

HOSPITAL PROVINCIAL DOCENTE "SATURNINO LORA". SANTIAGO DE CUBA

Efecto del bicarbonato de sodio en el aislamiento primario de *Neisseria gonorrhoeae*

Por los autores:

Dr. *Gilberto Moya Jústiz*,¹ Dra. *María Caridad Mariño Castellanos* Dr. *Raúl J. Monte Boada*^{***} y Lic. *Carlos Carrió Valdés*^{****}

Moya Jústiz, G. Efecto del bicarbonato de sodio en el aislamiento primario de *Neisseria gonorrhoeae*.

Se estudia el efecto del bicarbonato de sodio añadido directamente al medio de crecimiento, para el aislamiento primario de *Neisseria gonorrhoeae*. Se investigaron 105 muestras de exudados uretrales de varones con uretritis, que acudieron al laboratorio de microbiología del hospital provincial "Saturnino Lora", y se procedió a inocular las mismas en agar chocolate, base GG; en placas de Petri y el mismo medio, pero con NaHCO_3 en concentraciones de 0,036 y 0,072 molar, utilizando frascos de 120 ml con tapas de rosca. Las placas se incubaron en atmósfera de CO_2 (método de la vela) y los frascos en atmósfera normal; ambos a 35°C durante 24 y 48 horas. No hubo diferencia entre los resultados obtenidos mediante los dos métodos, lo que afirma la utilidad del bicarbonato de sodio para el fin propuesto. Se establecen conclusiones y se formulan recomendaciones. El trabajo se ilustra con cuadros.

INTRODUCCION

La rápida evolución de las costumbres sexuales no ha ido aparejada a una adecuada orientación sanitaria,¹ lo que ha contribuido a un considerable aumento de las enfermedades de transmisión sexual a nivel mundial, que afecta a todos los grupos de edades de las diferentes clases sociales en ambos sexos, con una mayor incidencia en el período sexual activo. La gonorrea, la más antigua de estas entidades, cuyo origen se pierde a través de los tiempos, es una afección infecto contagiosa causada por *N gonorrhoeae* y transmitida casi exclusivamente mediante el contacto sexual;^{2,4} ocupa un lugar relevante en todo el mundo y algunos la

* Especialista de I grado en microbiología. J' Servicio de microbiología, hospital provincial docente "Saturnino Lora", Santiago de Cuba.

** Especialista de I grado en microbiología. J' Servicio de microbiología, hospital provincial docente "Ambrosio Grillo", Santiago de Cuba.

*** Especialista de I grado en microbiología. Jefe del Departamento de Enterobacterias, INHEM, Ciudad de La Habana.

**** Licenciado en ciencias químicas, LPHEM, Santiago de Cuba.

incluyen entre las enfermedades infecciosas de mayor difusión,^{5,6} al mostrar las estadísticas una progresión del número de personas infectadas en todos los continentes.⁶

Cuba no constituye una excepción y muestra características análogas a las del resto de los países, ya que se informa un aumento creciente de los casos notificados de gonorrea en el orden del 30 % con respecto al año anterior,⁷ y nuestras estadísticas revelan un incremento notable, la tasa se eleva de un 8,9 en 1965 a 137,8 en 1979.^{7,8}

El control de la gonorrea y la prevención de sus secuelas dependen en gran escala de un diagnóstico precoz, que posibilite el tratamiento oportuno y el pesquisaje de los contactos. Las manifestaciones clínicas permiten suponer la existencia de esta enfermedad, pero para la confirmación se requiere del diagnóstico bacteriológico. Este se basa en la demostración y en el aislamiento, o ambos inclusive del microorganismo de muestras procedentes de los pacientes sospechosos de padecerla.²

Para ello es de suma importancia valorar los requerimientos de cultivo del agente causal. Casi todos los autores^{9,10} coinciden en plantear tres condiciones indispensables para obtener mayores posibilidades diagnósticas:

