

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS
CARRERA BIOQUÍMICA**



**“DETERMINACION DE LA DISTRIBUCION Y SUSCEPTIBILIDAD
ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Neisseria gonorrhoeae* PROCEDENTES DE
DOS CENTROS DE SALUD ESPECIALIZADOS EN VIGILANCIA DE
INFECCIONES DE TRANSMISION SEXUAL (I.T.S) DE MAYO 2007 A ABRIL
DE 2008 EN LA CIUDAD DE LA PAZ Y EL ALTO”**

ELABORADO POR:

Jorge Antonio BRAVO CAMACHO

Tesis presentada a consideración de la UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS, como requisito para optar al Grado Académico de licenciatura en Bioquímica.

LA PAZ – BOLIVIA

2009

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS
CARRERA BIOQUÍMICA**



**“DETERMINACION DE LA DISTRIBUCION Y SUSCEPTIBILIDAD
ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Neisseria gonorrhoeae* PROCEDENTES DE
DOS CENTROS DE SALUD ESPECIALIZADOS EN VIGILANCIA DE
INFECCIONES DE TRANSMISION SEXUAL (I.T.S) DE MAYO 2007 A ABRIL
DE 2008 EN LA CIUDAD DE LA PAZ Y EL ALTO”**

ELABORADO POR:

Jorge Antonio BRAVO CAMACHO

Tesis presentada a consideración de la UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS,
como requisito para optar al Grado Académico de licenciatura en Bioquímica.

Asesor:

Dr. Christian Trigoso A.
Dra. Elizabeth Torrico

**LA PAZ – BOLIVIA
2009**

DEDICATORIAS

Este trabajo se lo dedico con mucho cariño

A mis padres, ha mis hermanos por todo el apoyo y confianza depositados durante mi etapa de formación académica, y a un gran amigo y compañero Juan Eugenio Calle. †

TODO MI AGRADECIMIENTO

- Al Dr. Christian Trigos A., mi asesor, por su enseñanza impartida y permitirme realizar mi trabajo de tesis en el Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del INLASA. Gracias Doctor.
- A la Dra. Elizabeth Torrico, mi asesora, por guiarme en este trabajo de investigación y brindarme toda su colaboración durante la elaboración de mi tesis y la enseñanza compartida.
- A la Dra. Esther Damiani, por su apoyo y consejos durante la elaboración del presente trabajo, muchas gracia
- Al Dr. Giovanni García, quien supo aconsejarme y apoyarme en los momentos difíciles.
- A la Dra. Carmen Revollo por su amistad comprensión y palabras de aliento para seguir adelante.
- A la Dra. Patricia Rosales, por sus consejos, la amistad brindada sin interés y apoyo durante este trabajo.
- A la Lic. Deysi Valdez, por sus consejos y apoyo durante todo este tiempo en el laboratorio.
- Al Lic. Gualberto Limache, por su amistad y colaboración en la realización del presente trabajo.
- Al Dr. Miguel Estenssoro, por sus enseñanzas y conocimientos inculcados durante la etapa de formación académica.

- A la Dra. María Elena Trigos Jefa del Laboratorio de Bacteriología del CDVIR “Piloto” La Paz, quien colaboro en la recolección de las cepas del presente estudio.
- Al Dr. Daniel Casas, Director Del Programa Its/Sida El Alto, quien me permitió recoger muestras del Centro de Referencia Ambulatorio que dirige, ya que sin su colaboración no hubiera sido posible.
- A la Dra. Marcela Garnica, Jefa responsable del Laboratorio de Bacteriología, quien colaboro con el presente estudio.
- Al Dr. Fernando Vega, por la ayuda prestada en la toma de muestra del Centro de Referencia Ambulatorio de El Alto.

Al Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica (LNRBC) del Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA).

A mis amigos Milton M. Pablo B. Jorge A. Marcos C. David R. Juan José Q. Ademar, Orieta L. Verónica A. Roció, por ser muy buenos compañeros durante mi vida universitaria.

A todos los Docentes de la carrera de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica por las enseñanzas impartidas durante mi vida universitaria y académica, así como a todo el personal administrativo de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas F.C.F.B.

