

## BUSQUEDA DE NEISSERIA GONORRHOEAE POR ANALISIS INMUNOENZIMATICO GP UNA POBLACION PROMISCUA SEXUAL

A. HENAO, A. CORREA

La búsqueda de enfermedad gonocócica, por medio del Gram, cultivo de Thayer-Martin y ensayo inmunoenzimático fue practicada en 146 pacientes de una clínica para el control de las enfermedades sexualmente transmitidas. En los aislamientos positivos para *N. gonorrhoeae* se encontraron cuatro cepas productoras de beta lactamasa, hallazgo epidemiológico importante en nuestro medio. Cuando se comparó el ensayo inmunoenzimático (EIE) frente al cultivo de una muestra obtenida del endocervix, su sensibilidad fue de 83% y su especificidad de 94%; la sensibilidad del Gram de exocervix frente al cultivo de exocervix fue de 88% y su especificidad de 96%. Con los anteriores resultados no fue posible demostrar ventajas del EIE sobre la actual metodología. Se discuten cuáles podrían ser las causas de estos resultados.

### INTRODUCCION

Las enfermedades sexualmente transmitidas (EST) han tenido durante los últimos años un incremento progresivo en su prevalencia. Entre estas enfermedades, la gonorrea continúa siendo la primera en muchos países mostrando a partir de 1970 un apreciable incremento anual (1, 2). Es así como en 1982 en los EE.UU. se informaron más de 2.5 millones de casos nuevos en la población general (2). En

Colombia, en ese mismo año, se informaron 40.843 casos (1) y en Medellín 4.599 en 1984 (3). La prevalencia real de la enfermedad no ha sido totalmente cuantificada; algunos estiman que en los países desarrollados puede ser tres veces mayor que la informada (2); en los países en vía de desarrollo, dadas las características de salud, el subregistro, la automedicación y el inadecuado nivel de información, su incidencia debe ser mucho mayor.

Este aumento ha obedecido a factores diversos dependientes del país en el cual se analice la enfermedad. En general se considera que los cambios ocurridos a partir de la década de los años 60, con la llamada liberación sexual, han aumentado este tipo de patología ayudados por las facilidades en el transporte, el uso masivo de anovulatorios y los factores socio-económicos, especialmente los predominantes en los países del tercer mundo (4-6). A mediados de la década de los años 70 aparecieron cepas resistentes a la penicilina en pacientes provenientes del Lejano Oriente y de Africa, cepas que han aumentado progresivamente hasta duplicarse anualmente (7) y llegar a representar, en algunos países orientales, el 48% de los aislamientos (8). Este hecho se ha visto agravado por la reciente aparición de resistencia a las tetraciclinas y a la espectinomicina (9, 10), drogas que se habían convertido en alternativa del tratamiento clásico, en especial la primera, puesto que la *Chlamydia trachomatis* había venido ganando importancia como agente de uretritis y cervicitis en los últimos años (2). Sin embargo, el aislamiento de cepas resistentes de *N. gonorrhoeae* en Colombia no ha sido aún reportado (1,3, 11-13).

Las dificultades en el diagnóstico y en el tratamiento de la mujer con gonorrea se deben en gran parte a que la enfermedad se pre-

---

Drs. Alvaro Heno Trujillo, Médico Residente del programa de infecciosas Universidad Pontificia Bolivariana, Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín. Alberto Correa Londoño, Médico Internista, Microbiología Clínica. Director del Laboratorio de Salud Pública, Metrosalud, Medellín.

Estudio patrocinado por Metrosalud, Medellín, con la colaboración de la compañía Abbott.

Solicitud de separatas al Dr. Heno.

senta asintomática o con síntomas inespecíficos y por consiguiente la consulta es tardía. El porcentaje de mujeres asintomáticas varía entre 27 y 70% en las series estudiadas (2, 14-16). Tal factor hace que muchas de ellas sean diagnosticadas casualmente durante la visita ginecológica de rutina. Este hecho, sumado a las anteriores consideraciones, ha dificultado el control adecuado de la enfermedad.

