

# BUSQUEDA DE NEISSERIA GONORRHOEAE PRODUCTORA DE BETA-LACTAMASA

CENTRO DE CONTROL DE ENFERMEDADES TRANSMISIBLES DE MEDELLIN

F. PINEDA, F. MONTOYA

En 103 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* aisladas de 156 pacientes del sexo masculino, se determinó la producción de beta-lactamasa, mediante los métodos acidimétricos y yodométricos. En ninguna de las 103 cepas aisladas se logró demostrar la producción de dicha enzima.

El tratamiento para la gonococia no complicada en hombres, a base de una mezcla de penicilina cristalina  $7,2 \times 10^6$  unidades y de penicilina clemizol  $8 \times 10^5$  unidades en una sola dosis intramuscular, resultó eficaz en un 93% de los casos.

En el trabajo se resume la situación actual de incidencia de gonorrea en Colombia, en el departamento de Antioquia y en la ciudad de Medellín. Así mismo se trata de la importancia que tiene para Colombia, la aparición de cepas de gonococos produc-

tores de beta-lactamasa en los Estados Unidos, país con el que existe un intenso intercambio turístico y comercial.

## INTRODUCCION

La gonorrea es una enfermedad venérea de distribución mundial que afecta al ser humano en forma natural cuya incidencia y prevalencia están dadas por la edad, la raza, el estado civil, la situación socioeconómica, la residencia en zonas urbanas, etc. (1). La enfermedad está relacionada con un diplococo gramnegativo, el cual tiene afinidad por los epitelios cilindricos del tracto genitourinario y algunas áreas adyacentes (2-6).

Las estadísticas de los últimos años nos demuestran que hay un creciente aumento de la enfermedad a nivel mundial: en las Américas (7-11), Europa (1, 12-14), Africa (1) y Asia (1).

En Colombia la incidencia entre 1966 y 1974 ha variado de 200,  $4 \times 10^5$  a 189,  $7 \times 10^5$  (14, 15) tal como se aprecia en la Tabla 1 y Gráfica 1. En el departamento de An-

---

Dr. Fabio Pineda Gutiérrez: Instructor, Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín; Dr. Fernando Montoya Maya: Profesor Asociado, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

Solicitud de separatas al Dr. Pineda.

tioquia (Colombia) la incidencia de blenorragia entre 1969 y 1978 tiene un comportamiento relativamente estable (15). En Medellín, capital del departamento de Antioquia, la enfermedad tiene una tendencia decreciente entre 1969 y 1978 (15). Las tendencias de la gonorrea en el departamento de Antioquia y la ciudad de Medellín se ilustran en la Tabla 2 y Gráfica 2. En el Centro de Salud N° 25 (centro de control de enfermedades transmisibles de la ciudad de Medellín) entre 1964 y 1978, el número de casos de blenorragia muestra una tendencia decreciente, especialmente a partir de 1968, fenómeno que se aprecia en la Tabla 3 y

Gráfica 3 (15, 16). Los autores atribuyen el incremento de la gonorrea a diferentes factores tales como: el frecuente cambio de pareja, la resistencia del gonococo a los antibióticos, el poco uso del condón y otros (1).

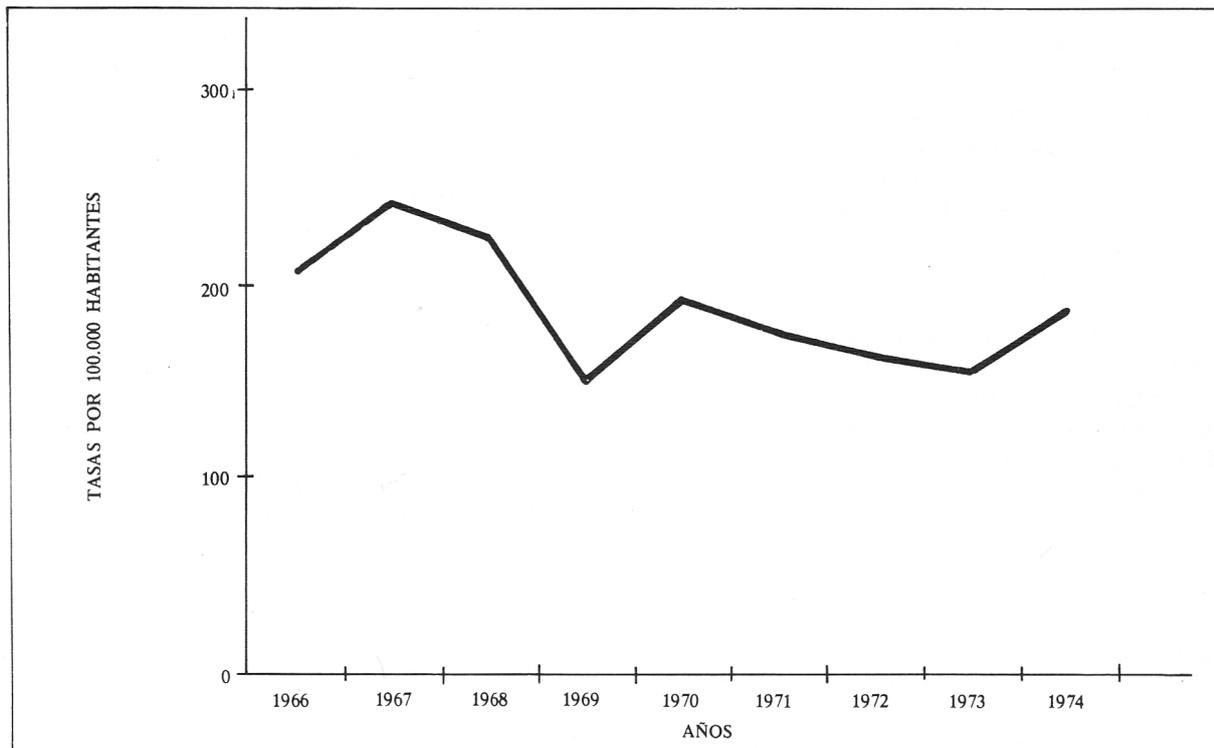
Desde 1976 existen informes de hallazgos de cepas de gonococos productores de beta-lactamasa, una enzima que desdobra e inactiva la penicilina (penicilinas) (1, 17-22).

