

DETERMINACION DE LA CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA (CIM) DE PENICILINA-G-REQUERIDA POR CEPAS DE NEISSERIA GONORRHOEAE AISLADAS EN LA CIUDAD DE MEDELLIN

D. URBINA, F. MONTOYA

En 41 cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, aisladas de 69 pacientes de sexo masculino, se determinó la concentración inhibitoria mínima de penicilina-G por el método de dilución en cajas. Las cepas aisladas se clasificaron en cuatro grupos: "Muy sensibles" con una $CIM \leq 0.05$ Unidades/ml. que corresponden al 29.26%; "Sensibles" (48.79%) con una CIM entre 0.1 y 0.75 Unidades/ml.; "Poco sensibles" (16.07%) con una CIM entre 1.0 y 2.0 Unidades/ml. y "Relativamente resistentes" (4.88%) con una CIM por encima de 2.0 Unidades/ml. de penicilina-G.

Se comparan los resultados obtenidos con los hallazgos de otros autores y se hacen algunas sugerencias en el sentido de que la penicilina-G procaínica sigue siendo la droga de elección para los casos de gonorrea aguda en Medellín.

Dra. Delfina Urbina Ospino: Profesora Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena; Dr. Fernando Montoya Maya: Profesor Asociado II, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

Solicitud de separatas a la Dra. Urbina.

INTRODUCCION

La gonorrea es una enfermedad aguda que puede evolucionar al estado crónico (1). La *Neisseria gonorrhoeae*, microorganismo causante de esta enfermedad, tiene predilección por las membranas mucosas del tracto genitourinario y algunas áreas adyacentes (2,3). El mecanismo de transmisión más frecuente es el venéreo (2-4). El período de incubación es de tres a seis días (4), al cabo de los cuales en los varones se presenta una secreción amarillenta, espesa y purulenta por la uretra anterior (2,3). En las mujeres la enfermedad es frecuentemente asintomática (3-5).

El humano es el único huésped natural del gonococo, recientemente se ha logrado reproducir la enfermedad en el chimpancé (3,5,6).

La *Neisseria gonorrhoeae* descrita por Neisser en 1.879 es un diplococo gram negativo, para cuyo aislamiento se han descrito medios especiales (7). Se le puede identificar mediante pruebas bioquímicas (8).

La gonorrea al igual que la sífilis ocupa un puesto prominente entre las diez primeras causas de morbilidad y constituye un

problema de salud pública en muchos países (9). Su distribución es amplia en todos los continentes (10). En cuanto a su frecuencia en Colombia se informa que en 1.950 hubo 91 casos por cada 100.000 habitantes; durante la década del 60 la incidencia más alta se presentó para los años 1.961, 1.962 y 1.968, en cada uno de los cuales se presentaron más de 200 casos por 100.000 habitantes (11). Desde esa fecha hasta 1.974 la incidencia se ha mantenido estable (12). Por lo que respecta a la ciudad de Medellín la información recolectada por la sección de Salud del Municipio entre 1.957 y 1.976 indica que el mayor número de casos registrados se presentó en el año 1.961 cuando la incidencia alcanzó un índice de 1.800 casos por cada 100.000 habitantes (13). Apartir de esa época el número de casos ha tenido la tendencia a disminuir hasta 1.976 cuando la tasa de incidencia fue de 587 por 100.000 habitantes (13). Las anteriores cifras deben ser analizadas muy cautelosamente, pues es bien conocido el fenómeno de subregistro

que se presenta muy especialmente en las enfermedades venéreas, además de la auto y libre medicación por parte de la comunidad afectada.

Desde el advenimiento de los antibióticos (1.929 a 1.930) la gonorrea ha sido tratada con estos antimicrobianos, especialmente con la penicilina (14-15); pero de numerosos informes se deduce que el gonococo ha disminuido su sensibilidad a esta droga (15-40). Las informaciones de Hatos en 1.950 y 1.959, Evans en 1.963 (16) y Kauffman en la década del 70 (17), indican que con el correr de los años ha sido necesario aumentar la dosis de penicilina a fin de obtener éxito en el tratamiento de la gonorrea. De acuerdo con las observaciones "in vivo", durante esos años y épocas posteriores, se han realizado numerosos trabajos "in vitro" (Tabla 1) en los que se demuestra el fenómeno de disminución de sensibilidad del gonococo a la penicilina. Es interesante anotar que en Finlandia (1.945-1954) sólo un 4% de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* requirieron concentraciones mayores de 0.05 Unidades/ ml. de penicilina pa-

