clavacina	Bacteriostática
<i>A. flavus</i>	{ Flavicina	Bacteriostática
	{ Acido aspergílico	
<i>A. giganteus</i>	Acido gigántico	Bacteriostático de gram-negativos.

ANTIBIÓTICOS PRODUCIDOS POR PENICILIOS

<i>Especie</i>	<i>Antibióticos</i>	<i>Actividad antibacteriana</i>
<i>P. notatum</i>	{ Penicilina Notatina (Penicilina B, o penatina)	Bacteriostática para gram-positivos y negativos.
<i>P. claviforme</i> <i>P. patulum</i>		
	Claviformina (o patulina)	Bacteriostática
<i>P. puberulum</i>	Acido penicílico	Bacteriostática para gram-negativos y salmonelas
<i>P. (Gliocladium) fimbriatum</i>	Gliotoxina	Bacteriostática y micostático.
<i>P. citrinum</i>	Citrinina	Bacteriostática en grampositivos

II

ESTUDIOS BACTERIOLOGICOS

ACCIÓN ANTIBACTERIANA y cultivos diferenciales.—Desde el primer trabajo de Fleming quedó demostrada la actividad antibacteriana de la penicilina respecto a determinados gérmenes. Se hicieron diferentes pruebas en dilución en serie y se comprobó que algunos gérmenes eran sensibles en diluciones del 1:800, mientras que otros no fueron inhibidos ni en diluciones al 1:5. Los más sensibles fueron el estafilococo (*aureus* y *epidermitis*), el estreptococo y el neumococo. Los menos susceptibles fueron los gérmenes del grupo coli-tífico. El gonococo y el meningococo resultaron también altamente sensibles.

La más importante aplicación bacteriológica de la penicilina que usó Fleming fué el aislamiento del *H. influenzae* (Pfeiffer) de muestras patológicas en cultivos mixtos, con lo que obtuvo cultivos diferenciales, hecho que ya recomienda en su primer trabajo sobre esta sustancia y luego en otro en colaboración con Maclean (205), en el que estudian la existencia de bacilos de la influenza en personas sanas.

Para aislar el *H. influenzae* se puede extender el caldo de penicilina sobre la mitad de una placa de gelosa ya inoculada con los gérmenes obtenidos de un producto patológico. Por este método, se encontró el bacilo en 23 casos de influenza, de un total de 25; sólo se obtuvo el bacilo en 8 de 25 casos donde no se usó la penicilina.

En el trabajo en colaboración con Maclean, se encontró el bacilo en la boca de 36 personas sanas, usando el mismo método.

En 1932 (186), Fleming usa y recomienda la penicilina: 1) para aislar bacterias hemofílicas, insensibles a su acción; 2) para aislar el bacilo del acné, sólo medianamente sensible, del estafilococo, sumamente sensible; método empleado con éxito más tarde por Craddock (117); 3) para diferenciar los cocos gramnegativos saprofitos, insensibles, de los cocos gramnegativos patógenos, muy sensibles; 4) para demostrar la inhibición de una especie bacteriana frente a otra. Por ejemplo, sembró una placa con un cultivo mixto de estreptococo y de vibrión cólico, y bañó con penicilina la mitad de la placa. El estreptococo no se desarrolló en presencia de penicilina y se obtuvo de ese lado un cultivo puro de vibrión cólico. En la otra mitad, el estreptococo creció en cultivo puro inhibiendo el desarrollo del vibrión. 5) Para aislar determinada especie de bacteria combinando la penicilina con el telurito de sodio. La penicilina y el telurito tienen un poder antibacteriano muy selectivo y actúan sobre gérmenes muy diferentes, a grado tal que, en casi todos los casos en que una bacteria es penicilino-sensible, es telurito-insensible y viceversa.

En 1937 (419), Maclean emplea la penicilina para el aislamiento del *H. pertussis*. Usa el método de las "placas de tos", bañando con caldo de penicilina la mitad de las placas. De 50 casos, 47 fueron positivos en la mitad con penicilina, y sólo 33 en la que no contenía dicha sustancia.

En 1938, Chain y Florey, que estudiaban las propiedades e importancia fisiológica de la lisocina, poderoso bactericida natural purificado por Roberts en 1937 (516), pensaron que sería útil investigar sistemáticamente las propiedades químicas y biológicas de las sustancias bactericidas producidas por microorganismos. La elección para la primera investigación recayó sobre la penicilina descrita por Fleming.

Para investigar el poder antibacteriano de la penicilina, se buscó un método menos complicado que la dilución en serie, ya que ésta requiere una esterilización absoluta de cada muestra que se prueba. El Dr. Heatley ideó un método muy práctico, que no

sólo se ha utilizado para la penicilina, sino para otras sustancias antibacterianas; es el "método de los anillos o cilindros". Sobre la superficie desecada de una placa de gelosa sembrada con un cultivo de gérmenes-prueba, generalmente el *Staphylococcus aureus*, se colocan unos pequeños cilindros de vidrio o porcelana vidriada, abiertos por los extremos. Las soluciones de penicilina que se desean ensayar se vierten en el interior de estos cilindros. Después del período de incubación, la superficie de la gelosa se cubre de una película continua de bacterias, excepto en un área circular alrededor de cada cilindro, donde la penicilina se ha difundido

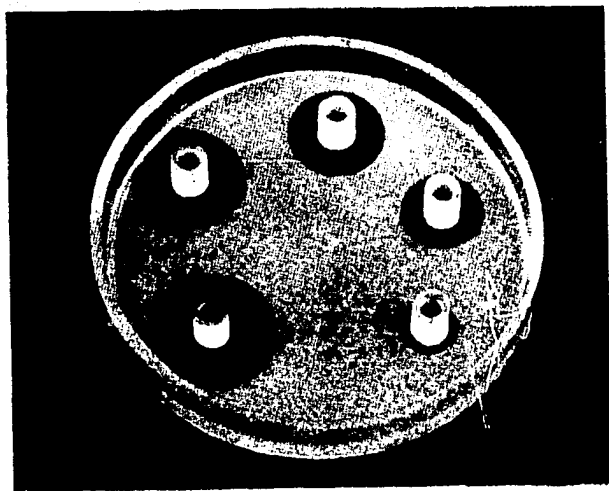


Figura 2.

al exterior y ha inhibido el crecimiento. El diámetro de esta zona está en razón directa de la concentración de penicilina en la solución del cilindro, y usando soluciones con cantidades conocidas de la droga, puede trazarse una curva que relacione ambas variantes. Desde luego que el diámetro producido por determinada solución varía día a día, lo que se puede contrarrestar incluyendo en cada prueba una o más soluciones de valor conocido. Se creyó conve-

niente expresar la actividad bactericida de la penicilina por referencia a una preparación patrón, lo que originó la "unidad", que se describirá más adelante (Fig. 2).

En el primer trabajo sobre penicilina llevado a cabo por Florey y sus colaboradores de Oxford (136) en 1940, quedó probada la actividad de la droga sobre diferentes bacterias patógenas, y a pesar de emplear la sustancia muy impura, en forma de polvo pardo soluble en agua, es decir, con un tanto por ciento de penicilina pura del 1% al 2%, encuentran que, in vitro, aun en fuertes diluciones, es inhibidora para los siguientes gérmenes: *Cl. welchii*, *Cl. septicum*, *Cl. oedematiens*, *C. diphtheriae*, *Strep. pyogenes*, *Strep. viridans*, *Diploc. pneumoniae*, y estafilococos. La penicilina no parecía ser propiamente bactericida sino inhibidora del desarrollo.

Trabajos posteriores de los mismos autores, aparecidos en 1941 (7;217), dan cuenta de la acción antibacteriana de la penicilina, ya menos impura, contra varias especies bacterianas y en diluciones mayores; así, para el *S. aureus*, fué inhibidora en dilución de 1:1,000,000, y para el gonococo en dilución de 1:2,000,000. En general se confirmaron las primeras observaciones de Fleming sobre la susceptibilidad de varias especies microbianas. Se hicieron cultivos en serie del estafilococo sobre medios con penicilina y se observó que adquiría resistencia a la droga, aunque no se encontró ninguna enzima destructora. También se demostró que la acción de la penicilina era bacteriostática, a semejanza de las sulfonamidas, y no bactericida. Difería sin embargo de esas drogas por ser activa en diluciones mucho más elevadas; por no ser afectada según el número de bacterias presentes; y por no disminuir su acción en presencia de suero, sangre, pus, tejidos autolizados ni peptonas.

Se hicieron estudios de diluciones de penicilina a diferentes grados frente a diferentes bacterias, para establecer su mayor o menor susceptibilidad, con los siguientes resultados: (C u e d r o II)

CUADRO II

Bacterias	Nº de cepas	Diluciones de título inhibitor			Observaciones
		Completo	Parcial	Nulo	
N. gonorrhoeae*	6	2.000,000	> 2.000,000	> 2.000,000	_____
N. intracellularis	1	1.000,000	2.000,000	4.000,000	_____
Staph. aureus	4	1.000,000	2.000,000	4.000,000	_____
Strep. pyogenes	3	1.000,000	2.000,000	4.000,000	_____
B. anthracis	1	1.000,000	2.000,000	4.000,000	_____
A. bovis (hominis)	1	1.000,000	2.000,000	4.000,000	Cultivos por picadura en gelosa glucosada.
Cl. tetani**	1	1.000,000	_____	_____	No se observaron límites.
Cl. welchii	1	1.500,000	_____	_____	No se observaron límites.
Cl. septicum	1	300,000	1.500,000	1.500,000	Usando diluciones quintuples.
Cl. oedematiens	1	300,000	_____	1.500,000	Inoculación de esporas.
Strep. viridans***	2	625,000	_____	3.125,000	Ver otras cepas más abajo.
Dipl. pneumoniae***	6	250,000	500,000	1.000,000	3 cepas tipo I; 1 tipo III; 1 tipo VII y 1 tipo IX. Algunas, inhibición completa al 500,000.
C. diphtheriae (mitis)	1	125,000	_____	625,000	No se probaron las diluciones intermedias.
C. diphtheriae (gravis)	1	32,000	64,000	128,000	_____
S. gaertneri	1	20,000	40,000	80,000	_____
S. typhi	2	10,000	30,000	90,000	Se registra el resultado más alto de los 2 obtenidos.
Dipl. pneumoniae***	3	9,000	_____	27,000	Tipos I, VII y XIX.
Estreptococos anaerobios***	1	4,000	8,000	16,000	_____
Proteos	3	4,000	32,000	60,000	Se anota la cepa más susceptible. Otras, 4 veces menos sensibles.
Strep. viridans***	1	4,000	8,000	16,000	_____
Past. pestis	2	1,000	100,000	500,000	Inhibición parcial entre 1,000 y 100,000
S. typhi murium	1	< 1,000	8,000	16,000	Inhibición parcial entre 1,000 y 8,000
S. paratyphi B.	2	< 1,000	5,000	10,000	Inhibición parcial entre 1,000 y 5,000
Bact. shigae	1	2,000	4,000	8,000	_____
Br. abortus	1	2,000	4,000	8,000	_____
Br. melitensis	1	< 1,000	2,500	10,000	_____
Estreptococos anaerobios***	1	< 4,000	< 4,000	4,000	_____
V. comma	1	< 1,000	1,000	2,000	_____
E. coli	5	< 1,000	< 1,000	1,000	Una cepa mostró inhibición completa a 200 y nula a 400.
Kleb. pneumoniae	1	< 1,000	< 1,000	1,000	_____
Ps. aeruginosa	2	< 1,000	< 1,000	1,000	_____
Mycobact. tuberculosis	1	< 1,000	< 1,000	1,000	_____
L. icterohaemorrhagiae	1	< 3,600	< 3,600	3,600	No se probaron diluciones débiles.

* Otra cepa sólo fué inhibida hasta el 1:32,000.

** Cultivado en caldo de Lemco. En caldo de bucy sólo se logró la inhibición completa al 1:100,000.

*** Véanse diferentes cepas en el cuadro.

[A. = Actinomyces; B. = Bacillus; Bact. = Bacteridium; Br. = Brucella; C. = Corynebacterium; Cl. = Clostridium; Dipl. = Diplococcus; E. = Escherichia; Kleb. = Klebsiella; L. = Leptospira; Mycobact. = Mycobacterium; N. = Neisseria; Past. = Pasteurella; Ps. = Pseudomonas; S. = Salmonella; Staph. = Staphylococcus; Strep. = Streptococcus; V. = Vibrio]

Después de estos resultados de los investigadores de Oxford, se empieza a estudiar la penicilina en los Estados Unidos. Dawson, Hobby, Meyer y Chaffee (153) informan del efecto antibacteriano de la penicilina, encontrándola efectiva contra el neumococo, el estreptococo hemolítico, el *Str. viridans*, el estafilococo, el *Cl. welchii*, el *Cl. tyrosinogenes* y el *Cl. septicum*.

Las preparaciones de penicilina usadas hasta entonces eran bastante impuras, contenían alrededor de 4 a 5 % de penicilina pura, y una actividad de 40 a 50 unidades por miligramo. En 1942, Florey y Jennings (216) experimentan ya con una penicilina mucho más purificada, con un 25 a 50 % de penicilina pura, y una actividad de 250 a 500 unidades por miligramo. Con esta preparación, la inhibición completa del estafilococo se obtiene en diluciones del 1:24,000,000 y del 1:30,000,000; la inhibición parcial, con diluciones del 1:160,000,000. Se observan igualmente aumentos proporcionales de la actividad antibacteriana ante otros gérmenes.

Hobby, Meyer y Chaffee (317) cultivaron un hongo de la cepa de Fleming en un medio de cultivo especial, y obtuvieron una penicilina con actividad de 240 a 250 unidades por mgr., es decir, muy parecida a la anterior. Se probó la actividad antibacteriana de esta preparación por el método de dilución en serie contra gran número de gérmenes que fueron clasificados en el siguiente orden de susceptibilidad:

<i>Susceptibles</i>	<i>No susceptibles</i>
Neumococo	<i>H. influenzae</i>
<i>Strep. hemolyticus</i>	Colibacilo
Estafilococo	B. tífico
Meningococo	B. disintérico
Gonococo	<i>Proteus</i>
<i>Strep. viridans</i>	B. paratífico A
<i>B. subtilis</i>	<i>B. enteritidis</i>
<i>Cl. welchii</i>	B. piocianico
Vibrión séptico	<i>B. fluorescens</i>
<i>Cl. histolyticus</i>	<i>B. prodigiosus</i>

Susceptibles
B. sporogenes
B. oedematiens
B. sordelli
B. láctico
Cryptococcus hominis

No susceptibles
B. de Friedländer (1 cepa)
Staph. albus (1 cepa)
Monilia albicans
Monilia krusei
Monilia candida

Podemos decir que, en general, la penicilina es efectiva contra los gérmenes grampositivos, aerobios o anaerobios, y poco efectiva respecto a los gérmenes gramnegativos, con las excepciones ya anotadas. Sin embargo, no hay que pasar por alto el hecho de que en ambos grupos hay numerosas variaciones de sensibilidad, aun en diferentes cepas.

También se ha probado la penicilina contra el *Treponema pallidum* (168) y se ha encontrado que concentraciones relativamente altas de la droga afectan la movilidad del germen.

Foster y Woodruff (232) han estudiado el efecto de la penicilina en hongos y fermentos sin encontrar ninguna acción contra éstos ni aun en concentraciones de 30 unidades por c. c., o sea 3,000 veces la concentración necesaria contra el germen standard de prueba, el estafilococo dorado (*Staphylococcus aureus* H.).

Foley, Epstein y Lee (222) estudiaron la susceptibilidad a la penicilina de 7 cepas de *Listerella* sin encontrar ningún resultado positivo.

En el siguiente cuadro de Robinson (520) se aprecia la eficacia de la penicilina contra los gérmenes anaerobios. (Cuadro III).

CUADRO III

Dilución de penicilina	<i>Cl. welchii</i>	<i>Cl. chauvoii</i>	<i>Cl. tetani</i>	<i>Cl. botulinum</i>
1: 50,000	—	—	—	—
1: 60,000	—	—	—	—
1: 70,000	—	—	—	—
1: 80,000	—	—	—	—
1: 90,000	—	—	—	+
1:100,000	—	—	—	+
1:200,000	±	+	—	+
1:400,000	±	+	±	+
Control	+	+	+	+
	+ desarrollo		— ningún desarrollo	

Varios investigadores han observado el hecho de que la susceptibilidad a la acción de la penicilina varía mucho entre diferentes cepas del mismo germen. Los investigadores de Oxford lo notaron especialmente en el neumococo y en el estreptococo viridans (7). En el caso del neumococo la diferencia de susceptibilidad va unida a la diferencia de tipo. Robinson (520) observó que dos cepas de estreptococo hemolítico eran inhibidas por completo en una dilución al 1:2,000,000; mientras que el estreptococo viridans y el láctico sólo eran parcialmente inhibidos en una dilución al 1:128,000. Del grupo gramnegativo, las cepas de *E. coli* y *B. aerogenes* no eran afectadas por la penicilina; mientras que cepas de salmonelas y de bacilos del grupo disentérico eran inhibidas en diluciones del 1:1,000 al 1:4,000.

Bornstein (71) ha sugerido que el diferente grado de susceptibilidad a la penicilina sirve como ayuda para la identificación de cepas y razas bacterianas íntimamente relacionadas. Este autor demostró con sus experimentos la nítida separación entre los enterococos y los estreptococos lácteos y viridans, basándose en la diferente susceptibilidad a la penicilina.

Según Rammelkamp y Maxon (502), los estafilococos muestran una sensibilidad más uniforme entre sus cepas que la de otros gérmenes. Sin embargo, aun así, hay variaciones de susceptibilidad, por lo que es imprescindible usar una cepa standard como germen de prueba para estudiar los efectos y potencia de acción de la droga.

Es muy importante el hecho de que la penicilina, a diferencia de otros agentes antibacterianos, ejerce su acción bacteriostática aun en presencia de pus, sangre, suero y productos de lisis tisular. Florey y colaboradores (7) demostraron en experimentos in vitro que el efecto antibacteriano de la sustancia no era atenuado ni en presencia de suero, ni en presencia de sangre total. En un medio de pus filtrado y caldo de cultivo a partes iguales, se observó lo mismo, así como en un medio líquido derivado de lisis tisular de hígado de rata. Otros autores han hecho experimentos similares

con los mismos resultados. Hobby, Meyer y Chaffee (317) llegan a afirmar que a veces la acción de la penicilina puede ser aumentada por la presencia de sangre o suero.

Alteraciones morfológicas en las bacterias.— Gardner, en 1940 (243), fué el primero que estudió las alteraciones morfológicas de las bacterias en presencia de concentraciones demasiado bajas de penicilina para llegar a inhibir por completo el desarrollo bacteriano. El efecto se pudo observar en concentraciones de 10 a 30 veces menores que las necesarias para la inhibición completa. Los cambios principales se debieron a división incompleta, apareciendo formas hinchadas, gigantes y extrañas en los cocos; en el caso de bacilos y vibriones, se formaron largos filamentos. Los gérmenes más afectados fueron las salmonelas, el vibrión colérico, la *Brucella abortus* y *melitensis*, el bacilo del ántrax, los estafilococos y los estreptococos. El meningococo no mostró alteración alguna.

Utilizando penicilina obtenida del *Penicillium chrysogenum*, Smith y Hay (564) reprodujeron los cambios morfológicos en el estafilococo dorado.

Adaptación y resistencia a la penicilina.— Por métodos especiales se ha logrado provocar resistencia a la acción antibacteriana de la penicilina en gérmenes susceptibles. Abraham *et al.* (7) la obtuvieron en una cepa de *Staphylococcus aureus* por cultivos en serie con un aumento progresivo de la concentración de penicilina, en un período de 9 semanas. Mientras que la cepa madre era inhibida en una concentración de 1:1,000,000, la cepa obtenida se desarrolló perfectamente en una concentración de 1:1,000.

McKee y Rake (417) confirieron resistencia contra la penicilina a dos cepas de neumococo tipo II, cultivándolas en serie, después de 8 pases, en caldo con penicilina en concentración progresivamente aumentada. In vitro estas cepas duplicaron su resistencia; pero por inoculación al ratón, no se pudo apreciar ninguna diferencia de susceptibilidad. Posteriormente, McKee y Houck (412, 413) informaron que, por una serie de 60 pases,

aumentaba la resistencia de un cultivo de estafilococo 6,000 veces más que la cepa madre. Otras dos cepas, que sufrieron 28 pases cada una, adquirieron respectivamente una resistencia 1,000 y 4,000 veces mayor que la de los cultivos de control. En el neumococo y en el estreptococo piógeno, esta propiedad no se pedía conferir tan rápidamente. El neumococo tipo III y el estreptococo piógeno adquirieron una resistencia 30 veces mayor, mientras que los neumococos tipos I y II sólo la aumentaron 6 veces. En el cultivo del neumococo, el desarrollo de la resistencia iba acompañado por una tendencia al polimorfismo y por una disminución en el índice del desarrollo, aunque conservando el tipo específico. Un hecho importante, desde el punto de vista clínico, fué el encontrar que el aumento progresivo de la resistencia era simultáneo a la disminución de virulencia en el organismo, a juzgar por las pruebas hechas con ratones. La disminución de virulencia y la resistencia a la droga, una vez adquiridas, se hacían permanentes en los gérmenes, a pesar de pases en serie en ratones o en caldo de cultivo con sangre. Las cepas así transformadas en resistentes a la penicilina conservaron, sin embargo, su susceptibilidad a otros antibióticos.

Schmidt y Sesler (545) demuestran que la resistencia puede conferirse in vivo usando la penicilina en ratones infectados.

Dunham *et al.* (168) encuentran desarrollo de la resistencia en una cepa de *Treponema pallidum* tratado con penicilina en cantidad insuficiente para curar la enfermedad.

Powell y Jamieson (481), McKee y Rake (417), y Tillet, Cambier y Harris (588), han demostrado que no existe relación entre la resistencia a la penicilina y la resistencia a las sulfonamidas. Los neumococos sulfonamido-resistentes son completamente susceptibles a la penicilina.

Rammelkamp y Maxon (502) han estudiado este asunto desde el punto de vista clínico. Utilizando 29 cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de pacientes con infecciones clínicas, determinaron la menor concentración de penicilina requerida para destruir

de 1,000 a 3,000 gérmenes. Se encontró que todas las cepas sucumbieron en concentraciones de 0.02 a 0.35 unidades Florey por c. c., en caldo de cultivo. Se ve por lo tanto que el grado de susceptibilidad in vivo es muy semejante. Estos autores aumentaron 74 veces la resistencia de 2 cepas de estafilococo in vitro, por una exposición, en presencia de la droga, de 54 días. Anotan también que la penicilino-resistencia puede ser el resultado de la terapéutica penicilínica insuficiente.

Lyons (394) ha notado también la propensión a la resistencia en casos clínicos, sin encontrar en éstos pérdida de la virulencia de los gérmenes, que eran estafilococos.

Schnitzer, Camagni y Buck (547) han clasificado los estafilococos penicilino-resistentes en tres grupos:

1. Estafilococos con resistencia natural.
2. Cepas transformadas en resistentes por contacto prolongado con concentraciones de penicilina progresivamente aumentadas.
3. Colonias pequeñas de *Staphylococcus albus* (formas G). (Las colonias pequeñas se obtuvieron por efectos de la penicilina sobre cultivos de estafilococos en gelosa).

Los investigadores de Oxford (7) pensaron que la resistencia a la penicilina, natural o adquirida, se podría deber a una enzima que destruyese su propiedad inhibidora. Abraham y Chain (3) demostraron en efecto la presencia de tal enzima en el colibacilo. Los extractos de estos gérmenes, incubados con penicilina, le hacen perder su poder antibacteriano. A la enzima causante de este fenómeno la denominaron "penicilinasas". Se piensa que es una enzima, porque es destruída por el calentamiento a 90°C durante 5 minutos, y por incubación con papaína activada con cianuro de potasio en un pH 6; además, no dializa por las membranas de celofán. Su actividad es muy ligera con un pH 5 y aumenta con la alcalinidad, siendo muy marcada con pH 8 y 9. La enzima se encontró también en el *Micrococcus lysodeiaticus*, lo que es paradójico, ya que este germen es bastante sensible a la penicilina. Sin embargo, parece que la enzima no es el único fac-

tor determinante del fenómeno. Estudiando una cepa de *Staphylococcus aureus* con una resistencia natural a la penicilina 1,000 veces mayor que la standard, no se encontró ninguna enzima.

Según Woodruff y Foster (640), la propiedad de contrarrestar la acción de la penicilina existe en muchos gérmenes, especialmente manifiesta entre las formas aerobias esporuladas. Los fermentos y hongos no demostraron tener esta propiedad, con excepción de dos especies de actinomicetos. Utilizando como fuente de penicilinasa un germen esporulado, no identificado, estos investigadores estudiaron varias fases de la actividad de esta enzima. Ella se forma tanto en presencia como en ausencia de penicilina. El pH del medio parece ser el factor más importante para que se ejerza la actividad enzimática. La presencia de dextrosa o levulosa disminuye la formación de la enzima, que va acompañada de un descenso en el pH del medio. Una vez producida, la penicilinasa es muy estable. La temperatura óptima para ejercer su acción es la de 37°C. Se acelera su efecto en presencia de grupos sulfhídricos, y se disminuye en presencia de nitrato de sodio, ácido iodacético y cloruro de hierro.

Harper (277) ha obtenido también un extracto de un bacilo paracólico que tiene propiedades inhibitoras respecto a la penicilina.

Lawrence (370, 371) ha logrado la inactivación de la penicilina por medio de la clara, lo que ha comprobado más tarde Stanley (572).

También se han hecho estudios para ver si otros antibióticos, la gramicidina y la estreptotricina, tienen alguna influencia inhibitoria sobre la penicilina. Herrell y Heilman (301) no observaron ningún cambio en la acción de esta sustancia cuando se le añadió gramicidina. En otro trabajo (302), estos mismos autores aplicaron la penicilina y la gramicidina al neumococo tipo VII en un medio de cultivo de tejidos, y sólo obtuvieron la inhibición completa del germen usando una dosis total de cada una de di-

chas sustancias, capaz por sí sola de producir el mismo resultado; es decir, que las acciones de ambos antibióticos no se suman.

En contraste, la penicilina y la estreptotricina sí suman su poder antibiótico, según se desprende de las investigaciones de Foster y Woodruff (233).

Influencia de la penicilina sobre las bacterias fosforescentes.— Como otras sustancias derivadas de hongos, especialmente de los actinomicetos, tienen un poder reductor de la luz en las bacterias fosforescentes, Rake, Jones y McKee (489) efectuaron experimentos sobre el particular con la penicilina. Encontraron que esta droga, en forma purificada, no tiene ninguna actividad antifosforescente directamente; sólo por su poder antibacteriano causa una desaparición gradual de la fosforescencia. Sin embargo, la penicilina más impura tiene un poder antifosforescente más apreciable.

Efectos de la penicilina sobre las células sarcomatosas.— Por los trabajos de Cornman (113) se ve que la sal sódica de penicilina fué capaz de destruir células sarcomatosas sin atacar a los fibroblastos cultivados al mismo tiempo en tubo de ensaye. Cuando se hizo el trasplante de células sarcomatosas, no tratadas, en las ratas, se reprodujeron tumores en el 100 % de los casos. Las células sarcomatosas, sometidas al efecto de la penicilina en diferentes concentraciones, no reprodujeron tumores al ser transplantadas a las ratas.

Actividad de la penicilina in vivo.— En general, la actividad de la penicilina in vivo es paralela a su actividad in vitro.

Según Robinson (520), dosis diarias de 2 a 4 mgrs. (120 a 240 u. F.) por cada 20 grs. de peso, inyectadas cada 3 ó 6 horas, protegen al ratón contra los gérmenes grampositivos. Dosis menores, de 0.25 a 0.50 mgrs. (15 a 30 u. F.), prolongan la vida de estos animales; pero no los protegen de la muerte.

Acción sobre los estafilococos.—Chain *et al.* (136) estudiaron en 1940 la acción de la penicilina en las infecciones estafilocócicas en el ratón. Entonces usaron penicilina impura. Con ésta, en dosis de 11.5 mgrs. cada 4 horas, obtuvieron una superviven-

cia de casi un 90 % en ratones inoculados con una cepa de *S. aureus*, de tal virulencia, que causó una mortalidad de un 100 % en los ratones testigos no tratados.

En el siguiente cuadro (Cuadro IV) damos los resultados obtenidos por Robinson (520) con penicilina más purificada (60 u. F. por mgr.), en ratones con infecciones estafilocócicas.

CUADRO IV

Germen: *S. aureus* (Smith).

Edad del cultivo: 6 horas.

Inoculación: 0.5 c. c. de una dilución de cultivo al 10^{-4} en 4 % de mucina.

Tratamiento: Penicilina subcutánea inmediatamente después de la inoculación.

Horario y duración del tratamiento: Cada 3 horas durante 5 días.

	Dosis en mgrs. por día	Dosis en u. F. por día	Dilución del cultivo	Número de supervivientes en 10 días									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	0.0625	3.75	10^{-4}	0									
	0.125	7.5	"	4	0								
	0.250	15	"	20	12	1	1	1	1	1	1	1	1
	0.500	30	"	20	12	0							
	1.000	60	"	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	2.000	120	"	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	4.000	240	"	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
TESTIGOS	0	0	10^{-4}	0									
	0	0	10^{-5}	0									
	0	0	10^{-6}	0									
	0	0	10^{-7}	0									
	0	0	10^{-8}	0									
	0	0		0									

Robson y Scott (526, 527), empleando una cepa muy virulenta de *S. aureus*, que siempre había causado ulceración de la córnea e hipopión en el 90 % de los conejos inoculados experimentalmente en los ojos, usan con éxito una solución de penicilina que, aplicada localmente a la hora de la inoculación, y renovada cada hora durante 48 horas, es plenamente eficaz para el tratamiento de esta infección. Se comparó el efecto obtenido con la penicilina y con otros agentes terapéuticos, resultando muy superior la primera.

Pilcher y Meacham (477) encuentran que, usando la droga por vía intravenosa, tiene muy poco resultado contra la meningitis estafilocócica experimental en el perro; mientras que por vía intratecal es mucho más efectiva.

Acción sobre los estreptococos.—Por los resultados que han obtenido Chain *et al.* (136); Meyer *et al.* (433); Robinson (520); y Hobby *et al.* (316, 319), se aprecia claramente la gran efectividad que tiene también la penicilina sobre las infecciones estreptocócicas. Hobby y su grupo, utilizando una penicilina con una potencia de 150 a 200 u. F. por mgr., encuentran que 1.5 mgr. es suficiente para proteger a los ratones contra un mínimo de 1,000,000 de dosis letales de una cepa virulenta de estreptococo hemolítico. El tratamiento resultó efectivo aun retrasando su aplicación 8 horas después de la inoculación. La droga se mostró activa tanto por vía intravenosa como por las vías intraperitoneal y subcutánea. Administrada por implantación subcutánea, en forma de plaquitas hechas de la droga por 4 partes de colesterol, o por inyección subcutánea del antibiótico en suspensión oleosa, la actividad de la droga disminuye, aunque sigue siendo bastante efectiva.

Robinson (520), usando una preparación semejante a la empleada por él en los experimentos relativos al estafilococo, obtuvo los resultados anotados en el cuadro siguiente (Cuadro V).

Hobby *et al.*, bajo la dirección de Meyer (434, 435), investigaron el efecto de algunos ésteres alifáticos de la penicilina sobre estos gérmenes. Estos compuestos químicos demostraron que, aunque su actividad antibacteriana *in vitro* era poco notable, podían conferir *in vivo* un alto grado de protección a los ratones contra las infecciones de estreptococos hemolíticos. Una dosis de 1.5 mgrs. del éster etílico; ó 2.5 mgrs. del éster metílico, proporcionan una protección total contra 20,000 a 100,000 dosis letales de este germen. La discrepancia entre la acción *in vitro* e *in vivo* la explican estos autores como un fenómeno de hidrólisis del éster inactivo en el organismo, que formaría un éster activo. Puesto que la hidrólisis del éster, con liberación de penicilina activa, se

CUADRO V

Germen: *St. hemolyticus* (Nº 1685).

Edad del cultivo: 6 horas.

Inoculación: 0.5 c. c. de una dilución de cultivo al 10^{-4} en caldo.

Tratamiento: Penicilina subcutánea inmediatamente después de la inoculación.

Horario y duración del tratamiento: Cada 3 horas durante 5 días.

	Dosis en mgrs. por día	Dosis en u. F. por día	Dilución del cultivo	Número de supervivientes en 10 días									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	0.0625	3.75	10^{-4}	0									
	0.125	7.5	"	16	0								
	0.250	15	"	18	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	0.500	30	"	20	4	0							
	1.000	60	"	20	20	18	15	15	15	15	13	9	9
	2.000	120	"	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	4.000	240	"	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
TESTIGOS	0	0	10^{-4}	0									
	0	0	10^{-5}	0									
	0	0	10^{-6}	0									
	0	0	10^{-7}	0									
	0	0	10^{-8}	0									
	0	0		0									

produce lentamente, una sola inyección, inmediata a la inoculación en el ratón, da la misma protección que la misma dosis administrada en varias menores repetidas. Debido a su estabilidad en el pH del jugo gástrico, los ésteres metílico, etílico y n-butílico son activos también administrados por vía oral, aunque la dosis debe ser 10 veces mayor a la empleada por vía subcutánea. Parece que, en los ratones, la toxicidad de los ésteres es mayor que la penicilina, con excepción del éster n-butílico.

Acción sobre los anaerobios.— La penicilina ha probado ser un poderoso agente inhibidor de los anaerobios de la gangrena gaseosa in vitro (7, 115, 216, 520).

Después, los trabajos de McIntosh y Selbie (407, 408, 409) demuestran el gran poder de la droga en infecciones experimentales de *Cl. welchii*, *Cl. oedematiens* y *Cl. septicum* en los ratones. Hicieron inoculaciones por vía intramuscular, correspondientes a

100 dosis letales cada una. Al mismo tiempo inyectaron cloruro de calcio como estimulante. Inmediatamente, o algún tiempo después, aplicaron una sola inyección de penicilina en el mismo punto de la inoculación. El estudio se hizo comparativamente con otros agentes quimioterápicos. Como índice de supervivencia se eligió un término de 3 días, pues generalmente al pasar de este límite era ya la supervivencia indefinida. Con el *Cl. welchii* fué suficiente una dosis de 34 u. F. para salvar la mayoría de los animales tratados, siempre que fuera aplicada inmediatamente después de la inoculación. La penicilina resultó ser más efectiva contra estos gérmenes que la propamidina, la proflavina y las sulfonamidas. También fué más efectiva, aunque con un margen más reducido, contra el *Cl. oedematiens*. En las infecciones de *Cl. septicum* fué superior el sulfatiazol, por lo que los autores sugieren para la clínica el uso combinado de penicilina y sulfatiazol.

Cuando se investigó en estas infecciones el efecto de la antitoxina sola, el resultado profiláctico fué casi nulo. Si a la antitoxina se añadía el tratamiento local con proflavina o penicilina, el porcentaje de animales supervivientes se duplicó en comparación al obtenido con la sola antitoxina. Lo curioso es que este efecto se hace más manifiesto si el tratamiento se inicia a las 4 ó 6 horas de la inoculación.

En el caso del *Cl. welchii*, todos estos datos han sido comprobados por Hac y Hubert (270, 271).

Por los resultados obtenidos por Dawson, Hobby, Meyer y Chaffee (153), parece que son necesarias dosis más altas, hasta de 666 u. F. de penicilina, para conferir una protección completa a cobayos inoculados con una suspensión de esporas de *Cl. welchii*, equivalente a 1-2 dosis mortales. Para el caso, estos investigadores usaron la sal de penicilina disuelta en 3 volúmenes de aceite de sésamo, mientras que McIntosh y Selbie, así como Hac y Hubert, no usaron más que la solución salina de penicilina.

El grupo de investigadores de Oxford (136) estudió el efecto

de la penicilina impura sobre el *Cl. septicum* inoculado al ratón. Primero encontraron que la administración de penicilina durante dos días no impedía el desarrollo de la infección una vez que se suspendía la droga. Después, el período terapéutico fué aumentado a 10 días, con lo que sobrevivieron todos los animales tratados.