A las enfermeras del Centro de Referencia Ambulatorio de El Alto, quienes también apoyaron en la toma de muestra.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCION	1
2. JUSTIFICACION	3
3. OBJETIVOS	5
3.1 Objetivo General	5
3.2 Objetivos específicos	5
4. DISEÑO TEORICO	6
4.1. MARCO TEORICO	6
4.2. MARCO REFERENCIAL	12
4.2.1. ANTECEDENTES HISTORICOS	12
4.2.2. TAXONOMÍA DE <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	15
4.2.3. ESPECIES DEL GENERO <i>Neisseria</i>	15
4.2.4. <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	16
4.2.4.1. CARACTERÍSTICAS RELEVANTES DEL GONOCOCO	16
4.2.4.2. CARACTERÍSTICAS DE <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	17
4.2.4.3. Morfología	18
4.2.4.4. Ultra estructura	19
4.2.4.5. Características Fisiológicas	19
4.2.4.6. Mecanismo de Patogenicidad	19
4.2.4.7. Estructura externa y antígenos	20
4.2.4.7.1. Pilis	20
4.2.4.7.2. Proteína Opa	21
4.2.4.7.3. Proteína Rmp	22
4.2.4.7.4. Porinas	22
4.2.4.7.5. Proteasa IgA1	23
4.2.4.7.6 Lipooligosacáridos	24
4.2.4.7.7 H8 y Azulina modificada por lípidos (Laz)	26
4.2.4.8. Diagnostico de la Enfermedad Gonocócica	28
4.2.4.9. Epidemiología	29
4.2.4.10. Tratamiento	31

4.2.4.11. Mecanismos de resistencia de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> a los Antimicrobianos	34
4.2.4.11.1 Penicilinas	36
4.2.4.11.2 Cefalosporinas	36
4.2.4.11.3 Tetraciclina	37
4.2.4.11.4 Espectinomicina	37
4.2.4.11.5 Quinolonas	38
5. DISEÑO DE LA INVESTIGACION.	38
5.1. Tipo de estudio	38
5.2. Medidas de frecuencia de la enfermedad	39
5.3. Análisis estadístico	40
5.4. Población y lugar	40
5.4.1. Tamaño de la muestra	41
5.4.2. Área de estudio	41
5.5. Intervención	41
5.5.1. Procedimientos	41
5.6. Metodología general de la investigación	42
5.6.1 Toma de muestra	42
5.6.2. Recolección de la muestra y transporte.	42
5.6.3. Cultivo	43
5.6.3.1. Siembra de la muestra	43
5.6.3.2. Medios de cultivo.	43
5.6.3.3. Incubación	43
5.7. Identificación	43
5.7.1. Observación Macroscópica	43
5.7.2. Observación Microscópica	44
5.7.3. Prueba de la Citocromo oxidasa	44
5.7.4. Prueba del Superoxol	44
5.7.5. Prueba de Fermentación de azúcares	45
5.7.6. Prueba tubos reactivos de Gonocheck-II	45
5.7.7. Prueba de la β -Lactamasa	45

5.7.8. Conservación	46
5.7.9. Prueba de difusión con disco	46
5.7.10. Recolección de datos	46
6. RESULTADOS	49
7. DISCUSION	71
8. CONCLUSIONES	78
9. BIBLIOGRAFIA	80

Contenido de Tablas

Tabla 1. TAXONOMÍA DE <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .	15
Tabla 2. Características de identificación de especies de <i>Neisseria</i> .	15
Tabla 3. Estructura y Antígenos.	27
Tabla 4. Tratamiento de las infecciones gonocócicas no complicadas de cérvix, uretra y recto.	32
Tabla 5. Tratamiento de las infecciones gonocócicas de cérvix, uretra y recto en embarazadas.	32
Tabla 6. Tratamiento de la infección no complicada de faringe.	32
Tabla 7. Tratamiento de la conjuntivitis gonocócica.	33
Tabla 8. Tratamiento de la infección gonocócica diseminada.	33
Tabla 9. Tratamiento de la Endocarditis y meningitis gonocócica.	34
Tabla 10. Centros de Salud de La Paz y El Alto.	41
Tabla 11. Distribución de Pacientes Según Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.	49
Tabla 12. Distribución de pacientes según género procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.	50
Tabla 13. Distribución de Género con infección gonocócica según Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.	51
Tabla 14. Promedios de edad según Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.	52
Tabla 15. Distribución de la población según ocupación, estado civil e Infecciones de Transmisión Sexual procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.	54