Tabla 1— Susceptibilidad a la penicilina de cepas de Neisseria gonorrhoeae aisladas en diferentes partes del mundo a partir de 1.945 hasta 1.976

LUGAR	AÑO	NUMERO DE CEPAS ESTU- DIADAS	SUSCEPTIBILIDAD EN UNIDADES /ml.						
			0,0016	0,005 - 0,03	0,05	0,06 - 0,5	0,6 - 1,0	> 1,0	
Finlandia (19)	1945 - 54	286	13%	84%	—	4%	—	—	
Inglaterra (20)	1958 - 65	1.143	—	84%	—	16%	—	—	
Carolina (34)	1959	368	—	—	70%	30%	—	—	
Sydney (21)	1966	104	—	—	56%	33%	9%	1%	
Nueva York (22)	1966 - 68	226	3%	31%	—	51%	12%	4%	
Bolton (23)	1968 - 69	95	—	35%	2%	62%	—	—	
Bangkok (24)	1969 - 70	96	1%	10%	—	70%	18%	—	
Africa (26)	1969 - 70	234	—	25%	—	58%	11%	5%	
Montreal (25)	1970 - 71	100	—	21%	18%	42%	16%	3%	
Nottingham (32)	1974	300	—	32%	—	65%	1%	—	
Corea (37)	1974	67	—	—	1.4%	18.3%	11.9%	68.7%	
Cuba (39)	1976	75	—	44%	—	44%	8%	4%	

ra inhibir su crecimiento (Tabla 1). Para esa misma fecha Guthe (18) encontró que de 771 cultivos de gonococo estudiados sólo 5 (0.6%) cepas no fueron sensibles a una concentración inhibitoria mínima de 0.05 Unidades/ ml. de penicilina. Los datos resumidos en la Tabla 1 permiten observar, además, que a partir de 1.954 porcentajes apreciables de cepas de gonococo (hasta un 70%) requieren concentraciones por encima de 0.05 Unidades/ml. de penicilina para inhibir su crecimiento.

Dichas cepas se han encontrado en Europa, Asia, Africa, América del Norte, América Central y Cuba. El fenómeno de disminución de sensibilidad puede atribuirse a varios factores: a) Tratamientos mal conducidos (9, 15) que ejercen presión selectiva en las cepas menos sensibles, este factor da un falso índice de la cantidad de cepas con sensibilidad disminuida existentes en un área determinada; b) no menos importante es la frecuente exposición de miembros de una comunidad a una fuente de contagio común (prostíbulos), que puede traer como consecuencia la amplia difusión de estas cepas en los grupos antes mencionados (10); c) el hallazgo reciente de cepas de gonococo productoras de penicilinasa (41, 42), que si bien no puede considerarse el factor fundamental de disminución de sensibilidad, sí puede ser una causa más que favorece la prevalencia de este fenómeno; d) la facilidad y rapidez con que se viaja en el mundo moderno es un factor importante en la epidemiología de las enfermedades infecciosas y ésta podría ser la explicación de la distribución mundial de estas cepas (10).

En 1.972 en Medellín 93.7% de cepas de gonococo aisladas por Díaz y Zuluaga (43) resultaron sensibles a la penicilina mediante antibiogramas cualitativos.

Con base en las anteriores informaciones y especialmente por los hallazgos de Ortega, B. (39) en Cuba se pensó que existen suficientes razones para sospechar que en nuestro medio existen cepas de *Neisseria gonorrhoeae* con sensibilidad disminuida a la penicilina. Para comprobar la anterior hipótesis se realizó el presente estudio en el que se determinaron las Concentraciones Inhibitorias Mínimas (CIMs) de penicilina

requerida por las cepas aisladas en pacientes de sexo masculino con uretritis gonocócica aguda.

MATERIAL Y METODOS

Se seleccionaron 69 pacientes que, durante los meses de septiembre a diciembre de 1.977, consultaron al Centro de Salud No. 25 (Centro de Control de Enfermedades Transmisibles) de la ciudad de Medellín. Durante este período se les diagnosticó gonorrea a un total de 989 pacientes de ambos sexos, 540 de estos correspondientes al sexo masculino.

I. Selección de pacientes: Los pacientes fueron seleccionados de acuerdo a los siguientes criterios:

a) Sexo: Pacientes de sexo masculino.
b) Exámen clínico: Sintomatología manifiesta de gonorrea aguda al examen clínico realizado por el Médico del Centro de Salud.

c) Visualización de diplococos gram-negativos en el frotis de secreción uretral coloreado con Gram.

d) Ausencia de tratamiento con antibiótico por lo menos durante un mes anterior al momento de la consulta.