McKee, Hamre y Rake (411), estudiando in vitro el efecto de las sulfonamidas y de algunos antibióticos sobre el *Cl. perfringens*, el *Cl. septicum* y el *Cl. oedematiens*, encontraron un poder antibacteriano en el orden siguiente, de mayor a menor: tirotricina, penicilina, sulfadiazina, sulfatiazol, ácido aspergílico, gliotoxina y sulfanilamida. En infección experimental de *Cl. perfringens* en el ratón, la penicilina fué efectiva contra una cepa resistente al sulfatiazol.

Acción sobre los neumococos.— En los estudios de Robinson (520) se obtuvieron los resultados del siguiente cuadro (Cuadro VI).

Hobby, Meyer y Chaffee (317) obtuvieron efectos semejantes con el neumococo tipo II.

Powell y Jamieson (481) encuentran que la penicilina, por vía oral, es efectiva contra cepas sulfapiridino-resistentes de neumococos tipos I, II y III, en infecciones experimentales en el ratón.

También McKee y Rake (417) observan que los neumococos sulfonamido-resistentes son francamente susceptibles a la acción de la penicilina. Cuando se hizo una inoculación intraperitoneal simultánea a la aplicación de la droga en el mismo lugar, fué suficiente 1 u. F. para proteger al 84 % de los animales tratados. Si la aplicación del antibiótico se hacía por vía subcutánea, era necesaria una dosis mayor, de 100 u. F. para proteger al 100 % de los animales inoculados.

Tillet, Cambier y Harris (588) administran la penicilina 3 veces por día por vía intraperitoneal, durante 4 días, a ratones inoculados con neumococos resistentes a la sulfadiazina. Todos los

CUADRO VI

Potencia de penicilina: 60 u. F. por mgr.

Germen: Neumococo tipo I, N^o 37.

Edad del cultivo: 6 horas.

Inoculación: 0.5 c. c. de una dilución de cultivo al 10^{-4} en caldo.

Tratamiento: Penicilina subcutánea inmediatamente después de la inoculación.

Horario y duración del tratamiento: Cada 3 horas durante 5 días.

	Dosis en mgrs. por día	Dosis en u. F. por día	Dilución del cultivo	Número de supervivientes en 10 días									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	0.0625	3.75	10^{-4}	0									
	0.125	7.5	"	0									
	0.250	15	"	0									
	0.500	30	"	0									
	1.000	60	"	13	5	4	4	4	4	4	4	4	4
	2.000	120	"	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	4.000	240	"	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
TESTIGOS	0	0	10^{-4}	0									
	0	0	10^{-5}	0									
	0	0	10^{-6}	1	0								
	0	0	10^{-7}	3	0								
	0	0	10^{-8}	0									

ratones sobrevivieron, aun los que habían recibido grandes dosis del cultivo de inoculación.

Von Sallman (608) usó la penicilina en aplicación local contra infecciones experimentales de neumococos tipos III, VII y X en los ojos del conejo. La droga probó ser muy efectiva en estos casos, aun retrasando su aplicación 12 ó 13 horas después de la inoculación. Este autor utilizó la sal amónica de penicilina en soluciones de 0.25 y de 0.10 % durante 4 días. La droga fué efectiva aun en los casos en que la infección intraocular de neumococos tipos III y X había llegado a atacar ya la cápsula del cristalino, siempre que se comenzara el tratamiento durante las primeras 6 horas, y se continuara con éste de 5 a 6 días.

Robson y Scott (528) produjeron úlceras en la córnea del conejo inyectando un cultivo de 6 a 10 horas de edad de neumoco-

cos tipo XIX. Generalmente se presentaba iritis e hipopión. En cada conejo usaron un ojo para el experimento y el otro como testigo. En el primero se aplicó penicilina cada hora, durante 36 horas, y luego cada hora por espacio de 3 días. En 28 conejos en los que se comenzó el tratamiento a la hora, a las 6 horas y a las 12 horas después de la inoculación, las lesiones testigo fueron graves, y 22 de las lesiones tratadas fueron ligeras. En los casos en que se comenzó el tratamiento a las 24 horas, se obtuvo algún resultado curativo, y 8 de las lesiones tratadas fueron leves mientras que las lesiones testigo fueron todas graves.

Von Sallman y Meyer (610) investigaron también el poder de penetración de la penicilina en el ojo del conejo, administrando la droga por vía intramuscular en dosis únicas de 20 mgrs. de sal sódica (con 100 a 150 u. F.). Se obtuvo así un ligero efecto inhibitor en el humor acuoso. Aplicada como tópico, el método de la iontoforesis aumentaba la concentración de la penicilina en el humor acuoso 10 veces más que el baño corneal. Las soluciones y ungüentos de penicilina aplicados en forma repetida, no produjeron ningún efecto antibacteriano apreciable en el humor acuoso.

Acción sobre los meningococos.— Dawson *et al.* (153) estudiaron el efecto de la penicilina en ratones blancos inoculados con meningococos por vía intraperitoneal. La droga se mezcló con 3 volúmenes de aceite de sésamo, y se aplicó esta preparación por vía subcutánea a la media hora, a las 18 horas y a las 24 horas de la inoculación. Se vió que una cantidad de 1,800 u. F. confería una protección completa contra una dosis de meningococos lo suficientemente virulentos para provocar la muerte de todos los ratones testigos en el término de 24 horas.

Acción sobre la *Borrelia novyi*.— Heilman y Herrell (288) obtuvieron los siguientes resultados en ratones inoculados con esta espiroqueta de la fiebre recurrente. Se administraron 4,000 unidades en dosis divididas, durante 4 días, empezando el tratamiento a las 24 horas de la inoculación. A las 24 horas del tra-

tamiento, existían muy pocas o ninguna espiroqueta en la sangre de los ratones tratados. De los 28 ratones no tratados, murieron 21, o sea el 75 %. De los 26 tratados sólo murió 1. El índice de recurrencia en los animales supervivientes fué mucho más bajo en los ratones tratados que en los testigos: en estos últimos, hubo recurrencia en el 100 %; en los primeros, sólo apareció en 4. Es curioso el hecho de que in vitro la penicilina no parece tener ningún efecto sobre la Borrelia.

Augustine, Weinman y McAllister (28), administrando dosis más fuertes en menor espacio de tiempo, obtuvieron la esterilización en la sangre en un término de 27 horas. No se consiguió la reinoculación en ratones sanos inyectados con sangre de los inoculados y tratados.

Estos últimos autores estudiaron también el efecto de la penicilina sobre el *Trypanosoma lewisi* y sobre el *Toxoplasma*, sin encontrar ningún efecto aparente sobre esos gérmenes.

Acción sobre los virus de la ornitosis y de la psitacosis.— Heilman y Herrell (289, 291) obtuvieron también bastantes buenos resultados contra estos virus. De los 40 ratones con ornitosis tratados con penicilina, murieron 2, o sea el 5 %, mientras que de los 40 testigos murieron 35, o sea el 87 %. En la psitacosis, hubo 4 muertos de los 52 ratones tratados, lo que representa un 8 %; los 52 testigos murieron en su totalidad.

Acción sobre los virus de la influenza, linfogranuloma venéreo y vacuna.— Andrews, King y Van den Ende (17) hicieron experimentos sobre estos gérmenes, inyectando penicilina cada 3 horas, durante 78 hs. En ninguno de los ratones inoculados con los diferentes virus se apreció efecto terapéutico alguno de la droga.

Acción sobre la Leptospira icterohemorrágica.— También tuvieron éxito los experimentos hechos sobre esta espiroqueta por Heilman y Herrel (290). De los 32 animales tratados, 3 murieron por efectos tóxicos de la droga, ninguno por la enfermedad experimental; 29 de los 32 testigos murieron de la enfermedad.

Acción sobre otros gérmenes.— Según los estudios de Robin-

son (520), la penicilina no demostró tener ningún efecto en ratones inoculados con *Mycobacterium tuberculosis* (aviario). Tampoco fué efectiva contra el virus P R 8 de la influenza epidémica, lo que confirmó después el estudio de los investigadores del Naval Laboratory Research Unit 1. En el mismo trabajo, Robinson informa de la ineficacia de la droga sobre el *T. equiperdum*.

A continuación presentamos un cuadro (Cuadro VII) de los gérmenes susceptibles y no susceptibles a la penicilina, in vitro, in vivo y en la clínica.

CUADRO VII

A = in vitro.
B = in vivo.
C = en clínica.

Germen	Susceptible	No susceptible
<i>Actynomices</i>	{ A (7) C (220-394)	{ A (616) C (220) A (520-616) B (416) C (394)
<i>Aerobacter aerogenes</i>	A (616)	
<i>Bacillus anthracis</i>	A (7-243)	
<i>B. mycoides</i>		A (616)
<i>B. subtilis</i>	A (317)	
<i>Borrelia novyi</i>	B (28-288)	
<i>Bor. recurrentis</i>	B (391)	
<i>Brucella abortus</i>	A (7-367-616)	A (243)
<i>Br. melitensis</i>	A (7)	A (243)
<i>Clostridium bifermentans</i>	A (317-394)	A (394)
<i>Cl. botulinum</i>	A (520)	A (520)
<i>Cl. chauvoei</i>	A (520)	A (520)
<i>Cl. histolyticum</i>	A (317)	
<i>Cl. novyi</i>	A (7-136-317)	
<i>Cl. perfringens</i> (<i>Cl. wel-</i> <i>chii</i>)	{ A (5-7-136-153-243-317 520) B (270-407) A (7-136-153-317)	
<i>Cl. septicum</i>	{ B (136) A (7-520)	
<i>Cl. tetani</i>	A (7-520)	

Cuadro VII (continuación)

<i>Germen</i>	<i>Susceptible</i>	<i>No susceptible</i>
<i>Cl. tetanomorphum</i>	A (394)	
<i>Cl. tyrosinogenes</i> (<i>Cl. sporogenes</i>)	A (153-317-394)	A (394)
Colitífico, grupo		A (194)
<i>Corynebacterium acnes</i>		A (117)
<i>C. diphtheriae</i>	A (7-136-195)	
<i>Cryptococcus hominis</i>	A (317)	
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	A (7-136-153-317)	
<i>Dip. pneumoniae</i> tipo I	A y B (520)	
<i>Dip. pneumoniae</i> tipo II	B (319)	
<i>Dip. pneumoniae</i> tipos I, II y III.	B (416)	
<i>Dip. pneumoniae</i> en cul- tivos de tejidos	(286-302)	
<i>Eberthella typhosa</i>	A (5-7-216-243)	A (196-317)
<i>Enterococcus</i>		A (69)
<i>Escherichia coli</i>	{ A (7-367-616)	{ A (3-196-317-520-616) B (416) C (220-394)
<i>Hemophilus influenzae</i> (Pfeiffer)		A (82-195-317)
<i>H. pertussis</i>		A (195)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (<i>B. friedlaenderi</i>)	{ A (7)	{ A (317) B (416)
<i>Lactobacillus</i>	A (317)	
	{ A (7)	
<i>Leptospira icterohaemorrhagiae</i>	{ B (290)	
<i>Listerella</i>		A (222)
<i>Micrococcus flavus</i>		A (194)
<i>M. lyodeicticus</i>	A (3-616)	
<i>Monilia candida</i>		A (317)
<i>Monilia albicans</i>		
<i>Monilia krusei</i>		
<i>Mycobacterium tuberculo- sis</i>	A (7)	B (520)
<i>Neisseria catarrhalis</i>	A (194)	
	{ A (7-195-317)	
<i>N. gonorrhoeae</i>	{ C (111-300-426-601)	

Cuadro VII (continuación)

<i>Germen</i>	<i>Susceptible</i>	<i>No susceptible</i>
<i>N. intracellularis</i>	{ A (243-317) C (151)	
<i>Pasteurella cuniculicida</i> (<i>P. leipseptica</i>)	A (520)	A (520)
<i>P. pestis</i>	A (7)	A (196)
<i>Plasmodium relictum</i>		B (391)
<i>P. vivax</i>		C (394)
<i>Proteus vulgaris</i>	A (7)	{ A (317-394) C (97-394) A (317)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	A (7)	{ C (97-394) A (317)
<i>Ps. fluorescens</i>		A (317)
Rickettsias del tifo	A (262)	
<i>Salmonella</i>		B (416)
<i>S. enteritidis</i> (<i>S. gaertneri</i>)	A (5-7-216-520)	A (317-520)
<i>S. paratyphi</i>		A (317)
<i>S. schottmuelleri</i>	A (7-520)	A y B (520)
<i>S. typhimurium</i> (<i>S. aertrycke</i>)	A (7-520)	A y B (520)
<i>Serratia marcescens</i> (<i>B. prodigiosus</i>)		A (317)
<i>Shigella dysenteriae</i>	{ A (7-520)	{ A (317) A y B (520)
<i>S. paradyenteriae</i> (<i>B. flexneri</i>)	A (520)	A (520)
<i>S. sonnei</i>	A (520)	A (520)
<i>Spirillum minus</i>	B (391)	
<i>Staphylococcus albus</i>	A (117-501)	A (317)
	{ A (7-153-195-196-317- 367-501-564) A y B (136-520)	A (520)
<i>Staph. aureus</i>		
<i>Staph. aureus</i> en cultivos de tejidos	B (416) (286-302) C (97-220-303-394)	

Cuadro VII (continuación)

<i>Germen</i>	<i>Susceptible</i>	<i>No susceptible</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	A (71)	A (71)
<i>Str. durans</i>		
<i>Str. equinus</i>	A (71)	
<i>Str. faecalis</i>	{	{ A (71-394) B (416) (286)
<i>Str. faecalis</i> en cultivos de tejidos	A (520)	
<i>Str. lactis</i>		A (71-520)
<i>Str. liquefaciens</i>		A (71)
<i>Streptococcus</i> (no hemolítico)	C (220) { A (5-7-136-153-243- [317-501])	C (151-353)
<i>Str. pyogenes</i> (<i>S. hemolyticus</i>)	{ A y B (520) B (319-416) (286-302)	
<i>Str. pyogenes</i> en cultivos de tejidos	{ C (97-220-463) A (5-7-71-136-153-243- 317-520) B (416)	 C (220)
<i>Str. salivarius</i> (<i>S. viridans</i>)		
<i>Str. salivarius</i> en cultivos de tejidos	(286)	
<i>Toxoplasma</i>		B (28)
<i>Treponema pallidum</i>	C (60-424-425-468)	
<i>Trypanosoma cruzi</i>		B (391)
<i>T. equiperdum</i>		B (520)
<i>T. lewisi</i>		B (28)
<i>T. rhodesiense</i>		B (391)
<i>Vibrio comma</i>	A (7-243)	
Virus PR8 de la influenza		B (520)
Virus de la ornithosis	B (289)	

Mecanismo de acción de la penicilina

Hasta la fecha no se conoce en forma precisa el mecanismo de acción de la penicilina sobre las bacterias sensibles. Por los diferentes estudios que se han hecho sobre el particular, se puede suponer que esta sustancia es capaz de obrar como agente bacte-

riostático y como bactericida. Lo que se sabe desde luego, a raíz de los primeros trabajos de los investigadores de Oxford (136), es que su poder antibacteriano es muy superior a los antisépticos más eficaces conocidos hasta la fecha. En presencia de penicilina, aun en bajas concentraciones, algunas especies bacterianas no sólo dejan de multiplicarse, sino que mueren lentamente. Las alteraciones morfológicas de las bacterias, observadas por Gardner (243), indican que acaso queda inhibido el proceso de división celular. Es de gran interés en la práctica que la acción inhibidora de la droga se ejerza tanto en presencia de suero, como de sangre, pus, productos de necrosis tisular, o en un medio simple de cultivo, como el caldo ordinario. El número de bacterias tampoco afecta su poder en forma apreciable. Por otra parte, las concentraciones muy elevadas del antibiótico, no modifican la actividad leucocitaria, y, en general, su toxicidad es muy escasa para todos los tejidos. Todas estas propiedades demuestran la superioridad de la penicilina sobre las sulfonamidas. No se debe olvidar, sin embargo, que la penicilina es el agente antibacteriano conocido como el más selectivo, es decir, que su acción sólo se manifiesta sobre determinadas especies; tanto así, que Fleming la usó muchos años como agente para cultivos diferenciales.

Con la penicilina no siempre se obtiene la esterilización de un cultivo susceptible, pero siempre hay una notable disminución del número de gérmenes presentes. Hobby *et al.* (318) observaron que el número de gérmenes supervivientes disminuía en progresión geométrica, mientras el tiempo aumentaba en progresión aritmética. El logaritmo del número de supervivientes, a medida que pasaba el tiempo, seguía una línea recta hasta el momento en que moría el 99 % de gérmenes (ver gráfica 1).

En estas condiciones experimentales, los neumococos fueron destruidos más rápidamente que los estreptococos hemolíticos, y éstos, a su vez, más que los estafilococos. Por lo tanto, es probable que la penicilina, *in vitro*, pueda actuar como bacteriostática o como bactericida.

Estos investigadores llegan también a la conclusión de que este antibiótico sólo es capaz de destruir las bacterias cuando se

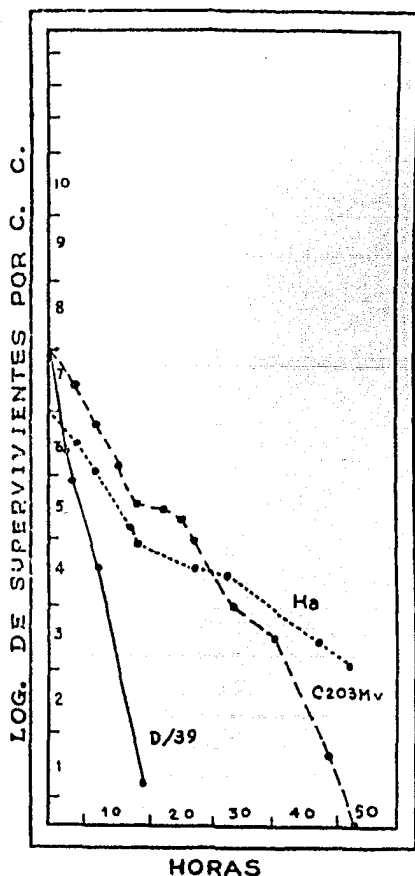
GRÁFICA N° I

Efecto bacteriostático de la penicilina
50 gama c. c.

Estreptococo hemolítico (C 203 Mv)

Neumococo (D/39)

Estafilococo (*Staph. albus* Ha)



encuentran en fase de reproducción. A 37°C., la multiplicación de los gérmenes testigos en caldo de cultivo era intensa y la activi-

dad antibacteriana de la penicilina fué muy marcada contra el estreptococo hemolítico. A 18°C., el índice de multiplicación de los testigos era lento y la actividad de la penicilina muy moderada. A 4°C. no había multiplicación y la penicilina no mostró acción bacteriostática o bactericida alguna.

Según Foster (226), las dosis progresivamente aumentadas de penicilina producen una inhibición proporcional cuantitativa del desarrollo del *S. aureus* en caldo de cultivo. Foster y Wilker (230) dan dos explicaciones posibles de la inhibición bacteriana. Según la primera, las bacterias de un cultivo serían de diferentes sensibilidades, y la penicilina, en dosis progresivamente ascendentes, iría inhibiendo gérmenes de resistencia progresivamente mayor. Según la segunda, todos los gérmenes poseerían una resistencia esencial semejante, y la acción de la penicilina prolongaría en forma logarítmica el tiempo de la generación de cada bacteria. Por los estudios experimentales, parece más aceptable la segunda explicación, al menos para el *Staphylococcus aureus*.

Los esposos Florey (220) piensan que la penicilina actúa impidiendo la multiplicación bacteriana, permitiendo así a las propias defensas del organismo la destrucción de las bacterias existentes.

Así pues, la penicilina, como la gramicidina y la tirocidina, impide la multiplicación bacteriana, en una forma más lenta que las dos últimas mencionadas, pero con la ventaja de ser bacteriolítica para algunos gérmenes y de no ser hemolítica (303, 318). Otro hecho en su favor, en comparación a las sulfonamidas, es que estas últimas sólo provocan un ligero descenso en el índice del crecimiento (318).

Al parecer, la penicilina no es destruída ni sustraída de su solución por algunos gérmenes, así como no se presenta la bacteriolisis de otros (317, 318). No se observó bacteriolisis en incubación a 37°C. durante 24 horas de suspensiones de estreptococos hemolíticos en penicilina, en concentraciones de 100 microgramos por c. c. Esto no está de acuerdo con el informe original de Flem-

ing (184); pero ha sido confirmado por los estudios de Reid (510).

Según Waksman (612), las sustancias antibióticas son muy selectivas en su acción antibacteriana. Su mecanismo de acción consiste en la obstaculización de ciertos procesos metabólicos propios de las bacterias, a saber:

1. Por oxidación de una sustancia metabólica que debería ser reducida en el proceso de nutrición bacteriana.
2. Por combinación con el substrato, o con uno de sus constituyentes, haciéndolo inútil para el aprovechamiento bacteriano.
3. Por acaparamiento de una enzima necesaria a las bacterias para algún proceso metabólico principal.
4. Por alteración de la tensión superficial de las bacterias.
5. Por influencia sobre el mecanismo respiratorio microbiano.
6. Por interrumpir la división celular bacteriana.

III

MEDICION DE LA POTENCIA ANTIBACTERIANA

EXISTEN DIFERENTES métodos para medir el poder antibacteriano de la penicilina, orientados todos desde un punto de vista bacteriológico, ya que la potencia se expresa por el grado de inhibición en el desarrollo microbiano de las especies probadas.

Se acostumbra definir la potencia de la penicilina conforme a una medida arbitraria ideada por los investigadores de Oxford (136) al principio de sus estudios, y de utilidad práctica en el laboratorio. Esta es la medida conocida como unidad Oxford o unidad Florey. Fué definida por sus autores como "la cantidad de penicilina que, disuelta en 1 c. c. de agua, produce la misma inhibición que una muestra standard". La muestra standard consiste en una solución de penicilina, parcialmente purificada, en un "buffer" fosfatado y saturado con éter. Esta muestra standard dió de promedio un diámetro de 24 mm. de inhibición en la cepa de estafilococo probada. Prácticamente, se ha visto que esta cantidad de penicilina es equivalente a la mínima cantidad que, disuelta en 50 c. c. de caldo de extracto de carne, inhibe por completo el desarrollo de la cepa probada de *S. aureus*.

Por lo tanto, para determinar la potencia de cualquier muestra de penicilina, es necesario hacer una comparación directa con la muestra standard. En consecuencia, hay que mantener la comparación entre esta muestra y la desconocida, cuyo valor se calcula por una curva standard. Estas curvas standard de actividad varían, naturalmente, con cada método de medición.

Métodos de dilución en serie.—Fué Fleming (184) el primero

en usar este método para la penicilina. Consiste en hacer diluciones en serie de esta sustancia en caldo de cultivo, sembrando después todos los tubos con un mismo volumen de suspensión bacteriana, y poniéndolos a incubar. La inhibición se aprecia por el diferente grado de opacidad del caldo. Este método tiene la desventaja de ser muy laborioso y requiere mucho material estéril. La esterilización de las muestras puede hacerse por filtración en filtro Seitz, aunque se piensa que esto puede causar una ligera disminución en la potencia de la droga.

Foster y Woodruff (231) describen un método de dilución en serie que parece más exacto, con caldo de corazón de buey, glucosado.

Rammelkamp (493) inventó otro método que permite medir en clínica muy pequeñas cantidades de penicilina en la sangre y otros flúidos del organismo. Tiene sensibilidad aun para concentraciones tan bajas como 0.0039 u. F. en 0.2 c. c. de solución. Sin embargo, según Foster y Woodruff, no es adecuado para la investigación química.

Wilson (630) hizo otra modificación del método de dilución en serie, que lo hace más rápido, económico y bastante exacto.

Rake y Jones (488) utilizan la formación de hemolisina como indicador. Según este método, la lectura puede hacerse entre 60 y 90 minutos.

Métodos en placa de Petri.—En general, son diluciones en serie en gelosa donde se cultivan los gérmenes a prueba. Tiene la ventaja de que pueden usarse muestras muy contaminadas, ya que los gérmenes se desarrollan en colonias aisladas fácilmente diferenciadas del germen examinado. Por este método se ha observado que la actividad de la penicilina tiende a aumentar a medida que el pH del medio descende. Se pueden estudiar hasta seis diferentes gérmenes en cada placa.

Método de los cilindros.—Seguramente es el más práctico para el trabajo diario. Está basado en el hecho de que una solución de penicilina tiende a difundirse en la gelosa de una placa previa-

mente sembrada. Se presenta una zona de inhibición bacteriana alrededor del punto de difusión, que da un diámetro que expresa la concentración de la penicilina (Ver fig. 2). Su exactitud es de $\pm 25\%$, lo que es suficiente en general.

Los investigadores de Oxford usaron la siguiente técnica:

Se siembran placas de gelosa común con los gérmenes testigos, generalmente el *S. aureus*, bañando la superficie de gelosa con

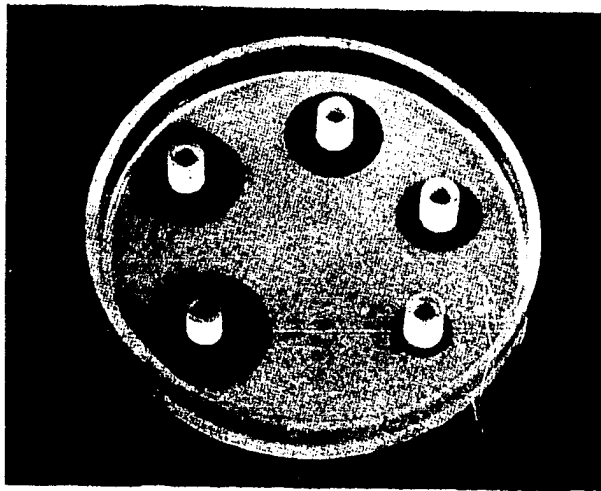


Figura 2.

cultivos en caldo y sin dejar exceso de líquido. Se secan las placas 1 hora a 37°C ., en un soporte especial que no permite el contacto directo de las placas con el piso de la estufa. Una vez secas, se sacan de la estufa y pueden conservarse en el refrigerador 1 ó 2 días. Se aplican sobre la gelosa cilindros de vidrio o porcelana

vidriada, de 9.6 mm. de longitud y de 5.1 mm. de diámetro interno, que tienen su extremo inferior biselado hacia dentro y un borde plano. Así se forma una unión hermética con el agar, para líquidos y bacterias, lo que permite introducir líquidos no estériles en el interior del cilindro sin contaminar las placas de gelosa. Generalmente se calienta un poco el cilindro antes de colocarlo. La sustancia activa se difunde desde el líquido a la gelosa, inhibiendo en forma concéntrica el crecimiento de los estafilococos, en proporción con su concentración en el líquido (ver fig. 5).



Figura 3.

Vincent y Vincent (605) modifican este método sustituyendo los cilindros por discos de papel filtro saturados con la muestra de penicilina. La lectura es así más rápida.

Fleming (196) ha usado también un método semejante en

placas de gelosa inoculada donde practicaba unos pequeños hoyos, donde después depositaba unas gotas de la muestra de penicilina. La inhibición se aprecia también por la zona concéntrica que se forma en torno a los hoyos.

Foster y Woodruff (231, 234) no encuentran muy práctico el uso del *S. aureus* como germen de prueba. Recomiendan el *B. subtilis* como germen más apropiado. Además, con este microbio se aprecian mejor los límites de la zona de inhibición en la gelosa.

Métodos turbidimétricos.—Foster (226) fué el primero en aplicar este método en estos estudios. Se basa en la inhibición proporcional del *S. aureus* H. en medios líquidos, como resultado de la concentración de penicilina. Su técnica es muy engorrosa, aunque tiene una exactitud de ± 10 a 15 %.

Foster y Woodruff (232), y después Foster y Wilker (230), han descrito modificaciones de este método ya algo más prácticas.

Joslyn (342), McMahan (421), Holmes y Lookwood (325), y Lee *et al.* (374) describen métodos turbidimétricos parecidos.

IV

LA PENICILINA Y OTRAS SUSTANCIAS QUIMIOTERAPICAS

LA PENICILINA y las sulfonamidas.—En varios trabajos, Fleming (190, 191, 196) asegura que la penicilina, impura todavía, es a pesos iguales 4 veces más efectiva que el sulfatiazol como agente antibacteriano, y 20 veces más poderosa que la sulfapiridina contra el *Strep. pyogenes* y el *S. aureus*, en la sangre humana. Además, la acción de las sulfonamidas es inhibida por el número de bacterias vivas y de bacterias muertas, por el pus, la peptona y las soluciones salinas; mientras que el poder de la penicilina no se altera por ninguno de estos factores. Por su mecanismo de acción bacteriostática, Fleming compara la penicilina con las sulfas; pero encuentra las diferencias siguientes:

1. El poder bacteriostático de la penicilina es mucho mayor que el de las sulfonamidas respecto a los estreptococos y estafilococos.

2. La acción de la penicilina sobre los estreptococos no es influenciada por el número de gérmenes al grado en que lo son las sulfas.

3. Esta acción tampoco es alterada por productos de necrosis tisular ni por el pus, los cuales, en cambio, impiden por completo la acción de las sulfonamidas.

Powell y Jamieson (482) encuentran más útil la penicilina por vía oral que el sulfatiazol, en ratones infectados con cepas muy virulentas de *S. aureus*. En cepas menos virulentas, tanto la penicilina como el sulfatiazol son igualmente efectivos.

Hobby *et al.* (318) obtienen mejores resultados con la penicilina que con el sulfatiazol en cultivos de estreptococo hemolítico. La acción de la penicilina es semejante a la gramicidina y a la tirocidina.

Robinson (520) logra una mayor protección, en ratones infectados con estreptococo hemolítico, empleando la penicilina y comparándola con la sulfanilamida. También resultó superior la penicilina a la sulfadiazina, en ratones infectados con neumococo tipo I. Asimismo, demostró ser más efectiva que el sulfatiazol en ratones inoculados con *S. aureus*. Este autor concluye que la penicilina es más bactericida, in vivo, que las sulfonamidas.

Blake y Craig (58) describen 4 ventajas teóricas de la penicilina sobre las sulfas:

1. Es más potente contra los estreptococos y estafilococos.
2. Su acción es influenciada muy ligeramente por el número de gérmenes existente.
3. Su actividad no es afectada por tejidos necrosados, autolizados, peptonas, ni pus.
4. Es casi atóxica en concentraciones terapéuticas efectivas.

Efecto de la penicilina combinada con otras sustancias.—Ungar (598) estudió el efecto del ácido para-amino-benzoico y de la sulfapiridina sobre la actividad de la penicilina. Observó un aumento de ésta sobre el *Bacillus subtilis*, cuando le agregó ácido para-amino-benzoico en un medio de cultivo sintético. También apreció lo mismo con el *Staphylococcus aureus*; pero en forma menos acentuada. No se alteró la actividad de la penicilina sometida a este tratamiento cuando se puso a prueba con el *Strep. hemolyticus*. La combinación del antibiótico con sulfapiridina, en pequeña cantidad, tuvo una gran actividad de inhibición respecto al estafilococo y al estreptococo, tanto in vitro como in vivo. En el caso del estreptococo hemolítico, la acción de la penicilina era casi igual a la sulfapiridina; pero, con el estafilococo dorado, la sulfa no tuvo efecto y el antibiótico fué sumamente eficaz.

La penicilina y otros germicidas.—Herrell y Heilman (302)

compararon cinco agentes antibacterianos con la penicilina, sobre el *Diplococcus pneumoniae* tipo VII, el *Staph. aureus* y el *Strep. pyogenes*. Los resultados aparecen en el cuadro siguiente (Cuadro VIII).

CUADRO VIII

Cantidad de microgramos por c.c. necesarios para causar inhibición total

<i>Agentes antibacterianos</i>	<i>D. pneumoniae</i> <i>tipo VII</i>	<i>S. aureus</i>	<i>St. pyogenes</i>
Penicilina (35 u. por mgr.)	3.0	5	5
Gramicidina	0.6	100	10
Mertiolato	25.0	50	50
Zefirán	25.0	20	8
Femerol	25.0	16	10
Sulfatiazol sódico	1000.0	Inhibición incompleta con 2500	

Penicilina y gramicidina.— La penicilina, en contraste con la gramicidina, es soluble en agua (164). Su acción es comparable a la gramicidina y tirocidina; los tres antibióticos impiden la multiplicación microbiana y reducen el número de gérmenes por c. c. Sin embargo, la penicilina es más lenta que las otras dos (318).

La penicilina es 10 veces menos tóxica que la gramicidina, según se observa en cultivos de tejidos de ganglio linfático. No es hemolítica y su acción es equivalente a la gramicidina (301).

La correspondiente actividad selectiva de cada uno de estos antibióticos es muy diferente (286). La presencia de tejido necrosado no altera tampoco la acción de la gramicidina.

La actividad de cada una de estas sustancias no se suma cuando se combinan. La penicilina es menos tóxica y se absorbe más fácilmente por los tejidos que la gramicidina; además, tampoco es irritante.

Penicilina y tirotricina.— Crowe y su grupo (123) han comparado estas dos sustancias en un estudio clínico sobre 118 pacientes. La tirotricina es fuertemente hemolítica, por lo que no se puede usar por vía intravenosa ni subcutánea. Es muy efectiva en

contacto directo con los gérmenes infectantes. No es soluble en agua, y por lo tanto, es poco absorbida. Su efecto bactericida es casi instantáneo en contacto con los gérmenes.

V

PRODUCCION Y PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS DE LA PENICILINA

CULTIVO DEL hongo.—El *Penicillium notatum* es un hongo que se puede presentar en condiciones naturales diversas. En el aire, en el suelo, en el queso, en algunas frutas caídas, etc. De hecho, se ha aislado de muy diferentes fuentes; pero, a pesar del gran número de cultivos que se ha obtenido de este organismo, muy pocas son las cepas capaces de producir penicilina con propiedades antibacterianas tan marcadas como las descendientes del cultivo original de Fleming (ver fig. A).

Thom (583) nos describe la cantidad de cambios caprichosos que sufre el *P. notatum*. A veces, cultivos llevados de un laboratorio a otro, y en ocasiones sólo porque han cambiado de manos de un investigador a otro, aumentan su producción o la disminuyen. Por lo tanto, el hongo puede perder su valor efectivo si no es cultivado con toda clase de cuidados. La razón de estas alteraciones se debería a la constitución metabólica individual, como en los seres humanos, o a una formación enzimática desfavorable. Así como muchos otros hongos, es capaz de producir una sustancia tóxica para determinados gérmenes, con la enorme ventaja de no ser tóxica para el ser humano, como la mayoría de los demás antibióticos.

Por un adecuado proceso de selección, se han logrado grandes mejoras en la producción de penicilina, a partir del cultivo original de Fleming, que por mucho tiempo ha sido el abastecedor para la producción universal de penicilina.

El procedimiento empleado por los investigadores de Oxford es el llamado método de cultivo en superficie. Estos investigadores usaron un medio de cultivo de Czapek-Dox modificado por Clutterbuck *et al.* en 1932 (99), cuya fórmula es la siguiente:

Nitrato de sodio	3.00 grs.
Fosfato monopotásico	1.00 "
Cloruro de potasio	0.50 "
Sulfato de magnesio	0.50 "
Sulfato ferroso	0.01 "
Glucosa	40.00 "
Agua destilada c. b. p.	1000 c. c.

El medio se esteriliza al autoclave y se siembra con una suspensión de esporas de *Penicillium notatum*; luego se incuba a 24°C. Al tercer día se aprecian los micelios blancos que llegan a la superficie en diferentes puntos del cultivo. Hacia el 5º día, toda la superficie está cubierta de micelios secos y blancos que, a las 24 horas, toman una coloración verde azulosa.

El color aparece primero en el centro de cada grupo de micelios blancos, y se va extendiendo por toda la superficie a los 6 ó 7 días. La capa que se forma tiene un aspecto de fieltro compacto y arrugado, cuya superficie superior está seca. La superficie inferior es de color café amarillento, y está empapada. En la cara superior es frecuente ver gotitas amarillas (ver fig. 4). Paralelamente al desarrollo del hongo, se producen grandes cambios en el pH del medio. Al principio su valor es de 6 a 7. Cuando empiezan a aparecer los micelios, es decir, al tercer día, llega a bajar el pH a 3, para después volver a subir, en forma paralela al crecimiento, al título de penicilina y a la coloración amarilla del medio. La máxima producción de penicilina se efectúa a un pH 7.