1. Humedad aproximada del 70 %.
2. CO₂ entre el 3 y el 7 %.
3. Temperatura de 35 grados centígrados.

Otros investigadores han estudiado el efecto de diferentes condiciones atmosféricas en el crecimiento de *N. gonorrhoeae* y demostrando que la mayoría de las cepas requieren del 2 al 10 % de CO₂ en la atmósfera para su crecimiento, especialmente para el aislamiento primario.¹¹ Se han ideado diversos sistemas para suministrar CO₂ a los microorganismos, entre ellos:

1. Método de la vela.²
2. Uso de cilindro industrial de CO₂ para recipientes, como la jarra de anaerobios.¹²
3. Métodos químicos que utilizan CIH, 0,1 N y pequeños trozos de mármol.¹²
4. Empleo de incubadoras especiales que aportan la temperatura y el CO₂ requeridos.¹⁰

Los tres primeros tienen desventajas al requerir de un recipiente adicional, y resulta difícil conocer con exactitud la cantidad de CO₂ así aportado.

La incubadora de CO₂ es un equipo costoso, que reclama de cierto entrenamiento para su empleo.

Por otra parte, con los sistemas señalados anteriormente, para el estudio individual posterior de cada muestra es necesario alterar las condiciones de incubación del resto.

Estos inconvenientes han impuesto a los investigadores la tarea de buscar otros que los sustituyan, entre los cuales puede mencionarse el uso de:

1. Tabletas de ácido cítrico más bicarbonato para generar CO₂ en dispositivos individuales herméticamente cerrados, pero requiere también de un recipiente adicional.¹¹
2. El bicarbonato de sodio añadido directamente al medio de crecimiento.¹¹

Este último constituye un hallazgo reciente y novedoso. Al valorar que la mayoría de los laboratorios del país no poseen incubadoras de CO₂; que la utilización de los recipientes necesarios para el método de la vela (u otros de los señalados) son de difícil adquisición y disminuyen el espacio útil de nuestras incubadoras, y basados en los resultados obtenidos por quienes preconizan el uso de esta sal añadida directamente al medio de cultivo, cuya concentración puede ser regulada más fácilmente que el gas CO₂, nos propusimos comprobar en nuestro medio la utilidad del sistema, teniendo en cuenta su sencillez y bajo costo, con vistas a facilitar el diagnóstico de tan difundida enfermedad.

OBJETIVOS

General

- Comprobar la utilidad de un medio de cultivo al que se le adiciona bicarbonato de sodio como fuente inicial de carbono, para el aislamiento primario de *Neisseria gonorrhoeae*.

Específicos

1. Comparar los resultados obtenidos entre este método y el convencional.
2. Facilitar el diagnóstico de laboratorio de la gonorrea.

MATERIAL Y METODO

Materiales

1. Cristalería

Placas de Petri 85 x 10; frascos de cristal transparente de 120 ml, con tapas de rosca; frascos de 5 litros, de boca ancha y tapa de rosca (para el método convencional de la vela), pipetas, tubos de ensayos, erlenmeyers, balones, probetas, láminas portaobjetos.

2. Equipos

Incubadora y microscopios binocular y estereoscópico (todos disponibles en el laboratorio).

3. Reactivos

Cristal violeta colorante, Iugo!, alcohol de 95 grados y safranina (suministrados listos para su uso por la unidad provincial de reactivos químicos).

4. Medios de cultivo y productos químicos y biológicos GG, base agar Oxoid, sangre de carnero desfibrinada, bicarbonato de sodio puro para análisis, fosfato monopotásico, fosfato de sodio dibásico, carbón vegetal, glucosa, maltosa, sacarosa, nitrato férrico, glutamina, rojo fenol, NN-dimetilparafenil endianima oxalato.

5. Otros materiales

Hisopos, aplicadores, asas bacteriológicas, mecheros de gas, papel de filtro.

Universo

Estuvo constituido por los 105 pacientes varones con uretritis que acudieron al laboratorio de microbiología del hospital provincial docente "Saturnino Lora", en el período seleccionado para el estudio (noviembre de 1980).