II Toma de muestras: La muestra tomada fué de secreción uretral, dejando evacuar las primeras gotas de secreción y luego introduciendo en la uretra un escobillón estéril.

III Cultivo e identificación: Para el cultivo se utilizó agar chocolate (44) preparado de la siguiente manera:

Solución A: Disolviendo 7.6 gramos de agar Mueller Hinton (BBL, Cockeysville, Maryland) por cada 100 ml. de agua destilada.

Solución B: Disolviendo 2.0 gramos de Hemoglobina (difco) por cada 100 ml. de agua destilada.

Las anteriores soluciones se esterilizaron separadamente a 121°C, 15 lbs. de presión durante 15 minutos y luego se mezclaron en igual proporción; por último se vaciaron en cajas de Petri de 100x100 mm. de diámetro (20ml. por caja aproximadamente)

La siembra se hizo inmediatamente después de tomada la muestra aplicando el escobillón en tres sitios sobre la superficie del agar y se hizo dilución de éstas en estrías con un asa estéril.

Las cajas se incubaron a 37°C durante 24 a 48 horas en atmósfera aerobia con 5% de CO₂ aproximadamente.

Transcurrido este tiempo se hizo coloración de Gram y se agregó directamente a unas pocas colonias en el cultivo una asada de solución acuosa de oxalato de p-amino-dimetilanilina al 2% (reactivo de oxidasa), mediante este reactivo se determinó la producción de una enzima denominada oxidasa (4). Las colonias compatibles con *Neisseria* (3,4,7) se sembraron en agar chocolate y agar nutritivo. Este último para descartar la posibilidad de que se tratara de *Neisserias* saprofitas (8). Inmediatamente se volvieron a incubar a 37°C durante 24 a 48 horas y atmósfera aerobia con 5% de CO₂ aproximadamente. Después de esta segunda incubación se cosechó el crecimiento bacteriano para someter las colonias a prueba de fermentación modificada por Kellogg (45).

Las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* fueron identificadas como tales según los siguientes criterios.

- a) Su morfología microscópica.
- b) Prueba positiva a la oxidasa.
- c) Fermentación única de la glucosa.
- d) Ausencia de crecimiento en agar nutritivo.

IV. Estandarización del inoculo: Las cepas que llenaron los anteriores requisitos se suspendieron en caldo (BHI. Coskeysville, Maryland) y se incubaron a 37°C durante 4 a 5 horas en atmósfera aerobia con 5% de CO₂ aproximadamente. Luego se ajustaron hasta obtener una OD = 0.3 utilizando un filtro de 535 nm. (25).

V. Determinación de la CIM de penicilina -G: Una vez estandarizado el inoculo se procedió a las pruebas de susceptibilidad (46-50) en agar chocolate (descrito en la pág.6) adicionado de penicilina - G potásica (Lab. Mackesson Bogotá, Col.) a las siguientes concentraciones: 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 y 2.0 Unidades /ml.

En cada caja de medio con antibiótico se sembró 0.02 del inóculo (hasta 5 cepas por caja). Luego se incubaron por espacio de 24 a 48 horas a 37°C y atmósfera aerobia de 5% de CO₂ aproximadamente.

Transcurrido este tiempo se registró como CIM la caja con la concentración menor de penicilina donde no hubo crecimen-

to bacteriano. Como control de estabilidad del antibiótico se utilizó una cepa de *Staphylococcus aureus* cuya CIM fué de 0.5 Unidades /ml de penicilina - G.

RESULTADOS

En 69 pacientes estudiados se aislaron igual número de microorganismos compatibles con gonococo. De acuerdo a los criterios antes mencionados, se logró identificar 41 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* que fueron utilizadas para el presente estudio.

Tabla 2 -CIM de penicilina-G requerida por cepas de *Neisseria gonorrhoeae* aisladas en la ciudad de Medellín en 1977

CIM. (Unid./ml.)	No. de Cepas	% de Cepas
0.05	12	29.26
0.1	4	9.76
0.25	8	19.52
0.5	2	4.88
0.75	6	14.63
1.0	6	14.63
2.0	1	2.44
>2.0	2	4.88
TOTALES	41	100.00

Algunas de las 28 cepas restantes se les identificó como gonococo pero se descartaron por contaminación, otras no lograron ser identificadas. Cuatro fueron las CIM que mas frecuentemente se observaron: 29.26% de las cepas con una CIM ≤ 0.05 Unidades/ml., 19.52% con una CIM de 0.25 Unidades /ml., 14.63% con una CIM de 0.75 Unidades /ml. e igual porcentaje con una CIM de 1.0 Unidades /ml. de penicilina - G (Tabla 2).