Se han reportado casos de gonococos resistentes a la penicilina en visitantes o en

Tabla 1. Incidencia de blenorragia en Colombia, 1966-1974 (Tasas x 10<sup>5</sup>)

AÑOS	1966	1967	1968	1969	1970	1971	1972	1973	1974
TASAS	200,4	243,3	218,3	148,6	193,2	180,5	158,5	152,3	189,7

Fuente: (14, 15)



Gráfica 1. Incidencia de blenorragia en Colombia, 1966-1974 (Tasas x 10<sup>5</sup>) Fuente: (14, 15)

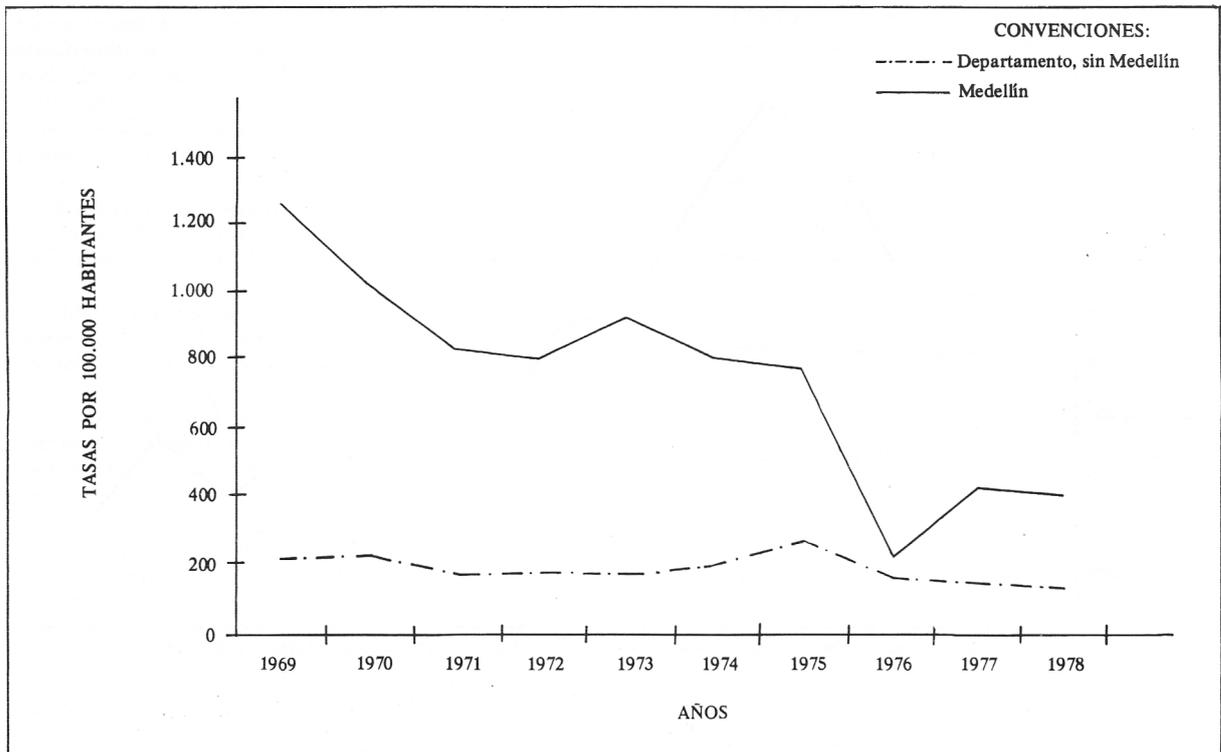
personal militar que regresaba de países del Pacífico occidental o de Africa occidental a Europa y a los Estados Unidos (1). Entre los lugares afectados con *Neisserias* productoras de beta-lactamasa tenemos: Australia, Bélgica, Canadá, Dinamarca, Estados Unidos, Filipinas, Hong Kong, Japón, Korea, Reino Unido, Singapur, Suecia y Suiza (1). Se ha comprobado que la producción de beta-lactamasa por estas cepas de gonococos es debida a la presencia de plásmidos en ellas (1, 23, 24). Los plásmidos son elementos genéticos extracro-

mosómicos que no son esenciales para las bacterias bajo condiciones ordinarias de crecimiento, pero cuya presencia les puede conferir nuevas propiedades, por ejemplo, la resistencia a los antibióticos (4). Se han identificado plásmidos de dos tamaños diferentes y hay indicios de que la beta-lactamasa producida por estas cepas de gonococos es similar a las del *Hemophilus influenzae* y las enterobacterias (24). En 1977 se logró demostrar la transmisión de los plásmidos por mecanismos de conjugación bacteriana entre diferentes cepas