Determinación de la muestra

Para demostrar la hipótesis planteada, se requería menos de un centenar de pacientes. Se tomaron 105 muestras con los siguientes controles:

1. Pacientes del sexo masculino a los que se les indicó exudado uretral para conocer la causa de su uretritis.
2. Pacientes que no hubieran recibido tratamiento previo con antibiótico.

Procedimiento

A cada paciente se le llenó el modelo en el que se recogieron datos generales y específicos acerca de su enfermedad.

Toma de muestra: A cada paciente, sin orinar, se le tomó muestra de la uretra en las primeras horas de la mañana con hisopo fino estéril, tratado con una solución tamponada de fosfato y carbón vegetal y se introdujo el mismo en la urstra, aproximadamente un centímetro y se le imprimió un movimiento de rotación durante 30 segundos. Seguidamente se realizó el frotis y la siembra en forma aleatoria, en placas de Petri con agar chocolate base GG, y en dos frascos que contenían una cuña del mismo medio, pero con bicarbonato de sodio en las siguientes concentraciones: 0,036 y 0,072 M.

Examen directo: El frotis se fijó y coloreó según lo orientado por las Normas Nacionales de Microbiología.¹³

Cultivo: Se procedió a estriar las placas y los frascos previamente inoculados y se incubaron de inmediato a 35 °C; las placas en una atmósfera con un 5 % de CO₂ aproximadamente (método de la vela), y los frascos en atmósfera normal; ambos durante 24 a 48 horas.

Interpretación

Examen directo: El frotis se observó con objetivo de inmersión, recorriendo alrededor de 100 campos. La presencia de típicos diplococos gramnegativos, arriñonados e intracelulares fue considerada como positiva.

Cultivo: Transcurrido el tiempo señalado, se examinaron las placas y los frascos en busca de colonias con las características propias del crecimiento en medio sólido del gonococo. A todos los cultivos sospechosos se les realizó la prueba de oxidasa, poniéndolos en contacto con una solución al 1 % de NN-dimetil p-phenyldiamina, recién preparada. Se impregnó un papel de filtro en la solución del reactivo, y tomando la colonia a investigar con un aplicador de madera estéril, se les puso en contacto. La aparición de una coloración que va de rojo a negro se interpretó como positiva.

A todos los cultivos con colonias oxidasa positivas se les efectuó coloración de Gram, para comprobar la presencia de diplococos arriñonados gramnegativos.

En la totalidad de los casos que resultaron positivos, observamos el crecimiento obtenido en los diferentes sistemas para conocer su eficacia; y con respecto a los negativos, en esta primera observación se procedió a incubarlos hasta completar las 48 horas en las mismas condiciones descritas para cada uno.

Cuando encontramos crecimiento de diplococos gramnegativos, oxidasa positivos, realizamos resiembras en placas de agar chocolate, para obtener cultivos puros y proceder a inocularlos en los tubos con los carbohidratos, que se incuban durante 48-72 horas. La producción de ácido sin gas de la glucosa, pero no a partir de los otros carbohidratos, confirmó la existencia de *Neisseria gonorrhoeae*.

RESULTADOS Y DISCUSION

Para demostrar la eficiencia de la sal a la cual hemos hecho referencia, investigamos 105 muestras de exudados uretrales de pacientes del sexo masculino, realizándoles a todos, además de cultivo, examen directo por la técnica de coloración de Gram, y se obtuvo un total de 46 positivos (43,8 %) y 59 negativos (56,2 %) (cuadro I).

Cuadro I. Resultados obtenidos de las 105 muestras de exudados uretrales del varón.

Resultados	No.	%
Positivos	46	43,8
Negativos	59	56,2
Total	105	100,0

De ellas, encontramos 45 casos positivos y 60 negativos por cultivo, tanto en medio de agar chocolate convencionalmente incubado en CO₂

(método de la vela), como en los que se añadió bicarbonato de sodio en las concentraciones ya referidas, usando frascos de 120 ml con tapas de rosca, en sustitución de las tradicionales placas de Petri, e incubados en atmósfera normal. Mediante examen directo, los resultados fueron: 44 positivos y 61 negativos; todo ello reflejado en el cuadro II.