Debido a que el examen físico aporta signos específicos solamente en 26 a 40% de los casos (14, 15), se hizo necesario contar con una ayuda diagnóstica más sensible y específica que solo fue posible en 1966 cuando se contó con un medio de cultivo, el de Thayer-Martin (17). Este ha demostrado su efectividad en pacientes varones con sensibilidad y especificidad de casi 100%. En la mujer, sin embargo, la sensibilidad varía entre 85% y 93% (13, 14, 18-20) y la especificidad es de 96 a 98%. La demora en el resultado del cultivo es una limitante importante para el diagnóstico, ya que si se aplaza el tratamiento en espera del resultado, se presenta hasta un 7% de enfermedad inflamatoria pélvica durante la primera semana de la enfermedad (15, 21). Esto ha llevado a la utilización de otros métodos diagnósticos más rápidos, uno de los cuales ha sido la coloración de Gram, que si bien no permite el conocimiento de la sensibilidad del germen a los antibióticos, es importante en el establecimiento de un diagnóstico oportuno y rápido. Este método ha demostrado también su utilidad en los varones sintomáticos en los cuales la sensibilidad y especificidad lo hacen comparable al cultivo (6, 19), con la ventaja de su bajo costo y rapidez. En la mujer la utilidad no ha sido tan importante pues su sensibilidad varía entre 50 y 93% (13, 14, 18-20, 22, 23), dependiendo principalmente de la experiencia del personal encargado de la interpretación. La especificidad del Gram en mujeres puede ser entre 86 y 98% (13, 14, 18-20, 22, 24), dependiendo de la población estudio, siendo mayor en poblaciones de alto riesgo (2).

En la búsqueda de otros métodos que pudieran ayudar en el diagnóstico de la enfermedad, se han desarrollado pruebas para encontrar el antígeno del agente causal. Uno de éstos, el ensayo inmunoenzimático (EIE), ha

demostrado gran utilidad en la búsqueda de antígenos en varias enfermedades infecciosas por su gran sensibilidad, especificidad, rapidez y posibilidad de automatización (25). Un método de EIE para la detección del antígeno de *N. gonorrhoeae*, desarrollado recientemente por Abbott Laboratories y comercializado con el nombre de Gonozyme, ha demostrado su utilidad en el diagnóstico de la enfermedad en el varón con una sensibilidad y especificidad equiparables al cultivo y al Gram (23, 26, 27). Los resultados de los trabajos en poblaciones femeninas para valorar la prueba frente al cultivo y al Gram han obtenido sensibilidades que varían entre 62 y 91% (23, 25, 26, 28-30), siendo el EIE mejor que el Gram, pero no lo suficientemente sensible para ser utilizado en mujeres de bajo riesgo como prueba rutinaria de tamizaje. La especificidad, semejante a los resultados obtenidos por el cultivo, varía entre 91 y 97% (23, 25, 26, 28-30). Aunque la sensibilidad no representa un logro importante actualmente, sí se obtienen algunas ventajas como son la posibilidad de acortar el tiempo de diagnóstico en varias horas (27), la automatización y la objetividad de la lectura.

Ante la necesidad de contar en una clínica para EST de un método confiable para el control de la enfermedad gonocócica, y dados los diferentes resultados reportados en la literatura sobre Gonozyme, decidimos evaluarlo.

#### MATERIAL Y METODOS

Las muestras fueron obtenidas de 214 pacientes promiscuas sexuales (meseras de bares, prostitutas, etc.) tomadas al azar, que asistieron al Centro de Salud No. 25 Guayaquil en búsqueda del certificado de salud establecido por las autoridades y que no fueron a control postratamiento. El estudio se efectuó en los meses de junio y julio de 1985.

A cada paciente le fue llenada una encuesta dividida en cuatro partes. En primer lugar se anotaron los datos de identificación: fecha, número de orden, edad, número de historia y nombre. A continuación se relacionaron los antecedentes personales como número de embarazos, abortos, embarazos ectópicos, tiempo de inicio de las relaciones sexuales, fre-

cuencia semanal de éstas, tipo de planificación (dispositivo intrauterino, condón, anovulatorios, tubectomía y otros); antecedentes de EST (gonorrea, sífilis, condilomas, chancro blando y linfogranuloma venéreo). En tercer lugar se anotaron los síntomas que la paciente relataba al momento del examen, tales como la presencia de flujo, prurito, dolor hipogástrico, dispareunia, disuria y fiebre. Además, se anotó el uso de cualquier tipo de antibiótico durante los 15 días anteriores a la consulta. Por último se indican los hallazgos más importantes del examen físico, como son la presencia de flujo a nivel de exocervix cuantificado como nulo, escaso y abundante; las características y aspecto de color claro, amarillo, blanco, sanguinolento, verdoso y el estado del cervix ulcerado y de sangrado fácil.