Tabla 2. Incidencia de blenorragia en el departamento de Antioquia (Colombia) y su capital Medellín, 1969-1978 (Tasas x 10<sup>5</sup>)

AÑOS	1969	1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978
Departamento de Antioquia (sin Medellín)	211,5	211,5	164,1	168,7	170,9	186,0	169,2	166,9	158,2	132,8
Medellín	1.250	1.010	820	805	920	800	770	225	425	400

Fuente: (15)



Gráfica 2. Incidencia de blenorragia en el departamento de Antioquia (Colombia) y su capital Medellín, 1969-1978 (Tasas x 10<sup>5</sup>). Fuente: (15)

de *Neisseria gonorrhoeae* y *Escherichia coli* (24). Estos hallazgos tienen serias implicaciones epidemiológicas, no sólo por el hecho de una amplia diseminación de la resistencia, sino por la extensión de la misma a otros microorganismos relacionados tales como la *Neisseria meningitidis*, que hasta el presente es sensible a la penicilina.

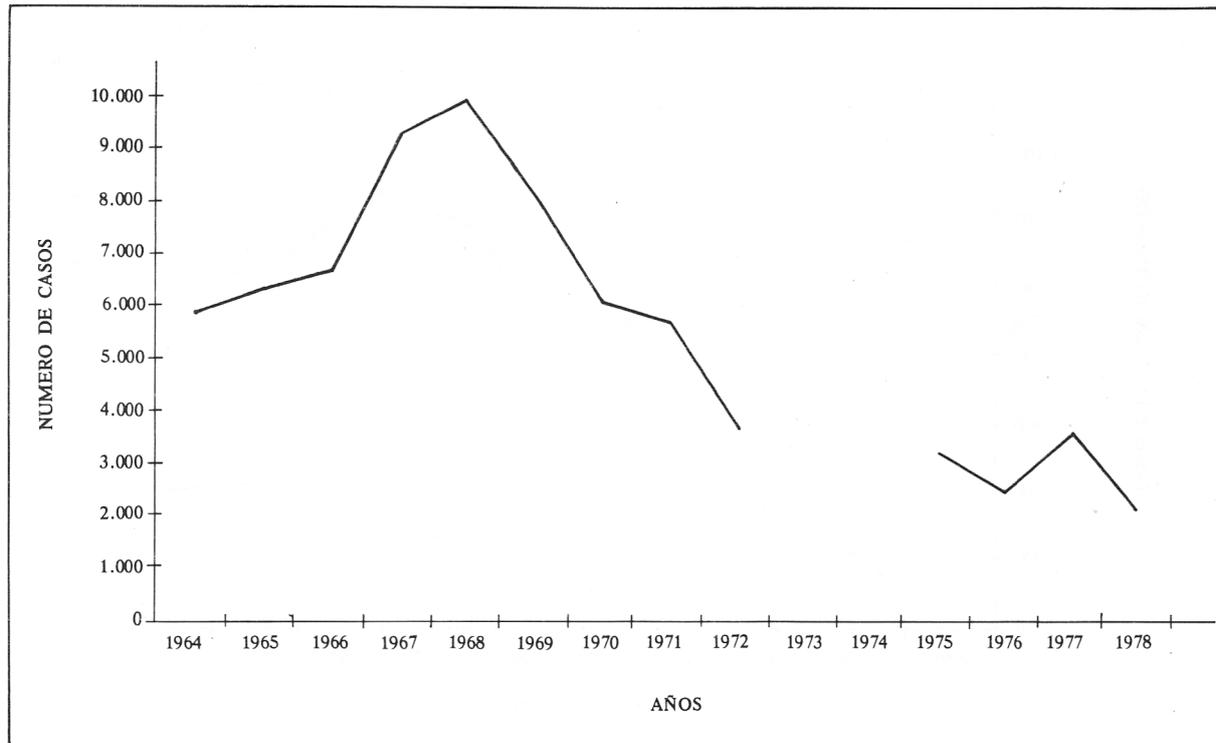
Debido a las fáciles comunicaciones existentes en el mundo, a las guerras, al continuo incremento del turismo, a la promiscuidad, a los diferentes eventos

deportivos que se han sucedido en países como Argentina (campeonato mundial de fútbol) o en ciudades como Medellín (juegos centroamericanos y del Caribe), es posible esperar la existencia de cepas de gonococos productores de beta-lactamasa en países como Argentina y Colombia y en particular en aquellas ciudades sedes de dichos eventos. Todo esto y el no conocer informes sobre estas cepas en la literatura médica colombiana, nos motivaron a hacer una investigación sobre gonococos productores de beta-lactamasa (penicilinas) en el

Tabla 3. Casos de blenorragia en el Centro de Salud N° 25. Medellín (Colombia), 1964-1978.

AÑOS	1964	1965	1966	1967	1968	1969	1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978	TOTAL
NUMERO DE CASOS	5.822	6.245	6.715	9.190	9.909	8.144	6.075	5.718	3.704	Sin dato	Sin dato	3.255	2.480	3.614	2.149	73.020

Fuente: (16)



Gráfica 3. Casos de blenorragia en el Centro de Salud N° 25. Medellín (Colombia), 1964-1978. Fuente: (16)

Centro de control de enfermedades transmisibles de la ciudad de Medellín.