Cuadro II. Resultados del examen directo y el cultivo

Exámenes	Positivos		Negativos		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%
Directo	44	41,9	61	58,1	105	100,0
Método de la vela	45	42,9	60	57,1	105	100,0
Bicarbonato de sodio 0,036	45	42,9	60	57,1	105	100,0
Bicarbonato de sodio 0,072	45	42,9	60	57,1	105	100,0

Fuente: Libro de registro del hospital provincial docente "Saturnino Lora", 1980.

Comparando los resultados obtenidos por las variantes empleadas v el método convencional, se destaca y llama notablemente la atención que los mismos no difieren en absoluto, lo que constituye un reflejo de la eficacia de añadir el bicarbonato de sodio directamente al medio, para el primer aislamiento del gonococo (cuadro III). No observamos diferencias ostensibles en cuanto a variación del tamaño de las colonias.

Cuadro III. Resultados obtenidos con la variantes técnicas ensayadas

Resultados	Método de la vela		Bicarbonato de sodio 0,036 m		Bicarbonato de sodio 0,072 m	
	No.	%	No.	%	No.	%
Positivos	45	42,9	45	42,9	45	42,9
Negativos	60	57,1	60	57,1	60	57,1
Total	105	100,0	105	100,0	105	100,0

La literatura registra que un pequeño por ciento de las muestras de

pacientes con uretritis gonocócica, no se diagnostica en las primeras 24 horas de incubación;¹⁴ sin embargo, nuestros hallazgos discrepan en ese sentido, pues todos los casos positivos los obtuvimos durante ese tiempo (cuadro IV).

Consideramos necesario resaltar aquí, que en la bibliografía consultada que motivó nuestra investigación, los autores utilizaron cepas de laboratorio para comprobar la eficacia del bicarbonato de sodio añadido directamente al medio de cultivo, como sustituto de la incubación en CO₂ tradicionalmente conocida;¹¹ mientras que nosotros partimos directamente de la muestra clínica. Estimamos que los resultados obtenidos de este modelo podrían contribuir mejor a la valoración del método.

Cuadro IV. Resultado de los cultivos a las 24 y 48 horas

Cultivos	24 horas				48 horas			
	Positivos		Negativos		Positivos		Negativos	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Método de la vela	45	42,9	60	57,1	—	—	60	57,1
Bicarbonato de sodio 0,036 m	45	42,9	60	57,1	—	—	60	57,1
Bicarbonato de sodio 0,072 m	45	42,9	60	57,1	—	—	60	57,1

Fuente: Libro de registro del hospital provincial docente "Saturnino Lora", 1980.

Además, en la revisión de la literatura internacional a nuestro alcance, no encontramos otro trabajo que partiera directamente de la muestra clínica, y hasta 1980 no existían datos de que alguien en el país hubiera empleado el bicarbonato de sodio en el primer aislamiento de *N. gonorrhoeae*.

De los 46 casos positivos, 43 fueron diagnosticados por el examen directo y el cultivo (93,4 %). Dos casos sólo por el último (4,4 %) y uno por el primero (2,2 %) (cuadro V).

Cuadro V. Correlación de los 46 casos positivos por examen directo y cultivo

Exámenes	No.	%
Directo y cultivo	43	93,4
Cultivo	2	4,4
Directo	1	2,2
Total	46	100,0

El examen directo coloreado según la técnica de Gram mostró ser

eficaz, y reveló una adecuada sensibilidad. La literatura recoge hasta un 99 % de sensibilidad, pero otros autores han obtenido solamente un 92,6 %.¹⁵ Nuestros resultados en este trabajo se corresponden con los planteados por diversos investigadores, al alcanzar un 95,5 %.