Para la toma de muestras se utilizaron los criterios descritos por Eschenbach y Kellog (24, 31). En posición ginecológica se practicó examen buscando cualquier tipo de patología perineal; se colocó un espéculo vaginal sin lubricante para visualizar el cervix; después se utilizaron tres aplicadores estériles: el primero para la toma de la secreción existente en el exocervix y fondos de saco, realizándose una impresión sobre placa portaobjetos. Luego, el escobillón fue colocado en 1 ml de solución salina estéril para la búsqueda de protozoos. Previa limpieza del exocervix un segundo aplicador se introdujo 0.5 cm en el endocervix, rotándolo contra las paredes por unos diez segundos; luego se colocó en un tubo que contenía 200 ul de una solución inhibidora (STD-EZE)\*, que permite guardar las muestras por un tiempo no mayor de cinco días. Con el tercer escobillón se hizo el mismo procedimiento anterior y la muestra obtenida sirvió para una impresión en el área central de la lámina. Este mismo aplicador se empleó para trazar una gran Z sobre el medio de cultivo de Thayer-Martin.

La placa fue coloreada por la técnica de Gram y examinada por tres personas ajenas a los resultados de las otras dos pruebas; la primera, una bacterióloga dedicada desde hace

dos años a la interpretación de este tipo de muestras, la cual, dada su experiencia, fue considerada para el estudio como la referencia de la técnica. La segunda, una bacterióloga del Servicio de Microbiología de la Corporación de Investigaciones Biológicas (CIB), con experiencia en este tipo de muestras; la tercera por el investigador a cargo del estudio, con un entrenamiento de seis meses. La valoración del tipo de muestra estuvo de acuerdo con lo descrito por Eschenbach (32), considerando como buena muestra aquella que presentara más de cinco polimorfonucleares y células epiteliales de 0 a 1 por campo de mil aumentos. Se consideró positivo el extendido que presentara más de cinco diplococos intracelulares Gram negativos tipo *Neisseria*; además se tuvieron en cuenta las placas que presentaran diplococos Gram negativos extracelulares. Se incluyeron también datos sobre la flora acompañante y el tipo de reacción leucocitaria existente en el endocervix y el exocervix. Los datos obtenidos fueron comparados posteriormente, buscando la correlación entre ellos.

Para el cultivo se empleó el medio selectivo de Thayer-Martin\*\* preparado con una base de agar G.C., polvo soluble de hemoglobina al 2%, suplementado con vitox, y empleando una solución de antibióticos; todos los medios fueron usados en un lapso no mayor de dos semanas. La siembra se realizó en el mismo sitio de la toma de la muestra utilizando el tercer aplicador y esparciendo el inóculo con un asa previamente flameada. Las cajas sembradas se colocaron inmediatamente en un frasco con una vela encendida, que permitiera la formación de un ambiente de CO<sub>2</sub> al 5%; posteriormente, antes de dos horas, fueron incubadas a 35°C durante 72 horas con revisiones cada 24 horas. En los cultivos en que se obtuvo crecimiento de colonias con morfología semejante a *Neisseria*, se realizó evaluación posterior para comprobar la producción de citocromo oxidasa, usando cintas Pathotec CO\*\*\*. Cuando ésta fue positiva se hizo extendido y se tiñó por coloración de Gram, buscando la presencia de diplococos

\* Abbott División Diagnóstica, Chicago Illinois, USA.

\*\* Oxoid limited, England.

\*\*\* General Diagnostics, USA.

Gram negativos. La comprobación de un aislamiento positivo para *N. gonorrhoeae* se basó en su capacidad de fermentar carbohidratos como glucosa, maltosa, lactosa, sucrosa y fructuosa; se consideraron como positivos los que solo fermentaron la glucosa; además a los aislamientos positivos se les realizó la prueba para la producción de beta lactamasa empleando cintas\*\*. En caso de no observarse ningún tipo de crecimiento, las cajas eran descartadas a las 72 horas.