Foster (227) utiliza un procedimiento especial de cultivo. Usa una mezcla de arena y esporas descendientes del cultivo original. Esta preparación mantiene su actividad indefinidamente. Para preparar un lote, se siembra la mezcla de arena y esporas en la superficie de un medio de gelosa Sabouraud, en un fracaso de

cultivo de Blake. Después de la incubación, se cuenta con un número suficiente de esporas para sembrar docenas de frascos de Roux en el mismo medio, las que, a su vez, proveen de material suficiente para sembrar cientos de frascos o botellas con el medio líquido de donde se extrae la penicilina.

Foster, Woodruff y McDaniel (235), encontraron que el medio de cultivo más favorable para la producción de penicilina es el descrito por Hobby, Meyer y Chaffee (317), semejante al de los investigadores de Oxford, pero con azúcar morena en vez de glucosa, y con otras ligeras modificaciones. La fórmula es la siguiente:

Nitrato de sodio	0.60 %
Sulfato de magnesio hidratado	0.05 %
Cloruro de potasio	0.05 %
Fosfato monopotásico	0.15 %
Sulfato ferroso hidratado	0.015 %
Azúcar morena	2 %
Agua c. b. p.	100 c. c.

En este medio, el pH baja al principio, de 5.5 a 4.5, y luego asciende rápidamente a 8 y aun a 8.8. La formación de penicilina principia desde el 5º día, y llega al máximo al 11º ó 13º. Según estos autores, la presencia de azúcar morena acelera el desarrollo y da una intensa producción de pigmento amarillo: la crisogenina.

La presencia de zinc en el medio aumenta el desarrollo del hongo y la producción de penicilina. Otros metales no dieron tan buenos resultados. La concentración óptima de sulfato de zinc en el medio de cultivo es de 1 á 3 mgrs. por litro. Parece ser que la sal de este metal obra como catalizador respecto a la oxidación y aprovechamiento de la glucosa por el hongo, impidiendo en esta forma la acumulación de ácido glucónico, causante del descenso del pH en el medio.

Taylor (580) ha estudiado el desarrollo del *Penicillium notatum* en otros diferentes medios de cultivo, como el medio de Difco, con caldo de corazón, y el medio con amigén; y aunque el autor señala algunas ventajas en uno de estos medios, el usado

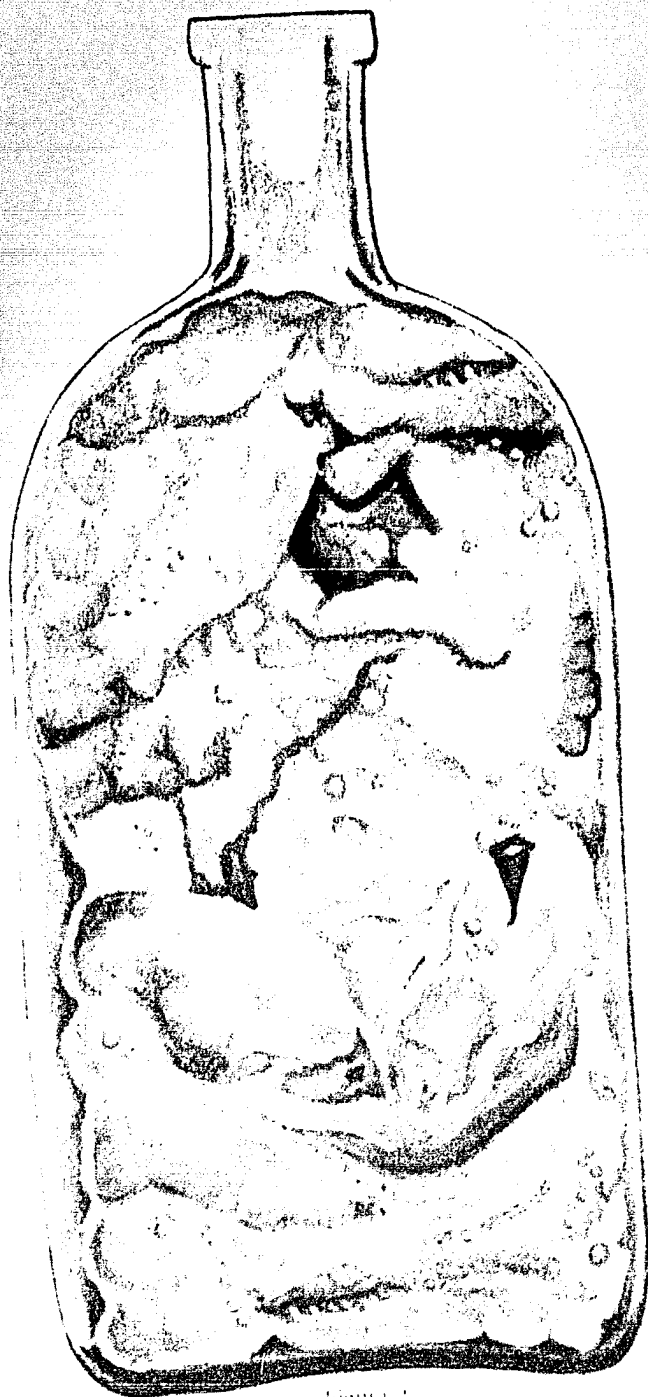


Figure 4

casi universalmente en la actualidad es el Czapek-Dox modificado, según el método de Foster.

Otras sustancias antibacterianas producidas por el *Penicillium notatum*.— En 1942, Kocholaty (367) publica sus investigaciones sobre una segunda sustancia antibacteriana derivada del *P. notatum*, a la que llamó “penatina”. Esta se produce en condiciones de cultivo algo diferentes a las óptimas para la producción de penicilina. Es también un poderoso agente bactericida y bacteriostático de los gérmenes grampositivos, y muy efectiva para muchos gérmenes gramnegativos.

Por otra parte, Coulthard *et al.* (115), y Birkinshaw y Raistrick (55), describen una segunda sustancia antibacteriana obtenida de los cultivos de este hongo. Fué denominada “notatina” por estos autores.

Poco después, Roberts *et al.* (517) aislaron una sustancia diferente a la penicilina a la que llamaron “penicilina B”.

Tanto la penatina, como la notatina y la penicilina B, tienen propiedades antibacterianas muy semejantes, lo que hace suponer que son una misma sustancia. Sin embargo, ello no se ha demostrado todavía.

Extracción de la penicilina del medio de cultivo.— Conforme a la técnica seguida por Abraham *et al.* (7), la penicilina se extrae del medio de cultivo por medio de acetato de amilo y de otros solventes orgánicos, a partir de una solución acuosa cuyo pH se ha ajustado a 2. Después, se recupera la penicilina del solvente con una solución “buffer” fosfatada (pH 5.8 a pH 7.2). Como el antibiótico es muy inestable a la temperatura ambiente, estas maniobras deben efectuarse a baja temperatura.

Para obtener una penicilina purificada, la solución “buffer” que la contiene se mezcla y agita con carbón animal al 8%, o con alúmina, de los que se sustrae por medio de cloroformo o éter. Se vuelve a someter a la acción de la solución fosfatada, y después se hace la sal sódica añadiendo la cantidad necesaria de bicarbonato

de sodio y eliminando el exceso de anhídrido carbónico que se forma.

La solución de la sal sódica de penicilina se estandariza y se conserva en ampolletas libres de sustancias pirógenas, congelándolas a 45 y 50°C. bajo cero. Al pasar a las ampolletas, la solución se filtra por filtro Seitz antes de su distribución. Luego, las ampolletas se secan y se cierran al vacío.

Para distribuir la sal sódica, se estandariza primero, poniendo en cada ampolleta una cantidad que contenga determinado número de unidades Florey. Generalmente 100 u. F.

Por medio del examen espectrográfico, Holiday (323) ha facilitado la determinación del grado de inhibición del desarrollo del germen testigo, lo que sirve en la práctica para la distribución de la sustancia en ampolletas, y para conocer el grado de purificación que posee.

Propiedades físicas y químicas.— La sal sódica de penicilina es un polvo brillante, de color amarillo café, y muy higroscópica. Es también soluble en alcohol, pero al disolverse pierde su actividad. La conserva, por el contrario, en solución acuosa sola, o en presencia de cloruro de sodio o glucosa, formas frecuentes de administración en clínica.

En forma de polvo, es estable respecto a la luz, pero es afectada por el calor. Conservada a temperaturas menores de 10°C. guarda su actividad varios meses. En solución acuosa tiende a perderla, pero la conserva varios días en bajas temperaturas.

La penicilina impura, según el primer informe de Fleming (184), poseía las siguientes propiedades: el calentamiento durante 1 hora a 56 o a 80°C., no tenía efecto sobre su poder antibacteriano, así como tampoco la ebullición por unos minutos. La ebullición durante 1 hora sí reduce su poder cuando el medio es alcalino, aunque no tanto cuando se neutraliza el caldo. Pierde toda su actividad sometida a 115° en el autoclave, durante 20 minutos. El paso de la sustancia a través de filtro Seitz, no altera su acción.

Es insoluble en éter o cloroformo. La estabilidad de la sustancia aumenta si se baja su pH original de 9 a 6.8.

Abraham y Chain (5) observan que la penicilina es fuertemente ácida.

Fischer preparó un filtrado crudo que resultó muy inestable (181), y observó un aumento del pH a medida que se alteraba la sustancia.

En sus estudios de 1935, Reid (510) describe los efectos de la luz, los gases y la temperatura en la producción de penicilina. Los filtrados de cultivo del hongo, expuestos 15 minutos a los rayos luminosos de una lámpara de arco con filtro de cuarzo, perdieron toda la penicilina. El burbujeo de un gas (oxígeno, hidrógeno o bióxido de carbono) en frascos de cultivo, durante 15 minutos diarios por todo el tiempo de la incubación, impidió la formación de penicilina, aunque el hongo siguió creciendo. En vista de que el oxígeno juega un papel tan importante en la producción de toxinas, el hecho anterior pone de manifiesto que las toxinas solubles y la penicilina son sustancias muy diferentes. El filtrado se mostró activo después de sufrir un calentamiento a 80°C. durante 75 minutos, y a 90°C. durante 55 minutos. A esta última temperatura, perdía su actividad si el tiempo se prolongaba a 60 minutos. A 100°C., perdía su actividad a los 10 minutos. Los intentos de aislar la penicilina por diálisis, adsorción o destilación a baja temperatura, no tuvieron resultado.

La purificación parcial de la penicilina fué primeramente obtenida por los investigadores de Oxford (7). Debido a la gran labilidad de la sustancia, están proscritas muchas maniobras químicas que tienen por objeto la purificación. En la literatura sobre el particular, se encuentra un gran número de métodos descritos por varios autores, entre los que figuran Abraham y Chain (4, 5); el grupo completo de los investigadores de Oxford (136); Catch, Cook y Heilbron (94); Florey y Jennings (216); Cook (108); editorial de la revista *Lancet* de agosto de 1942 (648); artículo del

Drug Trade News (670); Fleming, Chain y Abraham (193); y Meyer *et al.* (433).

Los procesos de purificación siguen modificándose continuamente, y aunque ya existen algunos bastante completos, ninguno ha llegado a lograr un cabal extremo de pureza.

Por el trabajo de Abraham y Chain (5) se advierte que la penicilina libre es muy soluble en éter, alcohol, acetona, acetato de amilo y otros solventes orgánicos. Es menos soluble, sin embargo, en el benceno, el cloroformo y el tetracloruro de carbono. Es higroscópica y pronto pierde su actividad expuesta al aire. En estado seco absoluto, conserva su actividad por lo menos 24 horas. Se puede obtener un polvo muy soluble desecando la sustancia a partir del estado de congelación al alto vacío, o bien a partir de solución acuosa. En el agua, tiene una solubilidad de 5 mgrs. por c. c. Con los metales pesados forma sales solubles en el agua, a excepción del hierro. La acción antibacteriana se pierde por oxidación con el agua oxigenada y con el permanganato de potasio. Es inestable si es tratada por ácidos diluídos, álcalis, sustancias oxidantes, alcoholes primarios, metales pesados, o por ebullición. Es menos sensible a la reducción. También es inestable en un pH inferior a 5 ó superior a 7.

Diferentes sales de penicilina.— Abraham y Chain (5) dicen que la sal de bario en estado seco conserva su poder indefinidamente. Es un polvo blanco, no higroscópico, y dextrógiro en solución acuosa. En solución acuosa, con un pH 5.5 á 7.5, conserva su actividad por varios meses, conservada a 2°C., varias semanas a 25°C. y 24 horas a 37°C. Si se disuelve en ácidos o en álcalis, pierde gran parte de su actividad a 25°C. en 3 minutos. Es soluble en alcohol metílico absoluto, pero insoluble en alcohol etílico. Los mismos autores (2) obtuvieron una sal de bario con una actividad de 450 a 500 u. F. por mgr. Las probables fórmulas de esta sal serían $C_{24}H_{32}O_{10}N_2Ba$ y $C_{23}H_{30}O_9N_2Ba$.

Catch, Cook y Heilbron (94) han obtenido una sal estróncica de penicilina muy purificada, con una actividad de 750 u. F. por

mgr., en forma de polvo amarillo. La fórmula probable sería $C_{24}H_{34}O_{11}N$ Sr.

Las sales de sodio, potasio y amonio de penicilina, son muy higroscópicas. Son solubles en alcohol metílico absoluto e insolubles en alcohol etílico a la temperatura ambiente.

Florey y Florey (220) describen así una sal sódica de penicilina poco purificada y usada por ellos en experimentos clínicos: "Esta sustancia es altamente soluble en agua, pero se destruye su poder a efectos de la ebullición, de los ácidos y de los álcalis, de algunos metales pesados, de los agentes oxidantes y de enzimas producidas por ciertas bacterias".

Herrell *et al.* (303) obtienen una sal sódica sensible a los oxidantes, pero no tan sensible a las sustancias reductoras. En ampolla cerrada, tal solución es estable por espacio de 3 a 6 meses, siempre que se la conserve en una temperatura inferior a $5^{\circ}C$.

La sal de amonio ha sido preparada por Meyer *et al.* (317, 433), bajo el aspecto de un compuesto cristalino, con una actividad de 240 a 250 u. F. por mgr. La solución de esta sal es dextrógira. La fórmula sugerida por los autores es $C_{14}H_{19}NO_6$, o bien $C_{14}H_{17}NO_5 + H_2O$.

Herrell (298) preparó una sal cálcica de penicilina purificada, con una actividad de 146 u. F. por mgr. En estado seco y en ampollitas cerradas, esta sal no pierde sus propiedades durante 56 días, conservada a la temperatura ambiente, pero en la oscuridad.

Existen muchas hipótesis sobre la composición química de la penicilina, pero lo cierto es que ésta no se ha determinado todavía (2, 4, 5, 92, 94, 131, 433).

Hay la esperanza de que, al determinar la composición química precisa de la penicilina, se la pueda producir por vía sintética.

VI

FARMACOLOGIA

Los PRIMEROS estudios de importancia sobre la farmacología de la penicilina son los presentados por el grupo de investigadores de Oxford (7) en sus trabajos iniciales. No se debe olvidar que las preparaciones de la droga usada entonces por estos autores eran muy impuras, y sin embargo, ya demuestran la escasa toxicidad para el organismo y revelan ser un agente antibacteriano mucho más poderoso que las sulfonamidas.

Se usó en estos trabajos la sal sódica de penicilina y se estudió su absorción y excreción en el conejo, el gato y el hombre.

En el conejo, no se observó ninguna actividad de la droga en la sangre después de la administración de 400 u. F. por vía intravenosa o por introducción duodenal. Sin embargo, se notaron huellas de actividad después de aplicar la misma dosis por vía subcutánea. Usando la vía intravenosa, se recuperó en la orina de un 20 a un 50 % del total administrado. Después de la introducción directa de la droga en el duodeno, sólo se recuperó una cantidad inferior al 20 %.

Aunque los autores mencionados no apreciaron ninguna actividad en la sangre del conejo, lo más probable es que esto se debió a una dosificación insuficiente para provocar una concentración inhibitoria en ese medio. Dawson *et al.* (153) encontraron la actividad inhibitoria en la sangre de conejos inyectados con penicilina durante 3 y 4 horas.

En los experimentos hechos con el gato (7), se obtuvieron resultados diferentes a los observados con el conejo. Por adminis-

tracción intestinal, se logró una concentración antibacteriana en la sangre, que duró 3 horas. Después de administración subcutánea o intravenosa, esta concentración persistió 1 1/2 horas. Cualquiera que fuera la vía usada en el gato, la excreción de penicilina por la orina era mayor que en el conejo; y se recuperó un 50 % de la dosis empleada.

Desde su primer trabajo sobre penicilina, Fleming (184) hace notar que el caldo con dicha sustancia no tiene más efectos tóxicos en los animales que el caldo simple. En el trabajo de Chain *et al.* (7) se aprecia que una cantidad de penicilina equivalente al quíntuplo de la dosis curativa sólo provoca, en el ratón, una ligera disminución de los movimientos, pero sin pérdida del apetito. Por estudios histológicos, se pudo notar que las células de los tubos uriníferos de un ratón presentaban lesiones. Sin embargo, el cuadro hemático no sufrió más modificaciones que una leucopenia transitoria. En el gato no hubo alteración de la presión sanguínea, de la respiración ni de los latidos cardíacos, después de recibir una dosis de 40 mgrs. de una preparación impura. En un corazón de gato, previamente aislado y sometido a la irrigación continua con solución de Ringer Locke y penicilina, en la proporción de 1:5,000, se observó una disminución progresiva de los latidos. Los mismos autores reconocen que los escasos resultados nocivos apreciados en sus investigaciones, posiblemente se debieron a las impurezas contenidas en la preparación de penicilina entonces usada.

Por cuanto a la toxicidad letal de la penicilina en el ratón, se encuentran resultados muy variables en los diferentes autores que han estudiado el caso, lo que, sin duda, se debe al diferente grado de potencia de las preparaciones usadas por cada uno de ellos.

Hobby, Meyer y Chaffee (319) encuentran que la dosis letal ($D_{L_{50}}$) para un ratón de 18 grs. es la de 32 mgrs. de sal sódica, ó 12 mgrs. de la sal amónica, o sea 1.8 y 0.67 grs. respectivamente, por kilo de peso.

Abraham *et al.* (7) observaron reacciones muy graves en el

ratón inyectado con 20 mgrs. de penicilina impura. Sin embargo, Florey y Jennings (216), en estudios posteriores, no logran producir efectos nocivos en el ratón inyectado con la misma dosis de penicilina, pero ya más purificada.

Robinson (520) provoca serias reacciones tóxicas con una sola dosis de 30,000 u. F. por kilo de peso administrada por vía intravenosa, o con dosis diarias de 192,000 u. por kilo, administradas por vía subcutánea, usando una penicilina de 60 u. F. por mgr. Con la inyección intravenosa se presentan los siguientes síntomas: inquietud, hipotermia, lacrimo ocular, dilatación de las venillas de los oídos y de los vasos esclerocorneales. La inyección subcutánea diaria provocó la muerte en 4 de los 10 ratones estudiados, y se observó necrosis en el sitio de la inyección, fenómeno también notado por Hamre *et al.* (275) en los cobayos y conejos, además de los ratones.

Tanto Robinson como Hamre *et al.* hallan que una preparación purificada de penicilina es menos tóxica que una cruda, a pesar del mayor poder antibacteriano de la primera. En los experimentos de Robinson se producen reacciones tóxicas semejantes a las ya descritas, con 600,000 u. de penicilina purificada (400 u. por mgr.), y con 30,000 u. de penicilina menos pura (60 u. por mgr.).

Hamre *et al.* señalan la cantidad de 90,000 u. por kilo como la dosis letal para el ratón, usando la vía intravenosa, con una penicilina de 90 u. por mgr. Con una preparación más pura, no hubo efectos tóxicos ni para la dosis de 250,000 u. por kilo.

Meyer *et al.* (434) estudiaron la toxicidad, en los ratones, de los ésteres etílico y n-butílico de penicilina. Estos compuestos son de 2 a 3 veces más tóxicos que la penicilina. El efecto tóxico más importante que produjeron fué una narcosis que muchas veces llegó a la muerte. Sin embargo, la dosis necesaria por vía subcutánea, para protección contra el estreptococo hemolítico, fué una cantidad muy inferior a los límites tóxicos. Por vía oral, las dosis fueron necesariamente mayores, acercándose al límite de la toxi-

cidad con el éster etílico; no tanto con el éster n-butílico, que los autores recomiendan para esta vía de administración.

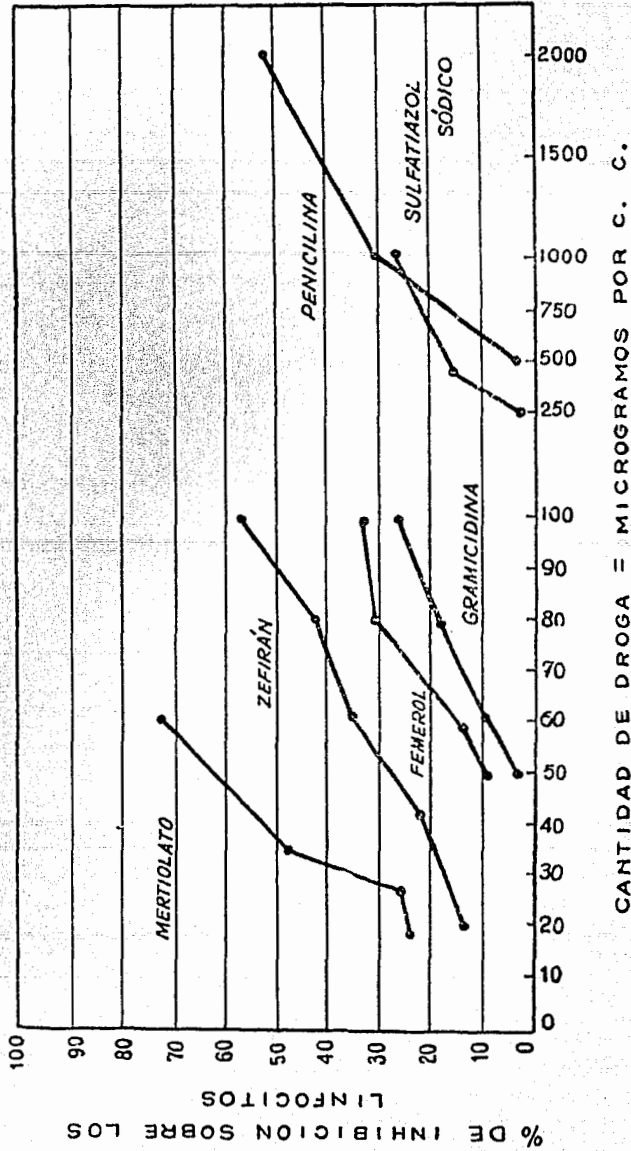
Efecto sobre las células.— De todos los experimentos que se han hecho al respecto, se concluye que la penicilina no tiene casi ninguna toxicidad sobre las células. Florey *et al.* (7) producen la muerte de los leucocitos con concentraciones al 1:100; pero con concentraciones al 1:500, no se apreciaron diferencias entre los leucocitos tratados y los testigos. Comparativamente, los leucocitos en concentraciones sulfanilamídicas al 1:500 presentaron, a las 2 horas, una formación de pseudópodos muy escasa y una inmovilidad absoluta.

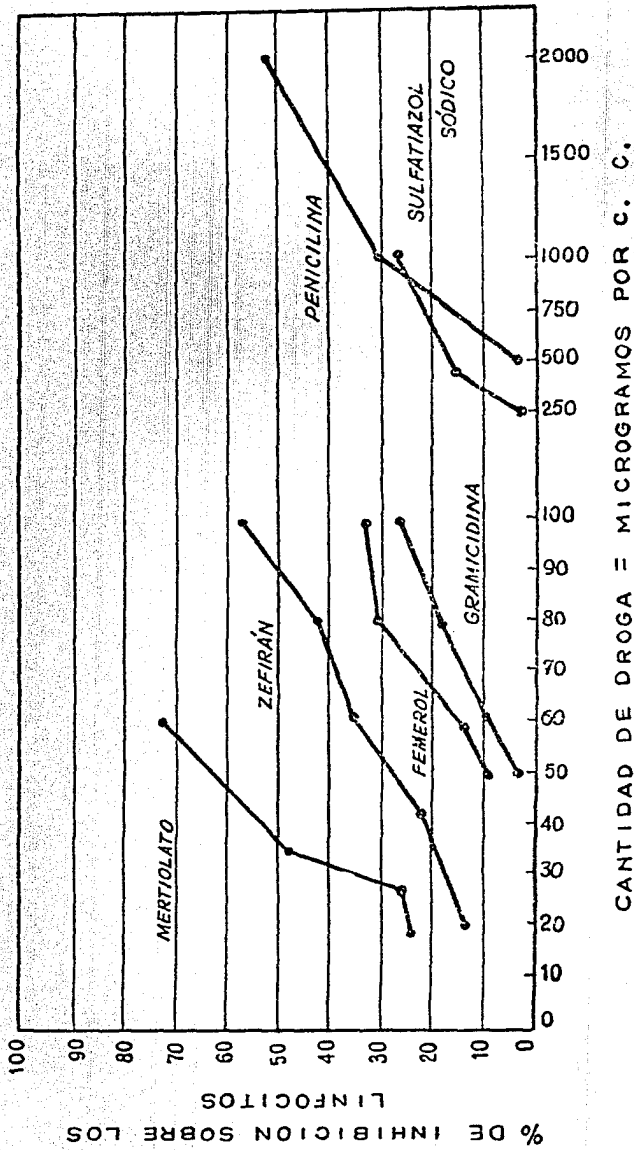
En los experimentos de Medawar, según los investigadores de Oxford (7), los fibroblastos de corazón de embrión de pollo expuestos a una concentración de penicilina impura al 1:6,000, presentan efectos tóxicos, aunque es necesaria una exposición a concentraciones mayores durante 48 horas para que se formen alteraciones tóxicas irreversibles. En general, se concluye que las concentraciones de penicilina inferiores al 1:5,000 no tienen ningún efecto tóxico apreciable sobre las células vivas.

Herrell y Heilman (301) han llevado a cabo un estudio de citotoxicidad relativa del mertiolato, el zefirán, el femerol, la gramicidina, el sulfatiazol sódico y la penicilina, sobre cultivos de tejidos. Como base para determinar el valor de toxicidad, anotaron el diferente grado de inhibición sobre la migración linfocitaria, y sobre otras células del ganglio mesentérico del conejo. El resultado se puede apreciar en la gráfica N° 2.

Absorción y excreción.— Los primeros en estudiar este punto fueron los investigadores de Oxford (7), en su ensayo inicial sobre aplicación clínica de la penicilina.

La inyección intravenosa de penicilina impura provocó, en un sujeto, una concentración inhibidora en la sangre que fué descendiendo de poder gradualmente en el término de 2 horas, después de lo cual ya no se apreciaba ningún efecto inhibidor. Sin embar-





go, la orina contenía la sustancia en concentraciones efectivas por más de 6 horas, a contar de la aplicación.

En dos sujetos inyectados por vía intravenosa, se pudo apreciar la eliminación de la sustancia por la orina en cantidades del 68 y 50 % respectivamente, y se pudo recobrar el 54 y el 30 % de la droga.

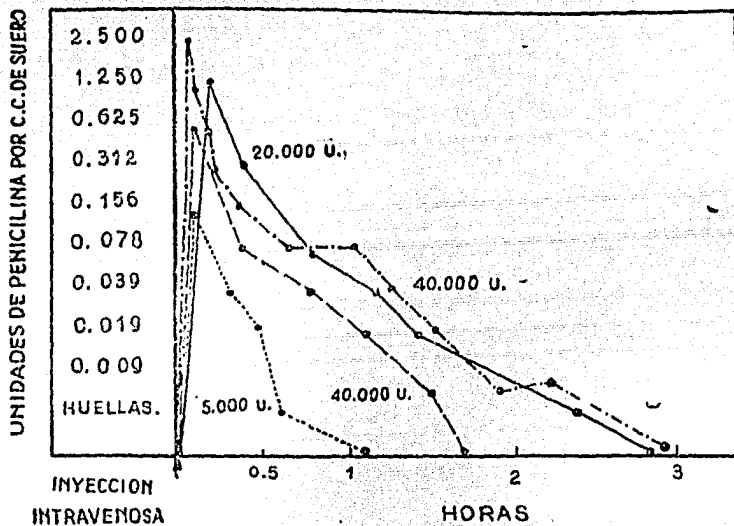
Para la administración por vía duodenal, se usó una sonda. Se disolvieron 16,000 u. en 25 c. c. de agua, que se introdujeron por el tubo, añadiendo después otros 60 c. c. de agua. A las 3 horas siguientes, la sangre presentó una concentración inhibidora para el desarrollo bacteriano. Según estos autores, el nivel de inhibición fué más constante y más persistente cuando se usó esta última vía en vez de la intravenosa. No se pudo aclarar lo sucedido con la penicilina no excretada por vía urinaria.

Las observaciones de estos autores han sido confirmadas totalmente por Rammelkamp y Keefer (499), así como por Dawson *et al.* (153).

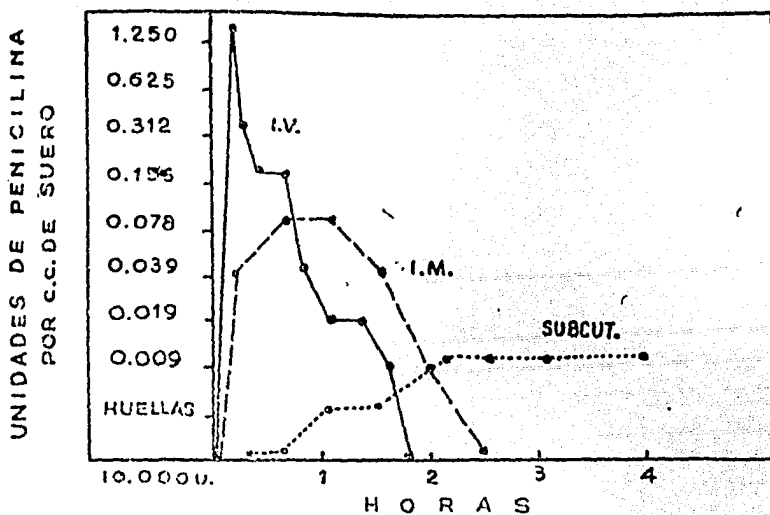
Rammelkamp y Keefer estudiaron la distribución de la penicilina administrada por diferentes vías. Encontraron que, por vía intravenosa y administrada en cantidades de 5,000 a 40,000 u. F., el índice de concentración en la sangre alcanzaba su máxima inmediatamente, para caer después con bastante rapidez. Con dosis altas, el índice de concentración fué mayor y persistió más tiempo que con dosis bajas. Así, con 5,000 u. F., el índice máximo de 0.156 u. por c. c. de suero, bajó a un nivel sin propiedades inhibidoras en 30 ó 40 minutos. Con 40,000 u. F. el índice fué de 2.5 u. F. por c. c., y tardó 158 minutos para bajar a un nivel ineficaz. En la gráfica N° 3 se aprecian los resultados obtenidos con diferentes dosis.

Siguiendo la vía intramuscular, la concentración máxima en la sangre se alcanzaba más lentamente y se mantenía más tiempo. Con la inyección subcutánea, tanto la absorción como la eliminación se retrasaron. Ver gráfica N° 4.

La inyección de penicilina aplicada directamente en las cavi-



GRAFICA Nº 3



GRAFICA Nº 4

dades del organismo, como en las articulares y en la pleural, apenas fué absorbida, y su excreción fué más retardada. Al aspirar el líquido pleural o el articular, a las 22 y a las 13 horas de la inyección respectivamente, se halló todavía gran cantidad de penicilina. Se vió que, en efecto, la droga se absorbía rápidamente cuando era administrada por vía intraduodenal; pero por las vías rectal y oral la absorción fué muy pobre. En estudios posteriores de Rammelkamp y Helm (498), se hizo evidente que el ácido del jugo gástrico inactiva a la penicilina; no así el jugo entérico, la bilis y la saliva. La franca absorción observada en 2 pacientes con anaclorhidria confirmó estas observaciones in vitro.

Rammelkamp y Keefer (500) analizaron también la cantidad de penicilina en los globulos rojos, y encontraron un porcentaje muy bajo, generalmente menor al 10 % de la concentración de la droga en el plasma.

La mayor parte de la penicilina se excreta por los riñones. Siempre se halló más del 50 % de la dosis, inyectada por vía intravenosa, en la orina de sujetos sanos. No obstante, el porcentaje de eliminación varía mucho de una persona a otra. En el grupo de personas sanas que se examinaron, estas variaciones individuales fluctúan entre el 37 % y el 99 %. La rapidez de la eliminación renal es evidente puesto que, después de la inyección intravenosa, la excreción de la droga es completa a los 60 minutos. Al administrar la sustancia por otras rutas, se nota que la absorción es más lenta, pues pasa algún tiempo antes de aparecer en la orina. Por otra parte, se comprobó que la insuficiencia renal retrasa la excreción, y por lo tanto, mantiene una concentración eficiente en la sangre durante un período más largo. Estos autores tampoco pudieron averiguar el destino final del porcentaje de penicilina que no es excretado por vía urinaria.

Los investigadores de Oxford (7) incubaron la droga a 37°C. con sangre, hígado, riñón, bazo, cerebro, tejido muscular, ganglios linfáticos, pulmón e intestino de conejo, tratando de averi-

guar el efecto de estos tejidos sobre la penicilina, y no pudieron apreciar ninguno.

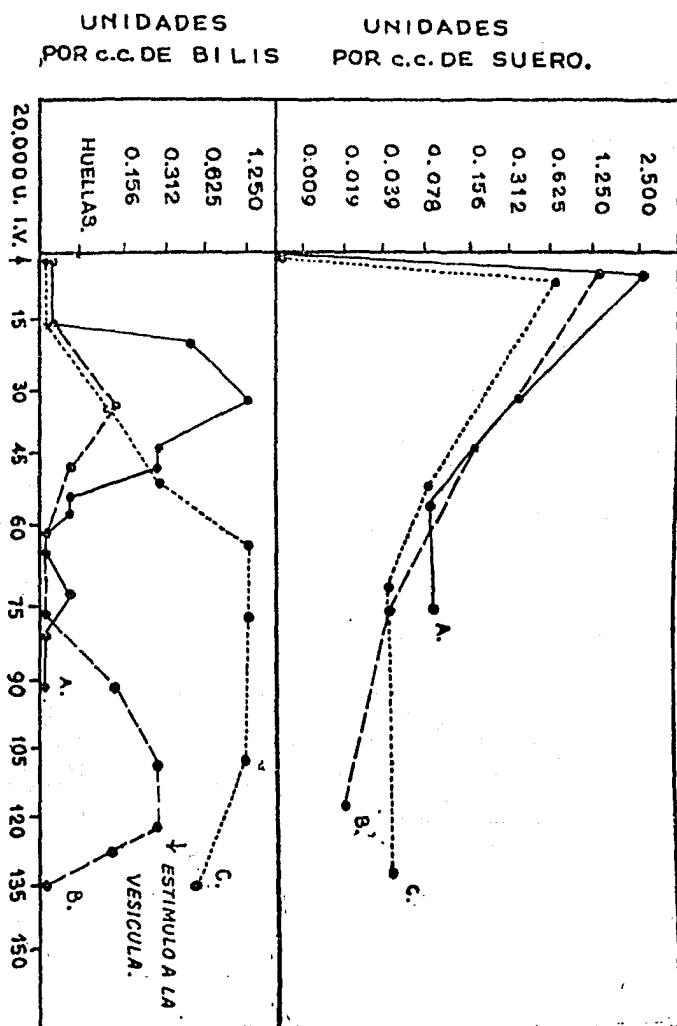
Rammelkamp y Helm (497) encontraron en la bilis concentraciones de penicilina mayores que en el suero, lo que haría suponer que la concentración se efectúa en el hígado. Sin embargo, un paciente que recibió 20,000 u. F. por vía intravenosa, sólo excretó 64 u. por la bilis. En la siguiente gráfica (Nº 5), se observa la concentración de penicilina en la bilis y el suero sanguíneo, en 3 sujetos sanos que recibieron 20,000 u. F. por vía intravenosa.