En general, para proporcionar una idea comparativa de nuestros hallazgos en cuanto a positividad, con otros trabajos nacionales e internacionales, cabe señalar que se informaron cifras variables de aislamiento en pacientes del sexo masculino y que, por ejemplo, en un grupo de 2 558 pacientes examinados mediante cultivo en una clínica de enfermedades venéreas, se aislaron gonococos en el 39,8 %¹⁴ y en otro de 54 cultivos uretrales de varones sospechosos, se obtuvieron siete positivos, para un 12,9 %.¹⁶

En nuestro medio, en un grupo de 112 varones investigados, los resultados arrojaron un 48,2 % de positividad.¹⁷ En otro trabajo nacional¹⁸ se da a conocer un 61 % en 4 176 pacientes estudiados por examen directo, según la técnica de Gram.

De los pacientes analizados por nosotros, el 60,9 % tenía secreciones purulentas; de ellos, 47 mostraban abundante secreción, y 17, escasa; en el 20 % existía secreción seromucosa, y en el 19,1 % no se presentó ninguna (cuadro VI).

Cuadro VI. Características de la secreción uretral

Secreción	No.	%
Purulenta	64	60,9
Seromucosa	21	20,0
No secreción	20	19,1
Total	105	100,0

Fuente: Libro de registro del hospital provincial docente "Saturnino Lora", 1980.

En los cuadros VII y VIII se reflejan los resultados obtenidos tomando en cuenta las características físicas de las muestras. Como era lógico esperar, en el grupo de pacientes con secreción purulenta encontramos el mayor por ciento de positividad, lo que coincide con los hallazgos más frecuentemente notificados en los casos de uretritis gonocócica.¹⁹ No se obtuvo ningún caso positivo en aquellos con secreción seromucosa, y sólo uno entre los 20 sin secreción.

Cuadro VII. Resultados obtenidos de acuerdo con el tipo de secreción

Secreción	Pacientes	Examen directo			
		Positivo		Negativo	
		No.	%	No.	%
Purulenta	64	43	40,9	21	20,0
Seromucosa	21	—	—	21	20,0
No secreción	20	1	0,9	19	18,2
Total	105	44	41,8	61	58,2

Fuente: Libro de registro del hospital provincial docente "Saturnino Lora", 1980.

En el cuadro IX se observa el comportamiento de las pruebas ensayadas sólo con los pacientes que presentaron secreción purulenta, y que constituyeron el mayor número.

Cabe destacar que todos los pacientes positivos tenían disuria y menos de diez días de evolución.

El período de incubación por pacientes fue aproximadamente de dos a ocho días; dato este difícil de obtener por la carencia de orientación e información hacia la población con respecto a dicha enfermedad.

Cuadro VIII. Resultados obtenidos de acuerdo con el tipo de secreción

Secreción	Pacientes		Método de la vela				Bicarbonato de sodio 0,036 M				Bicarbonato de sodio 0,072 M			
	No.	%	Positivos		Negativos		Positivos		Negativos		Positivos		Negativos	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Purulenta	64	60,9	44	41,9	20	19,0	44	41,9	20	19,0	44	41,9	20	19,0
Seromucosa	21	20,0	—	—	21	20,0	—	—	21	20,0	—	—	21	20,0
No secreción	20	19,1	1	0,9	19	18,2	1	0,9	19	18,2	1	0,9	19	18,2
Total	105	100,0	45	42,8	60	57,2	45	42,8	60	57,2	45	42,8	60	57,2

Fuente: Libro de registro del hospital provincial docente "Saturnino Lora", 1980.

Cuadro IX. Comportamiento de las pruebas utilizadas en los pacientes con secreción purulenta

Pruebas	Positivos		Negativos		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%
Frotis	43	67,2	21	32,8	64	100,0
Método de la vela	44	68,7	20	31,3	64	100,0
Bicarbonato de sodio 0,036 M	44	68,7	20	31,3	64	100,0
Bicarbonato de sodio 0,072 M	44	68,7	20	31,3	64	100,0

Fuente: Libro de registro del hospital provincial docente "Saturnino Lora", 1980.