Para el ensayo inmunoenzimático (EIE) se desarrolló la metodología sugerida por el fabricante para la utilización de su prueba Gonozyme. La muestra obtenida con el segundo aplicador, fue diluida en 1.0 ml de buffer por dos minutos, mezclándola luego en un agitador vortex por 20 segundos hasta conseguir una suspensión, retirando el aplicador y escurriéndolo contra las paredes. Se tomaron 200 ul de cada una de las muestras, depositándolas en un pozo de una placa de reacción de 20 pozos y colocando, en cada uno, una esfera sensibilizada con el anticuerpo específico anti *N. gonorrhoeae* producido en conejos. Posteriormente se incubó a 37°C por 45 minutos, se lavó con agua destilada (sin ninguna actividad inhibitoria sobre la enzima), utilizándose para esto el sistema de lavado manual de cinco pozos. Después se colocaron en cada uno de los pozos 200 ul del anticuerpo anti *N. gonorrhoeae* producido en conejos; se incubó nuevamente por 45 minutos, se lavó y se agregaron 200 ul de anticuerpo IgG producido en cabra y conjugado con peroxidasa de rábano silvestre; se incubó nuevamente por 45 minutos, se lavó y se colocaron 300 ul de OPD (o-Fenilendiamina .2 HCL), substrato de la enzima; después de una nueva incubación, durante 30 minutos a temperatura ambiente, se frenó la reacción usando  $H_2SO_4$ . El desarrollo del color fue leído dentro de la siguiente hora en un espectrofotómetro computarizado Quantum I a 492 nm, usando tres controles negativos y dos positivos suministrados por el fabricante. Los resultados fueron reportados con base en aquellos obtenidos con los controles, calculándose entonces el punto de corte con el promedio de los negativos más un factor de 0.120. Las lecturas con

13% menos o más de este punto se reportaron como dudosas; las de mayores valores fueron informadas como positivas y/o negativas, teniendo en cuenta su densidad óptica.

Los datos fueron tabulados y almacenados para su análisis utilizando un computador; se utilizaron las siguientes fórmulas para el análisis:

Positivo verdadero (PV): prueba referencia positiva, prueba estudio positiva.

Negativo verdadero (NV): prueba referencia negativa, prueba estudio negativa.

Falso positivo (FP): prueba referencia negativa, prueba estudio positiva.

Falso negativo (FN): prueba referencia positiva, prueba estudio negativa.

Sensibilidad (S):  $[PV/(PV + FN)] \times 100$

Especificidad (E):  $[NV/(NV + FP)] \times 100$

Valor predictivo positivo (VP +):  
 $[PV/(PV + FP)] \times 100$

Valor predictivo negativo (VP—):  
 $[NV/(NV + FN)] \times 100$

Eficiencia (Ef):  $PV + NV/\text{total de pte.}$

Utilidad (U):  $S + E$

Valor Z

$$T = \frac{p_1 - p_2}{\sqrt{\frac{(p_1 \times q_1)}{n_1} + \frac{(p_2 \times q_2)}{n_2}}}$$

donde:

$p_1 = A/N_1$  (A: Número de pacientes positivos con la prueba 1;  $N_1$ : Número total de pacientes en ésta).

$p_2 = B/N_2$  (B: Número de pacientes negativos con la prueba 2;  $N_2$ : Número total de pacientes en ésta).

$q = 1 - p$ .

$n$  = número de casos totales para cada prueba.

$t$  = prueba de hipótesis.

Se consideraron como significativamente estadísticos valores de  $P < 0.05$  (33).

## RESULTADOS

Se analizó una población de 214 pacientes promiscuas. Es importante aclarar que a toda la población se le practicó cultivo de T-M y extendido de endocervix y exocervix para coloración de Gram; sin embargo y por motivos

técnicos, la prueba de EIE solo se efectuó en 146 de las pacientes.

No se encontró ninguna diferencia significativa entre la población que fue positiva por cualquiera de los métodos y la negativa, cuando se comparó su edad, número de embarazos, número de abortos, número de embarazos ectópicos, frecuencia de relaciones semanales y tiempo de inicio de las relaciones sexuales.

Al comparar los distintos síntomas clínicos y los hallazgos al examen, se encontró que éstos no guardaban ninguna relación con los hallazgos positivos al cultivo, no existiendo un síntoma o signo específico que oriente hacia el hallazgo y diagnóstico de la enfermedad. No ocurre lo mismo con el tiempo de evolución de éstos, encontrándose cultivo positivo solo en aquellas personas que relataban menos de tres meses de evolución, diferencia que fue estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

La sensibilidad obtenida por EIE frente al cultivo fue de 83% con una especificidad de 94%. Hubo variaciones en la sensibilidad del Gram frente al cultivo, dependiendo del sitio de la toma de la muestra. En el caso del endocervix, la sensibilidad fue solo de 11%, con especificidad de 100%, mientras que para las muestras obtenidas del exocervix y fondo de saco, la sensibilidad fue de 88% y la especificidad de 96% (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis comparativo de las pruebas para diagnóstico de gonorrea.