- Tabla 16.** Distribución de la población según nivel de estudio en casos reportados de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto **55**
- Tabla 17.** Comparación de proporciones entre género y nivel de estudio, en casos reportados de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **56**
- Tabla 18.** Comparación de proporciones entre género y nivel de estudio, según porcentaje, en casos reportados de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **56**
- Tabla 19.** Distribución de la población con antecedentes de Infección de Transmisión Sexual procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **58**
- Tabla 20.** Distribución de la población con antecedentes de Infección de Transmisión Sexual procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **58**
- Tabla 21.** Distribución de casos reportados de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **59**
- Tabla 22.** Comparación de proporciones entre edad y la resistencia a la penicilina, en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializado en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **60**

Tabla 23. Relación entre la resistencia a la penicilina, y la producción de penicilinas mediada por plásmidos en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **61**

Tabla 24. Resistencia a la penicilina mediada por cromosoma en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **62**

Tabla 25. Resistencia a la Tetraciclina mediada por plásmidos en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **63**

Tabla 26. Resistencia a la Tetraciclina mediada por cromosomas en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **64**

Tabla 27. Comparación entre mecanismos de resistencia mediados por cromosoma, plásmidos y aquellos con sensibilidad Intermedia en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **65**

Tabla 28. Comparación mecanismos de resistencias mediadas por cromosomas y plásmidos según Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **67**

Tabla 29. Susceptibilidad microbiana de 40 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **69**

Contenido de figuras

Figura 1. Albert Neisser.	13
Figura 2. Diplococos Gram negativos intracelulares.	18
Figura 3. Ultraestructura.	19
Figura 4. Diseño de ensayo clínico.	39
Figura 5. Siembra de la muestra.	43
Figura 6. Prueba de la Oxidasa.	44
Figura 7. Prueba del Superoxol.	44
Figura 8. Fermentación de azúcares.	45
Figura 9. Tubos Gonocheck-II.	45
Figura 10. Prueba de la β -Lactamasa	45
Figura 11. BHI con glicerol al 20%.	46
Figura 12. Distribución de Pacientes Según Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.	49
Figura 13. Distribución de pacientes según género procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.	50
Figura 14. Distribución de Género con infección gonocócica según Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.	51
Figura 15. Promedios de edad según Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.	53
Figura 16. Comparación de promedios de edad según Centro de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.	53
Figura 17. Distribución de la población según nivel de estudio en casos reportados de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.	55

Figura 18. Comparación de proporciones entre género y nivel de estudio, en casos reportados de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **57**

Figura 19. Distribución de la población con antecedentes de Infección de Transmisión Sexual procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **59**

Figura 20. Distribución porcentual de las cepas con resistencia mediada por plásmidos y la resistencia mediada por cromosomas para Penicilina procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **62**

Figura 21. Distribución porcentual de las cepas con resistencia mediada por plásmidos y la resistencia mediada por cromosomas para Tetraciclina procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **64**

Figura 22. Comparación entre mecanismos de resistencia mediados por cromosoma, plásmidos y aquellos con sensibilidad Intermedia en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **66**

Figura 23. Comparación de mecanismos de resistencias mediadas por cromosomas y plásmidos según Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **68**

Figura 24. Susceptibilidad microbiana de 40 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto. **70**

RESUMEN

Se estudio la distribución y susceptibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* a los antibióticos β -lactámicos, tetraciclinas, cefalosporinas y quinolonas, en cepas aisladas de pacientes con uretritis y/o cervicitis gonocócicas que asistieron a consulta a los centros de salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S).

En el Laboratorio de Referencia Nacional en Bacteriología Clínica del Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA), donde se procesaron 40 cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de los centros de salud de las ciudades de La Paz y El Alto, para su identificación y confirmación bacteriológica y la tipificación de cepas productoras de β -lactamasas (**PPNG**).

El método usado para el estudio de susceptibilidad antimicrobiana fue el de Difusión con disco frente a penicilina, tetraciclina, ceftriaxona ciprofloxacina y espectinomicina.