Difusión en el líquido céfalo-raquídeo.— Rammelkamp y Keefer (499) demuestran que, siguiendo las vías habituales, la penicilina no pasa al líquido céfalo-raquídeo. Usando la vía intratecal en un sujeto sano, se administraron 10,000 u. F. A las 6 horas había una concentración en el líquido de 25 u. por c. c.; luego bajaba el nivel rápidamente hasta la 18ª hora. De las 18 a las 72 horas, la línea de descenso fué menos inclinada. La absorción fué baja en este caso, y sólo se encontró algo de penicilina en la sangre a los 72 minutos de la inyección. En pacientes que padecían meningitis se observó una absorción más rápida; se encontró bastante penicilina en la sangre durante las horas siguientes a la inyección. En todos los casos hubo aumento de leucocitos en el líquido céfalo-raquídeo. El caso de máximo aumento fué el de un paciente con absceso cerebral y meningitis, donde los leucocitos subieron de 15,624 a 51,000 por mm. c. Este aumento era, por lo general, de escasa duración, y desaparecía a los pocos días. En dos sujetos se presentó un ligero aumento de la presión después de la inyección; pero nunca se anotaron reacciones graves, especialmente con dosis de 5,000 u. Debe recordarse, sin embargo, que Pulvertaft (486) ha descrito 2 casos que presentaron reacciones graves después de la administración intrarraquídea de sal cálcica de penicilina.

Efecto de la penicilina sobre el poder antibacteriano de la sangre.— Los mismos autores mencionados (499), estudiaron el efecto producido sobre el poder antibacteriano de la sangre al

añadirle penicilina. Las bacterias estudiadas fueron el estafilococo y el estreptococo. Desde luego se apreció que, in vitro, el título

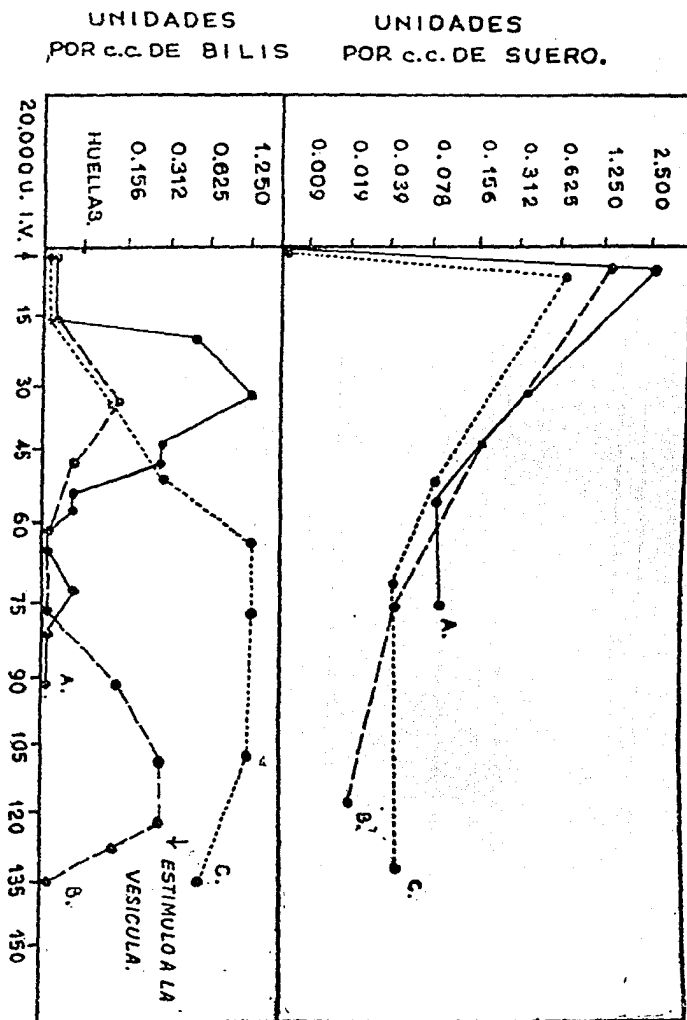
GRAFICA Nº 5



antibacteriano del suero así como de la sangre total aumentaba enormemente, aun con bajas concentraciones de la droga. Este

añadirle penicilina. Las bacterias estudiadas fueron el estafilococo y el estreptococo. Desde luego se apreció que, in vitro, el título

GRAFICA Nº 5



antibacteriano del suero así como de la sangre total aumentaba enormemente, aun con bajas concentraciones de la droga. Este

poder, no dependía de un estímulo fagocitario, puesto que se apreciaba igualmente en el suero que en la sangre completa. Administrada la penicilina por diferentes vías, la sangre de los sujetos observados adquirió propiedades bactericidas y bacteriostáticas respecto al *Staphylococcus aureus* y al *Streptococcus hemolyticus*. Estas propiedades estaban en relación directa entre el suero y la sangre total. Eran más notables en el estreptococo. Su máxima de actividad contra este germen se encontró al alcanzar concentraciones de 0.019 a 0.156 u. F. por c. c. Contra el estafilococo, las concentraciones óptimas fueron de 0.156 u. F. por c. c. cuando menos.

Tanto in vitro como in vivo, el efecto de la penicilina sobre el título antiestreptocócico y antiestafilocócico de la sangre fué mucho más notable que el conseguido por medio de la sulfadiazina. Bastaban huellas de penicilina en la sangre para producir una inhibición estreptocócica, mientras que la sulfadiazina a mayor concentración (5.1 mgrs. por 100 c. c. de sangre), producía una inhibición menos franca. En cuanto a los estafilococos, las huellas de penicilina en la sangre mostraron un efecto bactericida franco, y la misma concentración de sulfadiazina usada contra los estreptococos apenas mostró un ligero efecto bacteriostático.

Acción de la penicilina sobre la urea sanguínea.— En los casos estudiados por los esposos Florey (220), de 5 adultos que recibieron 120,000 u. F. de penicilina, 4 presentaron una elevación de urea en la sangre; de 4 que recibieron 100,000 u. F., sólo 1 presentó aumento de urea. Al suspender el tratamiento, las cifras ureicas se normalizaron.

Después, Turner *et al.* (596) demostraron el poder de la penicilina para inhibir la acción de la ureasa. Aunque no se aclaró si esto se debería a impurezas, no deja de ser significativo el hecho de que la penicilina más purificada tenía la misma acción sobre la ureasa que las preparaciones menos purificadas.

Estos autores sugieren que la elevación de la urea sanguínea

observada por los Florey, in vivo, podría deberse a esta inhibición provocada por la penicilina sobre la ureasa.

Metodos para retrasar la excreción de la penicilina por la orina.— Rammelkamp y Bradley (496) piensan que la rápida eliminación de la droga se debe a su excreción a través de los tubos urinarios mismos, además de su filtración por los glomérulos. En vista de que el Diodrast tiene la propiedad de disminuir la eliminación de algunas sustancias a través de los tubos, se les ocurrió que igualmente, la penicilina podría ser influenciada por esta sustancia. Por los experimentos hechos después en el hombre, se confirmó tal hipótesis. Se aplicaron 5,000 u. F. a 5 sujetos, y se analizó la penicilina excretada a la hora de la inyección, encontrándose un promedio de 51.8 %. A las 4 horas, el promedio fué de 57.2 %. Cuando se administró el Diodrast simultáneamente, el promedio de excreción fué de 22.2 % a la hora, y de 32 % a las 4 horas. La cantidad de Diodrast utilizada fué de 30 a 40 c. c. En relación directa con la excreción, la concentración de penicilina en el suero sanguíneo permaneció más elevada durante un mayor espacio de tiempo cuando se administró el Diodrast simultáneamente a la droga (ver gráfica N° 6).

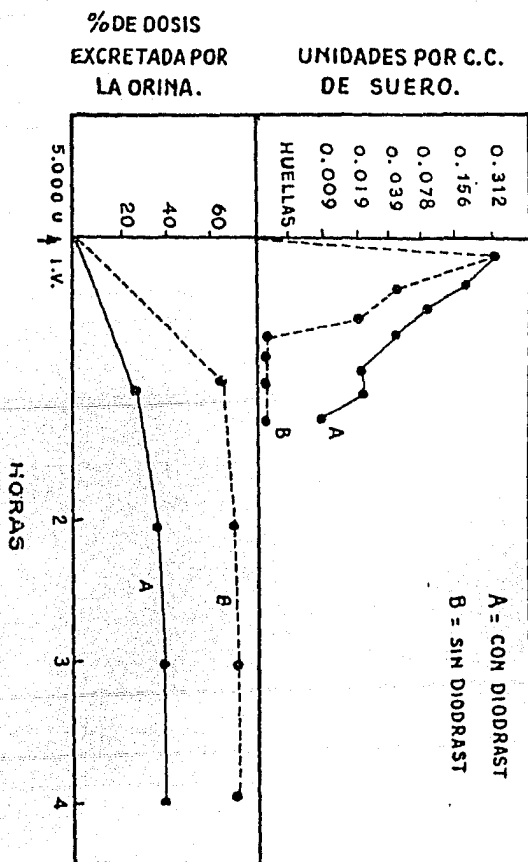
Estos resultados hacen pensar a los autores que “la eliminación de penicilina puede disminuirse en el uso clínico, manteniendo una concentración adecuada en la sangre, por la administración simultánea de sustancias que bloqueen su excreción, o por la alteración de la estructura de la penicilina en tal forma que produzca el mismo efecto”.

Tratando de producir un bloqueo semejante, Beyer *et al.* (50) han usado el ácido p-aminohipúrico y han obtenido resultados análogos.

Romansky *et al.* (531) han logrado también el retraso en la eliminación de la penicilina, y por lo tanto la prolongación de su efecto, preparando una suspensión de penicilina en un aceite inerte, que reduce la velocidad de absorción después de la inyección. Probaron varios aceites y ceras, y el aceite de cacahuete al 1 %,

así como la cera de abejas al 6%, fueron los que dieron mejores resultados. Se inyectaron 50,000 u. F. de penicilina mezclada con 2 ó 2.5 c. c. de cera, y se obtuvo un efecto terapéutico por espacio de 6 a 7 horas, logrando la curación en 64 de los 65 pacientes tratados (uretritis gonocócica) con esa única inyección.

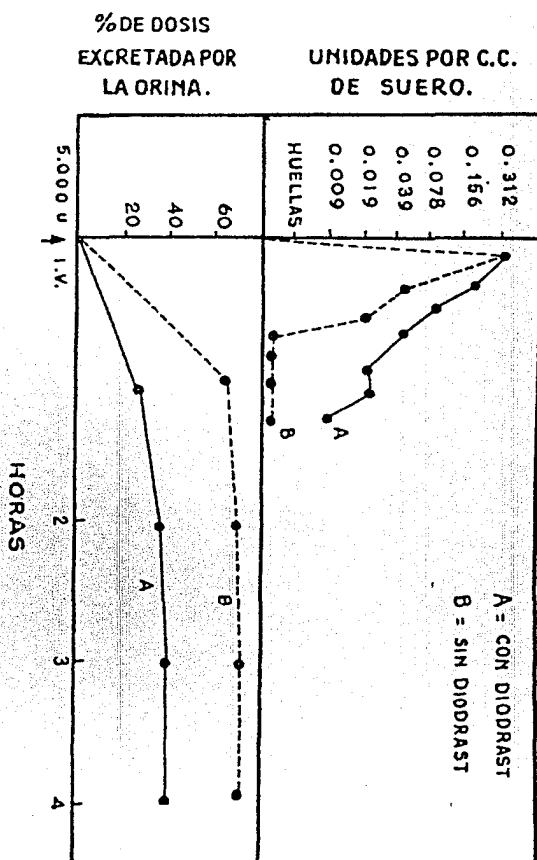
GRAFICA Nº 6



Otro método más reciente es el ideado por Trumper y Hutter (592). Este método se basa en la absorción lenta provocada por una vasoconstricción prolongada en el músculo inyectado. Para

así como la cera de abejas al 6%, fueron los que dieron mejores resultados. Se inyectaron 50,000 u. F. de penicilina mezclada con 2 ó 2.5 c. c. de cera, y se obtuvo un efecto terapéutico por espacio de 6 a 7 horas, logrando la curación en 64 de los 65 pacientes tratados (uretritis gonocócica) con esa única inyección.

GRAFICA Nº 6



Otro método más reciente es el ideado por Trumper y Hutter (592). Este método se basa en la absorción lenta provocada por una vasoconstricción prolongada en el músculo inyectado. Para

obtener esto, se empleó el enfriamiento local. Se aplicó una bolsa de hielo en la región deltoidea 2 horas antes de la inyección intramuscular, y por espacio de 6 a 12 horas después de ésta. En esta forma, una inyección de 50,000 u. F. de penicilina, en solución salina, mantiene una concentración adecuada en la sangre por el término de 6 a 12 horas. De 18 casos tratados con esta técnica, se obtuvo éxito en 17 (infección gonocócica). Otra ventaja de este tratamiento es que el enfriamiento producido antes de la inyección obra a modo de anestésico.

Toxicidad.— En general, en clínica no se han observado síntomas tóxicos serios usando las dosis habituales de las sales cálcica y sódica de penicilina. Sin embargo, cuando se emplea penicilina insuficientemente purificada, se han notado algunas reacciones como fiebre, urticaria, tromboflebitis, etc. Se cree que dichas reacciones se deben más bien a las impurezas que a la penicilina misma. Los esposos Florey (220), así como Lyons (397), han descrito algunos casos de azotemia temporal. No se ha informado de ningún caso que presentara albuminuria o algún otro signo de lesión renal.

Cuando ha habido urticaria grave, se ha acompañado muchas veces de fiebre, que nunca ha pasado de 38.5°C. También se han presentado calambres una que otra vez.

Cuando se han aplicado soluciones de penicilina sobre la piel o mucosas, así como cuando se ha inyectado directamente en las cavidades del organismo, sólo se han observado algunas reacciones ligeras. La aplicación directa de la sal sódica de penicilina sí provoca dolor y otros efectos molestos. Esto se puede evitar con la sal cálcica de penicilina.

Thygeson, según Hobby *et al.*, ha probado el efecto de la sal amónica de penicilina en el ojo humano, sin que se presentaran reacciones irritantes.

Según los Florey, la sal cálcica de penicilina no es aconsejable para usos intramuscular o intravenoso, cosa que no aceptan Herrell

y Nichols (304), ya que han usado esa sal en concentraciones y dosis semejantes a las de la sal sódica sin notar reacción local o general alguna.

Keefe *et al.* (353) encontraron las reacciones siguientes en 500 casos de infecciones tratados con la droga:

Fiebre	5 casos
Calosfrío y fiebre	12 „
Tromboflebitis en el sitio de la inyección	19 „
Urticaria	4 „
Dolor en sitio inyección	5 „
Cefalea, rubor facial	10 „
Calambres	2 „

Entre el gran número de autores que han estudiado la toxicidad de la penicilina se deben mencionar, aparte de los ya anotados, a McKee y Rake (416), Robinson (520), Herrell y Heilman (301, 302), Hamre *et al.* (275), Hobby *et al.* (319, 320), Bloomfield *et al.* (59, 60) y Priest (484).

En general, todos llegan a los mismos resultados ya expuestos. Por otra parte vemos que, a medida que se han ido usando preparaciones de penicilina más purificada, va disminuyendo el número de reacciones tóxicas, las cuales ya son muy escasas en la actualidad.

VII

LA PENICILINA EN LA CLINICA

LOS PRIMEROS trabajos.—Los primeros ensayos clínicos que se hicieron metódicamente fueron los realizados por el grupo de investigadores de Oxford (7, 220). Estudiaron el efecto de la penicilina en 200 casos humanos que padecían de las siguientes infecciones piógenas:

Infecciones generales acompañadas de lesiones locales en los huesos, pulmones y válvulas cardíacas; mastoiditis aguda; infecciones cutáneas; infecciones de la conjuntiva, córnea y saco lagrimal; blefaritis crónica; fístulas crónicas infectadas; empiema; sinovitis; colección mixta de estados infecciosos.

Los gérmenes causantes de las infecciones, en la mayoría de los casos, eran estafilococos; en otros, se trataba de estreptococos o se debían a estreptococos y estafilococos conjuntamente. Algunas infecciones eran neumocócicas o actinomicéticas, y en algunos casos fué imposible aislar germen alguno susceptible a la penicilina.

Los resultados de este primer ensayo clínico pueden resumirse así:

Curación completa	143 casos
Mejoría	43 „
Respuesta escasa o nula	14 „
Total	200 casos

La penicilina usada en esta investigación contenía de 40 a 50 u. F. por mgr. y su administración fué local y general.

Los criterios establecidos para adjudicar la curación de estos casos a la penicilina son los siguientes: 1) criterio bacteriológico: los gérmenes piógenos presentes en las lesiones fueron disminuyendo durante el tratamiento, y desaparecieron con el tiempo; 2) si los signos locales y generales de inflamación iban cediendo, con retorno de la función y principio de cicatrización, al mismo tiempo que desaparecían los gérmenes, estos efectos se consideraban como debidos a la acción de la penicilina sobre la infección; 3) el hecho de que la mayor parte de los pacientes tratados en el primero o segundo años de los ensayos clínicos fuera considerada como de moribundos, y no hubiera respondido a ningún otro tratamiento, o padeciera de su mal desde varios meses o años antes, sin mejoría alguna, era una nueva prueba en favor de la acción benéfica de la penicilina.

En 1943, Florey y Florey (220) presentan en detalle los resultados obtenidos con la penicilina en 187 pacientes, por administración local y general. De estos casos, 15 eran los más graves y 172 recibieron la aplicación local de la droga. En los 15 casos graves, con excepción de 2, todos habían sido tratados por las sulfonamidas sin obtener ninguna mejoría o sólo con escaso alivio. Se utilizó una preparación impura de penicilina, con un 10 % de la sustancia. En el cuadro IX se resumen los resultados de este trabajo.

En el mismo año, Colebrook ("Infection in burns", *Brit. M. J.* 2: 114, Julio 1943) obtiene muy buenos resultados con el uso de la penicilina en quemaduras infectadas, así como Bodenham (64). Todas las infecciones estafilocócicas y estreptocócicas de las quemaduras respondieron perfectamente a este tratamiento, la cicatrización se aceleró, o se facilitaron los injertos cutáneos.

Los esposos Florey usaron la aplicación local de la penicilina en los siguientes casos:

Infección postoperatoria de la mastoides.— Para la aplicación local, la sal sódica de penicilina tiene el inconveniente de ser muy higroscópica, por lo que es preferible y de más fácil manejo la sal

CUADRO IX

Caso Nº	Edad	Diagnóstico	Germen infeccioso	Método de administración de la Penicilina	Duración (días)	Dosis total (unidades)	Resultados
1	42 años	Celulitis	<i>S. aureus</i>	Oral, cápsulas; tubo duodenal cada 2 y cada 4 horas.	5 2	 480,000	Recurrencia; fueron necesarias cirugía y sulfonamidas.
2	36 „	Actinomicosis	<i>Actinomyces</i>	Tubo duodenal, cada 4 horas.	6	480,000	Fracaso.
3	2 meses	Osteomielitis	<i>S. aureus</i>	IM cada 4 horas, más local; también IV.	20	100,800	Mejoría completa. Se usó SP y ST sin resultado
4	23 años	Abceso de la pelvis	<i>Actinomyces</i> ; estreptococo anaerobio; <i>Str. faecalis</i> ; <i>Bact. coli</i>	IV diariamente IM diariamente	4 2	412,000	No hubo bacteriostasis; curación debida a evacuación pus. Previas TS y SP sin resultado
5	6½ „	Osteomielitis; infección vías urinarias.	<i>S. aureus</i>	IM cada 6 horas	21	755,000	Mejoría satisfactoria. Previa SA sin resultado.
6	6 „	Osteomielitis	<i>S. aureus</i>	IM cada 6 y 3 horas	15	1,100,000	Mejoría. Previos SA y ST sin resultado.
7	51 „	Piohemia	<i>S. aureus</i>	IV un día; IM	13	1,580,000	Mejoría. Previos TS, ST y suero, sin éxito.
8	64 „	Empiema	<i>Streptothrix</i> ; estrept. anaerobio; <i>Str. viridans</i> . <i>B. proteus</i> .	IP diariamente IM diariamente	21 14	1,653,000	Recurrencia que se detuvo pronto; mejoría.
9	28 „	Trombosis seno cavernoso	<i>S. aureus</i>	IV o IM diariamente	10	1,603,000	Mejoría. Previos SP y ST sin éxito.
10	34 „	Osteomielitis	<i>S. aureus</i>	IV continua IM cada 2 y 3 horas	3 14	1,680,000	Mejoría. Previos ST y suero sin éxito.
11	34 „	Piohemia	<i>S. aureus</i>	IM cada 2 y 4 horas	16	2,590,000	Mejoría. Previos SP y ST sin éxito.
12	52 „	Meningitis estreptocócica	Estreptococo no hemolítico	IM cada 2 horas, IT cinco veces	14	1,327,500	Mejoría. Previos SP y ST sin éxito.
13	37 „	Septicemia	<i>S. aureus</i>	IM cada 3 horas	20	2,400,000	Curación. Previas sulfas sin éxito.
14	8 „	Osteomielitis con piohemia	<i>S. aureus</i>	IM cada 3 horas	22	1,987,500	Curación. Previa SP sin éxito.
15	24 „	Endocarditis bacteriana subaguda	<i>Str. viridans</i>	IM cada 3 horas	30	4,670,000	Fracaso. Muerte. Previas sulfas sin éxito.

CLAVE:

TS = transfusión sanguínea.
 SA = sulfanilamida
 SP = sulfapiridina
 ST = sulfatiazol
 IM = intramuscular
 IV = intravenosa
 IT = intratecal
 IP = intraperitoneal.

cálcica, ya sea en polvo o en solución. Se trataron 22 casos de infección postoperatoria subsecuente a la mastoidectomía. Se aspiró el exudado y se instiló la droga por un tubo introducido en la herida. El poder de la penicilina usada era de 250 a 500 u. F. por c. c., y se administró un promedio total de 17,300 u. F. El tratamiento se repitió cada 6 horas, durante 5 días, y cada 12 horas en los 2 días siguientes. En 19 casos se obtuvo la cicatrización de primera intención. El oído estaba seco a los 5 ó a los 10 días de la operación. Dos de los fracasos se atribuyeron a la falta de experiencia en la técnica. No se presentaron complicaciones serias.

La penicilina en las infecciones oculares.— En 88 pacientes, se aplicó la penicilina en forma de ungüento con vaselina, o en solución en agua destilada, con un poder de 400 a 800 u. F. por gramo o por c. c. Se usó el ungüento de preferencia, y sólo la solución cuando algún paciente se quejaba de ardor con el primero. Se repitió el tratamiento hasta obtener cultivos negativos. Un caso de oftalmía purulenta, que no había tenido respuesta con la sulfapiridina durante tres semanas y media, se curó con una solución de penicilina con un poder de 1,200 u. por c. c. aplicada cada hora. A las 12 horas, el pus disminuyó y desapareció a los 2 días.

La penicilina introducida en las cavidades naturales.— Se trataron 11 casos de sinusitis crónica con una solución de penicilina (200 a 500 u. por c. c.) inyectada a presión por un catéter introducido hasta el seno. El catéter se dejó a permanencia mientras duró el tratamiento, y sólo se obstruía éste después de cada aplicación. En los senos cortos, se introdujo la sal de penicilina en polvo.

En las cavidades con empiema, se inyectaron de 5 a 20 c. c. de solución de penicilina, 2 veces por día, y obturando la abertura que se volvía a abrir una hora antes de la próxima aplicación. Se mantuvo el tratamiento hasta la desaparición de gérmenes patógenos en los cultivos. Con excepción de 2 casos de empiema, y 2 de sinusitis, la curación se obtuvo entre 10 días a 4 semanas.

Otras 50 infecciones mixtas, tratadas con penicilina en aplica-

ción local, comprendían dedos infectados, heridas, absesos y dermatitis. La mayoría de los casos, tanto agudos como crónicos, sanó sin necesidad de otro tratamiento; en unos cuantos fué necesaria la intervención quirúrgica para lograr un mejor acceso a la lesión, o para extirpar absesos ya esterilizados. Un caso de meningitis, debida a punción lumbar infectada (*S. aureus*), se curó por la inyección intracisternal repetida de penicilina.

En el total de estos 172 casos no se apreciaron síntomas tóxicos debidos a la droga. Los resultados obtenidos comprueban la necesidad de la aplicación de la droga a cortos intervalos, para mantener continuamente una concentración antibacteriana.

Primer uso de la penicilina por vía intratecal, para combatir la meningitis.— Fleming (198) presenta un informe detallado del caso de meningitis estreptocócica (caso 12, cuadro IX) tratado por los Florey. Esta ha sido la primera vez que se ha inyectado la penicilina por vía intratecal, y la primera en que se hizo simultáneamente la titulación del poder bacteriostático de la sangre y del líquido céfalo-raquídeo durante el tratamiento. Este, se comenzó a las 3 semanas de aparecer la rigidez de la nuca, y después de haber usado sin éxito la sulfapiridina y el sulfatiazol. El paciente presentaba ya un aspecto moribundo. Se aplicó la penicilina por vía intramuscular cada 2 horas, durante 13 días, en dosis de 90,000 a 240,000 u., después de una dosis inicial de 30,000 u. A las 24 horas de la primera dosis, se hizo manifiesto el mejoramiento. Del 7º al 10º día de la aplicación intramuscular, se inyectó también por vía intratecal, retirando previamente de 10 a 20 c. c. del líquido céfalo-raquídeo. A los 14 días del tratamiento, la temperatura del paciente fué normal. A los 13 meses de ser dado de alta del hospital, el paciente seguía perfectamente bien.

Estudios clínicos en los Estados Unidos.— Los trabajos realizados en este país confirman plenamente los resultados de los investigadores ingleses. En 1943, el "Informe del Comité de Investigación Médica", bajo la presidencia de Richards (512) trata de la producción de penicilina en los E. E. U. U., y declara: "Más

de 300 pacientes han sido, o están siendo tratados con penicilina. Hay buenas razones para creer que esta sustancia es muy superior a cualquiera de las sulfonamidas en el tratamiento de las infecciones debidas al *S. aureus*, con o sin bacteremia, incluyendo la osteomielitis crónica o aguda, la celulitis, los forúnculos del labio y de la cara, la pulmonía y el empiema, heridas y quemaduras infectadas. También es muy efectiva en el tratamiento de las infecciones resistentes a las sulfonamidas, debidas a estreptococos hemolíticos, a neumococos y a gonococos”.

El grupo de investigadores del Comité de Quimioterapia, dependiente del Consejo Nacional de Investigación Científica, bajo la dirección de Keefer, obtiene muy buenos resultados con la terapéutica penicilínica en un grupo de 500 pacientes (353). Ver cuadro X.

Otros informes clínicos sobre penicilina.— En Inglaterra, después de los primeros ensayos clínicos, se creyó conveniente hacer un estudio comparativo de las infecciones agudas tratadas con los métodos comunes y penicilina, y de otras tratadas sólo con los métodos comunes. Florey y Williams eligieron infecciones de las manos para este estudio (221). A 100 pacientes “testigos”, se les aplicó una terapéutica común, y a otros 100 se les hizo el mismo tratamiento, además de la penicilina aplicada localmente. Por análisis efectuados cada 2 semanas, se demostró que, en el 75 % de las heridas testigo, los gérmenes piógenos persistieron desde la primera incisión hasta la completa cicatrización. En el 25 % restante, la infección desapareció o disminuyó ya cuando la cicatrización estaba muy avanzada. En 95 % de los casos tratados con penicilina, además de la terapéutica ordinaria, los gérmenes disminuyeron en cantidad apreciable, o desaparecieron por completo, en un término no mayor de una semana. Clínicamente, se observaron las siguientes diferencias:

CUADRO X

<i>Diagnóstico</i>	<i>Total de casos</i>	<i>Mejoría o curación</i>	<i>Muerte</i>	<i>Fracaso</i>
Infecciones estafilocócicas				
(<i>S. aureus</i>)				
Con bacteremia	91	54	34	3
Sin bacteremia:				
Osteomielitis	55	48		7
Empiema	9	7	1	1
Piel y tejido subcutáneo ..	23	19		4
Quemaduras	9	5	4	
Otros casos	41	30	6	5
	228	163 (71.5 %)	45 (19.7 %)	20 (8.8 %)
Infecciones estreptocócicas				
Estreptococo hemolítico ..	23	13	7	3
Estreptococo no hemolítico ..	4		3	1
Estreptococo anaerobio ..	6	4	2	
	33	17 (51.5 %)	12 (36.4 %)	4 (12.1 %)
Infecciones neumocócicas .				
	76	45 (59.2 %)	29 (38.2 %)	2 (2.6 %)
Endocarditis bacteriana subaguda				
	17	3 (17.7 %)	4 (23.5 %)	10 (58.8 %)
Infecciones gonocócicas ..				
	129	129		
Infecciones meningocócicas				
	5	4	1	
Infecciones diversas				
	12	5	3	4
	500	366 (73.2 %)	94 (18.8 %)	40 (8 %)

Testigos

Continuación del dolor y las punzadas, durante períodos variables después de la incisión.

Presencia de pus, con la cicatrización bastante adelantada.

Formación de mucho tejido de granulación, con la consiguiente contracción, limitación de movimientos, y a veces, cicatrices dolorosas.

En las infecciones graves, por lo general, muchas escaras, necrosis de tendones y hueso, y pérdida de dedos.

Tratados con penicilina

Alivio del dolor casi invariable desde la incisión y primera aplicación de la penicilina en adelante.

Escaso pus o ausente, desde la operación.

Poco tejido de granulación, restablecimiento rápido y más completo del movimiento, con cicatrices lisas e indoloras.

Ninguna pérdida de dedos ni de ningún otro tejido, cuando el tratamiento se comenzó desde la operación.

Es curioso e importante el dato de que, las horas de trabajo ahorradas en los 100 casos tratados con penicilina, suman un total de varios años.

La guerra ha sido un vasto campo de experimentación para el estudio de los efectos de esta droga. Uno de los primeros trabajos publicados sobre este asunto fué el de Garrod (244). La aplicación local del medicamento ha permitido la sutura precoz de heridas de guerra en los tejidos blandos, con éxitos casi uniformes. Los resultados en estos casos han sido los siguientes:

Unión completa	104
Unión subtotal	60
Fracasos	7
Total	171

En las heridas complicadas por fracturas abiertas, se empleó el tratamiento general y local, aunque sin resultados tan sorprendentes. Desde luego que los métodos y técnica de administración se han perfeccionado posteriormente, con lo que se ha obtenido mayor número de éxitos.

En 7 pacientes se trató la gangrena gaseosa, aplicando la droga

por vía intramuscular, logrando la curación de 4 de ellos. En las heridas penetrantes de cerebro, los resultados fueron muy satisfactorios: murieron sólo 3 pacientes de un total de 23. Quedó demostrado en todos estos casos lo ventajoso de aplicar la penicilina en las primeras fases de la infección.

Por investigaciones más recientes, se ha demostrado el valor de la penicilina: 1) como preventivo de infección en las heridas, permitiendo que, una herida potencialmente séptica, sea tratada como aséptica; 2) en la ayuda para la cicatrización de las quemaduras y para asegurar el éxito de los injertos cutáneos; 3) en infecciones de gérmenes sensibles a la droga, ya sean crónicas o muy graves, que no hayan respondido a otros tratamientos; 4) en infecciones agudas debidas a gérmenes sensibles; 5) en la rápida curación de la gonorrea, incluyendo los casos resistentes a las sulfonamidas; 6) en la neumonía; 7) en la gangrena gaseosa.

Entre las primeras aplicaciones clínicas de la penicilina hay que mencionar los rapés antisépticos, hechos en Inglaterra por Delafield, y compuestos de penicilina, mentol y lycopodio (156, 157). Se trataron 4 casos con 6 aplicaciones diarias del rapé. Los 4 casos eran portadores de estafilococos en la nariz; pero, debido a la escasez de la droga en esa época, no se pudieron sacar conclusiones, aunque sí se apreció el valor de la penicilina.

Clark *et al.*, y Pulvertaft, presentaron también los resultados obtenidos con la penicilina en heridas y quemaduras (97, 485, 486). También aquí quedó probada la eficacia de la droga.

Herrell *et al.* de la Clínica Mayo, presentan nuevos resultados clínicos (303, 305). Un paciente padecía de septicemia estafilocócica y celulitis de la cara y de la órbita, 7 pacientes sufrían de infecciones estafilócicas, y otro paciente tenía una endocarditis bacteriana de estreptococo viridans. Con excepción del último, todos los demás casos obedecieron al tratamiento penicilínico.

Herrell y Nichols hicieron otro estudio en 12 personas infectadas y tratadas con penicilina por venoclisis continua y donde

obtuvieron la curación de 10. Se usó la sal cálcica de penicilina (304).

Después de estos trabajos, los ensayos de penicilina en clínica han sido numerosísimos. Unos han confirmado los resultados de los autores ya mencionados, y otros han experimentado el antibiótico contra otros gérmenes y parásitos. En un trabajo como éste sería imposible hablar en detalle de cada uno de ellos; mencionaremos tan sólo a algunos de los autores que han iniciado estos estudios.

Blake y Craige emplearon la penicilina en infecciones supuradas de los pulmones provocadas por estafilococos y por estreptococos, con notables éxitos (58).

Lyons publica los resultados obtenidos con la penicilina en el ejército de los E. E. U. U. en infecciones quirúrgicas, así como en fracturas infectadas producidas por armas de fuego (395, 396, 397).

Mahoney *et al.* obtuvieron excelentes resultados con penicilina para combatir la sífilis recién adquirida (424, 425). O'Leary y Herrell consiguen la involución de un sifiloderma de la nariz, aunque las reacciones serológicas continuaron siendo positivas (468).

McKnight, Loewenberg y Wright logran el restablecimiento de una niña de 7 años, en la que se desarrolló una gangrena gaseosa consecuente a una fractura compuesta, y en la que habían fallado otros tratamientos (418).

Willams y Nichols curan totalmente dos casos de osteomielitis del hueso frontal, debidas a estreptococos y estafilococos, por medio de la intervención quirúrgica acompañada de la penicilino-terapia (631).

Dawson y Hobby publican los resultados obtenidos en 100 casos del Presbyterian Hospital, que fueron tratados con penicilina (151).

Herrell resume los experimentos clínicos en 62 casos de la Clínica Mayo, algunos de los cuales ya habían sido publicados (296, 298, 299).

En el Hospital de la Universidad Stanford se efectuaron estudios de que dan cuenta Bloomfield, Rantz y Kirby (60).

Los resultados de Mahoney, en el tratamiento antisifilítico, son confirmados por Bloomfield *et al.* (60).

Evans informa de dos casos de meningitis neumocócica curados con penicilina (176).

Noth y Hirshfield tratan con penicilina un absceso amibiano del hígado con infección secundaria, después de la aspiración del pus. El germen asociado a la amiba era un estreptococo (463).

Barker trata con éxito un caso de síndrome de Gradenigo (otitis media con cefalea y parálisis del VIº par del mismo lado) con la combinación de sulfadiazina y penicilina (38).

Loewe *et al.* emplean la combinación de penicilina y heparina para el tratamiento de 7 casos de endocarditis bacteriana subaguda, que al parecer, mejoraron, pero que necesitan un estudio más largo para asegurar la curación completa (387).

Clark *et al.* usan una crema de penicilina para las quemaduras y escaldaduras, en diferentes períodos de cicatrización (98). Bodenheim usa también la crema de penicilina y el polvo para quemaduras y heridas superficiales (64).

Robinson y Wallace emplean un nuevo sistema, basado en la producción de penicilina "in situ" (519). Estos autores aplicaron gasa inoculada con *Penicillium notatum* sobre infecciones piógenas, que mejoraron por completo.

Faxon y Churchill usaron la droga en las personas quemadas en el incendio del Cocanut Grove de Boston (177).

En un artículo sobre drogas para las enfermedades tropicales, se afirma que las úlceras tropicales son notablemente mejoradas por la penicilina en aplicación local ("Drugs for tropical diseases", *Lancet* 2:132, julio 1943).