	EIE/ T.M.	EIE/Gram, diplococos intracelulares total	Gram Intra/T.M.	
			Endocervix	Exocervix
Sensibilidad	83	62	11	88
Especificidad	94	95	100	96
Valor predict. (+)	34	57	100	47
Valor predict. (-)	99	96	96	100
Eficiencia	93	92	96	95
Utilidad	177	157	111	184

Comparando las diversas pruebas en cuanto a su utilidad (suma de sensibilidad más especificidad) y considerando que 100 representa un 50% de la sensibilidad más la especificidad que ocurre al tirar una moneda al azar, hay

pruebas como en el caso del Gram de endocervix, en que, a pesar de su alta especificidad, su utilidad en este trabajo fue solo de 111, en comparación a 183 obtenido por el Gram de exocervix. El resultado para EIE fue de 177. EIE mostró una sensibilidad de 61.5% y una especificidad de 95% con respecto al hallazgo de diplococos intracelulares en el Gram.

En la eficiencia de la prueba, o sea la capacidad de clasificar correctamente los verdaderos enfermos y no enfermos, la del Gram de endocervix fue de 96, mientras la de exocervix fue de 95, y la de EIE de 93. El valor predictivo negativo, o sea la posibilidad de no estar enfermo con un resultado negativo, varió entre 96 y 100%. Sin embargo el valor predictivo positivo, o sea el número de pacientes enfermos, en una muestra informada como positiva, varió desde 34 hasta 100%, siendo EIE la de menor valor.

Al comparar entre los diferentes lectores del Gram, no existieron diferencias importantes entre el segundo y el tercer lector. En las muestras tomadas del endocervix los tres lectores coincidieron en las muestras positivas (Tabla 2). Las diferencias más importantes estuvieron a nivel del diagnóstico, en las mues-

Tabla 2. Comparación entre los diferentes lectores del Gram.

Diplococos	Segundo y tercer lectores					
	Endocervix			Exocervix		
	Intra	Extra	Neg.	Intra	Extra	Neg.
Intra.	1	0	0			
Endocervix Extra.	0	1	0			
Neg.	0	0	212			
1er lector						
Intra				11	0	4*
Exocervix Extra.				0	0	30**
Neg.				2***	0	167

\* Dos de éstas fueron positivas por cultivo.

\*\* Tres de éstas fueron positivas por cultivo.

\*\*\* Ninguna fue positiva por cultivo.

tras obtenidas del exocervix, donde el primer lector informó 30 placas con diplococos extracelulares, que los otros consideraron como

cocobacilos; de éstas, tres fueron positivas por cultivo y EIE. En cuatro placas el primer lector informó la presencia de diplococos intracelulares, que no fueron vistos por el segundo ni el tercero, de éstas dos fueron positivas por cultivo y EIE. El primer lector también informó como negativas dos placas que los segundos informaron como positivas, y ninguna de éstas fue positiva por los otros métodos diagnósticos. Al comparar el segundo lector con el primero, se encontró una sensibilidad de 73%, y una especificidad de 99%.

De las diez cepas aisladas por cultivo cuatro fueron productoras de beta lactamasa. Cuando se compararon estas cifras frente al consumo de antibióticos en los 15 días anteriores, 31 (14%) dijeron haberlos utilizado y de éstas, sólo una fue positiva, cepa que no correspondió a las productoras de beta lactamasa.

#### DISCUSION

La población estudiada fue equiparable en sus antecedentes personales a pesar de ser un grupo heterogéneo. La edad promedio fue de 26 + / - 6 años, semejante a la reportada por otros autores (2, 5, 34). El antecedente de EST positivo en 41% fue más alto que el reportado por Thatcher del 10% (27), hallazgo que no tuvo ninguna relación con un nuevo diagnóstico de tal enfermedad. Los antecedentes personales, síntomas, examen físico y método de planificación familiar no fueron importantes y no guardaron relación con el diagnóstico de la enfermedad, semejante a lo descrito por Curran y Meheus (15, 35). El tiempo de evolución de los síntomas de menos de tres meses y la observación de cervicitis en el mayor número de pacientes positivas, sí corresponde a hallazgos importantes en el estudio.