La frecuencia de la resistencia *in vitro* de las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* fue: a penicilina 18 (45%) a tetraciclina 20 (50%), las cepas productoras de penicilinas (**PPNG**) encontradas en el presente estudio fue de 15 (37,5%) y las cepas resistentes a tetraciclina mediada por plásmidos (**TRNG**) fue de 9 (22,5%). Los antimicrobianos a los que presenta susceptibilidad son la ceftriaxona, ciprofloxacina y espectinomicina.

En el presente estudio se encontraron cepas de *Neisseria gonorrhoeae* resistentes *in vitro* a la penicilina y tetraciclina, y que ya no se recomienda sus uso para el tratamiento de esta infección, los antimicrobianos que se deben utilizar para el tratamiento de infecciones gonocócicas son la ceftriaxona, la ciprofloxacina y la espectinomicina.

ABSTRACT

Forty strains of *Neisseria gonorrhoeae* were studied for frequency and susceptibility test for β -lactamase antibiotics, tetracycline, cephalosporins and quinolones, also identification of β -lactamase producing strains (**PPNG**). The strains were isolated from patients with urethritis and / or gonococcal cervicitis that attended to surveillance of sexually transmitted infections (S.T.D) in the health centers of La Paz and El Alto cities.

The study was run in the National Reference Laboratory for Clinical Microbiology at the National Institute for Health Laboratories. The method used was disk diffusion test and Nitrocefin disk, for β -lactamase test.

The frequency for the resistance is: Penicillin 18 (45%), Tetracycline 20 (50%), penicillinase producing strains (**PPNG**) 15 (37,5%). The strains resistant to Tetracycline plasmid mediated (**TRNG**) 10 (25%). The 100% of the studied strains are susceptible to Ceftriaxone, Ciprofloxacin and Spectinomycin.

The results show that *Neisseria gonorrhoeae* is still susceptible to Ceftriaxone, Ciprofloxacin and Spectinomycin.

1. INTRODUCCION

En el presente estudio se quiere advertir como esta la resistencia en nuestro medio para así poder buscar otras alternativas de tratamiento para la gonorrea, ya que esta bacteria tiene una gran capacidad de adquirir plásmidos de resistencia a varios antimicrobianos.

Para realizar este estudio se recolectara muestras de pacientes que asistan a centros de salud especializados en la vigilancia de infecciones de transmisión sexual, y que presenten signos y síntomas de gonorrea. La toma de muestras será realizada por especialistas de cada Centro de Salud, las muestras que se tomaran son de uretra, cervix y recto para sembrarlas en medios específicos para la Bacteria en estudio en este caso *Neisseria gonorrhoeae*, y así poder identificarla para luego realizar el antibiograma por el método de difusión con disco Bauer Kirby.

Este estudio se realizara en dos Centros de Salud, el Centro Piloto de la ciudad de La Paz, y el Centro de Referencia Ambulatorio (CRA) de la ciudad de El Alto, los cuales recolectaran las muestras para luego remitirlas al Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA), y derivadas al Laboratorio Nacional de Referencia en bacteriología Clínica (LNRBC), para su procesamiento. El periodo en el que se llevara a cabo este estudio es de mayo de 2007 a abril de 2008 en el departamento de la ciudad de La Paz.

Las enfermedades de transmisión sexual (ITS), constituyen un problema de salud colectiva, debido, a su alta morbilidad. Estas pueden ser causadas por bacterias, virus, protozoarios, clamidias y hongos. Entre las afecciones bacterianas, las causadas por *Neisseria gonorrhoeae* son muy difundidas en todos los estratos, con mayor incidencia en los de bajo nivel socio económico.¹

Padecimiento que afecta anualmente a 38 millones de personas en América Latina y el Caribe, cifra que lo coloca de acuerdo con su frecuencia como la segunda enfermedad de transmisión sexual entre las de origen bacteriano¹. Por ejemplo, las clínicas especializadas reportan índices anuales de 327 casos de gonorrea/100,000 varones y de 229 casos/100,000 mujeres y, durante toda la década pasada, ocurrieron numerosos

¹ La frecuencia de la gonorrea sólo es superada por la de la clamidiasis genital.

casos de transmisión endémica en Londres, Cleveland, Seattle, Sydney y Ontario, así como diversas epidemias en Grecia² y en los países del sureste asiático.²