El Comité de Quimioterapia, dependiente del Consejo Nacional de Investigación Científica, que Keefer preside, y formado por un grupo de investigadores, revisando la terapéutica de la penicilina y basándose en más de 5,000 casos estudiados en diferen-

tes hospitales civiles y militares, por distinguidos clínicos de E. E. U. U., da un cuadro de indicaciones y contraindicaciones que reproducimos a continuación:

A) La penicilina es el mejor agente terapéutico disponible para el tratamiento de:

1) Infecciones estafilocócicas con o sin bacteremia:

Osteomielitis aguda,
Antrax y absesos de los tejidos blandos,
Meningitis,
Trombosis de los senos laterales y cavernosos,
Neumonía y empiema,
Absceso renal,
Heridas y quemaduras infectadas.

2) Infecciones por Clostridium:

Gangrena gaseosa,
Edema maligno.

3) Infecciones por estreptococo hemolítico, con bacteremia e Infecciones locales graves:

Celulitis,
Mastoiditis con complicaciones intracraneales (meningitis, trombosis sinusales, etc.),
Neumonía y empiema,
Infección puerperal,
Peritonitis,
Endocarditis.

4) Infecciones por estreptococos anaerobios:

Infección puerperal,
Otras localizaciones.

5) Infecciones por neumococos:

Meningitis,
Pleuritis,
Endocarditis,
Neumonía resistente a las sulfonamidas.

6) Infecciones gonocócicas complicadas por:

Artritis,
Oftalmía,
Endocarditis,
Peritonitis,
Epididimitis,

Casos resistentes a las sulfonamidas.

- 7) Infecciones meningocóccicas resistentes a las sulfonamidas.
- 8) Todas las formas de ántrax.
- 9) Supuración crónica pulmonar, susceptible de tratamiento quirúrgico.
- 10) Endocarditis bacteriana, cuando es producida por gérmenes susceptibles a la penicilina.

B) La penicilina es útil, pero su significación terapéutica no está bien definida todavía, en las siguientes enfermedades:

- 1) Sífilis.
- 2) Actinomicosis.
- 3) Difteria, especialmente en enfermos con anafilaxia sérica.

C) La penicilina es de valor discutible en las siguientes infecciones mixtas, con predominio de flora gramnegativa:

- 1) Ruptura del apéndice.
- 2) Absceso hepático.
- 3) Infecciones urinarias.
- 4) Infección por *Streptobacillus moniliformis* (mordedura de rata).

D) Contraindicaciones.

La penicilina es ineficaz, y por eso está contraindicada, en los siguientes casos:

- 1) Infecciones por bacilos gramnegativos: Fiebres tifoidea y paratifoidea,
E. coli,
Disentería,
H. influenzae,
B. proteus,
B. pyocyaneus,

Br. melitensis,
P. tularensis,
B. friedlaenderi.

- 2) Tuberculosis.
- 3) Toxoplasmosis.
- 4) Histoplasmosis.
- 5) Reumatismo articular agudo.
- 6) Lupus eritematoso difuso.
- 7) Mononucleosis infecciosa.
- 8) Pénfigo.
- 9) Enfermedad de Hodgkin.
- 10) Leucemia aguda y crónica.
- 11) Colitis ulcerosa.
- 12) Coccidiomicosis.
- 13) Malaria.
- 14) Poliomiелitis.
- 15) Blastomicosis.
- 16) Iritis y uveitis no específica.
- 17) Moniliasis.
- 18) Infecciones por virus.
- 19) Cáncer.

Por los estudios de los autores mencionados, y por la gran cantidad de informes más recientes, se ve claramente que las infecciones causadas por el *S. aureus* son aquéllas donde la penicilina obra en forma más segura y logra resultados más dramáticos. Su actividad, desde luego, depende en gran parte de muchos otros factores, como duración de la enfermedad, estado general del enfermo, edad del mismo, localización o generalización del estado infeccioso, etc.

Hasta hace poco, se consideraba muy poco eficiente la penicilina en casos de endocarditis bacteriana, pero ya han aparecido trabajos sobre el particular con mejores resultados en últimas fechas. Al principio, Florey y Florey, y Herrell, experimentaron la

droga en esta enfermedad (220, 299). En ambos casos la sangre quedó esterilizada y desapareció la fiebre; pero, al cesar el tratamiento, reapareció el germen en la sangre y volvieron a manifestarse los signos clínicos. Dawson y Hobby presentaron diez casos con endocarditis bacteriana (151). Cinco habían sido ya tratados con penicilina, pero se pensó que a dosis insuficientes; de los otros 5, 2 mejoraron, 1 tuvo recurrencias, aunque al parecer quedó bien a los nueve meses, y 2 murieron. Loewe *et al.* describen seis casos de endocarditis bacteriana subaguda acompañada de valvulitis reumática crónica (387). Estos autores usaron la combinación penicilina-heparina con notables mejorías. En 5 casos, el germen era el estreptococo viridans, y en otro un estreptococo hemolítico. La penicilina se administró por venoclisis y en dosis de 40,000 a 200,000 u. F. diarias, dando un total de 1,400,000 a 7,890,340. Paullin y Christofer ("The treatment of subacute bacterial endocarditis", *Ann. Int. Med.* 22:475, abril 1945) presentan 6 casos de esta enfermedad, en 3 de los cuales obtuvieron éxito. Según estos autores, las dosis mínimas totales para la curación de este mal, son de 4,000,000 de unidades. Keefer, en un trabajo aparecido en marzo de 1945 (349), dice que se puede obtener la curación de la endocarditis bacteriana subaguda en un 55 % de los casos, con una dosificación de 200,000 a 300,000 u. diarias, y por un término no menor de 3 semanas.

En los casos de infecciones estafilocócicas sin bacteremia, los resultados han sido mucho más brillantes que cuando la enfermedad está generalizada. En los casos de osteomielitis, las lesiones han cicatrizado por completo, o el exudado se ha vuelto estéril. Es bueno recordar aquí la observación hecha por los Florey (220) al tratar esos casos, sobre la rarefacción radiológica de los huesos al empezar el tratamiento, fenómeno que va desapareciendo después hasta volver a la normalidad.

Las infecciones esteptocócicas, que como se sabe son las que mejor reaccionan al tratamiento sulfonamídico, también obedecen a la acción de la penicilina notablemente.

En las neumonías neumocócicas, se ha encontrado que la penicilina es eficaz aun en dosis muy reducidas, y en poco tiempo. Generalmente se logra la curación completa en el término de 2 a 3 días, con dosis de 10,000 u. cada 4 horas.

Las meningitis neumocócicas no responden tan ampliamente, pero también se logra su curación; sobre todo, por la administración intratecal de la droga.

Los empiemas, tanto neumocócicos como estafilocócicos, responden muy bien a esta terapéutica, por la inyección intrapleural.

En la gonorrea, los resultados que se han obtenido en general son espléndidos. Por lo común, el alivio de los síntomas se presenta de las 9 a 48 horas de iniciado el tratamiento. Se recomiendan dosis de 20,000 u. cada 3 horas, por vía intramuscular, durante 15 horas, o sean 5 inyecciones en total. Herrell *et al.* también aconsejan la inyección de 100,000 u. por venoclisis, durante 24 horas (303).

En los casos de meningitis por meningococos, es preferible el uso de la penicilina por vía intratecal.

La sífilis incipiente puede ser curada por la penicilina, según gran número de autores; pero este tratamiento necesita todavía un estudio más prolongado. Según Keefer, la dosis mínima para la sífilis primaria o secundaria, debe ser de 60 inyecciones intramusculares de 20,000 unidades, o sea 1 cada 3 horas durante 7 semanas y media (349).

Todos los días siguen apareciendo nuevos trabajos sobre la penicilina, confirmando los resultados obtenidos en gérmenes ya estudiados, y experimentando el antibiótico para el tratamiento de muchas otras enfermedades, como el tétanos, las enfermedades producidas por virus, las micosis, las tripanosomiasis, las enfermedades ocasionadas por protozoarios, las espiroquetosis, etc., y es probable que se demuestre su eficacia en algunas de ellas.

Asimismo se tienen grandes esperanzas en otros agentes antibióticos que, por el momento, se encuentran en su fase experimental.

La penicilina en México.— La aplicación de la penicilina en México se inició desde que se pudo conseguir esta droga. Al principio su uso fué algo restringido, en vista de la escasa cantidad del medicamento y de su alto precio. Además, para evitar el uso indebido de la droga, y en interés de las personas realmente necesitadas de esta sustancia, se creó la Comisión Nacional Reguladora de la Penicilina, dependiente de la Secretaría de Salubridad y Asistencia. Esta comisión quedó encargada de autorizar y controlar la importación, comercio, fabricación, transporte, suministro y aplicación de la penicilina. Cuando se necesitaba penicilina, se hacía una solicitud con los siguientes datos, que copiamos textualmente.

1. Nombre del médico encargado del caso;
2. Nombre, edad y nacionalidad del enfermo;
3. Diagnóstico y duración de la enfermedad, con análisis bacteriológicos;
4. Historia clínica completa del caso, incluyendo temperatura y tratamiento anterior;
5. Cuando las sulfonamidas han sido usadas y encontradas sin efecto;
6. ¿Existe infección en la sangre?;
7. Número de unidades que se crean necesarias.

Fecha.

Si la comisión juzgaba conveniente la aplicación de la droga, autorizaba la venta del número de unidades de penicilina solicitado.

A medida que la producción de penicilina ha ido aumentando, y que las cantidades requeridas por los ejércitos aliados han sido menores, han ido desapareciendo gradualmente las restricciones y el precio de la droga ha bajado sensiblemente.

Tanto en la práctica profesional individual como en los servicios médicos de orden general, tales como hospitales y sanatorios, se ha venido usando la penicilina en gran número de casos, siguiendo, por lo común, los métodos recomendados por los autores

ingleses y norteamericanos. Los resultados obtenidos concuerdan con los de dichos autores, es decir, cuando se ha aplicado la droga en enfermedades provocadas por gérmenes susceptibles a este medicamento, se ha logrado la curación o mejoría en la mayoría de los casos. Desde luego que también se han registrado fracasos, ya sea por haber empleado dosis inadecuadas de la droga, por emplearla contra gérmenes que no son susceptibles, o por resistencia natural de determinadas cepas a los efectos antibacterianos del medicamento; pero se puede afirmar que es menor el porcentaje de estos casos.

También se han hecho y se siguen haciendo estudios de investigación sobre la penicilina, especialmente desde el punto de vista clínico.

En el Instituto Nacional de Cardiología, bajo la dirección del maestro Dr. Ignacio Chávez, se está llevando a cabo un estudio muy completo sobre la penicilina en la endocarditis bacteriana subaguda. Gracias a la gentileza del Dr. Flavio Jiménez Romo, que es el médico encargado de este trabajo, he podido conseguir los siguientes datos de un primer informe sobre el particular (Dr. Flavio Jiménez Romo, "17 casos de endocarditis bacteriana subaguda tratados con penicilina. Informe preliminar". *Archivos del Instituto Nacional de Cardiología*, en prensa).

Se trataron 17 casos sin seleccionar la gravedad de la enfermedad. Las edades de los pacientes variaron de los 12 a los 38 años. De los 17 casos, 15 eran de endocarditis y 2 tenían además endarteritis bacteriana. El germen se identificó en 11 casos; en 10, era el *Sireptococcus viridans*; en 1, estreptoco hemolítico A. La dosis mínima empleada fué de 80,000 unidades Oxford diarias; la máxima, de 400,000 u. O. La dosis máxima total fué de 19,000,000 u. O.; la mínima, de 640,000 u. O.; el promedio de las dosis totales fué de 7,000,000 u. O. La duración mínima del tratamiento fué de 5 días; la máxima, de 73 días; el promedio, de 32 1/2 días.

En los 17 casos, el método de administración fué la vía intramuscular cada 3 horas. Además, en 4 casos, se empleó la aplica-

ción intramuscular gota a gota; en 2 casos, se usó la venoclisis; en 3 casos, la intramuscular cada 2 horas; y en 1 caso, la intramuscular cada 1 1/2 horas.

Las reacciones tóxicas registradas fueron 4: un caso de urticaria y 3 casos de dolor y molestia local intensa (estos 3 últimos habían recibido la aplicación intramuscular gota a gota).

In vitro se encontró que los gérmenes infecciosos eran inhibidos con dosis variables de 0.01 a 0.02 u. O. de penicilina. Un germen no fué susceptible in vitro a la penicilina.

Los resultados de este tratamiento han sido los siguientes:

5 muertes, 8 curaciones aparentes, 4 casos continúan en tratamiento.

De los 5 casos de muerte, 4 murieron durante el tratamiento y 1 murió 4 meses después de su curación aparente. La causa de muerte fué en 1 caso, la inundación ventricular; en 2 casos, el edema agudo del pulmón; y en los otros 2: 1, por probable embolia cerebral, y 1 por probable embolia abdominal.

De los 8 casos de curación aparente, 1 murió a los 6 1/2 meses de curación aparente, debido a otra enfermedad; 7 viven en la actualidad, al parecer curados. El máximo de observación en estos casos es de 6 meses; el mínimo, de 2 meses y 3 semanas.

El tratamiento de estos 8 casos de curación aparente fué el siguiente: 6 casos fueron tratados con penicilina sola; 1 caso, con penicilina-heparina; 1 caso, con sulfa-drogas (sin resultado), y con intervención quirúrgica (ligadura del conducto arterial) y penicilina.

En los 4 casos que siguen en tratamiento se ha encontrado que, al aumentar las dosis y al acortar los intervalos de aplicación del medicamento, 2 casos han reaccionado satisfactoriamente y los otros 2 no han manifestado ninguna mejoría.

La heparina combinada con la penicilina se usó en 3 casos de los 17. Uno pertenece al grupo de los de curación aparente, uno murió, y otro continúa en tratamiento.

El Dr. Jiménez Romo me ha comunicado además que, por el

momento, se está empleando con resultados satisfactorios la aplicación de la penicilina en intervalos más cortos (cada 2 horas), y la combinación de la droga con aceite para prolongar su efecto y retardar su eliminación. Al mismo tiempo, se está estudiando qué forma de administración es la que proporciona concentraciones más efectivas en la sangre y por más tiempo.

VIII

ADMINISTRACION Y DOSIFICACION DE LA PENICILINA

LA PENICILINA se encuentra en el comercio en envases de 10,000 a 100,000 u. F. Viene en forma de sal sódica de penicilina, como polvo de color amarillo café. Este polvo, se puede disolver, para su aplicación, en agua estéril libre de sustancias pirógenas, en solución salina normal o en solución de dextrosa al 5 %. Cuando se van a usar muchas unidades en el día, es preferible disolver el contenido del envase de 100,000 u. en 20 c. c. del líquido elegido, de modo que la concentración sea de 5,000 u. por c. c. Esta solución debe conservarse en el refrigerador. Sin embargo, Kirby dice que las soluciones preparadas con la sal sódica de penicilina conservan su potencia durante 4 días en estufa, y durante 7 días a la temperatura ambiente (361). Esto tiene valor para la práctica, pues significa que puede dejarse la solución a la cabecera del paciente durante 2 días sin riesgo de alteración. Las soluciones destinadas al uso local, o parenteral, deben diluirse de modo que correspondan a la concentración deseada. A continuación se describe el método que sugiere Keefer como guía general de administración (353).

A. Inyección intravenosa.

- 1) El polvo debe disolverse en solución salina fisiológica, en concentraciones de 1,000 a 5,000 u. por c. c.
- 2) El polvo se disuelve en solución salina, o en solución de dextrosa al 5 %, en una dilución más baja (25 a 50 u. por

c. c.) para la administración continua por venoclisis (gota a gota).

B. Inyección intramuscular.

- 1) El volumen total de las inyecciones individuales debe reducirse, usando la concentración de 5,000 u. por c. c. de solución fisiológica.

C. Aplicación local.

- 1) El polvo de la sal sódica es irritante para las heridas y por lo tanto no debe aplicarse en esta forma.
- 2) Son buenas para este fin las soluciones en suero fisiológico, en concentración de 250 u. por c. c. Para infecciones resistentes o más intensas, puede elevarse la concentración a 500 u. por c. c.

Técnica de administración.— La administración puede efectuarse siguiendo 3 vías: intravenosa, intramuscular y tópica. Las inyecciones subcutáneas son dolorosas y deben evitarse. Las inyecciones intramusculares repetidas, a veces no son tan bien toleradas como las intravenosas frecuentes o continuas. En muchos casos, sin embargo, la intramuscular es la vía de elección.

En el tratamiento de meningitis, empiema, y quemaduras de la piel poco extensas, debe usarse la penicilina en aplicación tópica, es decir, se debe inyectar directamente en el espacio subaracnoideo, en la cavidad pleural, o aplicarse localmente, en una solución que contenga 250 u. por c. c.

Dosis.— La dosis varía de un paciente a otro, según el tipo y gravedad de la infección. Generalmente, se ha conseguido la curación de muchas infecciones graves con la administración diaria de 40,000 a 50,000 u.; en otras infecciones son necesarias de 100,000 a 120,000 u. y aun más. El objeto, en cada caso, es detener la infección lo más pronto posible.

La penicilina se excreta rápidamente por la orina; de tal manera que, al inyectar una sola dosis, a menudo es imposible descubrir su presencia en la sangre después de 2 a 4 horas. Por lo tanto, se recomienda la inyección intramuscular repetida cada 3

ó 4 horas, o la administración por venoclisis continua (gota a gota).

Dosis recomendables en general, según Keefer:

A. En infecciones graves con o sin bacteremia. Dosis inicial: 15,000 a 20,000 u. F. Dosis subsecuentes: venoclisis continua de solución normal fisiológica con penicilina, de modo de administrar de 2,000 a 5,000 u. por hora, haciendo un total de 48,000 a 120,000 u. en 24 horas. La mitad de la dosis total diaria debe disolverse en 1 lt. de solución salina normal o glucosada, y la venoclisis se gradúa a razón de 20 a 40 gotas por minuto.

Si la venoclisis no es aconsejable, pueden inyectarse por vía intramuscular de 10,000 a 20,000 u. cada 3 ó 4 horas.

La penicilina se suspende una vez que la temperatura se normaliza, y debe observarse con cuidado el curso de la enfermedad.

B. En lesiones complicadas con infecciones crónicas, osteomielitis, etc. Dosis de 5,000 u. cada 2 horas, ó 10,000 u. cada 4 horas, por vía parenteral, y tratamiento local, si el caso lo requiere.

C. Gonorrea sulfamidorresistente. 10,000 u. cada 3 horas, por vía intramuscular o intravenosa, hasta completar 10 dosis. No se ha establecido aún la dosis mínima. Los resultados del tratamiento se determinan por examen de cultivos de la secreción uretral.

D. Empiema. La penicilina disuelta en solución salina debe inyectarse directamente en la cavidad del empiema, después de aspirar el pus o el líquido. Esto debe hacerse una o dos veces al día, usando de 30,000 a 40,000 u. de acuerdo con el tamaño de la cavidad, tipo de infección y número de gérmenes. Las soluciones de penicilina no deben usarse para irrigación, ya que se requiere un mínimo de 6 a 8 horas para obtener el efecto máximo de la droga.

E. Meningitis. La penicilina no penetra en el espacio subaracnoideo en cantidades apreciables, por lo que es necesario inyectarla dentro del espacio directamente para que produzca el efecto deseado. Se deben inyectar 10,000 u. diluidas en solución fisiológica, con una concentración de 1,000 u. por c. c., una o dos veces

al día, de acuerdo con el curso de la enfermedad y la presencia de gérmenes.

Administración oral de la penicilina.— Hasta hace muy poco tiempo, se pensó que las vías antes mencionadas eran las únicas de aplicación práctica. Se había demostrado que la penicilina administrada por vía oral apenas da vestigios en la orina.

Sin embargo, se había observado que, en enfermos de anemia perniciosa acompañada de anaclorhidria, la excreción urinaria de la droga administrada por vía oral era equivalente al 40 % de la dosis ingerida, presentando altos niveles en la sangre (500).

Libby logró niveles terapéuticos en la sangre (0.03 u. F. por c. c.) a los 30 minutos de administrar penicilina por vía oral, que se mantuvieron durante 6 horas. Se puede mantener el nivel terapéutico repitiendo la dosis oral (380).

McDermott trató así 12 enfermos de neumonía neumocócica, obteniendo resultados tan buenos como cuando se aplica la droga por vía parenteral (403).

Charney *et al.* estudiaron la excreción urinaria de penicilina combinada con sales amortiguadoras, con un título que no alcanza un pH alcalino, usando el citrato de sodio como sal amortiguadora (142). Estos autores administraron penicilina disuelta en agua destilada, empleando citrato trisódico como amortiguador. En todos los casos, la excreción de la droga aumentó y se prolongó por más de 2 horas, debido al antiácido. El aumento no fué tan notable con el bicarbonato de sodio.

Con el citrato trisódico, la excreción alcanzó el 20 % de la dosis oral; es decir, que cerca del 66 % de la dosis ingerida fué destruída por el ácido clorhídrico. Esto indica que la dosis oral de penicilina debe ser tres veces mayor que la inyectada.

Gyorgy *et al.* hicieron ensayos clínicos con miras terapéuticas (269). Estos autores eligieron la gonorrea, ya que es una enfermedad que responde pronto a la penicilina inyectada, y llegaron a las siguientes conclusiones:

1. La penicilina ingerida en combinación con una sal amorti-

guadora adecuada, como el citrato trisódico y el ácido cítrico, resulta ser curativa en varios casos de gonorrea, y otras enfermedades donde está indicada esta droga.

2. La combinación de penicilina con citrato trisódico, administrada por vía oral, da lugar a concentraciones en la sangre más altas y prolongadas que cuando es ingerida sin sales amortiguadoras.

Burke *et al.* llegan a las siguientes conclusiones (238):

Después de la ingestión de 100,000 u. de penicilina, se obtienen concentraciones en la sangre equivalentes a las obtenidas después de inyectar 40,000 u. F. Cuando los enfermos ingirieron 200,000 u. se alcanzaron concentraciones más fuertes y prolongadas, en proporción con la dosis ingerida. No se observaron síntomas objetivos ni subjetivos de toxicidad, después de la ingestión de una sola dosis de 100,000 u.

Como resultado práctico de los hechos anteriores, y de los estudios efectuados en México por los Dres. Zozaya y Morones, sobre la absorción comparativa de la penicilina suministrada por vía oral e intramuscular, y sobre casos clínicos de erisipela, neumonía y blenorragia tratados por vía oral, ya ha aparecido en el comercio una preparación de sal cálcica de penicilina, con citrato sódico y ácido cítrico. Se presenta en forma de tabletas de 20,000 u. cada una, y se recomienda en general una toma inicial de 2 tabletas, seguida de 1 tableta cada hora, para las primeras 100,000 u. Si es necesario, se tomarán después 1 ó 2 tabletas cada 3 horas.

Penicilina por vía intra-arterial.— Los doctores brasileños Gudín y Neiva Filho presentan dos casos de osteomielitis crónica, sometidos por años a diferentes tratamientos sin ningún resultado, y que los autores lograron curar por la combinación del tratamiento quirúrgico y de la penicilina usada por vía intra-arterial. La penicilina se administró inmediatamente después de la operación, en ambos casos, repitiéndola cada 24 horas. En un caso, la curación y cicatrización se logró a los 7 días, con sutura primaria; en el otro, a los 21 días, con sutura secundaria.

(Tratamento da osteomielite por assepsia integral e penicilina intra-arterial. Sutura primitiva e secundaria da ferida”, *Memorias do Inst. Oswaldo Cruz*, 41:163, agosto 1944.)

IX

OBSERVACIONES PROPIAS

ENTRE LOS pocos casos que he tenido la oportunidad de tratar con penicilina, presento a continuación los 5 que me han parecido más interesantes:

Caso N^o 1.— H. P., 14 años, sexo femenino. Padecimiento: mastoiditis derecha con síntomas meníngeos, vómitos cerebrales, rigidez nunca. Temperatura de 39.5°C. a 40.5°C. Además, osteomielitis crónica del fémur izquierdo en el tercio superior, de 2 años de duración, con hipoplasia de los músculos de la pierna de este lado. Tratamiento anterior: sulfonomidas sin resultado. El día 2 de junio de este año se inicia el tratamiento con penicilina. A las 300,000 u. O. aplicadas por vía intramuscular, en dosis de 20,000 u. O. cada 3 horas, ceden los síntomas mastoideos y meníngeos. Se continúa aplicando el medicamento en la misma forma en vista del notable mejoramiento de la osteomielitis, que se cura sin intervención quirúrgica a los 8 días de aplicar una dosis total de 900,000 u. O. A los 15 días de acabado el tratamiento, se recomiendan masajes para tratar de recuperar la función motriz de la pierna. En la actualidad la función se ha recuperado, aunque persiste la hipoplasia.

Caso N^o 2.— M. R., 45 años, sexo masculino. Padecimiento: ántrax en la región posterior del cuello y véscico-prostatitis crónica de 8 años de duración. Con motivo del ántrax se presenta a consulta, y se inicia el tratamiento con penicilina. Examen microscópico del pus del ántrax: abundantes estafilococos. Examen microscópico del líquido prostático: algunos diplococos gramnegati-

vos. Tratamiento: 20,000 u. O. de penicilina cada 3 horas por vía intramuscular. Se comenzó el tratamiento el 14 de junio de este año. Dosis total: 600,000 u. O. El ántrax se ha curado por completo y han desaparecido los síntomas de la vésico-prostatitis. Notable recuperación psíquica del paciente.

Caso N^o 3.— J. F., 38 años, sexo femenino. Padecimiento: asma bronquial y esclero-enfisema discreto. Padece el asma desde su infancia, habiendo agotado todos los recursos terapéuticos sin resultado. Al encontrar en la literatura médica que la penicilina había tenido resultado en 2 casos de asma bronquial (Leopold, S. S. and Cooke, R. A., *Penicillin in the treatment of intractable bronchial asthma; A preliminary report*, Am. J. M. Sc. 209:784, junio 1945), se aplicó esta sustancia en una dosis total de 600,000 u. O. y por administración intramuscular cada 3 horas. El tratamiento se terminó el día 12 de julio de este año. La paciente presentó urticaria generalizada e hipotensión durante el tratamiento. No se ha logrado ninguna mejoría.

Caso N^o 4.— R. L. P., 13 años, sexo masculino. Padecimiento: apendicitis crónica con exacerbación aguda, dolor de la zona apendicular con fuerte irradiación al muslo derecho, vómitos, náusea, temperatura de 37.5°C. a 39°C. El cuadro agudo duró 6 días. Al 6^o día se inicia el tratamiento con penicilina, inyección intramuscular de 20,000 u. O. cada 3 horas hasta completar 300,000 u. O. El dolor se hace intenso después de la 5^a inyección y luego va desapareciendo. La fiebre cede después de la 3^a inyección. Se acabó el tratamiento el 7 de agosto del presente año y todos los síntomas han desaparecido hasta la fecha (septiembre).

Caso N^o 5.— E. K., 38 años, sexo femenino. Padecimiento: osteomielitis del maxilar inferior y sinusitis maxilar y frontal crónicas, además de antigua cardiopatía (angina de pecho). Duración de la osteomielitis: 16 días. Tratamiento anterior: sulfonamidas sin resultado. A los 12 días se inicia tratamiento con penicilina, inyección intramuscular de 20,000 u. O. cada 3 horas, además de intervención quirúrgica (extracción de sequestro alveolar). Du-

rante el tratamiento se hacen evidentes nuevos focos de infección en el maxilar superior derecho y se exacerban los síntomas de sinusitis maxilar. Al completar 300,000 u. O. ceden todos los síntomas agudos, aunque persisten molestias por la sinusitis del maxilar izquierdo. Se hace una nueva intervención quirúrgica (extracciones de raigones del maxilar superior izquierdo y canalización al seno de ese lado por vía alveolar). El tratamiento con penicilina se inició el 26 de agosto del presente año y la última intervención quirúrgica se efectuó el día 30 del mismo mes. Para el día 10 de septiembre habían cedido todos los síntomas de osteomielitis y de sinusitis maxilar. La sinusitis frontal, aunque mejorada, no se ha curado todavía.

Los resultados obtenidos en estos 5 casos, se pueden ver en el cuadro XI.

CUADRO XI

Caso N°	Edad	Diagnóstico	Germen infeccioso	Método de administración de la Penicilina	Duración (días)	Dosis total (unidades)	Resultados
1	14 años	Mastoiditis; osteomielitis	No identificado	Vía intramuscular, cada 3 horas.	5½	900,000	Curación. Uso previo de sulfonamidas sin resultado.
2	45 "	Antrax; véscicoprostatitis	Estafiloc. Gonococo.	Vía intramuscular, cada 3 horas.	4	600,000	Curación.
3	38 "	Asma bronquial	—	Vía intramuscular, cada 3 horas.	4	600,000	Fracaso.
4	13 "	Apendicitis	No identificado	Vía intramuscular, cada 3 horas.	2	300,000	Curación.
5	38 "	Osteomielitis; sinusitis	No identificado	Vía intramuscular, cada 3 horas.	2	300,000	Curación de osteomielitis; franca mejoría de sinusitis. También fué necesaria intervención quirúrgica. Previas sulfonamidas sin resultado.

Nota: El máximo de observación en estos enfermos ha sido de 3 meses; el mínimo, de 20 días.

X

CONCLUSIONES

- 1.— Con la penicilina, sustancia antibiótica producida por el hongo *Penicillium notatum*, se dispone de un nuevo agente quimioterápico de gran efectividad en el tratamiento de numerosas enfermedades infecciosas.
- 2.— Las infecciones más susceptibles a los efectos de la penicilina son las producidas por las bacterias grampositivas.
- 3.— Entre las bacterias grampositivas, las más sensibles al efecto de la penicilina son los estafilococos y los estreptococos.
- 4.— Entre las bacterias gramnegativas que tienen una respuesta eficaz al tratamiento con penicilina, se debe mencionar en primer lugar al gonococo. Otro germen de este grupo, que es también bastante sensible a la acción de esta droga, es el meningococo.
- 5.— En vista de la escasa o casi nula toxicidad de la penicilina, este agente terapéutico representa un arma de gran valor en el tratamiento de las infecciones mencionadas, sin tener los inconvenientes de las sulfonamidas.
- 6.— Debe tenerse presente que, aun entre los gérmenes catalogados como más sensibles al efecto de la penicilina, pueden darse casos de resistencia a la actividad antibiótica. Entonces, debe recurrirse a otros agentes terapéuticos, especialmente a las sulfonamidas que generalmente obran aquí en forma muy eficaz.
- 7.— También debe recordarse el hecho tantas veces observado, y de útil valor práctico, de la gran susceptibilidad que suelen

- tener los gérmenes sulfonamido-resistentes a la penicilina.
- 8.— La penicilina es tanto más eficaz cuanto más precoz es su aplicación, y deben seguirse las reglas generales ya anotadas sobre dosificación y vías de administración, que desde luego pueden variar en cada caso a criterio del médico, y basándose en el estudio cuidadoso del enfermo.
 - 9.— En muchos casos, no se debe esperar que el tratamiento con penicilina sea suficiente por sí solo; será necesario recurrir a una terapéutica mixta: intervención quirúrgica y aplicación de penicilina, ya sea por vía parenteral o local.
 - 10.— En algunos caso será de gran utilidad la medicación mixta, de penicilina y sulfonamidas.
 - 11.— Además de las conclusiones anteriores, de orden puramente clínico, hay que añadir que la penicilina tiene otros usos valiosos, como en bacteriología para medio de cultivo diferencial de los gérmenes hemófilos; y en la preparación de la vacuna antivariolosa, empleándola como agente antiséptico en vez del ácido fénico, o de los otros agentes comúnmente empleados.

BIBLIOGRAFIA SOBRE LA PENICILINA

1. ABRAHAM, E. P. Mode of action of chemotherapeutic agents, *Nature* 148:758, Dec. 1941; *Biochem. J.* 36:5, Feb. 1942; *Lancet* 2:762, Dec. 1941.
2. ABRAHAM, E. P.; BAKER, W.; CHAIN, E.; FLOREY, H. W.; HOLIDAY, E. R. & ROBINSON, R. Nitrogenous character of penicillin, *Nature* 149:356, 1942.
3. ABRAHAM, E. P. & CHAIN, E. Enzyme from bacteria able to destroy penicillin, *Nature* 146:837, Dec. 1940.
4. ABRAHAM, E. P. & CHAIN, E. Purification of penicillin, *Nature* 149:328, March 1942.
5. ABRAHAM, E. P. & CHAIN, E. Purification and some physical and chemical properties of penicillin, *Brit. J. Exper. Path.* 23:103, June 1942.
6. ABRAHAM, E. P.; CHAIN, E.; BAKER, W. & ROBINSON, R. Penicillamine, a characteristic degradation product of penicillin, *Nature* 151:107, Jan. 1943.
7. ABRAHAM, E. P.; CHAIN, E.; FLETCHER, C. M.; FLOREY, H. W.; GARDNER, A. D.; HEATLEY, N. G. & JENNINGS, M. A. Further observations on penicillin, *Lancet* 2:177, Aug. 1941.
8. ACKMAN, D. & SMITH, F. *Can. Med. Ass. Jour.* Dec. 1944.
9. ALARCÓN, A. C. Flemón del piso de la boca tratado con sal sódica de penicilina, en una niña con diabetes melitus, *Multa Paucis Medica (Méx)* 1:40, Marzo 1944.
10. ALBERGOTTI, J. M. Jr. Treatment of tetanus with tetanus antitoxin and penicillin, *J. South Carolina M. A.* 41:55, March 1945.
11. ALEXANDER, E. H. Case report: pneumococcal meningitis (type III) secondary to otitis media and mastoiditis, treated with penicillin—recovery, *Manitoba M. Rev.* 24:75, March 1944.
12. ALTEMEIR, W. A. Penicillin in surgery, *Lancet* 65:93, March 1945.
13. ANDERSON, D. G. Chemotherapy (Penicillin), *Kentucky M. J.* 43:99, Apr. 1945.
14. ANDERSON, D. G. The treatment of infections with penicillin, *New England J. Med.* 232:400, Apr. 1945; 423, Apr. 1945.
15. ANDERSON, H. W. Clavacin and the press, *Science* 98:282, Sept. 1943.
16. ANDERSON, J. D. & HILL, L. F. Penicillin in the treatment of severe staphylococcal bacteremia with complications; report of a case, *J. Iowa M. Soc.* 34:191, May 1944.
17. ANDREWS, C. H.; KING, H. & VAN DEN ENDE, M. Chemotherapeutic experiments with the viruses of influenza A, lymphogranuloma venereum and vaccinia, *J. Path. & Bact.* 55:173, April 1943.
18. ARMSTRONG, C. D.; HALPERN, R. M. & CUTTING, W. C. Prolongation of

- the action of penicillin after intramuscular injection, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 58:74, Jan. 1945.
19. ARNALDE, J. Urethritis gonococcica sulfonamido resistente tratada con sal sódica de penicilina, *Multa Paucis Medica* (Méx) 1:35, Marzo 1944.
 20. ARNALDE, J. Próstato-vesiculitis de origen gonococcico tratada con sal sódica de penicilina, *Multa Paucis Medica* (Méx) 1:55, Mayo 1944.
 21. ASHCAR, H. Contribuição ao estudo morfológico do *Penicillium notatum*, *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 2:309, Dec. 1942.
 22. ATKINSON, N. Antibacterial substances produced by molds; penicidin, product of growth of a penicillium, *Australian J. Exper. Biol. & M. Sc.* 20:287, Dec. 1942.
 23. ATKINSON, N. Antibacterial substances produced by molds; antibacterial substances produced by some common penicillia, *Australian J. Exper. Biol. & M. Sc.* 21:15, March 1943.
 24. ATKINSON, N. Antibacterial substances produced by microorganisms, with special references to those produced by molds, *M. J. Australia* 1:359, April 1943.
 25. ATKINSON, N. Antibacterial substances produced by molds; detection and estimation of antibacterial activity in vitro, *Australian J. Exper. Biol. & Med. Sc.* 21:127, June 1943.
 26. ATKINSON, N. & STANLEY, N. F. Antibacterial substances produced by molds; detection and occurrence of suppressors of penicidin activity, *Australian J. Exper. Biol. & M. Sc.* 21:249, Dec. 1943.
 27. ATKINSON, N. & STANLEY, N. F. Antibacterial substances produced by molds; mechanism of action of some penicidin suppressors, *Australian J. Exper. Biol. & M. Sc.* 21:255, Dec. 1943.
 28. AUGUSTINE, D. L.; WEINMAN, D. & McALLISTER, J. Rapid and sterilizing effect of penicillin sodium in experimental relapsing fever infections and its ineffectiveness in the treatment of trypanosomiasis (*T. lewisi*) and toxoplasmosis, *Science* 99:19, Jan. 1944.
 29. AYALA GONZÁLEZ, A. Pelviperitonitis con piosalpinx tratada con sal sódica de penicilina, *Multa Paucis Medica* (Méx) 1:29, Mayo 1944.
 30. AYER, J. B. Medical progress; neurology, *New England J. Med.* 228:422, April 1943.
 31. BACHARACH, A. L. Penicillin, *Brit. Med. J.* 2:434, 1943.
 32. BAEHR, G. Penicillin treatment of subacute bacterial endocarditis due to enterococcus, *Regional Meet. of Am. Coll. of Phys., New York Hospital*, Oct. 1944.
 33. BAGLEY, W. R. Administration of penicillin by the knee joint method, *Minnesota Med.* 28:205, March 1945.
 34. BAHN, J. M.; ACKERMAN, H. & CARPENTER, C. M. Development in vitro of penicillin-resistant strains of the gonococcus, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 58:21, Jan. 1945.
 35. BAIRD, K. H. Penicillin therapy of pneumococcal meningitis; report of a case with recovery following intraspinal, intracisternal and intraventricular administration of penicillin, *J. Pediat.* 26:287, March 1945.