Durante los 15 días anteriores al examen 31 pacientes (14.5%) habían recibido algún tipo de antibióticos; de este grupo solo una fue positiva al cultivo, cepa que no fue beta lactamasa positiva; seis pacientes fueron positivas por Gram y una por EIE.. Podríamos pensar que en estos casos se trataba de cepas de *Neisseria* inhibidas por la droga, lo cual impidió su aislamiento. Sin embargo, se esperaría también que éstas fueran positivas por EIE

que detecta el gonococo independientemente de su viabilidad. Tal hallazgo no existió y la disparidad puede corresponder a un aumento en el número de falsos positivos por el Gram, o a la incapacidad de EIE de detectarlos debido al tamaño del inóculo y al tipo de muestra. El porcentaje positivo por cultivo (4.6%), fue semejante al obtenido por Curran de 5.8% (15), bajo para este tipo de población si lo comparamos con valores tan altos como 51 a 59% (23, 24, 35), encontrados en pacientes contacto positivo y en clínicas para el control de EST. Esta positividad fue algo mayor de la reportada por Díaz (13) en este mismo centro en 1972, que fue de 3.8% por cultivo, lo que nos indica que, posiblemente, la prevalencia de la enfermedad en este grupo no ha variado mucho. La gran diferencia entre este trabajo y el de Díaz consiste en el hallazgo de cuatro de diez cepas productoras de beta lactamasa, dato no reportado anteriormente en Colombia (1,3, 11-13, 36) y que contrasta con la epidemiología actual de la enfermedad en otras partes como Filipinas y Africa donde la frecuencia de estas cepas es de 40 a 70% de los aislamientos (2, 8).

El tipo de muestra estudiada juega un papel muy importante en el diagnóstico de la enfermedad. Aunque existe un método para calificar el tipo de muestra por medio del Gram (24) y 77% se consideraron adecuadas, nosotros consideramos que entre 80 y 85% de las muestras tomadas del endocervix fueron muy escasas y no existe una manera estandarizada de cuantificar la cantidad. De las muestras inadecuadas cualitativamente, 61% correspondió a pacientes que no presentaban flujo al examen físico, lo cual puede en parte explicar este hecho. La calidad de la muestra del primer aplicador se vio afectada probablemente por la limpieza previa del exocervix y el uso del segundo aplicador; esto podría explicar la mayor positividad obtenida por EIE (8.9%) y Gram de exocervix (7%), en comparación con el cultivo (4.6%), y el Gram de endocervix (0.46%), dadas las características del estudio, no se puede saber si estos datos correspondieron realmente a falsos positivos. Esta baja positividad del cultivo T-M puede deberse más a lo escaso del inóculo que a fallas propias del

cultivo (2, 19), puesto que el Gram de este mismo aplicador fue positivo solo en 10%, en contraste con lo informado usualmente de más de 50% (13, 14, 18-20, 22, 24).

En el caso de la muestra de endocervix, la coloración de Gram con la presencia de diplococos intracelulares tuvo una sensibilidad de solo 11%, muy baja en comparación con lo informado por otros autores, cuyos porcentajes varían entre 32% y 93% (13, 14, 18-20, 22, 24); esta baja sensibilidad se debió al tipo de muestra empleada como se dijo anteriormente. Su especificidad de 100%, fue semejante a los promedios de algunos autores que van de 95 a 99% (13, 18-20, 24). La utilidad de esta prueba fue de 111 solamente, no siendo, en este estudio, el tipo de examen indicado para el diagnóstico de la enfermedad.

Las muestras tomadas de exocervix tuvieron una sensibilidad de 87% y una especificidad de 96% para la presencia de diplococos intracelulares, con relación al cultivo; estos datos son semejantes a los obtenidos por otros autores en muestras de endocervix (14, 20), pero tienen una mayor sensibilidad que la reportada por Kellog de 70% (24).

Los resultados del Gram dependieron del lector, siendo más específica y sensible (83% vs 74%) con el primero de ellos, posiblemente por su experiencia; estas diferencias fueron también reportadas por Goodhart (19).

El hecho de que en teoría el número mínimo de organismos necesarios para ser detectados por EIE sea de  $10^3$  en comparación al cultivo que es al menos de un microorganismo viable, ha llevado a que en otros estudios la sensibilidad de la prueba de EIE sea diferente frente al cultivo, principalmente por el método empleado en la toma de la muestra. Es así que cuando se ha empleado el mismo aplicador para las dos pruebas, la sensibilidad ha sido de 79% a 87% (23, 26, 30) y cuando se ha empleado la primera muestra mejora la sensibilidad hasta 91% (25). En nuestro estudio la sensibilidad fue solo de 83% y la especificidad de 94%, semejante a la encontrada por otros autores (25, 26, 30). Si consideramos el cultivo como 100% sensible, existieron ocho falsos positivos por EIE, falsos positivos que no sabemos si son reales o se relacionan

con las dificultades expuestas para el cultivo. Cuando comparamos los diferentes parámetros de clasificación obtenidos por EIE frente a los datos del Gram obtenido del exocervix, éstos son semejantes, siendo ligeramente superior el Gram; esto significa que en este trabajo no se pudo demostrar una mayor utilidad diagnóstica de EIE vs Gram.