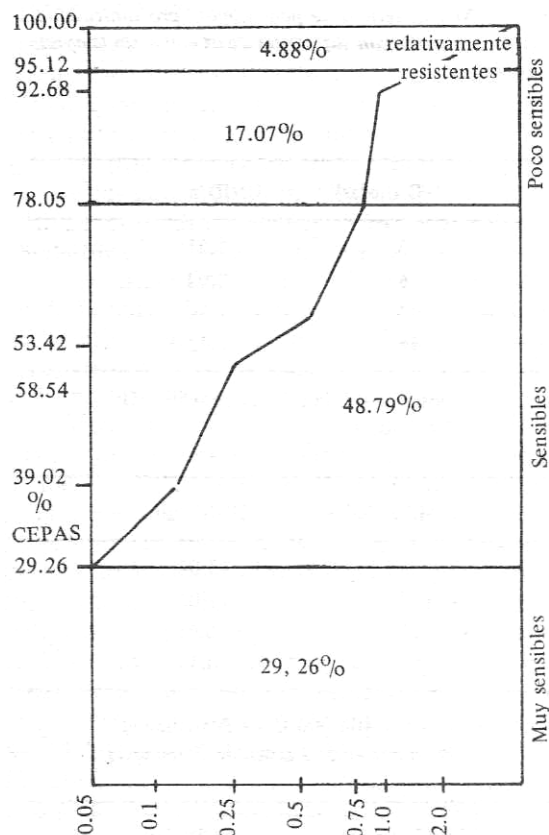
Como se puede apreciar en la Gráfica 1, las cepas encontradas se reúnen en cuatro grupos y cada uno de éstos con un grado amplio de susceptibilidad a la penicilina - G:

a) Un primer grupo (29.26%) requiere una CIM ≤ 0.05 Unidades/ml.

b) Un segundo grupo (48.79%) requiere una CIM de 0.1 y 0.75 Unidades /ml.

c) Un tercer grupo (17.07%) requiere una CIM de 1.0 a 2.0 Unidades/ml.

d) Un cuarto grupo (4.88%) requiere



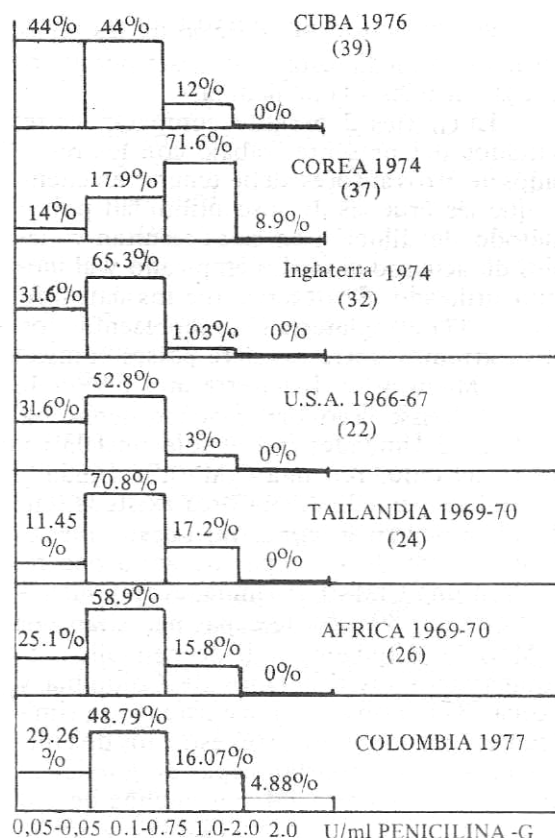
Gráfica 1— Porcentajes acumulados y rangos de susceptibilidad a la penicilina - G de cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en Medellín, 1.977.

una CIM por encima de 2.0 Unidades /ml.

En las Gráficas 1 y 2 se observa que los rangos de susceptibilidad a la penicilina - G que albergan el mayor número de cepas de gonococo aisladas en nuestro medio, fueron los equivalentes a CIMs entre 0.1, 0.75 y ≤ 0.05 Unidades/ml. con un 48.79% y 29.26% respectivamente.

Si se consideran como cepas menos sensibles a la penicilina (39) aquellas con una $CIM \geq 1.0$ Unidades /ml, en nuestro medio un 20.15% de cepas de gonococo han disminuido su sensibilidad a la penicilina.