36. BALL, S. Penicillin in acute otitis media and mastoiditis; a report of cases, *Arch. Otolaryng.* 41:109, Feb. 1945.
37. BARKER, A. N. Allergic reactions to penicillin, *Lancet* 1:177, Feb. 1945.
38. BARKER, L. F. Gradenigo syndrome complicated by pneumococcal meningitis; recovery after intensive treatment with penicillin and sulfadiazine, *Am. J. Med. Sc.* 206:701, Dec. 1943.
39. BARR, J. S. The use of penicillin in the Navy, *J. Bone & Joint Surg.* 26:380, April 1944.
40. BARRON, J. M. & MANFIELD, O. T. The local use of penicillin in soft tissue lesions, *Brit. M. J.* 1:521, April 1944.
41. BEADLE, G. W.; MITCHELL, H. K. & BONNER, D. Improvements in the cylinder-plate method for penicillin assay, *J. Bact.* 49:101, Jan. 1945.
42. BELL, J. F. & KAHN, O. B. Efficacy of some drugs and biologic preparations as therapeutic agents for tularemia, *Arch. Int. Med.* 75:155, March 1945.
43. BILLOWS, J. G. Penicillin therapy in ocular infections, *Am. J. Ophth.* 27:1206, 1944.
44. BENEDICT, R. G.; SCHMIDT, W. H.; COGHILL, R. D. & OLESON, A. P. Penicillin; III. The stability of penicillin in aqueous solution, *J. Bact.* 49:85, Jan. 1945.
45. BENNET, T. I. & PARKS, T. Penicillin in sulfonamide-resistant pneumonia with special reference to staphylococcal infection and empyema, *Lancet* 1:305, 1944.
46. BENTLEY, F. H.; THOMSON, S.; BINGHAM, A. K.; KEY, J. A. & WOSTENHOLM, M. H. Treatment of compound fractures by early wound suture and penicillin, *Lancet* 1:232, Feb. 1945.
47. BERG, G. A. Penicillin and other mold derivatives, *West Virginia M. J.* 39:272, Aug. 1943.
48. BEUTNER, R. Story of penicillin, *Hahnemann Monthly* 79:1, Jan. 1944.
49. BEYER, K. H.; PETERS, L.; WOODWARD, R. & VERWEY, W. F. The enhancement of the physiological economy of penicillin in dogs by the simultaneous administration of Para-amino-hippuric acid II, *J. Pharmacol. & Exper. Therap.* 82:310, Dec. 1944.
50. BEYER, K. H.; WOODWARD, R.; PETERS, L.; VERWEY, W. F. & MITTIS, P. A. *Science* 100:107, 1944.
51. BIGGAM, A. G. Modern drugs and tropical diseases, *Nature* 152:204, Aug. 1943.
52. BIGGER, J. W. Synergistic action of penicillin and sulfonamides, *Lancet* 2:142, July 1944.
53. BIGGER, J. W. Treatment of staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilization, *Lancet*, 2:497, Oct. 1944.
54. BINKLEY, G. W. & KULE, R. L. Rapid treatment of early syphilis with small doses of penicillin; observations in one hundred and fifty nine cases, *Arch. Dermat. & Syph.* 51:200, March 1945.
55. BIRKINSHAW, J. H. & RAISTRICK, H. Notatin, An antibacterial glucose aerodehydrogenase from *Penicillium notatum* Westling, *J. Biol. Chem.* 148:459, May 1943.

56. BIRKINSHAW, J. H.; RAISTRICK, H. & SMITH, G. Studies in biochemistry of microorganisms; fumaryl-dl-alanine (fumarono-dl-alanide), metabolic product of *Penicillium resticulosum* sp. nov., *Biochem. J.* 36:829, Dec. 1942.
57. BLAKE, F. G. The therapeutic indications of the sulfonamides and penicillin, *J. A. M. A.* 127:517, March 1945.
58. BLAKE, F. G. & CRAIGE, B. Jr. Penicillin in suppurative disease of lungs; report of 3 cases, *Yale J. Biol. & Med.* 15:507, Jan. 1943.
59. BLOOMFIELD, A. L.; KIRBY, W. M. M. & ARMSTRONG, C. D. A study of penicillin failures, *J. A. M. A.* 126:685, 1944.
60. BLOOMFIELD, A. L.; RANTZ, L. A. & KIRBY, W. M. M. Clinical use of penicillin, *J. A. M. A.* 124: 627, March 1944.
61. BLUMBERG, M. L. *Staphylococcus aureus* septicemia, *Arch. Pediat.* 60:580, Oct. 1943.
62. BODENHAM, D. C. Discussion on burns of the eyelids and conjunctiva, *Proc. Roy. Soc. Med.* 37:29, Nov. 1943; *Brit. M. J.* 2:522, Oct. 1943.
63. BODENHAM, D. C. Penicillin, *Brit. M. J.* 2:655, Nov. 1943; *Lancet* 2:639, Nov. 1943.
64. BODENHAM, D. C. Infected burns and surface wounds; value of penicillin, *Lancet* 2:725, Dec. 1943.
65. BOLAND, E. W.; HEADLEY, N. H. E. & HENCH, P. S. The effect of penicillin on rheumatoid arthritis, *J. A. M. A.* 126:820, 1944.
66. BOLLER, R. J. Case of staphylococcal septicemia treated with penicillin, *J. A. M. A.* 125:629, 1944.
67. BONDI, A. Jr. & DIETZ, C. C. Production of penicillinase by bacteria, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 56:132, 1944.
68. BONDI, A. Jr. & DIETZ, C. C. Relationship of penicillinase to the action of penicillin, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 56:135.
69. BONSTEIN, I. La pénicilline, un puissant extrait bacteriolitique, *Rév. Méd. de la Suisse Rom.* 63:206, Feb. 1943.
70. BORDLEY, J. E.; CROWE, S. J.; DOLOWITZ, D. A. & PICKRELL, K. L. Local Use of sulfonamides, gramicidin (tyrothricin) and penicillin in otolaryngology, *Ann. Otol. Rhin. & Laryng.* 51:936, Dec. 1942.
71. BORNSTEIN, S. Action of penicillin on enterococci and other streptococci, *J. Bact.* 39:383, April 1940.
72. BOUCHARD, L. C. R. *Acad. Sci.* 108:713, 1889.
73. BRONFENBRENNER, J. & FAVOUR, C. B. Increasing and prolonging blood penicillin concentrations following intramuscular administration, *Science* 101: 673, June 1945.
74. BROWN, J. G. & BOYLE, A. M. Penicillin checks growth of plante disease germs, *Science News Letter*, p. 198, March 1944.
75. BROWN, J. J. M. Early closure of soft tissue wounds with chemotherapeutic agents, *Brit. J. Surg.* 32:140, 1944.
76. BRUES, C. T. & DUNN, R. C. The effect of penicillin and certain sulfa drugs on the intracellular bacteroids of the cockroach, *Science* 101: 336, March 1945.
77. BURNS, B. H. & YOUNG, R. H. Compound fractures of the femur treated with the aid of penicillin, *Lancet* 1:236, Feb. 1945.

78. BUSH, M. T. & GOTH, A. Flavin; an antibacterial substance produced by an *Aspergillus flavus*, J. Pharmacol. & Exper. Therap. 78:164, June 1943.
79. BUSTOS LEAL, R. Peritonitis por gangrena apendicular tratada con sal sódica de penicilina, *Multa Paucis Medica (Méx)* 1:25, Nov. 1944.
80. BUTLER, E. C.; PERRY, K. M. & VALENTINE, F. C. Treatment of acute empyema with penicillin, *Brit. M. J.* 2:171, 1944.
81. BUTTON, E. L. Report on recent battle casualties treated with penicillin, *Brit. War. Office Pub. A. M. D. 7/90 D/43*.
82. BUXBAUM, L. & FIEGOLI, N. F. Penicilin; its use in media for isolation of *H. influenzae* from laryngeal cultures in obstructive laryngitis, *J. Bact.* 46: 543, Dec. 1943.
83. BUXTON, R. & KURMAN, R. Tetanus; a report of 2 cases treated with penicillin, *J. A. M. A.* 127:26, 1945.
84. CAIRNS, H. Gunshot wounds of the head in the acute stage, *Brit. M. J.* 1:33, Jan. 1944.
85. CAIRNS, H. Penicillin in head and spinal wounds, *Brit. J. Surg.* 32:199, 1944.
86. CAIRNS, H.; DUTHIE, E. S.; LEWIN, W. S. & SMITH, H. V. Pneumococcal meningitis treated with penicillin, *Lancet* 1:655, 1944.
87. CAIRNS, H.; EDEN, K. C. & SHORESTON, J. Investigations concerning the use of penicillin in war wounds, H. M. Stationary Office, London, 1943.
88. CAIRNS, H.; EDEN, K. C. & SHORESTON, J. A preliminary report on the treatment of head wounds with penicillin, *Brit. War Office Pub. A. M. D. 7/90 D/43*.
89. CAMERON, A. J. Penicillin in ophthalmic therapeutics, *Brit. M. J.* 1:222, Feb. 1945.
90. CAMPO POSADA, A. Gangrena gaseosa tratada eficazmente con penicilina, *Abbotterapia* 51:19, 1944.
91. CARLISLE, J. M. Early treatment of thermal burns, *J. M. Soc. New Jersey* 40:459, Dec. 1943.
92. CARTER, H. E. & DICKMAN, S. R. Anomalous amino nitrogen values, *J. Biol. Chem.* 149:571, Aug. 1943.
93. CASHEL, G. T. W. Treatment of ocular infections with penicillin, *Brit. M. J.* 1:420, March 1944.
94. CATCH, J. R.; COOK, A. H. & HEILBRON, I. M. Purification and chemistry of penicillin, *Nature* 150:633, Nov. 1942.
95. CINTRA DO PRADO, F. Penicilina, a nova arma antibacteriana, *Ann. Paulist. de Med. e Cir. (São Paulo)* 45:421, junho 1943.
96. CIPES, L. R. Penicillin in dentistry, *J. Am. Den. A.* 31:201, Feb. 1944.
97. CLARK, A. M.; COLEBROOK, L.; GIBSON, T.; THOMSON, M. L. & FOSTER, A. Penicillin and propamidine in burns; elimination of hemolytic streptococci and staphylococci, *Lancet* 1:605, May 1943.
98. CLIFTON, C. E. Large-scale production of penicillin, *Science* 98:69, July 1943.
99. CLUTTERBUCK, P. W.; LOVELL, R. & RAISTRICK, H. Studies in the biochemistry of microorganisms. XXVI. The formation from glucose by members of the *Penicillium chrysogenum* series of a pigment, an alkali-soluble protein, and penicillin — the antibacterial substance of Fleming, *Biochem. Jour.* 26: 1907, 1932.

100. COGHILL, R. D. Penicillin — Science's Cinderella, *Chem. Eng. News* 22:588, 1944.
101. COHEN, T. H. & PFAFF, R. O. Penicillin in dermatologic therapy; report of results in one hundred cases, *Arch. Dermat. & Syph.* 51:172, March 1945.
102. COHN, A. & SEIJO, I. M. The in-vitro effect of penicillin on sulfonamide-resistant and sulfonamide susceptible strains of gonococci, *J. A. M. A.* 124: 1125, April 1944.
103. COHN, A.; STUDDIFORD, W. E. & GRUNSTEIN, I. Penicillin treatment of sulfonamide-resistant gonococcal infections in female patients; preliminary report, *J. A. M. A.* 124:1124, April 1944.
104. COLBERT, R. M. Osteomyelitis of the frontal bone treated with penicillin, *Ann. Otol. Rhinol.* 53:522, 1944.
105. COLEMAN, R. & SAKO, W. Treatment of multiple furunculosis with penicillin, *J. A. M. A.* 126: 427, 1944.
106. COLLINS, B. C. Subacute bacterial endocarditis treated with penicillin, *J. A. M. A.* 126: 233, 1944.
107. COLLINS, E. G. & HUGHES, E. A. The treatment of chronic suppurative otitis media by the local application of penicillin and other drugs, *J. Lar. Otol.* 59:81, 1944.
108. COOK, A. H. Purification of penicillin, *Biochem. Jour.* 36:23, Dec. 1942.
109. COOK, A. H. & LACEY, M. S. An antibiotic from *Aspergillus parasiticus*, *Nature* 153:460, April 1944.
110. COOK, E. F. Standards for penicillin, *Science News Letter* 45:156, March 1944.
111. COOK, E. N.; POOL, T. L. & HERRELL, W. E. Further observations on penicillin in sulfonamide resistant gonorrhea, *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 18:433, Nov. 1943.
112. COPE, O. Case of the victims of the Coconut Grove fire at the Massachusetts General Hospital, *New England J. Med.* 221:138, July 1943.
113. CORNMAN, I. Survival of normal cells in penicillin solutions lethal to malignant cells, *Science* 99:247, March 1944.
114. COULTHARD, C. E.; MICHAELIS, R. & SHORT, W. F. Improved Penicillium product, *Mfg. Chemist*, 14:299, Sept. 1943.
115. COULTHARD, C. E.; MICHAELIS, R.; SHORT, W. F.; SYKES, G.; SKRIMSKIRE, G. E. H.; STANDFAST, A. F. B.; BIRKINSHAW, J. H. & RAISTRICK, H. Notatin: an antibacterial glucose-aerodehydrogenase from *Penicillium notatum* W. *Nature* 150:634, Nov. 1942.
116. COWAN, S. T. Effect of penicillin, *Lancet* 1:178, Feb. 1945.
117. CRADDOCK, S. Use of penicillin in cultivation of acne bacillus, *Lancet* 1:558, May 1942.
118. CRAIG, W. M.; THOMPSON, G. J.; HUTTER, A. M.; BARKSDALE, E. E.; PFEIFFER, C. C. & WOOLLEY, P. V. Jr. Penicillin; a progress report, *U. S. Naval Med. Bull.* 44:453, March 1945.
119. CRANCH, A. G. Early use of penicillin (?), *J. A. M. A.* 123:990, Dec. 1943.
120. CRAWFORD, T. & KING, E. F. Value of penicillin in treatment of superficial infections of eyes and lid margins, *Brit. J. Ophth.* 28:373, 1944.
121. CRIEP, H. L. Allergy to penicillin, *J. A. M. A.* 126:429, 1944.

122. CROSS, R. M. Penicillin in Weil's disease, *Lancet* 1:211, Feb. 1945.
123. CROWE, S. J.; FISHER, A. M.; WARD, A. T. Jr. & FOLEY, M. K. Penicillin and tyrothricin in otolaryngology based on bacteriological and clinical study of 118 patients, *Am. Otol. Rhin. & Laryng.* 52:541, Sept. 1943.
124. CROWE, S. J. & WARD, A. T. Jr. Local use of sulfadiazine, tyrothricin, penicillin and radon in otolaryngology, *North Carolina M. J.* 4:431, Oct. 1943.
125. CUNHA, A. M.; AREA LEÃO, A. E.; NERY GUIMARÃES, F. e CARDOSO, H. T. Ensaios terapeuticos com penicilina. I. Boubá (Framboesia, Pian, Yaws), *Memorias Inst. Oswaldo Cruz* 40:195, abril 1944.
126. CURRAN, H. R. & EVANS, F. R. Penicillin as a sporocidal agent, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 58:262, March 1945.
127. CUTLER, E. C. Penicillin. *Brit. M. J.* 2:655, Nov. 1943; *Lancet* 2:639, Nov. 1943; *J. A. M. A.* 124:117, Jan. 1944.
128. CUTLER, E. C.; MORTON, P. C. & SANDUSKY, W. R. Observations on the prophylactic use of penicillin in the wounds of aerial warfare, *Brit. J. Surg.* 32:207, 1944.
129. CUTTING, W. C.; HALPERN, R. M. & ARMSTRONG, C. A. Penicillin: miscellaneous pharmacological results, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 58:183, March 1945.
130. CHAIN, E. Chemical and physical properties of penicillin, *Nature* 148:758, Dec. 1941.
131. CHAIN, E. Mode of action of chemotherapeutic agents, *Lancet* 2:762, Dec. 1941.
132. CHAIN, E. Otras sustancias antibacterianas procedentes de bacterias y hongos. *Bol. Med. Brit.* 2:9, 1944.
133. CHAIN, E. y FLOREY, H. W. Penicilina, *Endeavour* 9:3, enero 1944.
134. CHAIN, E. & FLOREY, H. W. El descubrimiento de las propiedades quimioterapéuticas de la penicilina, *Bol. Med. Brit.* 2:5, 1944.
135. CHAIN, E. & FLOREY, H. W. *Ann. Rep. Chem. Soc.* 1944.
136. CHAIN, E.; FLOREY, H. W.; GARDNER, A. D.; HEATLEY, N. G.; JENNINGS, M. A.; ORR-EWING, J. & SANDERS, A. G. Penicillin as a chemotherapeutic agent, *Lancet* 2:226, Aug. 1940.
137. CHAIN, E.; FLOREY, H. W. & JENNINGS, M. A. Antibacterial substance produced by *Penicillium claviforme*, *Brit. J. Exper. Path.* 23:202, Aug. 1942.
138. CHAIN, E.; FLOREY, H. W. & JENNINGS, M. A. Identity of patulin and claviformin, *Lancet* 1:112, Jan. 1944.
139. CHAIN, E.; FLOREY, H. W.; JENNINGS, M. A. & WILLIAMS, T. I. *Brit. J. Exp. Path.* 24:108, 1943.
140. CHALLINOR, S. W. Production of penicillin, *Nature* 150:688, Dec. 1942.
141. CHALLINOR, S. W. & McNAUGHTAN, J. Production of penicillin, *J. Path. & Bact.* 55:441, Oct. 1943.
142. CHARNEY, J.; ALBURN, H. E. & BERNHART, F. W. Urinary excretion of penicillin in man after oral administration with gastric antacids, *Science* 101:251, March 1945.
143. CHASE, H. F. Penicillin, *Mod. Hosp.* 61:110, July 1943.
144. CHOW, B. F. & McKEE, C. M. Inactivation of the antibiotic activity of pe-

- nicillin by cysteine hydrochloride. I. Chemical aspects of inactivation, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 58:175, Feb. 1945.
145. CHRISTIANSON, G. W. Penicillin in cellulitis of the face; report of a case, *Jour. Oral Surg.* 2:83, Jan. 1944.
 146. CHRISTIE, R. V. Penicillin, *Brit. Med. Jour.* 2:655, Nov. 1943; *Lancet* 2:639, Nov. 1943.
 147. CHRISTIE, R. V. & GARROD, L. P. A review of a penicillin therapeutic research unit. *Brit. M. J.* 1:513, April 1944.
 148. DAHL, R. J. Penicillin — wonder drug, *Southeast Drug. Jour.* 18:18, Nov. 1943.
 149. DALE, H. A prospect in therapeutics, *Brit. M. J.* 2:411, Oct. 1943.
 150. D'ARBEU, A. L. & WAAL, H. L. Interim report on the efficiency of penicillin in the treatment of war wounds, *Brit. War Office Pub.* 7/90 D/43.
 151. DAWSON, M. H. & HOBBY, G. L. Clinical use of penicillin; observations in 100 cases, *J. A. M. A.* 124:611, March 1944.
 152. DAWSON, M. H.; HOBBY, G. L. & LIPMAN, M. D. Penicillin sensitivity of strains of nonhemolytic streptococci isolated from cases of subacute bacterial endocarditis, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 56:101, June 1944.
 153. DAWSON, M. H.; HOBBY, G. L.; MEYER, K. & CHAFFEE, E. Penicillin as chemotherapeutic agent, *Ann. Int. Med.* 19:707, Nov. 1943; *Jour. Clin. Investigation* 20:434, July 1941.
 - 154.—DAWSON, M. H. & HUNTER, T. H. The treatment of subacute bacterial endocarditis with penicillin, *J. A. M. A.* 172:129, Jan. 1945.
 155. DAY, L. A. Chancroid of the cervix, *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.* 20:70, March 1945.
 156. DELAFIELD, M. E. & STRAKER, E. Antiseptic snuffs, *Brit. Med. J.* 1:146, Feb. 1941.
 157. DELAFIELD, M. E. & STRAKER, E. Further observations on antiseptic snuffs, *Brit. M. J.* 2:221, Aug. 1941.
 158. DILL, W. W. Penicillin, *Pennsylvania Med. J.* 47:63, Oct. 1943.
 159. DOBBS, C. G. Mucorine parasite on penicillia, *Nature* 150:319, Sept. 1942.
 160. DOWNS, C. M. The effect of bactericidal agents on gram-negative cocci, *J. Bact.* 45:137, 1943.
 161. DUBOS, R. J. Studies on a bactericidal agent extracted from a soil bacillus. I. Preparation of the agent. Its activity in vitro, *J. Exper. Med.* 70:1, July 1939.
 162. DUBOS, R. J. Studies on a bactericidal agent extracted from a soil bacillus. II. Protective effect of the bactericidal agent against experimental pneumococcus infections in mice, *J. Exper. Med.* 70:111, July 1939.
 163. DUBOS, R. J. Bacteriostatic and bactericidal agents obtained from saprophytic organisms, *Jour. Pediat.* 19:588, Nov. 1941.
 164. DUBOS, R. J. & CATANEO, C. Studies on a bactericidal agent extracted from a soil bacillus. III. Preparation and activity of a protein-free fraction, *J. Exper. Med.* 70:249, Sept. 1939.
 165. DUFFIN, W. M. & SMITH, S. Penillic acid, optically active acid from penicillin, *Nature* 151:251, Feb. 1943.
 166. DUFRÈSNE, R. La pénicilline, *Union Med. Can.* 73:1202, 1943.

167. DUNFIELD, V. M. & MANDEL, A. Penicillin — the rapidity of its effect in the treatment of gonorrhea, *New York State J. Med.* 45:614, March 1945.
168. DUNHAM, W. B.; HAMRE, D. M.; MCKEE, C. M. & RAKE, G. Action of penicillin and other antibiotics on *Treponema pallidum*, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 55:158, March 1944.
169. EICHHORN, Presentation of a case, *Minnesota Med.* 27:285, April 1944.
170. EITZEN, O. Acute gangrenous appendicitis complicated by pyelophlebitis, *Ohio State M. J.* 40:325, April 1944.
171. ELDER, A. L. Fungi for penicillin production, *Science* 99:119, Feb. 1944.
172. EMMERICH, R. & LÖV, O. Enzima bacteriológica capaz de provocar inmunidad adquirida y de curar las infecciones, *Zentralbl. f. Bakt.* 26:237, 1899.
173. EPSTEIN, J. A. & CHAIN, E. *Brit. J. Exp. Path.* 21:339, 1940.
174. EPSTEIN, J. A.; FOLEY, E. J.; PERRINE, I. & LEE, S. W. Convenient assay method for penicillin and similar substances, *J. Lab. Clin. Med.* 29:319, 1944.
175. ERICKSEN, O. C. *Staphylococcus albus* osteomyelitis and septicemia treated with penicillin, *J. A. M. A.* 124:1053, April 1944.
176. EVANS, A. L. Treatment of intracranial infections with penicillin; report of 3 cases, *J. A. M. A.* 124:641, 1944.
177. FAXON, N. W. & CHURCHILL, E. D. The Cocoanut Grove disaster in Boston. A preliminary account, *J. A. M. A.* 120:1385, Dec. 1942.
178. FERGUSON, C. & BUCHHOLTZ, M. Penicillin therapy of gonorrhea in men, *J. A. M. A.* 125:22, May 1944.
179. FINDLAY, G. M.; FLEMING, A.; CHAIN, E. & ABRAHAM, E. P. The mode of action of chemotherapeutic agents, *Biochem. J.* 36:1, Feb. 1942.
180. FINDLAY, L. & KEMP, F. H. Osteomyelitis of the spine following lumbar puncture, *Arch. Dis Childhood* 18:102, June 1943.
181. FISCHER, A. M. Antibacterial properties of crude penicillin, *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 73:343, Nov. 1943.
182. FISK, R. T.; FOORD, A. G. & ALLES, G. Prolongation of penicillin activity by means of adrenalin, *Science* 101:124, Feb. 1945.
183. FLANNERY, W. E. A case of hemolytic streptococcus septicemia successfully treated with penicillin, *Lawrence County Med. Soc. Bull.* N° 2, Oct. 1943; *Nat. Eclectic Med. Assn. Quart.* 35:13, Dec. 1943.
184. FLEMING, A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*, *Brit. Jour. Exper. Path.* 10:226, 1929.
185. FLEMING, A. Some problems in the use of antiseptics, *Brit. Dent. Jour.* 52: 105, Aug. 1931.
186. FLEMING, A. On the specific antibacterial properties of penicillin and potassium tellurite, incorporating a method of demonstrating some bacterial antagonism, *Jour. Path. & Bact.* 35:831, 1932.
187. FLEMING, A. Selective bacteriostasis, *Second Internat. Congress for Microbiology, Report of Proceedings*, p. 33, 1936.
188. FLEMING, A. *Lancet* 2:74, 1938.
189. FLEMING, A. Chemotherapy for war wounds. Comparisons and combinations, *Brit. M. J.* 2:640, Nov. 1940.

190. FLEMING, A. Antiseptics in war-time surgery, *Pharmacut. J.* 145:162, Nov. 1940; 172, Nov. 1940; *Brit. M. J.* 2:715, Nov. 1940.
191. FLEMING, A. Discussion on chemotherapy and wound infections, *Proc. Roy. Soc. Med.* 34:342, April 1941.
192. FLEMING, A. Penicillin, *Brit. M. J.* 2:386, Sept. 1941.
193. FLEMING, A. Mode of action of chemotherapeutic agents, *Lancet* 2:761, Dec. 1941.
194. FLEMING, A. Mode of action of penicillin, *Nature* 148:757, Dec. 1941.
195. FLEMING, A. Simple method of using penicillin, tellurite, and gentian violet for differential culture, *Brit. M. J.* 1:547, May 1942.
196. FLEMING, A. In-vitro tests of penicillin potency, *Lancet* 1:732, June 1942.
197. FLEMING, A. Penicilina, *Prensa Médica Argentina* 29:1163, Julio 1942.
198. FLEMING, A. Streptococcal meningitis treated with penicillin; measurement of bacteriostatic power of blood and cerebro-spinal fluid, *Lancet* 2:434, Oct. 1943.
199. FLEMING, A. Micromethods of estimating penicillin in blood serum and other body fluids, *Lancet*, 247:620, 1944.
200. FLEMING, A. Penicillin, *Brit. Med. J.* 2:654, Nov. 1943; *Lancet* 2:638, Nov. 1943; *J. A. M. A.* 124:117, Jan. 1944.
201. FLEMING, A. El descubrimiento de la penicilina, *Bol. Méd. Brit.* 2:4, 1944.
202. FLEMING, A. Penicilina para el cultivo selectivo y para demostrar inhibiciones bacterianas, *Bol. Méd. Brit.* 2:7, 1944.
203. FLEMING, A. & FLOREY, H. W. Pharmaceutical manufacturers' award goes to work on penicillin, *J. A. M. A.* 123:982, Dec. 1943.
204. FLEMING, A. & FLOREY, H. W. Discoverer of penicillin honored by pharmaceutical manufacturers, *Drug Merchandising* 25:24, Jan. 1944; *Drug. Trade News* 18:25, Dec. 1943.
205. FLEMING, A. & MACLEAN, I. H. On the occurrence of influenza bacilli in the mouths of normal people, *Brit. Jour. Exper. Path.* 11:127, 1930.
206. FLEMING, A. y otros. Discussion on penicillin, *Proc. Roy. Soc. Med.* 37:101, Jan. 1944.
207. FLIPPIN, H. F. Penicillin therapy, *Delaware State M. J.* 17:37, March 1945.
208. FLIPPIN, H. F. The treatment of primary atypical pneumonia, *New York Med.* 1:11, March 1945.
209. FLOREY, H. W. Penicillin, *Brit. Med. J.* 2:654, Nov. 1943; *Lancet* 2:638; Nov. 1943; *J. A. M. A.* 124:117, Jan. 1944.
210. FLOREY, H. W. Penicillin; its development for medical uses, *Nature* 153:40, Jan. 1944.
211. FLOREY, H. W. & CAIRNS, H. A. A preliminary report to the War Office and the Medical Research Council on investigations concerning the use of penicillin in war wounds—1944.
212. FLOREY, H. W. & CAIRNS, H. A. Pharmaceutical preparations of penicillin, *Pharm. J.* 98:28, 1944.
213. FLOREY, H. W. & CAIRNS, H. A. Penicillin in war wounds; report from the Mediterranean, *Lancet* 2:742, Dec. 1943.
214. FLOREY, H. W. & CAIRNS, H. A. Treatment of war wounds with penicillin, *Brit. M. J.* 2:755, Dec. 1943; *Bull. War Med.* 4:319, Feb. 1944.

215. FLOREY, H. W. & CHAIN, E. The principles of penicillin treatment, *Brit. J. Surg.* 32:112, 1944.
216. FLOREY, H. W. & JENNING, M. A. Some biological properties of highly purified penicillin, *Brit. J. Exper. Path.* 23:120, June 1942.
217. FLOREY, H. W. y otros. *Lancet* 2:117, 1941.
218. FLOREY, M. E. Penicillin, *Brit. Med. J.* 2:656, Nov. 1943; *Lancet* 2:639, Nov. 1943.
219. FLOREY, M. E. Usos clínicos de la penicilina, *Bol. Méd. Brit.* 2:10, 1944.
220. FLOREY, M. E. & FLOREY, H. W. General and local administration of penicillin, *Lancet* 1:387, March 1943.
221. FLOREY, M. E. & WILLIAMS, R. E. O. Hand infections treated with penicillin, *Lancet* 1:73, Jan. 1944.
222. FOLEY, E. J.; EPSTEIN, J. A. & LEE, S. W. Effectiveness of penicillin on *Listerella*, *J. Bact.* 47:110, Jan. 1944.
223. FONSECA, A. A. Penicilina y sulfamidas. Ensayo para el estudio comparativo de sus propiedades y aplicaciones, Facultad (Méx) 1:6, Sept. 1944.
224. FORTES, A. Primer caso clínico tratado por penicilina en el Bishop Clarkson Memorial Hospital de Omaha, Nebraska, *Rev. Mex. Psiquiat. Neurol. y Med. Legal* 10:25, Enero 1944.
225. FOSTER, E. P.; McEACHERN, G. C.; MILLER, J. H.; BALL, F. E.; HIGLEY, C. S. & WARREN, H. A. The treatment of acute rheumatic fever with penicillin, *J. A. M. A.* 126:281, 1944.
226. FOSTER, J. W. Quantitative estimation of penicillin, *Jour. Biol. Chem.* 144:285, June 1942.
227. FOSTER, J. W. Microbiological aspect of penicillin formation, *J. Bact.* 45:65, Jan. 1943.
228. FOSTER, J. W. Acid formation from penicillin during enzymatic inactivation, *Science* 101: 205, Feb. 1945.
229. FOSTER, J. W. & KAROW, E. O. Microbiological aspects of penicillin; VIII. Penicillin from different fungi, *J. Bact.* 49:19, Jan. 1945.
230. FOSTER, J. W. & WILKER, B. L. Microbiological aspects of penicillin; turbidimetric studies on penicillin inhibition, *J. Bact.* 46:377, Oct. 1943.
231. FOSTER, J. W. & WOODRUFF, H. B. Improvements in cup assay for penicillin, *J. Biol. Chem.* 148: 723, June 1943.
232. FOSTER, J. W. & WOODRUFF, H. B. Microbiologic aspects of penicillin; methods of assay, *J. Bact.* 46:187, Aug. 1943.
233. FOSTER, J. W. & WOODRUFF, H. B. Microbiological aspects of streptothricin. Antibiotic activity of streptothricin, *Arch. Biochem.* 3:241, Dec. 1943.
234. FOSTER, J. W. & WOODRUFF, H. B. Microbiologic aspects of penicillin; procedure for cup assay for penicillin, *J. Bact.* 47:43, Jan. 1944; *J. Biol. Chem.* 148:723, 1944.
235. FOSTER, J. W.; WOODRUFF, H. B. & McDANIEL, L. E. Microbiological aspects of penicillin. Production of penicillin in surface cultures of *Penicillium notatum*, *J. Bact.* 46: 421, Nov. 1943.
236. FOX, H. J. Penicillin program at the U. S. Naval Hospital, Portsmouth, Va.; Observations and results, *War. Med.* 7:170, March 1945.
237. FRASER, D. B. Local penicillin for breast abscess, *Brit. M. J.* 1:523, 1944.

238. FREDERIC, G. B.; ROSS, S.; WASHINGTON, D. S. & STRAUS, C. Oral administration of penicillin. A preliminary report, *J. A. M. A.* 128:2, 1945.
239. FREE, A. H.; LEONARD, J. R.; McCULLOGH, D. R. & BIO, B. E. The urinary excretion of penicillin after oral administration to normal human subjects, *Science* 100:431, 1944.
240. FURLONG, R. & CLARK, J. M. On the use of penicillin to control infection in open fractures of the femur, *Brit. J. Surg.* 32:147, 1944.
241. GALLOWAY, L. D. & HOBSON, A. J. Penicillin dressing, *Nature* 153:170, Feb. 1944.
242. GARCÍA DE JALÓN, P. Sustancias antibacterianas naturales; Penicilina, *Farmacol. Therapeut.* 4:131, 1943.
243. GARDNER, A. D. Morphological effects of penicillin on bacteria, *Nature* 146: 837, Dec. 1940.
244. GARROD, L. P. Recent advances in the antiseptic treatment of wounds, *Bull. War Med.* 3:589, July 1943.
245. GARROD, L. P. The therapeutic use of penicillin, *Practitioner* 152:318, 1944.
246. GARROD, L. P. The treatment of war wounds with penicillin, *Brit. M. J.* 2: 755, Dec. 1943.
247. GARROD, L. P. The laboratory control of penicillin therapy, *Brit. M. J.* 1:528, April 1944.
248. GARROD, L. P. Penicilina: sus propiedades y poder como agente terapéutico, *Bol. Méd. Brit.* 2:2, 1944.
249. GENGE, D. Pneumococcal meningitis treated by penicillin, *Brit. M. J.* 1:369, March 1945.
250. GILFORD, G. H. Treatment of trachoma with penicillin, *Correspondance, Brit. M. J.* 1:232, Feb. 1945.
251. GLASSBURN, E. M. Facial paralysis in acute otitis media and the use of penicillin, *Arch. Otolaryng.* 41:218, March 1945.
252. GLISTER, G. A. New antibacterial agent produced by mould, *Nature* 148:470, Oct. 1941.
253. GOLD, H. Some recent advances in therapeutics, including the newer drugs of sulfonamide group, *Bull. New York Acad. Med.* 19:132, Feb. 1943.
254. GOODHILL, V. Penicillin treatment of cavernous sinus thrombosis, *J. A. M. A.* 125:28, 1944.
255. GOTS, J. S. & GLAZER, A. M. Stability and activity of penicillin in solution and in ointment, *War. Med.* 7:168, March 1945.
256. GRATIA, A. & DATH, S. Propriétés bacteriolitiques de certaines moisissures, *Compt. Rend. Soc. de Biol. Par.* 91:1442, 1924.
257. GRATIA, A. & DATH, S. Moisissures et microbes bacteriophages, *Compt. Rend. Soc. de Biol. Par.* 92:461, 1925.
258. GRAY, G. W. La ciencia en la guerra. Edit. Nuevo Mundo (Méx), 270, 1944.
259. GREEN, T. W. & BIRKELAND, J. M. The use of the developing chick embryo as a method of testing the antibacterial effectiveness of wound disinfectants, *J. Infect. Dis.* 74:32, Jan.-Feb. 1944.
260. GREENE, H. J. & ALTURE-WERBER, E. Penicillin as a prophylactic in abdominal surgery, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 58:211, March 1945.