Como se demostró en el desarrollo del presente trabajo, la adición de bicarbonato de sodio directamente al medio de crecimiento, suple satisfactoriamente la incubación en CO₂ por el método de la vela y otros conocidos, y brinda un número considerable de ventajas, las cuales ya fueron expuestas; además de propiciar el ambiente biológico necesario de CO₂ desde el mismo momento de la inoculación de la muestra.

CONCLUSIONES

1. El bicarbonato de sodio añadido directamente al medio de cultivo, en las concentraciones investigadas (0,036 y 0,072 molar) y utilizando frascos de 120 ml con tapa de rosca, es útil en el aislamiento primario de *Neisseria gonorrhoeae*.
2. No encontramos diferencias en los resultados de los casos estudiados por las variantes ensayadas y el método convencional, lo que sugiere significativamente que el HNaCO₂ suple satisfactoriamente los métodos convencionales de suministrar CO₂ para la recuperación del gonococo en el laboratorio.
3. Este método permite la utilización controlada de la fuente de carbono inicial para el primer aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae*, lo que no resulta fácil con el método de la vela.
4. El procedimiento resultó sensible, específico y sencillo.
5. Evita el uso de frascos grandes y otros recipientes o equipos requeridos para propiciar el CO₂ por otros métodos, con lo que se facilita el diagnóstico de laboratorio de la gonorrea.
6. La cantidad de medio de cultivo utilizada por caso es menor (7 a 8 ml), y los recipientes empleados para este fin son de fácil adquisición y menos frágiles que las placas de Petri.

RECOMENDACIONES

1. Recomendamos el nuevo método empleado para el aislamiento primario del gonococo en los exudados uretrales del varón.

2. **Proponemos que se ensaye en el diagnóstico de laboratorio de la gonorrea de otras localizaciones y en la mujer, adaptándolo convenientemente para este objeto.**
3. **Valorar el método para el transporte de estas muestras hasta el laboratorio, lo que nos permitirá realizar la toma de las mismas en cualquier lugar del país.**
4. **Efectuar estudios que nos posibiliten valorar también el medio en el aislamiento primario de *N. meningitidis*.**
5. **Ensayar el método en la aplicación de microcultivos, que nos permita realizar pesquiasaje a bajo costo en la población, para detectar portadores asintomáticos de gonococo.**

SUMMARY

Moya Jústiz, G. et al. *Effect of sodium bicarbonate on primary isolation of Neisseria gonorrhoeae.*

Effect of sodium bicarbonate directly added to growth médium, for primary isolation of *Neisseria gonorrhoeae*, is studied. One hundred and five samples of urethral exudates from males with urethritis, who came to the microbiologic laboratory, "Saturnino Lora" Provincial Hospital, were investigated. The samples were inoculated in chocolate-agar, GG base; in Petri plates and the same culture médium, but with NaHCO₃ in 0,036 and 0,072 mol concentrations, using 120 ml bottles with screw caps. The plates were incubated at CO₂ atmosphere (candle method) and the bottles at normal atmosphere; both at 35°C during 24 and 48 hours. There was not difference between results obtained by the two methods, so usefulness of sodium bicarbonate for that proposal is asserted. Conclusions are established and recommendations are stated. The paper is illustrated with pictures.

RÉSUMÉ

Moya Jústiz, G. et al. *Effet du bicarbonate de sodium dans l'isolement primaire de Neisseria gonorrhoeae.*

Les auteurs ont étudié l'effet du bicarbonate de sodium ajouté directement au milieu de croissance, pour l'isolement primaire de *Neisseria gonorrhoeae*. Ils ont étudié 105 échantillons d'exsudats urétraux provenant d'individus du sexe masculin et porteurs d'urétrite, qui sont allés au laboratoire de microbiologie de l'hôpital provincial "Saturnino Lora"; les échantillons ont été placés en milieu agar-chocolat, base GG; en plaques de Petri et dans le même milieu, mais avec NaHCO₃ en concentrations de 0,036 et 0,072 molaire, en employant des flacons de 120 ml avec des bouchons à vis. Les plaques ont été incubées en atmosphère de CO₂ (méthode de la bougie) et les flacons en atmosphère normale, tous les deux à 35°C pendant 24 et 48 heures. Il n'y a pas eu de différence entre les résultats obtenus par les deux méthodes, ce qui affirme l'utilité du bicarbonate de sodium pour le but proposé. Des conclusions et des recommandations sont signalées, et des tableaux sont présentés.