Sin embargo podemos afirmar que el 95.12% de las cepas fueron sensibles a una CIM ≤ 2.0 Unidades/ml. 6 menos y sólo un 4.88% a una CIM de más de 2.0 Unidades /ml. de penicilina - G.



Gráfica 2— Comparación de CIMs de penicilina requerida por cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en diferentes partes del mundo.

DISCUSION

Analizando la Tabla 2 se puede concluir que en Medellín, hay una variedad heterogénea de cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, respecto a su susceptibilidad a la penicilina - G. Sin embargo se ve la tendencia a concentrarse en cuatro grupos diferentes. Un grupo de cepas "Muy sensibles" con una CIM 0.05 Unidades /ml. y que representaría el 29.26% de las cepas aisladas. Un segundo grupo de cepas "Sensibles" cuya CIM está entre 0.1 y 0.75 Unidades /ml. que representó el 48.79% de las cepas. Un tercer grupo "Poco sensibles" que correspondió a un 16.07% de las cepas con una CIM entre 1.0 y 2.0 Unidades/ml. y un cuarto grupo "Relativamente resistente" compuesto por 4.88% de las cepas aisladas cuya CIM está por encima de 2.0 Unidades /ml. de penicilina - G.

Por lo tanto, un 78.05% de las cepas en nuestro medio está compuesta por gonococos sensibles a la penicilina.

La Gráfica 2 permite comparar los resultados del presente trabajo con los resultados de otros autores; debe tenerse en cuenta que las pruebas de susceptibilidad por el método de dilución en cajas resultan variables de acuerdo al medio empleado y al inóculo utilizado. Se observa que los datos de Corea (37) e Inglaterra (32) representan los dos extremos entre los siete países comparados. Mientras en Inglaterra un 96.9% de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* requieren una $CIM \leq 0.75$ Unidades /ml. y sólo un 1.03% de cepas requieren una $CIM > 0.75$ Unidades /ml. de penicilina, en Corea existe la tendencia a ocurrir lo contrario puesto que sólo el 19.3% de las cepas de gonococo requieren una $CIM \leq 0.75$ Unidades /ml. mientras que, un 80.5% de cepas necesitan una $CIM > 0.75$ Unidades /ml. de penicilina. Si comparamos los resultados de Colombia y Corea (37) se observa que existe cierta similitud en cuando a que, son éstos los dos únicos países que reportan cepas de gonococo que requieren una CIM por encima de 2.0 Unidades/ml. de penicilina (4.88% y 8.9% respectivamente).

Los resultados de Ortega en Cuba (39) son relativamente similares a los obtenidos en el presente trabajo, puesto que él encontró que el 88% de cepas tienen una $CIM \leq 0.75$ Unidades /ml. y sólo un 12% una $CIM > 0.75$ Unidades /ml. En nuestro medio un 78.05% de cepas de gonococo requieren una $CIM \leq 0.75$ Unidades /ml. y un 20.95% una $CIM > 0.75$ Unidades /ml. de penicilina - G.

Nuestros resultados (Gráfica 2) se correlacionan con los hallazgos de Sparing (27) y Cave, V. (22) en USA. Robson y Salit en Canadá (25), Plorde en Africa (26) y Silver en Inglaterra (23) en el sentido de que alrededor del 65% de las cepas de gonococo aisladas en esos países requieren una $CIM \geq 0.1$ Unidades /ml. de penicilina.

No obstante a que en nuestro medio no contamos con un estudio cuantitativo que evaluara la susceptibilidad del gonococo a la penicilina en años anteriores, los resultados de Díaz y Zuluaga (43) con discos de penicilina de 10 unidades (equivalentes a una

Tabla 3— Niveles séricos de penicilina-G procaínica obtenidos en pacientes con diferentes dosis con o sin la ayuda de probenecid.

TIEMPO (horas)	UNID./ml.
3	7.01
6	7.02
24	1.86
48	0.43
A) Dosis: 2'400.000 U. de Penicilina-G Procaínica.	
TIEMPO (horas)	UNID./ml.
3	13.03
6	12.05
24	0.81
48	0.35
B) Dosis: 2'400.000 U. de Penicilina-G Procaínica más 2 grms. de Probenecid.	
TIEMPO (horas)	UNID./ml.
3	11.88
6	9.36
24	1.88
48	0.6
C) Dosis: 4'800.000 U. de Penicilina-G Procaínica.	
TIEMPO (horas)	UNID./ml.
3	11.9
6	24.13
24	3.35
48	1.46
C) Dosis: 4'800.000 U. de Penicilina-G Procaínica más 2 grms. de Probenecid.	