261. GREEY, P. & MacDONALD, I. B. Penicillin Agar pastilles, *Canad. M. A. J.* 52:327, April 1945.
262. GREIFF, D. & PINKERTON, H. Inhibition of growth of typhus rickettsiae in yolk sac by penicillin, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 55:116, Feb. 1944.
263. GRIFFEY, W. P. Penicillin in treatment of gonorrheal conjunctivitis; report of case, *Arch. Ophth.* 31:162, Feb. 1944.
264. GUBIN, E. K. Penicillin, the wonder drug, *Hygeia* 21:642, Sept. 1943.
265. GUERRA, F. Quimioterapia por sustancias obtenidas de microorganismos, *América Clínica* 5:17, Enero 1943.
266. GUERRA PÉREZ CARRAL, F. La quimioterapia por microorganismos. La penicilina en el tratamiento de las endocarditis, *Arch. Latino Americanos de Cardiol. y Hemat.* 13:25, Enero-Febrero 1943.
267. GUERRERO, G. J. Método turbidimétrico para medir la potencia en la penicilina, *Actualidades de Endocr. y Quimioter.* (Méx) 3:30, Enero 1945.
268. GYÖRGY, P. & ELMES, P. C. Experiments on toxicity of calcium salt of penicillin, *Proc. Soc. Exper. & Med.* 55:76, Jan. 1944.
269. GYÖRGY, P.; VADEGRIFT, H. N.; ELIAS, W.; COLIO, L. G.; BARRY, F. M. & PILCHER, J. D. Administration of penicillin by mouth; preliminary report, *J. A. M. A.* 127:639, March 1945.
270. HAC, L. R. & HUBERT, A. C. Penicillin on treatment of experimental *Clostridium welchii* infection, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 53:61, May 1943.
271. HAC, L. R. & HUBERT, A. C. Experimental *Clostridium welchii* infection. Penicillin therapy, *J. Infect. Dis.* 74:164, 1944.
272. HAGEMAN, P. O.; MARTIN, S. P. & WOOD, W. B. Jr. Penicillin: clinical study of its therapeutic effectiveness, *J. A. M. A.* 124: 798, March 1944; *Proc. Central Soc. Clin. Research* 16:18, 1943.
273. HALLBERG, O. E. Spreading osteomyelitis of the maxilla, *Minnesota Med.* 28:126, Feb. 1945.
274. HAMPTON, S. F.; WINE, M. B.; ALLEN, W.; THOMPSON, C. S. & STARR, M. P. The clinical use of penicillin in the treatment of intrinsic bronchial asthma, *J. A. M. A.* 127:1108, April 1945.
275. HAMRE, D. M.; RAKE, G.; McKEE, C. M. & MacPHILLAMY, H. B. Toxicity of penicillin as prepared for clinical use, *Am. J. M. Sc.* 206:642, Nov. 1943.
276. HANSEN, H. N. & SNYDER, W. C. Relation of dual phenomenon in Penicillium notatum to penicillin production, *Science* 99:264, March 1944.
277. HARPER, G. J. Inhibition of penicillin in routine culture media, *Lancet* 2: 569, Nov. 1943.
278. HARRIS, F. I. Continuous intramuscular infusion of penicillin, *J. A. M. A.* 126:232, Sept. 1944.
279. HARTMANN, A. F. The use of penicillin in acute bacterial infections in childhood, *Week. Bull. St. Louis M. Soc.* 38:219, Feb. 1944.
280. HARVEY, H. D. & MELENEY, F. L. A case of infection with *Clostridium sordellii* and case of gas gangrene treated by penicillin, *Surgery* 15:622, April 1944.
281. HAWKING, F. Modern drugs and tropical diseases, *Nature* 152:204, Aug. 1943.
282. HEATH, P. Chemotherapy in ophthalmology, *J. A. M. A.* 124:152, 1944.

283. HEATLEY, N. G. A bacterial growth inhibitor—penicillin, its properties, uses and production, *J. Bact.* 43:645, 1942.
284. HEILMAN, D. H. New chemotherapeutic agents, *M. Woman's J.* 49:134, May 1942.
285. HEILMAN, D. H. A method for standardizing penicillin, *Am. J. M. Sc.* 207: 477, April 1944.
286. HEILMAN, D. H. & HERREL, W. E. Comparative antibacterial activity of penicillin and gramicidin; tissue cultures studies, *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 17:321, May 1942; *J. Bact.* 43:12, 1942.
287. HEILMAN, D. H. & WILLIAMS, H. L. Clinical use of penicillin, *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 17:609, Dec. 1942.
288. HEILMAN, F. R. & HERRELL, W. E. Penicillin in treatment of experimental relapsing fever, *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 18:457, Dec. 1943.
289. HEILMAN, F. R. & HERRELL, W. E. Penicillin in treatment of experimental ornithosis, *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 19:57, Feb. 1944.
290. HEILMAN, F. R. & HERRELL, W. E. Penicillin in treatment of experimental leptospirosis icterohaemorrhagica (Weil's disease), *Proc. Staff Meet Mayo Clin.* 19:89, Feb. 1944.
291. HEILMAN, F. R. & HERRELL, W. E. Penicillin in the treatment of experimental psittacosis, *Proc. Staff Meet, Mayo Clin.* 19:204, April 1944.
292. HELLMAN, A. M. & GUILFOIC, E. F. Treatment with penicillin after failure of sulfa drugs in case of vaginal plastic followed blood stream infection, *Am. J. Obst. & Gynec.* 47:125, Jan. 1944.
293. HEMMING, A. Penicillin, *Jour. Nat. Med. Assn.* 36:37, March 1944.
294. HEPLER, O. E. & SNOW, A. Penicillin; review, *Quart. Bull. Northwestern Univ. M. School*, 17:218, 1943.
295. HERBST, R. H. & MERRICKS, J. W. Staphylococcus albus septicemia following nephrolithotomy; recovery with penicillin, *J. A. M. A.* 127:518, March 1945.
296. HERRELL, W. E. Further observations on clinical use of penicillin, *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 18:65, March 1943.
297. HERRELL, W. E. Gramicidine and penicillin, *S. Clin. North America* 23: 1163, Aug. 1943; *Trained Nurse & Hosp. Rev.* 110:114, Feb. 1943.
298. HERRELL, W. E. Clinical use of penicillin; antibacterial agent of biological origin, *J. A. M. A.* 124:622, March 1944.
299. HERRELL, W. E. Role of penicillin in treatment of bacterial infections, *South. M. J.* 37:150, March 1944.
300. HERRELL, W. E.; COOK, E. N. & THOMPSON, L. Use of penicillin in sulfonamide resistant gonorrheal infections, *J. A. M. A.*, 122:289, May 1943.
301. HERRELL, W. E. & HEILMAN, D. H. Tissue cultures in citotoxicity of bactericidal agents; effects of gramicidin tyrocidine and penicillin on cultures of mammalian lymph node, *Am. J. M. Sc.* 205:157, Feb. 1943.
302. HERRELL, W. E. & HEILMAN, D. H. Tissue culture studies on citotoxicity of bactericidal agents; citotoxic and antibacterial activity of gramicidin and penicillin; comparison with other germicides, *Am. J. M. Sc.* 206:221, Aug. 1943.

303. HERRELL, W. E.; HEHLMAN, D. H. & WILLIAMS, H. L. Clinical use of penicillin, Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 17:609, Dec. 1942.
304. HERRELL, W. E. & NICHOLS, D. R. Calcium salt of penicillin, Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 18:313, Sept. 1943; Proc. Central Soc. Clin. Research 16:19, 1943; J. A. M. A. 124: 798, March 1944.
305. HERRELL, W. E. & NICHOLS, D. R. Penicillin in treatment of cellulitis of mouth, Am. J. Orthodontics (Oral Surg. Sect.) 30:1, Jan. 1944.
306. HERSH, J. H. Primary infection of maxillary sinus by Actinomyces Necrophorus, Arch. Otolaryng. 41:204, March 1945.
307. HERSHEY, F. B. & SMITH, W. E. Generalized vaccinia in an eczematous child; demonstration of virus and comment on "Kaposi's varicelliform eruption", Am. J. Dis. Child. 69:33, Jan. 1945.
308. HILL, C. The mold penicillium, Science 94:9, 1941.
309. HIRSCH, J. Penicillium notatum Fleming in bakteriyostatik tesirle barablar glukozu okside eden enzim ifrayi, Istanbul Seririyati, 25:151, 1943.
310. HIRSHFELD, J. W.; PHILLING, M. A.; BUGGS, C. W. & ABBOTT, W. E. Penicillin and skin grafting, J. A. M. A. 125: 1017, 1944.
311. HIRST, G. K. Direct isolation of influenza virus en chick embryos, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 58:155, Feb. 1945.
312. HOBBS, G. L. The antibacterial action of penicillin against gram-negative organisms, Science 100:500, 1944.
313. HOBBS, G. L. & DAWSON, M. H. Bacteriostatic action of penicillin on hemolytic Streptococci in vitro, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 56:178, 1944.
314. HOBBS, G. L. & DAWSON, M. H. Effect of rate growth of bacteria on action of penicillin, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 56:181, 1944.
315. HOBBS, G. L. & DAWSON, M. H. Relationship of penicillin to sulfonamide action, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 56:184, 1944.
316. HOBBS, G. L.; MEYER, K.; DAWSON, M. H. & CHAFFEE, E. The antibacterial action of penicillin, Jour. Bact. 43:11, 1942.
317. HOBBS, G. L.; MEYER, K. & CHAFFEE, E. Activity of penicillin in vitro, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 50:277, June 1942.
318. HOBBS, G. L.; MEYER, K. & CHAFFEE, E. Observations on mechanism of action of penicillin, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 50:281, June 1942.
319. HOBBS, G. L.; MEYER, K. & CHAFFEE, E. Chemotherapeutic activity of penicillin, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 50:285, June 1942.
320. HOBBS, G. L.; MEYER, K.; CHAFFEE, E. & DAWSON, M. H. The nature and action of penicillin, J. Bact. 45: 65, Jan. 1943.
321. HOBSON, A. J. & GALLOWAY, L. D. Home-made penicillin, Lancet 1:164, Jan. 1944.
322. HOBSON, A. J. & GALLOWAY, L. D. Home made penicillin, Lancet 1:230, Feb. 1944.
323. HOLIDAY, E. R. Spectrographic examination of penicillin preparations, Brit. J. Exper. Path. 23:115, June 1942.
324. HOLLENBERG, H. G. Letter, Jour. Arkansas Med. Soc. 40:134, Dec. 1943.
325. HOLMES, L. F. & LOOKWOOD, J. S. Studies on bioassay of penicillin, Am. J. M. Sc. 207:267, Feb. 1944.
326. HOOK, F. R. Surgical high lights of 1940, U. S. M. Bull. Jan. 1941.

327. HORN, P. & COWPER, H. H. Sodium penicillin in the treatment of presumably sulfonamide resistant female gonorrhea, *West. J. Surg.* 53:108, April 1945.
328. HOUGH, W. H. Intensive treatment of syphilis, *J. A. M. A.* 124:188, Jan. 1944.
329. HUDSON, R. V. Discussion on penicillin. Royal Society of Medicine, Nov. 1943; *Brit. M. J.* 2:654, Nov. 1943; *J. A. M. A.* 124:117, Jan. 1944.
330. HUMFELD, H. & FEUSTEL, I. C. Utilization of asparagus juice in microbiological culture media, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 54:232, Nov. 1943.
331. JACK, C. M. Acute osteomyelitis treated with penicillin, *Illinois M. J.* 87:148, March 1945.
332. JAHIEL, R.; GUBERMAN, E. & KAZDAN, R. Action of radioactive substances on the speed of growth of *Penicillium notatum* and the production of a potent penicillin, *Science* 100:298, 1944.
333. JEANS, W. D.; JEFFREY, J. S. & GUNDERS, K. Penicillin and smallpox, *Lancet* 2:44, 1944.
334. JEFFREY, J. S. Application of penicillin to war wounds, *Brit. J. Surg.* 32:124, 1944.
335. JEFFREY, J. S. Battle casualty fractures in Italy, *Brit. J. Surg.* 32:124, 1944.
336. JEFFREY, J. S. Penicillin in Military Surgery, *Mil. Surg.* 96:320, April 1945.
337. JEFFREY, J. S. & THOMSON, S. Gas gangrene in Italy, *Brit. J. Surg.* 32:159, 1944.
338. JEFFREY, J. S. & THOMSON, S. Penicillin in battle casualties, *Brit. M. J.* 2:1, 1944.
339. JOHNSON, H. M. Penicillin therapy of impetigo contagiosa and allied diseases: use of *Penicillium* inoculated dressing, *Arch. Dermatol. & syphil.* 24:353, 1943.
340. JOHNSTONE, D. F. Cavernous sinus thrombosis treated with penicillin, *Lancet*, 1945.
341. JOSEY, A. I. & KIRSHEMAN, F. E. Penicillin treatment of sulfareistant gonorrhea; result of 500 cases treated with 50,000 units of penicillin, *Ann. Int. Med.* 22:807, June 1945.
342. JOSLYN, D. A. Penicillin assay; outline of 4-hour turbidimetric method, *Science* 99:21, Jan. 1944.
343. JUDGE, J. F. Penicillin sodium in the treatment of sulfonamide-resistant gonorrhea, *J. M. Soc. New Jersey*, 42:45, Feb. 1945.
344. KAROW, E. O. & FOSTER, J. W. Antibiotic substance from species of *Gymnoascus* and *Penicillium*, *Science* 99: 265, 1944.
345. KATZ, H. Colitis ulcerativa; informe de un caso, *Rev. Gastroenterología* 12:47, Enero-Febrero 1945.
346. KEEFER, C. S. Penicillin, *Am. J. Nursing* 43:1076, Dec. 1943.
347. KEEFER, C. S. For penicillin trial, *Science News Letter* 45:140, Feb. 1944.
348. KEEFER, C. S. Discussion, symposium on antibiotic agents, *J. A. M. A.* 124:636, March 1944.
349. KEEFER, C. S. Penicillin — Its present status in the treatment of infections, *Phil. Med.* 40:969, March 1945.

350. KEEFER, C. S. Penicillin in the treatment of infections, *West. J. Surg.* 53: 93, April 1945.
351. KEEFER, C. S.; BROWN, W. & LYONS, C. Symposium on war medicine; chemotherapy: application and results, *Clinics* 2:1094, Feb. 1944.
352. KEEFER, C. S.; DUBOS, R.; LOCKWOOD, J. S. & MARSHALL, E. K. Jr. Symposium on war medicine; chemotherapy: pharmacology and toxicology, *Clinics* 2:1077, Feb. 1944.
353. KEEFER, C. S. y otros. Penicillin in the treatment of infections; report of 500 cases; statement by Committee on Chemotherapeutic and Other Agents, Division of Medical Sciences, National Research Council, *J. A. M. A.* 122: 1217, Aug. 1943.
354. KEENEY, E. L.; AJELLO, L. & LANKFORD, E. Studies on common pathogenic fungi and on *Actinomyces bovis*. In vitro effect of sulfonamides. In vitro effect of penicillin, *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 75:377, 393, 410, 1944.
356. KEMPF, J. E. & HERRICK, J. A. Effect of penicillin in experimental *Staphylococcus osteomyelitis* in rats, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 58:100, Jan. 1945.
357. KEPL, M.; OCHSNER, A. & DIXON, J. L. Two cases of *Clostridium welchii* infection treated with penicillin, *J. A. M. A.* 126:96, 1944.
358. KEYES, J. E. L. Recent advances in clinical ophthalmology, *Ohio State M. J.* 39:1110, Dec. 1943.
359. KEYES, J. E. L. Penicillin in ophthalmology, *J. A. M. A.* 126: 610, 1944.
360. KIRBY, W. M. M. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant *Staphylococci*, *Science* 99:452, 1944.
361. KIRBY, W. M. M. Stability of penicillin solutions at room and incubator temperatures, *J. A. M. A.* 125:628, 1944.
362. KIRBY, W. M. M. & HEPP, V. E. Treatment of osteomyelitis of the facial bones with penicillin, *J. A. M. A.* 125:1019, 1944.
363. KIRK, N. T. Surgeon General Kirk issues statement on penicillin, *J. A. M. A.* 123:974, Dec. 1943.
364. KIRTLLEY, J. A. Jr. & TRABUE, C. C. Surgical activities of an Overseas General Hospital, *J. Tennessee M. A.* 38:68, March 1945.
365. KLUMP, T. G. Penicillin and related products; their present and future possibilities, *N. A. R. D. Jour.* 65:1636, Oct. 1943.
366. KOCHOLATY, W. Microbial antagonism and *Brucella abortus*, *J. Bact.* 44: 143, July 1942.
367. KOCHOLATY, W. Cultural characteristics of *Penicillium notatum* in relation to production of antibacterial substance, *J. Bact.* 44:469, Oct. 1942.
368. KOCHOLATY, W. Purification and properties of penatin; second antibacterial substance produced by *P. notatum* Westling. *Arch. Biochem.* 2:73, April, 1943; *Science* 97:186, Feb. 1943.
369. KOCHOLATY, W. Penatin, the second antibacterial substance produced by *Penicillium notatum* Westling "77", *J. Bact.* 47:313, Sept. 1943.
370. LAWRENCE, C. A. Sterility test for penicillin, *Science* 98:413, Nov. 1943.
371. LAWRENCE, C. A. Action of clarase upon penicillin, *Science* 99:15, Jan. 1944.
372. LAWRENCE, C. A. Effects of enzyme preparations upon penicillin; I. A method for testing penicillin for sterility, *J. Bact.* 49:47, Jan. 1945.

373. LAWRENCE, C. A. Effects of enzyme preparations upon penicillin; II. Agents responsible for penicillin inactivation, *J. Bact.* 49:57, Jan. 1945.
374. LEE, S. W.; FOLEY, E. J.; EPSTEIN, J. A. & WALLACE, J. H. Jr. Improvements in turbidimetric assay for penicillin, *J. Biol. Chem.* 152:485, Feb. 1944.
375. LENTINO, A. S. El penicillin; un nuevo agente contra la infección bacteriana, *Bol. Inst. Clin. Quir. (Bs. As.)* 19:491, Julio-Agosto 1943; *Semana Méd.* 2:559, Sept. 1943; *Día Méd.* 15:1062, Sept. 1943.
376. LENTZ, J. W.; INGRAHAM, N. R.; BEERMAN, H. & STOKES, J. H. Penicillin in the prevention and treatment of congenital syphilis, *J. A. M. A.* 126:408, 1944.
377. LEOPOLD, I. H. Intravitreal penetration of penicillin and penicillin therapy of infections of the vitreous, *Arch. Ophthalm.* 33:211, March 1945.
378. LEWIS, M. R. The failure of purified penicillin to retard growth of grafts of sarcoma in mice, *Science* 100:314, 1944.
379. LEWIS, R. M. Modern methods of procedure in obstetric and gynecologic practice, *South. Med. J.* 36: 363, May 1943.
380. LIBBY, R. L. *Science* 101:178, 1945.
381. LIKELY, D. S. & SWIRSKY, M. Y. Staphylococcus aureus septicemia treated with penicillin, with report of drug side effects, *J. A. M. A.* 123:956, Dec. 1943.
382. LINNER, J. H. Suppurative myositis and purulent arthritis complicating acute gonorrhea; report of case, *J. A. M. A.* 123:757, 1943.
383. LIONS, F. Penicillin, gramicidin and related substances. Part I. Penicillin, *Australian J. Sc.* 6:17, Aug. 1943.
384. LITTLE, C. J. H. & LUMB, G. Penicillin by mouth, *Lancet* 1:203, Feb. 1945.
385. LOCKHEAD, A. G. & TIMONIN, M. Effect of glucose on penicillin potency tests, *Canad. J. Pub. Health* 34:236, May 1943.
386. LOCKWOOD, J. S.; WHITE, W. L. & MURPHY, F. D. The use of penicillin in surgical infections, *Ann. Surg.* 120:311, 1944.
387. LOEWE, L.; ROSENBLATT, P.; GREENE, H. J. & RUSSELL, M. Combined penicillin and heparin therapy of subacute bacterial endocarditis; report of 7 consecutive successfully treated patients, *J. A. M. A.* 124:144, Jan. 1944.
389. LOEWE, L.; ROSENBLATT, P.; GREENE, H. J. & RUSSELL, M. Combined penicillin and heparin therapy of subacute bacterial endocarditis. Exhibit, Regional meeting of the Am. Coll. of Phys. New York Acad. Med. Oct. 1944.
390. LONGAKER, H. G.; HOLDERBY, C. E. & HORNE, M. L. Gas gangrene. Report of a severe case with recovery, *Virginia M. Month.* 72:164, April 1945.
391. LOURIE, E. M. & COLLIER, H. O. J. Therapeutic action of penicillin on *Spirochaeta recurrentis* and *Spirillum minus* in mice, *Ann. Trop. Med.* 37:200, Dec. 1943.
392. LUCAS, C. C. Penicillin, History, culture, extraction, assay, chemical and clinical properties, and an outline of the Toronto studies, *Can. Chem. Process Ind.* 27:529, Sept. 1943.
393. LUECK, A. G. & EDGE, C. O. Penicillin in pneumonia, *U. S. Naval M. Bull.* 44:480, March 1945.
394. LYONS, C. Symposium on management of Coconut Grove burns at Massa-

- chusetts General Hospital; problems of infection and chemotherapy, *Ann. Surg.* 117:894, June 1943.
395. LYONS, C. Penicillin therapy of septic gunshot fractures. Paper presented at Southern Medical Association meeting, Cincinnati, Nov. 1943.
 396. LYONS, C. Penicillin therapy of surgical infections in the U. S. Army; report, *J. A. M. A.* 123:1007, Dec. 1943.
 397. LYONS, C. Penicillin therapy of surgical infections in the U. S. Army, *J. A. M. A.* 125:705, 1944.
 398. McADAM, I. W. J.; DUGUID, J. P. & CHALLINOR, S. W. Systematic administration of penicillin, *Lancet* 2:336, 1944.
 399. McALLISTER, J. Rapid and sterilizing effect of penicillin sodium in experimental relapsing fever infections and its ineffectiveness in treatment of trypanosomiasis (*T. lewisi*) and toxoplasmosis, *Science* 99:19, Jan. 1944.
 400. McCORQUODALE, D. W. Penicillin — its past, present and future, *Am. Druggist* 108:44, 1943.
 401. McCULLOCH, R. J. P. Gonococcal conjunctivitis treated with penicillin, *Canad. M. A. J.* 52:284, March 1945.
 402. McCUNE, W. S. & EVANS, J. M. Intraventricular penicillin in the treatment of staphylococcal meningitis, *J. A. M. A.* 125:705, 1944.
 403. McDERMOTT, W.; BUNN, P. A.; BENOIT, M.; DUBOIS, R. & HAYNES, W. Oral penicillin, *Science* 101:228, March 1945.
 404. McDOWELL, F. Treatment of burns in World War II as observed by Lieut. Colonel James Brown, *Week. Bull. St. Louis M. Soc.* 37:173, Jan. 1943.
 405. McEWAN, R. J. B. & BICKERTON, J. W. Battle casualty fractures of the femur: treaument with penicillin, *Brit. J. Surg.* 32:154, 1944.
 406. MCGREGOR, A. B. & LONG, D. A. Penicillin pastilles for oral infections, *Brit. M. J.* 2:686, 1944.
 407. McIntOSH, J. & SELBIE, F. R. Zinc peroxide, proflavine and penicillin in experimental *Clostridium welchii* infections, *Lancet* 2:750, Dec. 1942.
 408. McIntOSH, J. & SELBIE, F. R. Chemotherapeutic drugs in anaerobic infections of wounds, *Lancet* 1:793, June 1943.
 409. McIntOSH, J. & SELBIE, F. R. Combined action of antitoxin and local chemotherapy on *Cl. welchii* infection in mice, *Lancet* 2:224, Aug. 1943.
 410. McIntOSH, J. & SELBIE, F. R. The production of drug resistant cultures of bacteria in vitro and a study of their interrelationships, *Brit. J. Exper. Path.* 24:246, Dec. 1943.
 411. McKEE, C. M.; HAMRE, D. M. & RAKE, G. The action of antibiotics on organisms producing gas gangrene, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 54:211, Nov. 1943.
 412. McKEE, C. M. & HOUCK, C. L. Induced penicillin resistance in pneumococcus type III culture, *Federation Proc.* 2:100, March 1943.
 413. McKEE, C. M. & HOUCK, C. L. Induced resistance to penicillin of cultures of staphylococci, pneumococci and streptococci, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 53:33, May 1943.
 414. McKEE, C. M.; HOUCK, C. L. & MENZEL, A. E. D. Studies on penicillin. Production and antibiotic activity, *J. of Immunology* 48:259, 1944.
 415. McKEE, C. M. & McPHILLANEY, H. B. An antibiotic substance produced by

- submerged cultivation of *Aspergillus flavus*, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 53:247, June 1943.
416. McKEE, C. M. & RAKE, G. Biological experiments with penicillin, J. Bact. 43:645, May 1942.
 417. McKEE, C. M. & RAKE, G. Activity of penicillin against strains of pneumococci resistant to sulfonamide drugs, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 51:275, Nov. 1942.
 418. McKNIGHT, W. B.; LOWENBERG, R. D. & WRIGHT, V. L. Penicillin in gas gangrene; report of successfully treated case, J. A. M. A. 124:360, Feb. 1944.
 419. MACLEAN, I. H. A modification on the cough plate method of diagnosis in Whooping Cough, J. Path. & Bact. 45:473, Sept. 1937.
 420. MACLEAN, I. H. Penicillin, Lancet 2:345, 1940.
 421. McMAHAN, J. R. An improved short time turbidimetric assay for penicillin, J. Biol. Chem. 153:249, April 1944.
 422. MACNEAL, W. J. & POIDEXTER, C. A. Apparent arrest of staphylococcal endocarditis, Am. Heart J. 29:403, March 1945.
 423. McNULTY, P. H. Pneumococcus meningitis secondary to fractured skull treated with penicillin, Manitoba M. Rev. 24:11, Jan. 1944.
 424. MAHONEY, J. F.; ARNOLD, R. C. & HARRIS, A. Penicillin vs. Syphilis, Science, Science News Letter 44:259, Oct. 1943.
 425. MAHONEY, J. F.; ARNOLD, R. C. & HARRIS, A. Penicillin treatment of early syphilis; preliminary report, Am. J. Pub. Health 33: 1387, Dec. 1943; Ven. Dis. Inform. 24:355, Dec. 1943.
 426. MAHONEY, J. F.; FERGUSON, C.; BUCHHOLTZ, M. & VAN SLYKE, C. J. Use of penicillin sodium in treatment of sulfonamide-resistant gonorrhea in men; preliminary report, Am. J. Syph. Gonorr. & Ven. Dis. 27:525, Sept. 1943.
 427. MALLORY, T. B. Case records of the Massachusetts General Hospital: case 29162, New England J. Med. 228:519, April 1943.
 428. MALLORY, T. B. Case records of the Massachusetts General Hospital: case 29371, New England J. Med., 229:481, Sept. 1943.
 429. MARSHALL, E. K. Penicillin. War Dept. Med. Bull. n^o 9, 1, 1944.
 430. MARTIN, K. E. & SCHNEIDER, R. F. The use of penicillin in Streptococcus viridans blood stream infection, Ohio State M. J. 41:237, 1945.
 431. MELENEY, F. L. The difficulty of evaluating drug treatment in surgical infections, J. A. M. A. 124:1021, 1944.
 432. MEOLA, F. Pneumococcus meningitis treated with penicillin. Report of a case. Ohio State M. J. 40:327, April 1944.
 433. MEYER, K.; CHAFFEE, E.; HOBBY, G. L.; DAWSON, M. H.; SCHIEWENK, E. & FLEISCHER, G. On penicillin, Science 96:20, July 1942.
 434. MEYER, K.; HOBBY, G. L. & DAWSON, M. H. Chemotherapeutic effect of esters of penicillin, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 53:100, June 1943.
 435. MEYER, K.; HOBBY, G. L. & CHAFFEE, E. On esters of penicillin, Science 97:205, Feb. 1943.
 436. MILES, A. A. Some problems of wound infection, Lancet 2:507, Nov. 1943.
 437. MILLER, C. P. Studies on the action of penicillin. III. Bactericidal action of penicillin on meningococcus in vitro, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 56: 205, 1944.

438. MILLER, C. P. & FOSTER, A. Z. Studies on the action of penicillin. II. Therapeutic action of penicillin on experimental meningococcal infection in mice, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 56:166, 1944.
439. MILLER, C. P.; SCOTT, W. W. & MOELLER, V. Studies on the action of penicillin. I. The rapidity of its therapeutic affect on gonococcal urethritis, *J. A. M. A.* 125: 607, 1944.
440. MILNER, J. G. Penicillin in Ophthalmology, *Brit. M. J.* 2:175, 1944.
441. MIRANDA, C. Purification of vaccine pulp by mixture of glycerin and penicillin, *Foreign Letters, J. A. M. A.* 127:476, Feb. 1945.
442. MITCHELL, R. M. & KAMINESTER, S. Penicillin; case report of patient who recovered from puerperal sepsis hemolytic streptococcus septicemia, *Am. J. Surg.* 63:136, Jan. 1944.
443. MOORE, J. E.; MAHONEY, J. F.; SCHWARTZ, W. H.; STERNBERG, T. H. & WOOD, W. B. The treatment of early syphilis with penicillin, a preliminary report of 1,418 cases, *J. A. M. A.* 126:67, 1944.
444. MOORE, S. W. & GLENN, F. The treatment of infected wounds, *Surg. Clin. North. America* 23:344, April 1943.
445. MORAGUES, V. & PINKERTON, H. J. *Exper. Med.* 79:41, 1944.
446. MORAGUES, V.; PINKERTON, H. & GREIFF, D. Therapeutic effectiveness of penicillin in experimental murine typhus infection, *J. Exper. Med.* 79:431, 1944.
447. MORGAN, H. J. Treatment of gonorrhea and syphilis in the U. S. Army, *Mil. Surg.* 96:127, Feb. 1945.
448. MORGAN, H. V.; CHRISTIE, R. V. & ROXBURGH, I. A. Experiences in the systemic administration of penicillin, *Brit. M. J.* 1:515, 1944.
449. MORRIS, G. E. & DOWNING, J. G. Bullous dermatitis (Dermatitis medicamentosa) from penicillin, *Clin. Notes, J. A. M. A.* 127:711, March 1945.
450. MORTARA, F.; FEINER, R. R. & LEVENKRON, E. Activity of penicillin against *Hemophilus ducreyi* in vitro, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 56:163, 1944.
451. MOWLEM, R. Surgery and penicillin in mandibular infections, *Brit. M. J.* 1:517, April 1944.
452. MUCH, H. *Med. Klin.* 20:347, 1924.
453. MUIR, R. D. & VALLEY, G. A suggested sterility test for penicillin, *Science* 101:390, April 1945.
454. MURPHY, F. D.; LA BOCCETTA, A. C. & LOCKWOOD, J. S. The treatment of human anthrax with penicillin, *J. A. M. A.* 126: 948, 1944.
455. MURRAY, A. F. Antibacterial properties of crude penicillin, *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 73: 343, 1942.
456. MYERS, W. C. & HANSON, H. J. New strains of *Penicillium notatum* induced by bombardment with neutrons, *Science* 101:357, April 1945.
457. NELSON, A. W.; CHARD, F. H.; HANCHETT, L. J.; AYERS, E.; STEPITA, C. T. & RODRIGUEZ, J. Penicillin in the treatment of syphilis and gonorrhea, *South. M. J.* 38:204, March 1945.
458. NELSON, N. A. Penicillin in gonorrhea, *Drug Trade News* 18:26, Oct. 1943.
459. NETER, E. Relative susceptibility of staphylococci to the bacteriostatic action of antibiotics, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 58:126, Feb. 1945.

460. NICHOLSON, W. F. & STEVENSON, C. R. Intrapleural penicillin in penetrating wounds of the chest, *Brit. J. Surg.* 32:176, 1944.
461. NICHOLSON, W. M. & ANDERSON, W. B. Penicillin in the treatment of cavernous sinus thrombosis; recovery with unilateral ascending optic atrophy, *J. A. M. A.* 126:12, 1944.
462. NORCROSS, N. C. Early repair of neural wounds with penicillin therapy, *Arch. Surg.* 50:67, Feb. 1945.
463. NOTH, P. H. & HIRSHFELD, J. W. Amebic abscess of liver with secondary infection; local treatment with penicillin, *J. A. M. A.* 124:643, March 1944.
464. OARD, H. C.; JORDON, E. V.; NIMAROFF, M. & PHILAN, W. J. The treatment of gonorrheal urethritis with sulfonamides and penicillin combined, *J. A. M. A.* 125:323, 1944.
465. OXFORD, A. E. Antibacterial substances from molds. III. The bacteriostatic powers of the mold products Citrinin and penicillic acid, *Chem. & Ind.* 61:48, 1942.
466. OXFORD, A. E. Antibacterial substances from moulds; bacteriostatic powers of methyl ethers fumigatin and spinulosin and other hydroximetoxi and hidroximetoxi derivatives of toloquinone and benzoquinone, *Bull. Hyg.* 17: 875, Dec. 1942.
467. OXFORD, A. E. & RAISTRICK, H. Antibacterial substances form moulds; spinulosin and fumigatin, metabolic products of *Penicillium spinulosum* Thom and *Aspergillus fumigatus* Fresenius, *Bull. Hyg.* 17:875, Dec. 1942.
468. O'LEARY, P. A. & HERRELI, W. E. Penicillin in treatment of late cutaneous syphilis; report of case, *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 19:20, Jan. 1944.
469. PAGE, S. G. & HEIMOFF, L. L. One-day treatment of sulfonamide-resistant acute gonorrhea with penicillin; a preliminary report, *Virginia M. Month.* 71:423, 1944.
470. PARKINS, W. M.; WILEY, M.; CHANDY, J. & ZINTEL, H. A. Maintenance of the blood level of penicillin after intramuscular injection, *Science* 101:203, Feb. 1945.
471. PASTEUR, L. & JOUBERT, J. F. *Compt. Rend. Acad. Sci.* 85:101, 1877.
472. PEAT, C. Supply of penicillin, *Brit. M. J.* 1:27, Jan. 1944.
473. PECK, F. B. Penicillin; with special reference to its use in infections complicating diabetes, *Am. J. M. Sc.* 208:581, 1944.
474. PFIZER, C. Company. Antibacterial substances—penicillin, *Chem. & Engin. News* 21:1430, Sept. 1943.
475. PHILPOT, F. J. A penicillin-like substance from *Aspergillus giganteus* Wehm, *Nature* 152:725, Dec. 1943.
476. PHILLIPS, S. M. *Penicillium*, the mold, I. II. *Mfg. Chemist.* 14:70, March-April, 1943.
477. PILCHER, C. & MEACHAM, W. F. Chemotherapy of intracranial infections; treatment of experimental staphylococcic meningitis with intrathecal administration of penicillin, *J. A. M. A.* 123:330, Oct. 1943.
478. PILCHER, C. & MEACHAM, W. F. The treatment of pneumococcal meningitis by intrathecal administration of penicillin, *J. Neuro-Surg.* 1:76, Jan. 1944.
479. PITTMAN, M. A. Penicillin in treatment of osteomyelitis and other infections—case report, *Virginia M. Month.* 71:66, Feb. 1944.