BIBLIOGRAFIA

1. *Van Parijs, L. G.*: No hay de qué avergonzarse. Salud Mundial, mayo, 1975. P. 20.
2. *Jawetz, E. y otros*: Cocos piógenos. Manual de Microbiología Médica. 8va ed., México, Ed. El Manual Moderno, 1974. p. 214-18.
3. *Fiumara, U. J.*: Diagnóstico y tratamiento de la gonorrea. Clin Med Norteam, September 1972.

1. *Clark, D. O.*: Gonorrea. Conceptos cambiantes en diagnóstico y tratamiento. La Habana, Información Directa, Ministerio de Salud Pública, mayo, 1975. P. 3.
2. *Cause, G.*: Un problema mundial. Salud Mundial, mayo, 1975. P. 3.
3. Organización Mundial de la Salud (OMS): Aspectos sociales y sanitarios de las enfermedades de transmisión sexual. Cuadernos Salud Pública No. 65, octubre 1977. P. 12. P. 12.
4. *Wertein, L. J. y otros*: Vigilancia y control de las ETS. La experiencia cubana. Conferencia, junio, 1980.
5. *MINSAP*: Epidemiología. Texto Básico. Colección del Estudiante de Medicina. La Habana, Gabinete Central Metodológico. P. 353.
6. Organización Mundial de la Salud (OMS): Toma de muestras, aislamiento e identificación de *N. gonorrhoeae*. Rev Cub Hig Epid 18: 95, abril-junio, 1980.
7. *Kellogg, J. D. S.*: Desarrollos recientes en el diagnóstico de gonorrea por el laboratorio. Clin Obstet Ginecol, marzo, 1975. P. 145.
8. *Talley, R. S.; C. L. Baugh*: Effect of bicarbonate on growth of *Neisseria gonorrhoeae*: replacement of gaseous CO₂ atmosphere. Appl Microbial 29 (4): 469, April, 1975.
9. *Collins, C. H.*: Métodos Microbiológicos. Cocos gramnegativos: *Neisserias* y *Veillonells*. Zaragoza, Ed. Acribia, 1969. Pp. 227-229.
10. *Normas de microbiología*: Investigación de gonococo. La Habana, INHEM, 1971. Pp. 7-8.
11. *Chapel, T. A. et al.*: The effect of delayin incubation in a CO₂ — enriched environment on gonococci. Ven Dis 13 (1): 45, January, 1976.
12. *Richard, B. M.; B. Rothemberg et al.*: Eficacia de pruebas diagnósticas seleccionadas JAMA 235: 49, 1976.
13. *Braff, E. H.; O. J. Welbb Els Man*: Asymptomatic gonococcal urethritis in selectiel males. 68 (18): 779, August, 1978.
14. *Almanza, C. y otros*: Diagnóstico y epidemiología de la gonorrea en la pareja humana. Rev Cub Hig Epid 18: 95, abril-junio, 1980.
15. *Ortiz, CH. M.*: Estudio de la blenorragia (tratamiento). La Habana, Trabajo de Grado 1978.
16. *Hunter¹, H. H.*: Gonorrea y uretritis no gonocócica. Adelantos recientes. Clin Med Nor- team 5: 933, 1978.

Recibido: 26 de octubre de 1983

Aprobado: 28 de octubre de 1983

Dr. Gilberto Moya Jústiz
Hospital provincial "Saturnino Lora" Carlos J. Finlay # 13,
Los Olmos, Santiago de Cuba.