El gonococo, altamente susceptible a los antimicrobianos en un comienzo, tiene una gran capacidad de adaptación a las condiciones adversas. En un medio en que los antimicrobianos estén presentes puede inducir cambios múltiples acumulativos en el microorganismo, lo cual resulta en resistencia a estos agentes. Clínicamente, este fenómeno se traduce en fracaso terapéutico.³

Para el diagnóstico microbiológico de este microorganismo se puede realizar en dos etapas, **presuntiva y confirmatoria**; la identificación presuntiva se hace en base a la **Tinción de Gram, aspecto de la colonia y prueba de la oxidasa**, los resultados negativos en mujeres y en hombres asintomáticos se deben confirmar mediante **cultivo**; la identificación confirmatoria se basa en pruebas **bioquímicas y serología**.⁴

Los mecanismos de transmisión se da por **contacto persona – persona a través del contacto sexual o en el período perinatal**.

La enfermedad incide principalmente en las personas de 15 a 24 años, sin embargo, es una estimación demasiado baja de la verdadera incidencia de la enfermedad, afectando a cualquier edad, incluidas las niñas prepúberes sometidas a abuso sexual, en quienes se manifiesta como una vulvo vaginitis (Centers for Disease Control and Prevention, 1998).^{5,6}

La gonorrea al igual que otras infecciones de transmisión sexual (ITS), es un problema de salud pública, se agrava aún más con la aparición de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de β -lactamasas que le confiere resistencia a la penicilina y otros β -lactámicos. En otros países se han reportado un incremento progresivo de la resistencia frente a las quinolonas, macrólidos, y otros antimicrobianos que se recomiendan para el tratamiento de la gonorrea.⁷ Los compuestos antimicrobianos utilizados en el tratamiento de la gonorrea han visto comprometida su eficacia debido a la capacidad de *Neisseria gonorrhoeae* de desarrollar mecanismos de resistencia.

Progresivamente, penicilinas, sulfamidas y tetraciclinas dejaron de ser la primera elección en las infecciones por *Neisseria gonorrhoeae*, precisando el empleo de nuevos antimicrobianos.⁸

² La mayor epidemia griega tuvo lugar en 1999.

2. JUSTIFICACION

Las infecciones de transmisión sexual (I.T.S), es un problema de salud publica, que se agrava aun mas con la aparición de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de β -lactamasas que le confiere resistencia a la penicilina y otros β -lactámicos. Asimismo, en otros países se han reportado un incremento progresivo de las resistencias frente a las quinolonas, macrólidos y otros antimicrobianos que se recomendaban para el tratamiento de la gonorrea.

En el mundo científico continuamente se vienen realizando un sin fin de estudios sobre *Neisseria gonorrhoeae* en lo que refiere a nuevos métodos para el aislamiento, identificación, propiedades de resistencia y sensibilidad a los antibióticos, características inmunológicas y características moleculares.

Una problemática que se avizora en el mundo y en nuestro medio es la resistencia a los antimicrobianos, y proporcionar datos que permitan al médico profesional establecer mediadas terapéuticas con mayor seguridad y certeza. Y dada la posibilidad de realizar pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión de disco.

Esta infección afecta a cualquier estrato social, raza, sexo, o grupo etario, con distinta frecuencia. La información que se obtenga de esta investigación nos servirá para poder conocer a que antibióticos son resistentes las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* que se obtendrán de dos Centros de Salud especializados en la vigilancia en Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S).

Este trabajo de investigación tiene como finalidad, la de proporcionar información actualizada sobre el perfil de resistencia de *Neisseria gonorrhoeae* en nuestra ciudad, puesto que este microorganismo puede adquirir resistencia a ciertos antibióticos como: Penicilinas, cefalosporinas de 1ra generación, tetraciclinas, fluoroquinolonas.

Y al adquirir dicha resistencia disminuirá las posibilidades de un tratamiento eficaz, además la información obtenida también ayudara a observar que tipo de resistencia hay en nuestra ciudad, y cual clon de *Neisseria gonorrhoeae* es mas frecuente.