Cornelius, C.E. et.al. "Variations in serum concentrations of penicillin after injections of aqueous procaine penicillin - G with and without oral probenecid". Brit. J. Vener. Dis. 47: 359 - 363, 1971.

CIM de 2.5 Unidades /ml.) (51), permiten sugerir que en el transcurso de estos 5 años el porcentaje de cepas de gonococo con una CIM mayor de 2.0 Unidades /ml. permanece constante a pesar de que no se conoce si ha habido modificaciones en los distintos grupos de las cepas con una $CIM \leq 2.0$ Unidades /ml. de penicilina (cepas "Muy sensibles", "Sensibles" y "Poco sensibles").

La importancia de obtener estos valores de CIM radica en conocer si los esquemas terapéuticos vigentes proporcionan niveles compatibles con los grados de susceptibilidad encontrados.

Mediante diferentes estudios se han determinado los niveles séricos de penicilina en pacientes, utilizando varios esquemas de tratamiento. Cornelius y cols. (Tabla 3) (52) determinaron los niveles séricos de penicilina - G procaínica alcanzados en pacientes con ó sin la ayuda de probenecid. De acuerdo a esto se podría decir que la dosis única de 4'800.000 unidades reforzada con probenecid sería suficiente para tratar los casos de gonorrea de nuestro medio, puesto que a las 24 horas aún existen niveles por encima de 2.0 Unidades /ml. de penicilina. Si recordamos los datos presentados en la Gráfica 1 se podría asegurar que el éxito con la penicilinoterapia tendría una cobertura del 95.15% y quedaría sólo un 4.88% de casos que probablemente necesiten una dosis mayor. Estos resultados concuerdan con las normas vigentes en otros países (53) en los cuales la dosis de penicilina - G procaínica recomendada es de 4'800.000 unidades reforzada con probenecid lográndose cubrir algo más del 95% de los casos tratados.

Finalmente, la recomendación principal sería que se mantenga una vigilancia, epidemiológica continua, a fin de determinar variaciones en la susceptibilidad del gonococo, que hagan necesario replantear el esquema terapéutico bien fuera, administrando dosis repetidas de penicilina por varios días o cambiándola definitivamente por otros antibióticos.

SUMMARY

The minimum inhibitory concentration (MIC) of penicillin G. was estimated for each of 41 strains of *Neisseria gonorrhoeae* isolated from 69 male patients attending the Health Center Number 25, (Communi-

cable Disease Control Center) in Medellín, Colombia.

On the basis of the MIC, the strains were divided into four groups: The first (29.26%) was found to have a $MIC \leq 0.05$ U./ml., the second (48.79%) had a MIC between 0.1-0.75 U./ml., the third (17.07%) with a MIC between 1.0-2.0 U./ml. and the last group (4.88%) whose $MIC > 2.0$ U./ml. These groups were arbitrarily named: "Very sensitive", "Sensitive", "Slightly sensitive" and "Relatively resistant", respectively

Results of similar studies in other countries are presented for the sake of comparison. It is suggested that procain penicillin G. is still the drug of choice for the treatment of gonorrhoea in Medellín.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Federico Díaz, médico microbiólogo, por su asesoría en la parte inicial de este trabajo.

Al Dr. Jorge E. Ossa, médico veterinario, por su colaboración en la preparación del manuscrito.

Al personal médico del Centro de Salud No. 25 de la ciudad de Medellín.

Al Sr. Marco Tulio Rueda, auxiliar de equipo.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Frobisher, M., Sommer Meyer, L. and Fuerst, R. Microbiology in health and disease, p. 432, 12 ed., Philadelphia, Saunders, 1.969.
- 2.- Jawest, E., Melnick, J. L. and Abelberg, E. A.: Review of Medical Microbiology, p. 174, 9a ed., California, Lange Medical Publications, 1.970.
- 3.- Davis, B. et al.: Microbiology, p. 742-750, 2ª ed., Hagerstown, Harpers Publishers, 1.973.
- 4.- Divo, A.: Microbiología Médica, p. 160-161, 2ª ed., México, Interamericana, 1.971.
- 5.- Krugman, S. y Ward, R.: Enfermedades Infecciosas, p. 65-68, 5ª ed., México, Interamericana, 1.974.
- 6.- Brown, W. J., Lucas, C. T. and Kuhn, G.: Gonorrhea in the chimpanzee. Brit. J. Vener. Dis. 48: 177 - 178, 1.972.
- 7.- Thayer, J. D. and Martin, J. E.: Improved Medium Selective for Cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis* Publ. Health Rep. 81: 559-562, 1.966.
- 8.- Kellog, D. S.: *Neisseria gonorrhoeae* (Gonococcus). In: Lennette, E. H., Spaulding, E. H. and Truant, J. P.: Manual of Clinical Microbiology, 2o. ed. Washington, D. C., American Society for Microbiology, 1.974.
- 9.- Campos, A.: Problemas en el control de la Blenorragia. Bol. Ofic. Sanit. Panamer. 70: 66-67, 1.971.