En el transcurso de la investigación surgió como otro objetivo, el hacer una evaluación de la respuesta terapéutica a los esquemas de tratamiento que son utilizados en dicho centro.

## MATERIAL Y METODOS

**Selección de los casos de gonorrea.** Se seleccionaron individuos de sexo masculino, de cualquier edad, que consultaron al Centro de control de enfermedades transmisibles de la Secretaría de Salud del municipio de Medellín (Centro de Salud N° 25), en el período comprendido del 11 de julio de 1978 al 16 de marzo de 1979, con un cuadro clínico de secreción uretral purulenta (25-28), cuyo examen microscópico mostró diplococos gramnegativos intracelulares o intra y extracelulares; además, no habían recibido tratamiento con antibióticos por lo menos durante los ocho días previos a la consulta.

**Toma de la muestra de secreción uretral para cultivo.** A los pacientes que en el frotis de la secreción uretral mostraban diplococos gramnegativos intracelulares o intra y extracelulares se les tomaba una nueva muestra, para lo cual se exprimía el pene, desechando la primera gota e inmediatamente se introducía un escobillón de algodón estéril por la uretra anterior, tan pronto se retiraba el escobillón de la uretra se procedía a hacer el cultivo en medio de Thayer-Martin (29).

**Cultivo de la muestra.** Este se realizó en medio de Thayer-Martin, medio selectivo y diferencial para *Neisserias* (25-27, 30, 31).

**Identificación de colonias de *Neisserias* en medio de Thayer-Martin.** Los criterios para la identificación de las colonias fueron:

**Morfología de las colonias.** Las colonias que crecieron en el agar, pequeñas, convexas, brillantes y translúcidas, se consideraron como compatibles con *Neisserias* (27, 30).

**Coloración de Gram.** Una de las colonias morfológicamente compatible con *Neisseria*, era tomada con una asa de chuzo, extendida en una lámina de vidrio y sometida a la coloración de Gram; si al microscopio se observaban diplococos gramnegativos, se hacía la prueba de la oxidasa a las colonias de ese tipo (27).

**Identificación de cepas de *Neisseria gonorrhoeae*.** Las colonias que crecieron en agar nutritivo

se descartaron, pues allí solo crecen las *Neisserias* saprofiticas (27). Las que no crecieron en el agar nutritivo, pero sí lo hicieron en el Mueller-Hinton, se continuaron identificando por el Gram (diplococos gramnegativos), prueba de oxidasa positiva y fermentación única de la glucosa (32).

Las cepas con estas pruebas positivas se sometieron a las pruebas para determinar beta-lactamasa.

**Pruebas para determinar la producción de beta-lactamasa.** Las colonias cultivadas e identificadas como *Neisseria gonorrhoeae* se sometieron a las pruebas yodométricas (33) y acidimétricas (34) para establecer si las bacterias eran o no productoras de beta-lactamasa. El Esquema 1 resume los procedimientos de laboratorio ejecutados.

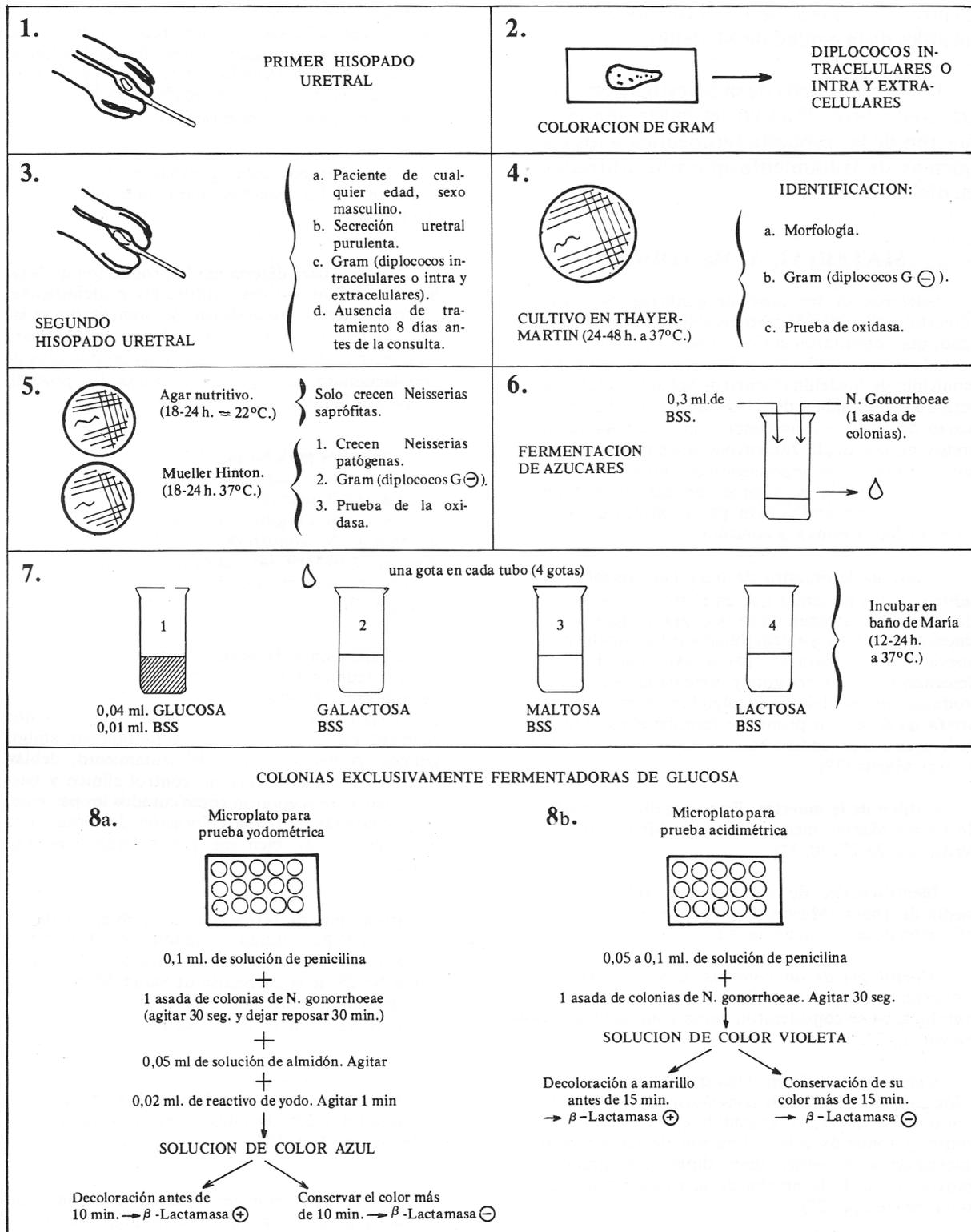
**Controles para las pruebas de determinación de beta-lactamasa.** Como controles positivos de las pruebas yodométricas y acidimétricas fueron utilizadas cepas de gonococos productoras de beta-lactamasa: *N. gonorrhoeae* 76-061782 y *N. gonorrhoeae* 76-073389, las cuales suministró muy gentilmente The Center for Diseases Control, Atlanta, Georgia, 30333.