Este estudio se ha realizado en la unidad de investigación del Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica (**LNRBC**) del Instituto Nacional de Laboratorios en Salud **INLASA** “Néstor Morales Villazón”, gracias a la cooperación del los Laboratorios de Bacteriología “Centro Piloto” La Paz y el Laboratorio del Centro de Referencia Ambulatorio “CRA” El Alto



3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Determinación de la distribución y susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

3.2. Objetivos Específicos

- Determinar la **distribución de pacientes** según Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S).
- Determinar la **frecuencia de *Neisseria gonorrhoeae*** según edad, género, nivel de formación académica, procedencia de la muestra y ocupación.
- Determinar la **susceptibilidad antimicrobiana** de *Neisseria gonorrhoeae* frente a los antibióticos: Penicilina, Tetraciclina, Ciprofloxacina, Ceftriaxona y Espectinomina, por el método de difusión con disco Bauer-Kirby.
- Estudiar el **comportamiento de susceptibilidad** en cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de dos Centros de Salud especializados en la vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S), mediante el método de difusión con disco Bauer-Kirby.
- Determinar los **mecanismos de resistencia**, mediados por cromosoma o plásmidos en cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de dos Centros de Salud especializados en la vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S), por el método de la cefalosporina cromogénica (Nitrocefina).

4. DISEÑO TEORICO

4.1. MARCO TEORICO

La gonorrea es un padecimiento que en la actualidad sigue prevaleciendo en todo el mundo, independientemente del grado de desarrollo socioeconómico de los diferentes países.⁹

Neisseria gonorrhoeae al igual que otras Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S), es un problema en salud pública, se agrava aun mas con la aparición de cepas productoras de β -lactamasas que le confiere resistencia a la penicilina y a otros β -lactámicos.

Asimismo, otros países se han reportado un incremento progresivo en la resistencia frente a las quinolonas, macrolidos y otros antibióticos que se recomiendan para el tratamiento de la gonorrea. La cepa de *N. gonorrhoeae* productora de penicilinas, fue identificada por primera vez en el año 1976, luego se diseminó por todo el mundo; la cepa de alta resistencia a la tetraciclina mediado por plásmidos fue reportada por primera vez en 1985, también se diseminó en todo el mundo.

La forma de transmisión de esta enfermedad facilita una elevada frecuencia, así como una peculiar distribución epidemiológica y una alta incidencia; además, la existencia de formas asintomáticas dificulta su diagnóstico y control.¹⁰

La mayor parte de los casos de gonorrea es adquirida de manera casual siendo la promiscuidad uno de los principales factores responsables de la propagación de la enfermedad; además, existe la tendencia general hacia el incremento de la incidencia en las poblaciones de color y en las de bajo nivel socioeconómico.^{6, 7, 11}

Dentro de las medidas que se aplican para contribuir a la erradicación o por lo menos al control de la gonorrea, se encuentra en la aplicación de un tratamiento útil y eficaz que sea capaz de eliminar a *Neisseria gonorrhoeae*.

Las recomendaciones terapéuticas para la enfermedad gonocócica están determinadas por la edad, el sexo, el tipo de enfermedad clínica, la localización de la enfermedad y la

prevalencia local de *N. gonorrhoeae* productora de penicilinasa (**PPNG**) y con resistencia mediada por cromosomas (**CMRNG**).^{11, 12}

En un estudio realizado en Cuba se estudiaron 37 cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en diferentes provincias de Cuba; en 34 cepas se realizó la determinación de la concentración inhibitoria mínima (**CIM**) frente a diferentes antimicrobianos (penicilina, tetraciclina, espectinomicina, cefuroxima, ciprofloxacina, cefotaxima y ceftriaxona). Donde el 65.63% de las cepas estudiadas resultaron resistentes a la penicilina y el 59.37% a la tetraciclina. Todas las cepas fueron sensibles a las cefalosporinas, espectinomicina y la ciprofloxacina. Se encontraron 19 cepas **PPNG** (59.37%), 3 **TRNG** (9.38%) y una mostró resistencia cromosomal a la tetraciclina.¹³

Un segundo estudio realizado en Lima Perú en el periodo de 1998 a 1999 de un total de 130 cepas 49 en el año de 1998 y 81 en 1999. La resistencia a la tetraciclina fue de 31 de 49 cepas en 1998 y en 51 de 81 cepas en 1999. Todas las cepas evaluadas resultaron sensibles a la espectinomicina, ceftriaxona, cefotaxima, y ciprofloxacina.