480. PLATOU, R. V.; HILL, A. J.; INGRAHAM, N. R.; GOODWIN, M. S.; WILKINSON, E. E. & HANSEN, A. E. Penicillin in the treatment of infantile congenital syphilis, *J. A. M. A.* 127:582, March 1945.
481. POWELL, H. M. & JAMIESON, W. A. Response of sulfonamide-fast pneumococci to penicillin, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 49:387, March 1942.
482. POWELL, H. M. & JAMIESON, W. A. Penicillin chemotherapy of mice infected with *Staphylococcus aureus*, *J. Indiana M. A.* 35:361, July 1942.
483. POWELL, H. M. & RICE, R. M. Ineffective penicillin chemotherapy of arthritic rats infected with pleuropneumonia-like organisms, *J. Lab. & Clin. Med.* 29:372, April 1944.
484. PRIEST, W. S. Penicillin therapy in relation to the problems of industrial Medicine and Surgery, *Indust. Med.* 14:110, Feb. 1945.
485. PULVERTAFT, R. J. V. Bacteriology of war wounds, *Lancet* 2:1, July 1943.
486. PULVERTAFT, R. J. V. Local therapy of war wounds with penicillin, *Lancet* 2:341, Sept. 1943.
487. RAIZISS, W. G. Penicillin in oil suspension. Bacteriostatic and Spirocheticidal agent, *Science* 100:414, 1944.
488. RAKE, G. & JONES, H. Rapid method for estimation of penicillin, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 54:189, Nov. 1943.
489. RAKE, G.; JONES, H. & MCKEE, C. M. Antiluminiscent activity of antibiotic substances, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 52:136, Feb. 1943.
490. RAKE, G.; MCKEE, C. M.; HAMRE, D. M. & HOUCK, C. L. Studies on penicillin. Observations on therapeutic activity and toxicity, *J. Immunology* 48:271, 1944.
491. RAKE, G.; MCKEE, C. M. & JONES, H. A rapid test for the activity of certain antibiotic substances, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 51:273, Nov. 1942.
492. RALSTON, J. Crude penicillin filtrate for local treatment, *Brit. M. J.* 1:654, 1944.
493. RAMMELKAMP, C. H. Method for determining concentration of penicillin in body fluids and exudates, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 51:95, Oct. 1942.
494. RAMMELKAMP, C. H. Mode of action of gramicidine and penicillin in the treatment of infections, *J. Bact.* 45:66, Jan. 1943.
496. RAMMELKAMP, C. H. & BRADLEY, S. E. Excretion of penicillin in man, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 53:30, May 1943.
497. RAMMELKAMP, C. H. & HELM, J. D. Jr. Excretion of penicillin in bile, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 54:31, Oct. 1943.
498. RAMMELKAMP, C. H. & HELM, J. D. Jr. Studies on absorption of penicillin from stomach, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 54:324, Dec. 1943.
499. RAMMELKAMP, C. H. & KEEFER, C. S. Absorption, excretion and toxicity of penicillin administered by intrathecal injection, *Am. J. M. Sc.* 205:342, March 1943.
500. RAMMELKAMP, C. H. & KEEFER, C. S. Absorption, excretion and distribution of penicillin, *J. Clin. Investigation* 22:425, May 1943.
501. RAMMELKAMP, C. H. & KEEFER, C. S. Penicillin; its antibacterial effect in

- whole blood and serum for hemolytic *Streptococcus* and *Staphylococcus aureus*, *J. Clin. Investigation* 22:649, Sept. 1943.
502. RAMMELKAMP, C. H. & MAXON, T. Resistance of *Staphylococcus aureus* to action of penicillin, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 51:386, Dec. 1942.
 503. RANDALL, W. A.; PRICE, C. W. & WELCH, H. Estimation of penicillin in body fluids, *Science* 101:365, April 1945.
 504. RANDALL, W. A.; WELCH, H. & HUNTER, A. C. The stability of penicillin sodium held at various temperatures, *J. Am. Pharmaceut. A. (Scient. Ed.)* 34:110, April 1945.
 506. RANTZ, L. A. & KIRBY, W. M. M. Action of penicillin on *Staphylococcus* in vitro. *J. Immunology* 48:335, 1944.
 507. RAO, S. S. Production of penicillin, *Nature* 154:83, 1944.
 508. RAO, S. S. & DE, S. P. Penicillin. *Current Science* 12:20, 1943.
 509. RAPER, K. B. & COGHILL, R. D. "Home made" penicillin, *J. A. M. A.* 123: 1135, Dec. 1943.
 510. REID, R. D. Some properties of a bacterial-inhibitory substance produced by a mould, *J. Bact.* 29:215, 1935.
 511. RIBA, L. W.; SCHMIDLAPP, C. J. & BOSWORTH, N. L. The use of penicillin for gonorrhea resistant to sulfonamide compounds; report of 450 cases, *War. Med. Clin.* 6:72, 1944.
 512. RICHARDS, A. N. Penicillin; statement released by Committee of Medical Research, *J. A. M. A.* 122:235, May 1943.
 513. RIDLON, J. R. & GEYER, A. B. Rheumatic pericardial effusion treated successfully with penicillin, *Northwest. Med.* 44:111, April 1945.
 514. RIVERO BORNEL ARIAS & CORDOBA, T. Gonorrhea sulfamida resistente tratada con sal sódica de penicilina, *Multa Paucis Medica (Méx)* 1:31, Mayo 1944.
 515. RIVERO BORRELL, L. & BUSTAMANTE, E. Gonorrhea sulfonamido resistente tratada con sal sódica de penicilina, *Multa Paucis Medica (Méx)* 1:28, Marzo 1944.
 516. ROBERTS, E. A. H. *Quart. J. Exp. Physiol.* 27:89, 1937.
 517. ROBERTS, E. C. y otros. Penicillin B, antibacterial substance from *Penicillium notatum*, *J. Biol. Chem.* 147:47, 1943.
 518. ROBERTSON, I. M. Penicillin in bone infection, *Brit. M. J.* 1:519, April 1944.
 519. ROBINSON, G. H. & WALLACE, J. E. Inoculated penicillin dressing, *Science* 98:329, Oct. 1943.
 520. ROBINSON, H. J. Toxicity and efficacy of penicillin, *J. Pharmacol. & Exper. Therap.* 77:70, Jan. 1943.
 521. ROBINSON, J. N. Penicillin, *Brit. M. J.* 2:655, Nov. 1943; *Lancet* 2:639, Nov. 1943; *J. A. M. A.* 124:117, Jan. 1944.
 522. ROBINSON, J. N. Penicillin therapy in gonorrhea, *Brit. J. Surg.* 32:211, 1944.
 523. ROBINSON, R. Suggestion respecting bacteriostatic metabolic products of moulds, *Nature* 152:162, Aug. 1943.
 524. ROBSON, J. M. Recent progress in chemotherapy, *Chem. Products* 6:11, 1942.
 525. ROBSON, J. M. Experimental corneal ulcers, *Brit. J. Ophth.* 28:15, 1944.
 526. ROBSON, J. M. & SCOTT, G. I. Effect of certain chemotherapeutic agents on experimental eye lesions produced by *Staphylococcus aureus*, *Nature* 149: 581, May 1942.

527. ROBSON, J. M. & SCOTT, G. I. Local chemotherapy in experimental lesions of eye produced by *Staphylococcus aureus*, *Lancet* 1:100, Jan. 1943.
528. ROBSON, J. M. & SCOTT, G. I. Production and treatment of experimental pneumococcal hypopyon ulcers in rabbit, *Brit. J. Exper. Path.* 24:50, April 1943.
529. ROCK, J. & MENKIN, M. The prolongation of penicillin retention in the body by means of para-amino-benzoic acid, *Science* 100:103, 1944.
530. ROJAS, J. T. La sal sódica de penicilina en la hepatitis infecciosa, *Multa Paucis Medica (Méx)* 1:40, Mayo 1944.
531. ROMANSKY, M. J. & RITTMAN, G. E. A method of prolonging the action of penicillin, *Science* 100:196, 1944.
532. ROSENBERG, D. H. & ARLING, P. A. Penicillin in the treatment of meningitis, *J. A. M. A.* 125:1011, Aug. 1944.
533. ROSENBERG, D. H. & ARLING, P. A. The treatment of cerebrospinal fever with penicillin; a preliminary report, *U. S. Navy M. Bull.* Aug. 1944.
534. ROXBURGH, I. A.; CHRISTIE, R. V. & ROXBURGH, A. C. Penicillin in the treatment of certain diseases of the skin, *Brit. M. J.* 1:524, April 1944.
535. RUSSEK, H. I.; SMITH, R. H. & DERMAN, H. Penicillin in the treatment of subacute bacterial endocarditis, *Ann. Int. Med.* 22:863, June 1945.
536. RUSSEK, H. I.; SMITH, R. H. & ZOHMAN, B. L. Subacute bacterial endocarditis complicated by agranulocytosis; report of case with recovery, *Ann. Int. Med.* 22:867, June 1945.
537. SANDES, G. M. Vulvovaginitis in children *Brit. M. J.* 1:160, Jan. 1944.
538. SANZ ASTOLFI, J. La penicilina y sus problemas, *Ciencia (Méx)* 5:50, Julio 1944.
539. SCARCELLO, N. S. Penicillin in sulfonamide-resistant gonorrhea, *N. England J. M.* 231:609, 1944.
540. SCUDI, J. V. & JELINEK, V. C. On the inhibition of urease by penicillin, *Science* 100:312, 1944.
541. SCHAFF, B. & IVEY, H. T. Penicillin in the treatment of osteomyelitis, *M. Bull. Vet. Admin.* 20:369, April 1944.
542. SCHALES, O. Mode of action of some antibacterial mould products, *Arch. Biochem.* 2:487, Aug. 1943.
543. SCHLOSSBERG, T. Staphylococcal septicemia treated with penicillin, *Brit. M. J.* 1:326, March 1944.
544. SCHMIDT, L. Oral administration of penicillin, *Correspondence, Brit. M. J.* 1:385, March 1945.
545. SCHMIDT, L. H. & SESLER, C. L. Development of resistance to penicillin by pneumococci, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 52:353, April 1943.
546. SCHMITT, G. F. Penicillin; a review of the literature through 1943, *Am. J. M. Sc.* 207:661, May 1944.
547. SCHNITZER, R. J.; CAMAGNI, L. J. & BUCK, M. Resistance of small colony variants (G forms) of *Staphylococcus* towards bacteriostatic activity of penicillin, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 53:75, May 1943.
548. SCHOENBACH, E. B. & SEIDMAN, L. R. Selective medium for isolation of *Hemophilus influenzae*, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 49:108, 1942.

549. SCHONWALD, P. A new era in the fight against microbes, *Dis. of Chest* 10: 41, Jan.-Feb. 1944.
550. SCHULMAN, H. Actinomyces, pleural and abdominal, treated with penicillin; case report, *M. Bull. Veterans Administration* 21:230, Oct. 1944.
551. SCHWARTZMAN, G. Enhanced production of penicillin in fluid medium containing cellophane, *Science* 100:390, 1944.
552. SCHWARTZMAN, G. Inhibition of *E. coli* by penicillin, *Science* 100:477, 1944.
553. SCHWARTZMAN, G. On the nature of refractoriness of certain gram-negative bacilli to penicillin, *Science* 101:276, March 1945.
554. SEARLS, H. H. & HARRAL, P. The management of compound comminuted fractures of the long bones, *Surg. Clin. North America* 23:1637, Dec. 1943.
555. SELBIE, F. R. & McINTOSH, J. The action of chemotherapeutic drugs and excipients on healthy tissue, *J. Path. Bact.* 55: 477, Oct. 1943.
556. SHERWOOD, M. B.; FALCO, E. A. & DE BEER, E. J. A rapid quantitative method for the determination of penicillin, *Science* 99:247, March 1944.
557. SIEBENMANN, C. O. & PLUMMER, H. Chemotherapy and antitoxin of experimental *Cl. welchii* infection in mice, *J. Pharmacol. & Exper. Therap.* 83:71, Jan. 1945.
558. SIEVERS, J. J.; KNOTT, L. W. & SOLOWAY, H. M. Penicillin in the treatment of ophthalmia neonatorum, *J. A. M. A.* 125:690, 1944.
559. SILVERTHONE, N. Penicillin in treatment of haemolytic staphylococcal septicemia, *Canad. M. A. J.* 49:516, Dec. 1943.
560. SIMON, S. M. Untoward effects of penicillin: prophylactic use in spina bifida operation, *Clin. Med.* 52:87, March 1945.
561. SLADE, E. R. Penicillin; preliminary review of literature, *West. J. Surg.* 51: 494, Dec. 1943.
562. SMITH, L. The bacteriostatic agent of *Penicillium chrysogenum*, *J. Franklin Inst.* 234:396, 1942.
563. SMITH, L. B.; COHEN, F. & NICHOLS, R. G. Agranulocytosis treated with penicillin, *J. A. M. A.* 126:1027, 1944.
564. SMITH, L. D. & HAY, T. The effect of penicillin on the growth and morphology of *Staphylococcus aureus*, *J. Franklin Inst.* 233:598, 1942.
565. SMITH, M. I. & EMMART, E. W. The action of *Penicillium* extracts in experimental tuberculosis, *Pub. Health. Rep.* 59:417, March 1944.
566. SNOOK, R. R. Aspiration pneumonia with beginning lung abscess treated with penicillin, *J. Kansas M. Soc.* 46:40, Feb. 1945.
567. SOKOLOFF, B. The Story of Penicillin. Edit. Ziff-Davis. 1945.
568. SOPHIAN, L. H. The use of penicillin in topical application, *Am. J. M. Sc.* 208:577, 1944.
569. SORSBY, A. Ophthalmia neonatorum, *Brit. M. J.* 2:723, Dec. 1943.
570. SPINK, W. W.; FERRIS, V. & VIVINO, J. J. Comparative in vitro resistance of staphylococci to penicillin and to sodium sulfathiazole, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 55:207, March 1944.
571. SPINK, W. W.; FERRIS, V. & VIVINO, J. J. Antibacterial effect of whole blood upon strains of staphylococci sensitive and resistant to penicillin, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 55:210, March 1944.
572. STANLEY, A. R. Clarase inactivation of penicillin, *Science* 99:59, Jan. 1944.

573. STEINER, M. Gram-negative bacilli susceptibility to penicillin, U. S. Naval M. Bull. 44:486, March 1945.
574. STERNBERG, T. H. & TURNER, T. B. The treatment of sulfonamide-resistant gonorrhea with penicillin sodium, J. A. M. A. 126:157, 1944.
575. STOKES, J. H.; STERNBERG, T. H.; SCHWARTZ, W. H.; MAHONEY, J. F.; MOORE, J. E. & WOOD, W. B. The action of penicillin in late syphilis, J. A. M. A. 126:73, 1944.
576. STRAUSS, H. Cure by penicillin following repeatedly unsuccessful sulfonamide therapy in pregnant woman with gonorrhea, Am. J. Obst. & Gynec. 47:271, Feb. 1944.
577. STRUBLE, G. C. & BELLOWES, J. G. Studies on the distribution of penicillin in the eye and its clinical application, J. A. M. A. 125: 685, 1944.
578. SWEENEY, T. J. S.; MORGINSON, W. J.; ROBINSON, R. W. & KILPATRICK, E. M. Therapeutic effectiveness of penicillin in treatment of Vincent's stomatitis and its failure to influence favorably certain other medical conditions, J. Lab. & Clin. M. 30:132, Feb. 1945.
579. TAUBER, H.; LAUFER, S. & GOEL, M. Color test for citrinin and a method for its preparation, J. Am. Chem. Soc. 64:2228, 1942.
580. TAYLOR, H. G. Growth of *Penicillium notatum* on various media and development of antibacterial substance, Proc. Soc. Exper. Biol & Med. 52:299, April 1943.
581. TAYLOR, P. H. & HUGHES, K. E. Penicillin for skin diseases, Brit. M. J. 1:699, 1944.
582. TEMPLETON, H. J.; CLIFTON, C. E. & SEEBERG, V. P. Local application of penicillin for pyogenic dermatoses, Arch. Dermat. & Syph. 51:205, March 1945.
583. THOM, C. Mold research and medicine, Oil, Paint & Drug Reporter 145:7, 50, 51, 56, Jan. 1944.
584. THOMAS, A. R. Jr.; LEVINE, M. & VITAGLIANO, G. R. Simplified procedures for ascertaining concentration of and bacterial susceptibility to penicillin, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 55:264, April 1944.
585. THOMPSON, J. G. The clinical use of penicillin in genitourinary infections, Chairman's Address, J. A. M. A. 126:403, 1944.
586. THOMSON, S. T. The bacteriological examination of wounds treated with penicillin, Brit. J. Surg. 32:129, 1944.
587. THORNTON, F. E. & MCKEE, A. P. The value of testing for penicillin resistance before administration in cases of chronic osteomyelitis, J. Iowa M. Soc. 35:125, April 1945.
588. TILLET, W. S.; CAMBIER, M. J. & HARRIS, W. H. Jr. Sulfonamide-fast pneumococci. Clinical report of 2 cases of pneumonia together with experimental studies on effectiveness of penicillin and tyrothricin against sulfonamide-resistant strains, J. Clin. Investigation 22:249, March 1943.
589. TILLET, W. S.; CAMBIER, M. J. & MCCORMACK, J. E. Treatment of lobar pneumonia and pneumococcal empyema with penicillin, Bull. New York Acad. Med. 20:142, March 1944.
590. TODD, E. W.; TURNER, G. S. & DREW, G. W. Temporary character of "fastness" of staphylococci to penicillin, Brit. M. J. 1:111, 1945.

591. TOLOVI, J. Penicilina, *Rev. Quim. Farm.* 8:5, 1943.
592. TRUMPER, M. & HUTTER, A. M. Prolonging effective penicillin action, *Science* 100:432, 1944.
593. TRUCKER, J. P. Nature and clinical use of penicillin, *Ohio State M. J.* 40: 127, Feb. 1944.
594. T'UNG, T. Concentration and preservation of crude penicillin, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 54:103, Oct. 1943.
595. T'UNG, T. In vitro action of penicillin alone, and in combination with sulfathiazole on *Brucella* organisms, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 56:8, 1944.
596. TURNER, J. C.; HEATH, F. K. & MAGASANIK, B. Inhibition of urcase by penicillin, *Nature* 152:326, 1943.
597. TURNER, T. B. & STERNBERG, T. H. Management on the venereal diseases in the Army, *J. A. M. A.* 124:133, Jan. 1944.
598. UNGAR, J. Synergistic effects of para-amino-benzoic acid and sulphapyridine on penicillin, *Nature*, 152:133, Aug. 1943.
599. UZMAN, L. Penicillin, *Istanbul Seririyati* 24:68, 25:6, 1942-43.
600. VAN BRUGGEN, J. T.; REITHIEL, F. J.; CAIN, C. K.; KATZMAN, P. A.; DOISY, E. A.; MUIR, R. D.; ROBERTS, E. C.; GABY, W. L.; HOMAN, D. M. & JONES, L. R. Penicillin B; preparation, purification and mode of action, *J. Biol. Chem.* 148:365, May 1943.
601. VAN SLYKE, C. J.; ARNOLD, R. C. & BUCHHOTLZ, M. Penicillin therapy in sulfonamide-resistant gonorrhea in men, *Am. J. Pub. Health* 53:1392, Dec. 1943.
602. VAN WINKLE, W. Jr. & HERWICK, R. P. Penicillin — A review, *J. Am. Pharm. A. (Scient. Ed.)* 34:97, April 1945.
603. VERGARA SOTO, C. La penicilina en un caso de septicemia estreptocócica, *Multa Paucis Medica (Méx)* 1:45, Mayo 1944.
604. VILLAR, R. DEL; SANTILLÁN VILLASEÑOR, M. & BARRENA, C. Caso clínico de un proceso de sinusitis y osteomielitis del maxilar, *Multa Paucis Medica (Méx)* 1:14, Marzo 1944.
605. VINCENT, J. G. & VINCENT, H. W. Filter paper disc modification of the Oxford cup penicillin determination, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 55:162, March 1944.
606. VOGEL, J. Penicillin for all, *Science News Letter* 44:350, Nov. 1943; *Drug Trade News* 18:33, Nov. 1943.
607. VON GUTTFELD, F. J. Use of penicillin in statu nascendi, *Virginia M. Monthly* 71:39, Jan. 1944.
608. VON SALLMANN, L. Penicillin and sulfadiazine in treatment of experimental intraocular infection with pneumococcus, *Arch. Ophth.* 30:426, Oct. 1943.
609. VON SALLMANN, L. Penicillin and sulfadiazine in treatment of experimental intraocular infections with *Staphylococcus aureus* and *Clostridium welchii*, *Arch. Ophth.* 31:54, Jan. 1944.
610. VON SALLMANN, L. & MEYER, K. Penetration of penicillin into eye, *Arch. Ophth.* 31:1, Jan. 1944.
611. WAKSMAN, S. A. Antagonistic relations of microorganisms, *Bact. Rev.* 5: 231, Sept. 1942.

612. WAKSMAN, S. A. Nature and mode of action antibiotic substances, J. Bact. 45:64, Jan. 1943.
613. WAKSMAN, S. A. & BUGIE, E. Action of antibiotic substances upon *Ceratomyxa ulmi*, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 54:79, Oct. 1943.
614. WAKSMAN, S. A. & HORNING, E. Distribution of antagonistic fungi in nature and their antibiotic action, Mycologia 35:47, Jan.-Feb. 1943.
615. WAKSMAN, S. A. & REILLY, H. C. A rapid and accurate method for testing penicillin production, J. Bact. 47:308, 1944.
616. WAKSMAN, S. A. & WOODRUFF, H. B. Selective antibiotic action of various substances of microbial origin, J. Bact. 44:373, Sept. 1942.
617. WALKER, A. E. & JOHNSON, H. C. Convulsive factor in commercial penicillin, Arch. Surg. 50:69, Feb. 1945.
618. WALKER, J. M. & HAMILTON, J. W. The treatment of actinomycosis with penicillin, Ann. Surg. 121:373, March 1945.
619. WALLACE, W. E. Gramicidin and penicillin, S. Clin. North America 23: 1163, Aug. 1943.
620. WARING, A. J. & SMITH, M. H. Combined penicillin and sulfonamide therapy in the treatment of pneumococci meningitis, J. A. M. A. 126: 418, 1944.
621. WATSON, C. J.; DEEDS, D.; DE GOWIN, E. L. & ROSENBERG, D. H. Discussion on penicillin, J. A. M. A. 124:798, March 1944.
622. WATSON, R. F.; ROTHBARD, S. & SWIFT, H. F. The use of penicillin in rheumatic fever, J. A. M. A. 126:274, 1944.
623. WEINSTEIN, A. A. Penicillin — specific antibacterial agent, Marquette M. Rev. 8:158, Oct. 1943.
624. WELCH, H.; PRICE, C. W.; NIELSEN, J. K. & HUNTER, A. C. The acute toxicity of commercial penicillin, J. Lab. Clin. M. 29:809, 1944.
625. WELCH, H.; PUTNAM, L. E.; RANDALL, W. A. & HERWICK, R. Penicillin X, J. A. M. A. 126:1024, 1944.
626. WHITE, E. C. Antibacterial filtrates from cultures of *Aspergillus flavipes*, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 54:258, Nov. 1943.
627. WHITE, W. L.; BURNETT, W. E.; BAILEY, C. P.; ROSEMOND, G. P. & OUCH. Penicillin in the prevention of postoperative empyema, J. A. M. A. 126: 1016, 1944.
628. WILKINS, W. H. & HARRIS, G. C. Investigation into production of bacteriostatic substances by fungi; preliminary examination of 100 fungi species, Brit. J. Exper. Path. 23:166, Aug. 1942.
629. WILKINS, W. H. & HARRIS, G. C. Investigation into production of bacteriostatic substance by fungi. Preliminary examination of second hundred fungal species, Brit. J. Exper. Path. 24:141, Aug. 1943.
630. WILSON, U. New rapid method for penicillin assay, Nature 152:475, Oct. 1943.
631. WILLIAMS, H. L. & NICHOLS, D. R. Spreading osteomyelitis of frontal bone treated with penicillin, Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 18:467, Dec. 1943.
632. WISE, A. W. & SHAFER, L. E. Purulent pericardial effusion treated with penicillin given intrapericardially, J. A. M. A. 127:583, March 1945.
633. WISE, C. R. & PILLSBURY, D. M. Penicillin therapy in syphilis, Brit. J. Surg. 32:214, 1944.

634. WITLIN, B. & WILBAR, C. L. Jr. Effect of penicillin on experimentally produced plague in Guinea pigs, *J. Lab. & Clin. Med.* 30:237, March 1945.
635. WOLF, J. W. Thrombosis of the cavernous sinus with hemolytic streptococcal bacteremia; treatment by the intravenous injection of sulfadiazine and penicillin, with recovery, *Arch. Otolaryng. Clin.* 40:33, 1944.
636. WOLMAN, M. B.; CUTTING, W. C. & CUTTING, M. W. Simple technique for estimation of penicillin in blood and other body fluids, *J. Lab. & Clin. Med.* 30:161, Feb. 1945.
637. WONG, W. W. Penicillin and gramicidin as ocular chemotherapeutic agents, *Arch. Ophth.* 31:165, Feb. 1944.
638. WOOD, W. B. Jr. & MOORE, R. A. Case report of Barnes Hospital No 32; Ulcerative colitis, *J. Missouri Med. Assn.* 40:353, Nov. 1943.
639. WOOD, W. S.; HOLTZMAN, S.; GOODYEAR, A. F. & RICH, C. Gas gangrene treated by penicillin, *Illinois M. J.* 87:145, March 1945.
640. WOODRUFF, H. B. & FOSTER, J. W. Microbiological aspects of penicillin; Bacterial penicillinase, *J. Bact.* 49:7, Jan. 1945.
641. WRONG, N. M. Penicillin therapy in skin infections, *Canad. M. A. J.* 52:341, April 1945.
642. WYMARK, A. La penicilina — último milagro de la ciencia médica, *Rev. San. Mil. (Habana)* 7:221, Oct.-Dic. 1943.
643. X. Chemotherapy of war wounds, *Brit. M. J.* 2:640, 1940.
644. X. Antiseptic snuffs, *Brit. M. J.* 1:162, Feb. 1941.
645. X. Penicillin: An antiseptic of microbic origin, *Brit. M. J.* 2:310, Aug. 1941.
646. X. When dog eats dog, *Lancet* 2:345, Sept. 1941.
647. X. Chemotherapeutic activity of penicillin, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 50:285, June 1942.
648. X. Penicillin purified, *Lancet* 2:189, Aug. 1942.
649. X. Penicillin and other chemotherapeutic agents, *Am. Professional Pharmacist* 8:491, Aug. 1942.
650. X. Cavernous sinus thrombosis, *Brit. M. J.* 2:612, Nov. 1942.
651. X. Penicillin, *Brit. M. J.* 1:481, April 1943.
652. X. Evaluation of wound antiseptics, *Lancet* 1:871, June 1943.
653. X. Penicillin fast bacteria, *J. A. M. A.* 122:748, July 1943.
654. X. International Medical Digest W. F. Prior Co., Inc., Hagerstown, Maryland 43:59, July 1943.
655. X. Penicillin, *Internat. Med. Digest* 43:59, July 1943.
656. X. Sale of penicillin restricted. War Production Board. *J. A. M. A.* 122:816, July 1943.
657. X. Penicillin and gas bacillus infection, *South. Med. J.* 36: 539, July 1943.
658. X. Penicillin, new chemotherapeutic agent, *Am. Profess. Pharmacist* 9:429, July 1943; 9:500, Aug. 1943.
659. X. Penicillin, *Med. J. Australia* 2:153, Aug. 1943.
660. X. Penicillin, *Science* 98:192, Aug. 1943.
661. X. Supplies and distribution of penicillin; Statement by Medical Research Council, *Brit. M. J.* 2:276, Aug. 1943.
662. X. Venereal disease treatment, *Military Surgeon* 93: 216, Aug. 1943.
663. X. More on penicillin, *Drug Merchandising* 24:16, Sept. 1943.

664. X. Green mold to yellow magic; factual story of penicillin, new wonder drug, *Pacific Drug Rev.* 55:29, Sept. 1943.
665. X. Penicillin — A digest, *West Coast Druggist* 25:34, Sept. 1943.
666. X. Penicillin and gonorrhea, *J. Michigan M. Soc.* 42:706, Sept. 1943.
667. X. Penicillin, *Canad. Pharmaceut. J.* 76:604, Oct. 1943.
668. X. Jury decides in favor of penicillin, *Drug Trade News* 18:28, Oct. 1943.
669. X. Penicillin for syphilis, *Newsweek*, p. 93, Oct. 1943.
670. X. Squibb chairman announces isolation of pure penicillin, *Drug Trade News* 18:33, Oct. 1943.
671. X. Progress with penicillin, *Lancet* 2:546, Oct. 1943.
672. X. Antibiotic substances produced by microorganisms, *Ann. Int. Med.* 19:691, Oct. 1943.
673. X. Facts about penicillin, the new wonder drug, *Midwest Druggist* 18:22, Oct. 1943.
674. X. Penicillin, *Bull. U. S. Army Med. Dept.* 69:1, Oct. 1943.
675. X. Penicilina, *Bol. Ofic. San. Panamá* 22:917, Oct. 1943.
676. X. Penicillin — microbiotic chemotherapy, *Med. Times* 71:XLIV, Oct. 1943; 71:XXXIV, Nov. 1943; 71:XXXVI, Dec. 1943.
677. X. Penicillin in the U. S. A. *Brit. M. J.* 2:582, Nov. 1943.
678. X. Food and Drug Administration reveals penicillin assay methods, *Drug Trade News* 18:33, Nov. 1943.
679. X. Penicillin in England now, *Lancet* 2:648, Nov. 1943.
680. X. News and comment. Penicillin therapy, *Bull. U. S. Army M.* Sept. 1943.
681. X. Pharmacists can produce penicillin, *J. Am. Pharmaceut. Assn.* 4:342, Nov. 1943.
682. X. Toronto studies on penicillin, *Canad. M. A. J.* 49:422, Nov. 1943.
683. X. Penicillin in battle wounds, *Brit. M. J.* 2:750, Dec. 1943.
684. X. Penicillin in the field, *Lancet* 2:737, Dec. 1943.
685. X. Penicillin developments, *Drug Merchandising* 24:10, Dec. 1943.
686. X. Large-scale production of penicillin, *J. Am. Vet. M. A.* 103:385, Dec. 1943.
687. X. Penicillin, *Minnesota Med.* 26:1077, Dec. 1943.
688. X. Penicillin and other antibiotics produced by microorganisms. Annotated bibliography, E. R. Squibb & Sons, 1943.
689. X. Penicillin poses production problems, *Scient. Am.* 169:247, Dec. 1943.
690. X. Editorial, *Canad. M. A. J.* 49:422, 1943.
691. X. Penicillin in the treatment of relapsing fever, *J. A. M. A.* Jan. 1944.
692. X. Symbionts and antibiotics, *U. S. Nav. Med. Bull.* 42:211, Jan. 1944.
693. X. What about "home made" penicillin? *Am. Profess. Pharmacist* 10:32, Jan. 1944.
694. X. Statement issued by Therapeutic Research Corporation, *Lancet* 1:257, Feb. 1944.
695. X. Penicillin in wounds, *New England J. M.* 230:237, Feb. 1944.
696. X. Penicillin in endocarditis, *South. Med. J.* 37:118, Feb. 1944.
697. X. Treatment of sulfonamide-resistant gonorrhea with penicillin. Office of the Surgeon General. *Bull. U. S. Army M. Dept.* 74:6, March 1944.

698. X. Penicillin and the present-day concept of its clinical applicability, Commercial Solvents Corporation, 1944.
699. X. Penicillin, Merck & Co. Inc. June 1944.
700. X. A review of the present information concerning penicillin, Abbott Laboratories, 1944.
701. X. la penicilina y sus usos terapéuticos, Notas Terapéuticas (Parke, Davis & Cía.) 137:113, 1944.
702. X. Penicilina. Preparación. Aplicaciones clínicas. Notas bibliográficas. Wyeth-Stillé, S. A. 1944.
703. X. Penicilina. Un derivado del antagonismo microbiano, Abbotterapia 48:6, 7, 20, 1944.
704. X. Producción de fungicín, Abbotterapia 50:4, 5, 20, 1944.
705. X. Royal Army Air Corps Officer first to use penicillin, J. A. M. A. 124: 370, 1944.
706. X. The use of penicillin in treating war wounds, Medical Research Council, War Memorandum Nº 12, H. M. S. O., 1944.
707. X. Prolonging the action of penicillin, J. A. M. A. 127:161, Jan. 1945.
708. X. Penicillin; current editorial comment, New York State J. Med. 45:604, March 1945.
709. X. Penicillin treatment for syphilis and gonorrhea; State of New Jersey Department of Health, J. M. Soc. New Jersey 42:91, March 1945.
710. X. Penicillin treatment of virus diseases, Editorials, J. A. M. A. 127:652, March 1945.
711. YERMOLIEVA, Z.; KAPLUN, T. & LEVITON, M. Penicillin crustosin, Am. Rev. Soviet Med. 2:247, Feb. 1945.
712. YOUNG, C. P.; WILLISTON, E. H. & SIMON, M. Production of small colony variants of Staphylococcus aureus by the action of penicillin, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 58:56, Jan. 1945.
713. YOUNT, C. E. Penicillin, historically considered, Southwestern Med. 27:189, Aug. 1943.
714. ZAMARRIPA, S. Historia clínica de un caso de septicemia puerperal tratada con penicilina, Multa Paucis Medica (Méx) 1:13, Julio 1944.
715. ZAYTJEFFERN, H. & MELENEY, F. L. The superiority of penicillin over bacteriophage, sulfathiazole and certain other antibacterial substances, Surg. Gynecol. & Obsrs. 80:27, Jan. 1945.

INDICE

I. HISTORIA Y GENERALIDADES	11
-----------------------------------	----

II. ESTUDIOS BACTERIOLOGICOS	17
------------------------------------	----

Acción antibacteriana y cultivos diferenciales.—Alteraciones morfológicas de las bacterias.—Adaptación y resistencia a la penicilina. —Influencia de la penicilina sobre las bacterias fosforescentes.—Efectos de la penicilina sobre las células sarcomatosas.—Actividad de la penicilina in vivo.—Actividad sobre los estafilococos.—Actividad sobre los estreptococos.—Actividad sobre los anacrobios.—Actividad sobre los neumococos.—Actividad sobre la *Borrelia novyi*, el *T. lewisi* y el *Toxoplasma*.—Actividad sobre los virus de la ornitosis y de la psitacosis.—Actividad sobre los virus de la influenza, linfogranuloma venéreo y vacuna.—Actividad sobre la *Leptospira icterohemorrágica*.—Actividad sobre otros gérmenes.—Mecanismo de acción de la penicilina.

III. MEDICION DE LA POTENCIA ANTIBACTERIANA	45
---	----

Métodos de dilución en serie.—Métodos en placa de Petri.—Método de los cilindros.—Métodos turbidimétricos.

IV. LA PENICILINA Y OTRAS SUSTANCIAS QUIMIOTERAPICAS	50
--	----

La penicilina y las sulfonamidas.—Efecto de la penicilina combinada con otras sustancias.—La penicilina y otros germicidas.—Penicilina y gramicidina.—Penicilina y tirotricina.

V. PRODUCCION Y PROPIEDADES FISICAS Y QUÍMICAS DE LA PENICILINA 54

Cultivo del hongo.—Otras sustancias antibacterianas producidas por la penicilina.—Extracción de la penicilina del medio de cultivo.—Propiedades físicas y químicas.—Diferentes sales de penicilina.

VI. FARMACOLOGIA 63

Efecto sobre las células.—Absorción y excreción.—Difusión en el líquido céfalo-raquídeo.—Efecto de la penicilina sobre el poder antibacteriano de la sangre.—Acción de la penicilina sobre la urea sanguínea.—Métodos para retrasar la excreción de la penicilina por la orina.—Toxicidad.

VII. LA PENICILINA EN LA CLINICA 78

Primeros trabajos.—Estudios en los EE. UU.—Otros informes clínicos sobre penicilina.—La penicilina en México.

VIII. ADMINISTRACION Y DOSIFICACION DE LA PENICILINA 96

Técnica de administración.—Dosis.—Administración oral de la penicilina.—Penicilina por vía intra-arterial.

IX. OBSERVACIONES PROPIAS 102

X. CONCLUSIONES 105

XI. BIBLIOGRAFIA SOBRE LA PENICILINA 109