En conclusión se puede decir que la prueba de análisis inmunoenzimático en fase sólida para el antígeno gonocócico no representa actualmente una contribución para el diagnóstico, salvo la posibilidad de incrementar el volumen de muestras procesadas. Sin embargo dado su costo y su baja sensibilidad, EIE no es una prueba que supere la actual metodología.

La prueba de EIE presenta dificultades para ser evaluada frente a la prueba de referencia, pues sus resultados dependen de la cantidad del inóculo y éste varía según se utilice el primero o el segundo aplicador del endocervix.

El hallazgo de cuatro cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de beta lactamasa en las diez aisladas, nos indica la necesidad de variar las políticas existentes a nivel de los centros de control de las E.S.T., para el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad.

La positividad del Gram depende en gran parte de la experiencia del examinador; en consecuencia este personal debe estar adecuadamente entrenado, para garantizar una buena sensibilidad.

#### SUMMARY

In order to establish the diagnosis of *gonorrhoeae*, 146 female patients attending a clinic for sexually transmitted diseases were studied using Gram stain, culture on Thayer-Martin, and a commercial immunoenzymatic test (EIE, Gonozyme). In samples taken from the endocervix the immunoenzymatic test had a sensitivity of 83% and a specificity of 94%, while in specimens from the exocervix the Gram had 88% sensitivity and 96% specificity when compared with the culture. The above results do not favor the EIE over the classic diagnostic procedures.