En el Perú, por primera vez se reporta en 9 de 81 cepas aisladas de *N. gonorrhoeae* en el año 1999, que presenta susceptibilidad disminuida a la azitromicina, la **CIM 90** para este antimicrobiano fue de 0,25µg/mL.

El hecho de no detectar resistencia de las cepas de *N. gonorrhoeae* en el presente estudio frente a la ceftriaxona, ciprofloxacina, y espectinomicina coincide con lo reportado en el Caribe entre los años 1994 y 1996.¹⁴

Asimismo, estos autores como el presente, también encontraron susceptibilidad disminuida a azitromicina, 16% en St. Vincent, y 72% en Guayana, donde nueve aislamientos resultaron resistentes a la azitromicina.⁷

En Brasil un estudio de susceptibilidad en el año 1998 demostró 23 aislamientos con susceptibilidad disminuida a la azitromicina.

En algunos Países de Europa y Asia se han detectado cepas con susceptibilidad disminuida y resistencia a las fluoroquinolonas.¹³ En Hong Kong y Las Filipinas, aproximadamente 10% de las cepas aisladas de *N. gonorrhoeae* son resistentes a las quinolonas.^{15, 7}

Un tercer estudio que se realizó en México, se utilizaron 41 cepas obtenidas de diferentes fuentes: 20 aisladas de infecciones gonocócicas diseminadas (IGD) donadas por los centros para el control de enfermedades (CDC) de Atlanta, GA, EUA; 2 transformadas a seroresistentes donadas por el Baylor Collage of Medicine, Huston, TX, EUA; 11 cepas consideradas como control de serotipificación, donadas por SYVA Co., de Palo Alto, CA, EUA. 6 de las cepas fueron obtenidas como control de plásmidos conjugativos y productores de β -lactamasa y 2 como referencia de resistencia a la penicilina mediada por cromosoma, donadas en conjunto por las instituciones ya mencionadas.

Para determinar la resistencia o susceptibilidad a quimioterapéuticos se determinó por ensayo de la (CIM) de los siguientes antibióticos: cloranfenicol (Cl), dicloxacilina (Dx), espectinomicina (Sp), ampicilina (Am), cefazolina (Cfz), tetraciclina (Te), norfloxacin (Nf), ceftriaxona (Cf) y penicilina (Pe).

Se observó que el 100% de las cepas utilizadas, el 52.2 por ciento fue sensible a todos los antibióticos, y el 48.8 por ciento presentó resistencia. De estas últimas, el 45 por ciento fue resistente a un quimio-terapéutico y el 55 por ciento presentó multiresistencia (a dos o más agentes).

De las 41 cepas probadas para este estudio se obtuvo que 5 cepas (12%) produjeran la enzima β -lactamasa, de acuerdo a la interpretación del método yodométrico.¹⁶

Otro estudio realizado en Venezuela con el propósito de determinar los patrones de susceptibilidad antimicrobiana y producción de β -lactamasas, se estudiaron 60 pacientes procedentes del área de enfermedades de transmisión sexual del Hospital Universitario "Dr. Manuel Nuñez Tovar", estado Monagas. Se aislaron 35 cepas (58,30%) de *N. gonorrhoeae*, las cuales se agruparon de acuerdo a la susceptibilidad antimicrobiana y

producción de β -lactamasas, observándose una elevada tasa de resistencia a la penicilina (94,29%) y a la tetraciclina (97,14%).

De las 33 cepas resistentes a la penicilina, 15 (45,45%) fueron no productoras de β -lactamasa. La sensibilidad *in vitro* de *Neisseria gonorrhoeae* frente al cefepime, cefoxcitina, y ceftriaxona fue de 97,14%, 94,29% y 80,50%, respectivamente. Con relación a la susceptibilidad a la ofloxacina, se encontró que el 97,14% de las cepas de *N. gonorrhoeae* mostraron sensibilidad a este antimicrobiano.¹⁷

Un siguiente estudio realizado en Maracaibo estado de Zulia se determinó la susceptibilidad antimicrobiana de 80 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* aisladas de secreciones uretrales obtenidas de pacientes masculinos atendidos en la consulta de enfermedades de transmisión sexual del Ambulatorio “Francisco Gómez Padrón”, entre junio del 1999 y abril de 2000.