- 10.- Guthe, T.: Tendencias epidemiológicas mundiales de sífilis y blenorragia. Bol. Ofic. Sanit. Panamer. 70: 26-25, 1.971.
- 11.- Llopis, A.: El problema de las enfermedades venéreas en las Americas. Bol. Ofic. Sanit. Panamer. 70: 26 - 25, 1.971.
- 12.- Martínez, J.: Morbilidad por enfermedades venéreas en el país. Estado Actual. Bol. Epidemiológico Nacional 1:11, 1.975.
- 13.- Medellín Sección Epidemiológica. Servicio Seccional de Salud. Incidencia de blenorragia por grupos de edad tasas por 100.000 habitantes. Medellín 1.957 - 1.976.
- 14.- Rudolph, A. H.: Control of gonorrhoeae. Guidelines for antibiotic treatment. Jama 220:1.587-1589, 1.972.
- 15.- Hatos, G.: Treatment of gonorrhoeae by penicillin and renal blocking agent (probenecid). Med. J. Aust. 1: 1.096 - 1.099, 1.970.
- 16.- Evans, A. J.: Relapse of gonorrhoea after treatment with penicillin or streptomycin. Brit. J. Vener. Dis. 43: 251, 1.966.
- 17.- Kauffman, R. E. et al.: National gonorrhoea therapy monitoring study treatment results. New Engl. J. Med. 294: 1 - 4, 1.976.
- 18.- Guthe, T.: Failure to control of gonorrhoea. Bull. World Health Organ. 24: 297, 1.961.
- 19.- Love, B. D. and Finland, M.: Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to eleven antibiotics and sulfadiazine. Arch. Intern. Med. 95: 66-73, 1.955.
- 20.- Warren, R. M.: Incidence of gonococci relatively resistant to penicillin occurring in the Southampton area of England during 1.958 to 1.965. Brit. J. Vener. Dis. 44: 80 - 81, 1.967.
- 21.- Smith, D. D. and Lewey, J. M.: Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to penicillin. Med. J. Aust. 1: 849 - 850, 1.967.
- 22.- Cave, V. G., Hurdle, E. S. and Catelli, A. R.: Sensitivity of *Neisseria gonorrhoeae* to penicillin and other drugs. N. Y. State J. Med. 70: 844 - 847, 1.970.
- 23.- Silver, P. S. and Darling, W. M.: Penicillin insensitive gonococci in the Bolton area. Preponderance in young women and immigrants. Brit. J. Vener. Dis. 47: 376 - 372, 1.971.
- 24.- Panikabutra, K. and Suvanmalik, S.: Sensitivity to penicillin of *Neisseria gonorrhoeae* in Bangkok. Relation to the results of treatment. Brit. J. Vener. Dis. 49: 209 - 212, 1.973.
- 25.- Robson, H. and Salit, I. E.: Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to seven antibiotics in vitro. C.M.A.J. 107: 959-962, 1.972.
- 26.- Plorde, J.J., Kidan, T. G. and Wright, L. J.: Penicillin sensitivity of gonococci in Ethiopia. Brit. J. Vener. Dis. 49: 260- 263, 1.973.
- 27.- Sparling, P. E.: Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. Med. Clin. North Amer. 56: 1.133 - 1.144, 1.972.
- 28.- Olsen, A. G.: Consumption of Antibiotics in Greenland, 1.964 - 1.970. IC changes in the sensitivity of *Neisseria gonorrhoeae* to antibiotics. Brit. J. Vener. Dis. 49: 33-41, 1.973.
- 29.- Martin, J. et al.: Comparative study of gonococcal susceptibility to penicillin in the United States. 1.959-1.969. J. Infect. Dis. 122: 459-467, 1.970.
- 30.- Gavin, H.: Penicillin resistance of gonococci in South - Vietnam. Med. J. Aust. 2: 638 - 641, 1.973.
- 31.- Stoltz, Zwart, G. F. and Michael, M. F.: Activity of eight antimicrobial agents in vitro against *Neisseria gonorrhoeae*. Brit. J. Vener. Dis. 51: 257 - 264, 1.975.
- 32.- Shahidullah, M. and Greaves, P. W.: Minimum inhibitory concentrations of penicillin and minocycline for 300 isolates of *N. gonorrhoeae*. Brit. J. Vener. Dis. 51: 265 -266, 1.975.
- 33.- Jaffe, H. W. et al.: National gonorrhea therapy monitoring study. In vitro antibiotic susceptibility and its correlation with treatment results. New-Engl. J. Med. 294: 5 -9, 1.976.
- 34.- Thayer, J. D. et al.: Estudio de la sensibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* a la penicilina y otros nueve antibióticos. Bol. Ofic. Sanit. Panamer. 2: 346 - 351, 1.961.
- 35.- De Mezerville, J. y Vizcaíno, M.: Resistencia de la *Neisseria gonorrhoeae* a los antibióticos "in vitro" e "in vivo". Rev. Med. Costa Rica. 19: 225 - 232, 1.962.
- 36.- Gump, D. and Berry, P. T.: Increased susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* from rural area. Antimicrob. Agents. Chemoter. 3: 503 - 505, 1.973.
- 37.- Clearence, W. et al.: Increased antibiotic resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Korea. Antimicrob. Agents. Chemoter. 9: 716 - 718, 1.976.
- 38.- International Meeting on Gonorrhoeae. Torremolinos, Spain, March 25 - 26, 1971. Brit. J. Vener. Dis. 47: 377 - 380, 1.971.
- 39.- Ortega, B.: Estudio de la sensibilidad del gonococo a diferentes antibióticos. Rev. Cub. Med. Trop. 28: 39 -44, 1.976.
- 40.- Meheus, A. et al.: Activity in vitro of ten antimicrobial agents against *Neisseria gonorrhoeae* a study of the correlation between the sensitivities. Brit. J. Vener. Dis. 52: 328 - 334, 1.976.
- 41.- Penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. Morbidity and mortality Weekly Report. 25: 261, 1.976.
- 42.- Penicillinase (B-lactamase) producing *Neisseria gonorrhoeae* world wide. Morbidity and Mortality Weekly Report. 27: 10 - 15, 1.978.