**Evaluación de la terapia antibiótica.** Los pacientes que reunían los criterios de selección como caso de gonorrea, recibían  $7,2 \times 10^6$  unidades de penicilina cristalina y  $8 \times 10^6$  unidades de penicilina clemizol en una sola dosis, repartida en ambos glúteos. A los ocho días del tratamiento, debían regresar a revisión, para un control clínico y bacteriológico. Se aceptaron como curados los pacientes con negatividad en una coloración de Gram para hisopado uretral, bien sea que tuvieran o no síntomas.

**Población de referencia.** La población de referencia está constituida por la totalidad de hombres con gonorrea definida, que consultaban al Centro de Salud N° 25 de la Secretaría de Salud del municipio de Medellín (Centro de control de enfermedades transmisibles), entre julio 11 de 1978 y marzo 16 de 1979.

Según la información disponible (35), al centro consultaron 1.205 de tales casos entre julio 1° de 1978 y marzo 31 de 1979.

Por lo tanto, el haber trabajado con una muestra de 156 casos, ha garantizado una muestra de tamaño apropiado para un nivel de significancia del 0,05 (muestra mínima permisible 136 pacientes) (36).



Esquema 1. Resumen del procedimiento para probar la producción de beta-lactamasa por *Neisseria gonorrhoeae*.

## RESULTADOS

En el Centro de Salud N° 25 de la ciudad de Medellín durante el período del 11 de julio de 1978 al 16 de marzo de 1979, fueron tomadas 156 secreciones uretrales, de pacientes con gonorrea que a la tinción con Gram mostraron diplococos intracelulares o intra y extracelulares, las cuales se cultivaron en el medio de Thayer-Martin, lográndose el crecimiento de 103 (66%) cepas que eran compatibles con *Neisseria gonorrhoeae* y que luego fueron identificadas por: morfología, tinción de Gram, prueba de la oxidasa y pruebas bioquímicas. Las 103 cepas identificadas como *Neisseria gonorrhoeae* fueron sometidas a las pruebas yodométricas y acidimétricas resultando todas negativas para la producción de la enzima (beta-lactamasa).

Fueron usadas como controles positivos las *Neisserias gonorrhoeae*: 76-073389 y 76-061782 que nos suministró The Center for Diseases Control, Atlanta, Georgia, 30333.

De los 156 (100%) hisopados uretrales tomados, se revisaron las historias de 102 (66%) pacientes para ver la evolución del tratamiento. De las 102 historias revisadas 71 (70%) correspondían a casos a quienes se aisló *Neisseria gonorrhoeae* y 32 que no se pudieron cultivar. De los 71 casos de cepas cultivadas con crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae*, 29 regresaron a revisión, y de éstos, 27 (93%) se curaron, pues no mostraron secreción uretral purulenta y la tinción de Gram no dejó ver diplococos gramnegativos intracelulares ni extracelulares; los otros dos casos fueron positivos con la tinción de Gram, siendo necesario darles drogas alternativas, como tetraciclina y espectinomicina, con las cuales en un control ocho días después se hallaron curados.

Del total de las 102 historias revisadas, 42 (41%) pacientes acudieron a revisión, encontrándose 39 (93%) casos curados y 3

sin curación, necesitando un nuevo tratamiento al cual respondieron, como lo confirmó el gram, ocho días después.

Los resultados se resumen en el Esquema 2.