## AGRADECIMIENTOS

A Metrosalud Medellín por haber patrocinado este estudio. A los Laboratorios Abbott, División Diagnóstica, por su asesoría técnica, equipos y reactivos. A la Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- GACHARNA MG, et al. Infección gonocócica. Colombia 1976-1982. En: Tercera investigación epidemiológica cooperativa nacional, comportamiento de sífilis e infección gonocócica, Colombia 1976-1982. Servicio de Salud del Atlántico. Barranquilla: Editorial Lito Quillán; 1984: 159-195.
- 2.- HANDSFIELD HH. Recent developments in gonorrhoea and pelvic inflammatory disease. *J Med* 1983; 14: 281-305.
- 3.- CONSOLIDADO ANUAL 1983-84, fuente S.I.S. 12, Sección de Epidemiología, Municipio de Medellín 1985.
- 4.- DARROW NW. Changes in sexual behavior and venereal diseases. *Clin Obstet Gynec* 1975; 18: 255-267.
- 5.- HOOPER RR, et al. Cohort study of venereal disease. En: The risk of gonorrhoea transmission from infected women to men. *Am J Epidem* 1978; 108: 136-144.
- 6.- RENDTORFF RC. Some Economic Aspects of venereal diseases. *Clin Obstet Gynec* 1975; 18: 233-141.
- 7.- Public Health Laboratory Service Communicable Disease Surveillance Centre and the Communicable Diseases (Scotland Unit). Penicillinase producing gonococci in Britain, 1983. *Brit Med J* 1984; 288: 1746.
- 8.- JACKSON J. Gonorrhoea in Korea. *New Engl J Med* 1982; 307: 258.
- 9.- HERZOG C, ISON CA, EASMON CSF. Antimicrobial sensitivity of *N. gonorrhoeae*. Comparison of penicillinase producing and non-penicillinase producing strains. *Br J Vener Dis* 1983; 59: 289-292.
- 10.- McCORMACK WM. Penicillinase producing, *N. gonorrhoeae*, a retrospective. *New Engl J Med* 1982; 307: 438-439.
- 11.- PINEDA F, MONTOYA F. Búsqueda de *N. gonorrhoeae* productoras de Beta lactamasa. Centro de control de enfermedades transmisibles de Medellín. *Act Med Col* 1979; 4: 167-176.
- 12.- URBINA D, MONTOYA F. Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) de penicilina-G requerida por cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en la ciudad de Medellín. *Act Med Col* 1978; 3: 1-9.
- 13.- DIAZ FG y ZULUAGA HZ. Blenorragia: Experiencias en su diagnóstico por el laboratorio y sensibilidad *in vitro* de las cepas de *N. gonorrhoeae* a los antibióticos. *Ant Med* 1972; 22: 633-639.
- 14.- CAVE VG, et al. Gonorrhoea in the obstetric and gynecologic clinic. *JAMA* 1969; 210:309-311.
- 15.- CURRAN JW, et al. Female Gonorrhoea. Its relation to abnormal uterine bleeding, urinary tract symptoms, and cervicitis. *Obst Gynec* 1975; 45: 195-198.
- 16.- THATCHER RW, et al. Asymptomatic gonorrhoea. *JAMA* 1969; 210: 315-317.
- 17.- MORELLO JA, BOHNHOFF M. Neisseria and Branhanella. En: EDWIN H. Lennette (ed). *Manual Of Clinical Microbiology*; American Society for Microbiology. 3th. ed. Washington, U.S.A.; 1980: 111-130.
- 18.- ESCHENBACH DA. et al. Polymicrobial etiology of acute pelvic inflammatory disease. *New Engl J Med* 1975; 293: 166-171.
- 19.- GOODHART ME, et al. Factors affecting the performance of smear and culture tests for the detection of *N. gonorrhoeae*. *Sex Tras Dis* 1982; 9: 63-69.
- 20.- CALDWELL JG, et al. Sensitivity and reproducibility of Thayer - Martin culture medium in diagnosing gonorrhoea in women. *Amer J Obstet Gynec* 1971; 109: 463-468.
- 21.- LOSSICK JG, SMELTZER MP, CURRAN JW. The value of the cervical Gram stain in the diagnosis and treatment of gonorrhoea in women in a venereal disease clinic. *Sex Tras Dis* 1982; 9: 124-127.
- 22.- BELSEY EM. Diagnosis of gonorrhoea in women, A national survey. *Br J Vener Dis* 1983; 59: 59-62.
- 23.- MANIS RD, HARRIS B, GEISELER PJ. Evaluation of Gonozyme, and Enzyme immunoassay for the rapid diagnosis of Gonorrhoea. *J Clin Microb* 1984; 20: 742-746.
- 24.- KELLOGG DS, HOLMES KK, HILL GA. Laboratory diagnosis of gonorrhoea, 1976. *Cumitech 4. American Society for Microbiology*. 10-12.
- 25.- DANIELSSON D, MOI H, FORSLIN L. Diagnosis of urogenital gonorrhoea by detecting gonococcal antigen with a solid phase enzyme immunoassay (Gonozyme \*). *J Clin Pathol* 1983; 36: 674-677.
- 26.- PAPASIAN CJ, BARTHOLOMEW WR, AMSTERDAM D. Modified Enzyme immunoassay for detecting *N. gonorrhoeae* antigens. *J Clin Microb* 1984; 20: 641-643.
- 27.- The Lancet: Speedy diagnosis of gonorrhoea, *Lancet* 1983; (8326): 684-685.
- 28.- AARDOOM HA, et al. Detection of Neisseria gonorrhoeae antigen by a solid-phase enzyme immunoassay. *Br J Vener Dis* 1982; 58: 359-362.
- 29.- PAPASIAN CJ, BARTHOLOMEW WR, AMSTERDAM D. Validity of an Enzyme Immunoassay for detection of *N. gonorrhoeae* antigens. *J Clin Microb* 1984; 19: 347-350.
- 30.- SCHACHTER J, et al. Enzyme immunoassay for diagnosis of gonorrhoea. *J Clin Micro* 1984; 19: 57-59.
- 31.- ESCHENBACH D, POLLOCK HM, SCHACHTER J. Laboratory diagnosis of female genital tract infections, 1983. *Cumitech 17, American Society for Microbiology*, 18-20.
- 32.- ESCHENBACH DA. Acute Pelvic inflammatory disease; etiology, risk factors, and pathogenesis. *Clin Obst Gynec* 1976; 19: 147-169.
- 33.- COLTON T. *Estadística en medicina*. Barcelona: Salvat; 1979: 300.
- 34.- SCHMALE JD, MARTIN JE, DOMESCIK G. Observations on the culture diagnosis of gonorrhoea in women. *JAMA* 1969; 210: 312-314.
- 35.- MEHEUS A, CLERCQ ADe, PRAT R. Prevalence of gonorrhoea in prostitutes in a Central African town. *Brit J Vener Dis* 1974; 50: 50-52.
- 36.- QUINTANA WF, et al. Aislamiento de *N. gonorrhoeae* a partir de pacientes con varios tipos clínicos de uretritis. *Ant Med* 1975; 25: 53-63.