- 43.- Díaz, F. y Zuluaga, H.: Blenorragia. Experiencias en su diagnóstico de laboratorio y sensibilidad in vitro de las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* a los antibióticos. *Antioquia Med.* 22: 633, 1972.
- 44.- Lennette, E. H, Spaulding, E. H. and Truant, J. P.: *Manual of clinical microbiology*, p. 898, 2o ed., Washington, D. C, American Society for Microbiology, 1974.
- 45.- Brown, J. W.: Modification of the rapid fermentation test for *Neisseria gonorrhoeae*. *Appl. Microbiol.* 27: 1.027 - 1 030, 1974.
- 46.- Antibiotic Susceptibility Testing. Children's Medical Center, p. 1 - 10, Dallas (Texas), 1971.
- 47.- Sherris, J. C.: Introduction. In: Lennette, E. H., Spaulding, E. H. and Truant, J. P.: *Manual of clinical Microbiology*, 2o ed., Washington, D. C, American Society for Microbiology, 1974.
- 48.- Barry, A. L.: The role of NCCLS in standarization of antimicrobial susceptibility technique. In: Balows, Albert. *Current techniques for antibiotic susceptibility testing*, Springfield III, 1974.
- 49.- Washington, J. A. and Barry A. L.: Dilution test procedures. In: Lennette, E. H., Spaulding, E. H. and Truant, J. P., *Manual of clinical microbiology*, 2o ed., Washington, D. C, American Society for Microbiology, 1974.
- 50.- Ericsson, H. M. and Sherris, J. C.: Antibiotic sensitivity testing. Report of international collaborative study. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B. Suppl.* 217: 9- 90, 1971.
- 51.- Lennette, E. H., Spaulding, E. H. and Truant, J. P.: *Op. Cit.* p. 421.
- 52.- Cornelius, C. E. et al.: Variations in serum concentrations of penicillin after injections of aqueous procaine penicillin-G with and without oral probenecid. *Brit. J. Vener. Dis.* 47: 359 - 363, 1971.
- 53.- Somers, H. M., Patterson, P. Y. and Youmans, G. P.: Diagnosis and treatment of gonorrhea. In: *The biologic and clinical basis of infectious diseases*, Philadelphia, Saunders, 1975.