## DISCUSION

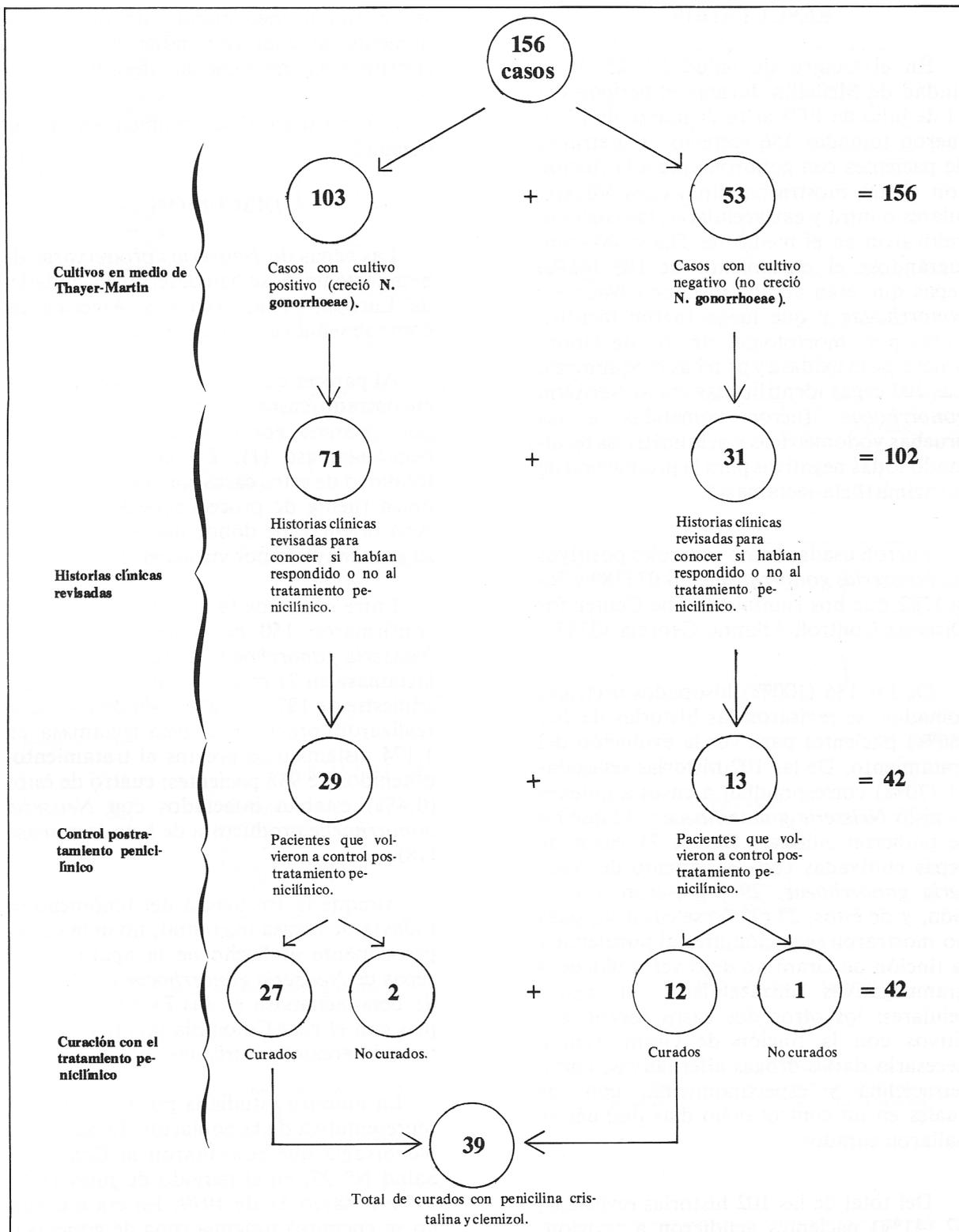
Las cepas de *Neisserias* productoras de beta-lactamasa, se han descrito en ciudades de Europa, Asia, Africa y América tal como se señaló en la introducción.

Al parecer en los Estados Unidos se han encontrado casos autóctonos de gonorrea por *Neisseria gonorrhoeae* productora de beta-lactamasa (1). En ese país la casi totalidad de estos casos son importados y la única fuente de procedencia de ellos es el Asia oriental, de donde ingresan al país en su gran mayoría por vía aérea (1).

Entre marzo de 1976 y mayo de 1977, se confirmaron 150 casos de infección por *Neisseria gonorrhoeae* productora de beta-lactamasa en 21 estados. Durante el primer trimestre de 1977, en el estado de Hawai se realizaron pruebas de beta-lactamasa en 1.174 aislamientos previos al tratamiento, obtenidos de 938 pacientes; cuatro de éstos (0,4%) estaban infectados con *Neisseria gonorrhoeae* productora de beta-lactamasa (18).

Aunque la frecuencia del fenómeno es todavía de escasa magnitud, no deja de ser preocupante el hecho de la aparición de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productora de beta-lactamasa en los Estados Unidos, país con el cual Colombia mantiene un intenso intercambio turístico y comercial.

La muestra estudiada por nosotros fue representativa de la población de casos con blenorragia que consultaron al Centro de Salud N° 25, en el período de julio 1° de 1978 a marzo 31 de 1979. En esa muestra no se encontró ninguna cepa de gonococo productor de beta-lactamasa.



Esquema 2. Respuesta al tratamiento penicilínico de 42 casos con *Neisseria gonorrhoeae*, según resultado del cultivo.

Aunque el resultado obtenido fue negativo, es necesario mantener una vigilancia intensiva y periódica que nos alerte oportunamente de la aparición de cepas productoras de la enzima.

Tanto el C.D.C. (USA) (37), como la Organización Mundial de la Salud (1), continúan recomendando 4,8 millones de unidades de penicilina procaínica por vía intramuscular, junto con un gramo de probenecid como tratamiento inicial de elección en caso de infección gonocócica no complicada (1, 28, 37); las ventajas que se aducen para este tratamiento, son además de su bajo costo, la dosis única y el servir de tratamiento adecuado para sífilis en incubación (1).

En Colombia carecemos de una presentación comercial que suministre las dosis anteriormente recomendadas y no resulta práctico formular cinco o diez ampollas de las presentaciones disponibles para completarla. En vista de lo anterior, el Centro de salud de enfermedades transmisibles de la ciudad de Medellín (Centro de Salud N° 25), optó por administrar un preparado comercial de fácil consecución en nuestro medio, de un costo relativamente bajo (\$72 = US\$ 1,5) y en dosis única, pero a base de  $7,2 \times 10^6$  unidades de penicilina cristalina y  $8 \times 10^5$  unidades de penicilina clemizol. La inyección de la droga se realiza en el mismo centro de salud tan pronto se hace el diagnóstico con tinción de Gram (si el paciente no tiene dinero para comprar la droga, ésta se suministra gratuitamente). Este tratamiento lo recibieron la gran mayoría de los pacientes, durante el tiempo de la investigación.

Tratamientos similares con altas dosis de penicilina cristalina (5 millones) se han utilizado en Groenlandia (1) con muy buenos resultados y una disminución general de la resistencia; la única desventaja de este esquema es que no erradica la sífilis que puede haberse contraído simultáneamente y por lo tanto se requiere de un

estricto seguimiento serológico al mes o a los dos meses de la consulta inicial, para detectar una sífilis en incubación y que por tratamiento con penicilina cristalina va a pasar a fase de latencia.

El tratamiento a base de penicilina cristalina y clemizol, en nuestro estudio produjo un 93% de curación; los tres casos no curados con este esquema podrían tratarse de casos ocasionados por gonococos que sin ser productores de penicilinas son resistentes a la penicilina, tal como ha sido descrito por Payne y Filkelstein (38), o de gonococos sensibles a la penicilina pero a concentraciones inhibitorias mínimas, superiores a las suministradas por el esquema terapéutico utilizado.

En conclusión, se presenta el primer trabajo colombiano sobre búsqueda de *Neisseria gonorrhoeae* productora de beta-lactamasa, con resultados negativos.

Al evaluar el tratamiento utilizado a base de penicilina cristalina y penicilina clemizol, se halló que la curación fue del 93% y por tanto resulta adecuada para el tratamiento de la gonococia no complicada, reemplazando en forma satisfactoria al esquema recomendado por la OMS.

## SUMMARY

Beta-lactamase production (Penicillinase) was estimated by yodometric and acidimetric methods, for each of 103 *Neisseriae gonorrhoeae* strains recovered from 156 male patients attending the Communicable Diseases Control Center in Medellín, Colombia. All strains gave negative results in both tests for the enzyme.

Treatment of noncomplicated male gonorrhoea patients with a mixture of aqueous-penicillin G  $7,2 \times 10^6$  U and clemizole-penicillin G  $8 \times 10^5$  U in one I.M. dose, was effective in 93% of the patients.

The present situation of gonorrhoea in Colombia, in the department of Antioquia, and in Medellín was analyzed. We discuss the potential importance for Colombia of the appearance in the United States of beta-lactamase producing *Neisseriae gonorrhoeae* strains given the considerable tourist and commercial interchange between the two countries.

### BIBLIOGRAFIA

- 1.— "Neisseria gonorrhoeae e infecciones gonocócicas": Organización Mundial de la Salud. Serie de informes técnicos. Ginebra 616:3-156,1978.
- 2.— Krugman, S. and Ward, R.: Enfermedades infecciosas, pp. 65-68. 5ª ed., México, Interamericana, 1974.
- 3.— Divo, A.: Microbiología médica, pp. 160-161. 2ª ed., México, Interamericana, 1973.
- 4.— Jawest, R., Melnick, J. L. and Adalberg, E. A.: Review of medical microbiology, p. 174. 9ª ed., California, Lange Medical Publications, 1970.
- 5.— Frobisher, M., Sommer Meyer, L. and Fuerst, R.: Microbiology in health and disease, p. 432. 12ª ed., Philadelphia, Saunders, 1969.
- 6.— Nicol, C. S.: World trends in sexually transmitted diseases. The situation in the United Kingdom, p. 13-25. In: Catterall, R. D., Nicol, C. S.: Sexually Transmitted Diseases. Londres, Academic Press, 1976.
- 7.— Kiraly, K. and Cause, G.: Gonorrhoeae: a world wide problem. In: Diana, B. B.: International Symposium on Gonorrhoeae, p. 14-23. Canadá, Health protection branch, health and welfare, 1975.
- 8.— Wiesner, P. J. and Holmes, K. K.: Current view of the epidemiology of sexually transmitted diseases in the United States. In: Danielsson, D., Juhlin, L., Mardh, P. A.: Genital infections and their complications, pp. 15-24. Estocolmo, Almqvist y Wiksell, 1975.
- 9.— Llopis, A.: El problema de las enfermedades venéreas en las Américas. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana 70 (1): 6-22, Washington, 1971.
- 10.— Los problemas de las infecciones venéreas en América Latina y el Caribe y los medios para combatirla. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana 84 (5): 337-382, Washington, 1978.
- 11.— Cárdenas, A.: El laboratorio clínico en el diagnóstico y control de las enfermedades venéreas. Analítica 16(1), Cali, 1978.
- 12.— Juhlin, L.: The situation of gonococcal and nongonococcal infections in Sweden and other scandinavian countries. In: Danielsson, D., Juhlin, L., Mardh, P. A.: Genital infections and their complications, pp. 25-28. Estocolmo, Almqvist y Wiksell, 1975.
- 13.— Catterall, R. D.: The situations on gonococcal and nongonococcal infections in the United Kingdom. In: Danielsson, D., Juhlin, L. y Mardh, P. A.: Genital infections and their complications, pp. 5-13. Estocolmo. Almqvist y Wiksell, 1975.
- 14.— Discusiones técnicas: XVIII Conferencia Sanitaria Panamericana. Las enfermedades venéreas. Washington. Octubre 1970. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana 70 (1): 1-111,1971.
- 15.— De los Ríos, J., Restrepo, M.: Enfermedades transmitidas sexualmente. Actualizaciones de conceptos. Comportamiento epidemiológico en Antioquia, 1969-1978. Boletín Epidemiológico Servicio Seccional de Salud de Antioquia 4 (1): 1-16, 1979.
- 16.— Correa de B., Alba y col.: Características clínico-epidemiológicas de los pacientes que consultan por enfermedades venéreas. Centro de Salud N° 25. Medellín 1960-1978. Escuela Nacional de Salud Pública, pp. 2-17. (Tesis de grado), 1978.
- 17.— *Neisseria gonorrhoeae* que produce beta-lactamasa (penicilinas). Weekly Epidemiological Report 49 (47), Washington, 1977.
- 18.— *Neisseria gonorrhoeae* que produce penicilinas. Weekly Epidemiological Report 49 (22), Washington, 1977.
- 19.— Penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae*, Morbidity and Mortality Weekly Report 25 (261), Washington, 1976.
- 20.— Penicillinase (beta-lactamasa) producing *Neisseria gonorrhoeae* world wide. Morbidity and Mortality Weekly Report 27:10-15, Washington, 1978.
- 21.— *Neisseria gonorrhoeae* productora de beta-lactamasa (penicilinas). Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana 3, Washington, 1977.
- 22.— Odugbemi, T. O., Hafiz, S. and Mcentegart M. G.: Penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae*: Detection by starch paper technique. Organization Mondiale de la Santé 8, 1977.
- 23.— Ellwell, L. P., et al.: Plasmid mediated beta-lactamase production in *Neisseria gonorrhoeae*. Antimicrob. Agents and Chemother. 11:528,1977.
- 24.— Roberts, M. and Folkow, S.: Conjugal transfer of R. plasmids in *Neisseria gonorrhoeae*. Nature 266: 630-631,1977.
- 25.— Kellogg, D. S., Jr., Holmes, K. K. and Hill, G. A.: Laboratory diagnosis of gonorrhoeae, American Society for Microbiology, Washington, 1976.
- 26.— Criteria and techniques for the diagnosis of gonorrhoeae. Center for Diseases Control. Department of Health, Education and Welfare. U.S. A.
- 27.— Guzmán, M.: Manual de procedimientos bacteriológicos para aislamiento e identificación de microorganismos del género *Neisseria*, pp. 11-56. Bogotá, 1975.
- 28.— Shroster, A. L. and Lucas, J. B.: Gonorrhoeae diagnosis and treatment. Obstetric and Gynecology. 39: 97,1972.
- 29.— Thayer, J. D. and Martin, J. E.: Improved médium selective for cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. Public Health Report 81:559-562,1966.
- 30.— Martin, J. E. and Lester, A.: Transgrow a médium for transport and growth of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*. Hsmha Health Report 86:30,1971.
- 31.— Kellogg, D. S.: *Neisseria gonorrhoeae* (Gonococcus). In: Lennette, E. H., Spaulding, E. H., and Truant, J. P.: Manual of Clinical Microbiology, 2ª ed. Washington, American Society for Microbiology, 1974.
- 32.— Morse, S. and Bartenstein, L.: Adaptation of the minitek system for rapid identification of *Neisseria gonorrhoeae* Journal clinical microbiology 3: 8-13,1976.
- 33.— Catlin, B. W.: Yodometric detection of *Hemophilus influenzae* beta-lactamasa rapid, presumptive test for ampicillim resistance. Antimicrob. Agents and Chemother. 7:265-270,1975.
- 34.— Thornsberry, C. and Kirven L. A.: Ampicillin resistance in *Hemophilus influenzae* as determined by rapid test for betalactamase production. Antimicrob. Agents and Chemother. 6: 653-654,1974.
- 35.— Centro de Salud de Enfermedades Transmisibles del Municipio de Medellín (Centro N° 25), Archivo.
- 36.— Cochran, W. G.: Técnicas de muestreo. México, D. F., C.E.C.S.A. pp. 105-111,1972.
- 37.— Center For Diseases Control: Gonorrhoeae. MMWR. Atlanta, Georgia, 30333.28:15-25,1979.
- 38.— Payne, M. S. and Finkelstein, R.: Growth on congo red agar: posible means of identifying penicillin—resistant now penicillinase - producing Gonococci. Journal of Clinical Microbiology. pp. 534-553,1974.