La **CIM** para penicilina, ofloxacina, ciprofloxacina y azitromicina fue determinada por el método de E-test. La susceptibilidad a ceftriaxona fue determinada a 70 cepas por el método de dilución en agar. Todas las cepas fueron procesadas por la producción de enzimas β -lactamasas mediante el método de la cefalosporina cromogénica (Nitrocefina).

Donde los resultados fueron que el 31.25% de las cepas fue resistente a penicilina y todas fueron productoras de β -lactamasa, el 98.75% se mostró sensible a ofloxacina y ciprofloxacina; el 1.25% presentó susceptibilidad intermedia a estos antibióticos. Para azitromicina la sensibilidad fue del 97.5% y la resistencia de 2.5%. El 100% de las cepas fue sensible a ceftriaxona.¹⁸

Arévalo y cols (Caracas) y Nader-García y cols (México), reportan porcentajes de resistencia similares, 30,5% y 26,8%, respectivamente. Este hallazgo coincide con lo publicado por María del Pilar Plá en 1988, quien, en una investigación realizada en la Clínica El Ávila de Caracas, informa la existencia de un 31,6% de cepas **PPNG**.

Posteriormente Arévalo y cols en dos estudios realizados en el hospital Universitario de Caracas, notifican para 1991 y 1994, porcentajes de cepas **PPNG** de 30,2% y 28,5%, respectivamente.

En contraste, Barboza y col reportan un 19% de cepas **PPNG** en un estudio realizado en Maracaibo en 1996, lo cual indicaría que en un periodo relativamente corto (4 años) se ha incrementado en 12,25% la resistencia en su medio. Por su parte, Anzalone y cols, en Montevideo, Uruguay, comunican una incidencia mayor de cepas **PPNG** la cual se encuentra en el rango de 52-56%.¹⁸

Un estudio realizado en Bolivia que se publicó fue la búsqueda de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productora de penicilinas en el año de 1977, habiéndose estudiado en esa oportunidad 51 gonococos aislados en 256 meretrices (Santa Cruz) y que resultaron no ser productoras de penicilinas.¹⁹

En nuestro País solo los casos notificados de gonorrea llegan a un total de enero a junio de 1989, de 875; observándose en La Paz un total de 209.

El estudio que se realizó en 6 pacientes adultos de sexo masculino que concurren a INLASA durante el mes de agosto de 1989, con signo y sintomatología uretral fueron remitidos por el servicio de Urología del Hospital Universitario de Clínicas y por el Centro de Salud “La Paz” N°1. En este estudio la cepa de *Neisseria gonorrhoeae* fue positiva a la prueba de la detección de penicilinas, constituyéndose de esta manera en el primer microorganismo de estas características, aislado en la ciudad de La Paz.¹⁹

Otro estudio realizado en nuestro País en relación a un tratamiento para esta enfermedad fue probar la Efectividad Terapéutica de la Ciprofloxacina en Mono dosis (VO) para la cura Clínica y Bacteriológica de la Uretritis Gonocócica en Pacientes Varones lo cual demostró un resultado muy exitoso el tratamiento con el antimicrobiano Ciprofloxacina.²⁰

Se estudió una población de 22 pacientes varones, entre 19 y 51 años remitidos al laboratorio con el diagnóstico clínico de “Uretritis Gonocócica”.

En la totalidad de ellos se corroboró el diagnóstico mediante estudio microscópico y cultivo en medio selectivo, El grupo etéreo de más alta incidencia en número de casos fue el de 19 a 23 años con 8 casos (36.4%) y el de 29 a 33 años con 5 casos (22.7%).²⁰

Las cepas productoras de β -lactamasa, observamos un alto porcentaje de cepas productoras de penicilinas, representadas en 17 casos (77.3%), y cepas no productoras de esta enzima en 5 casos (22.7%).

Al analizar la sensibilidad antimicrobiana de las 22 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* obtenidas de muestras uretrales frente a 6 antibióticos rutinariamente utilizados en el tratamiento de gonorrea se estableció *in vitro* que el 100% de estas eran sensibles a Ciprofloxacina y Cefotaxima, 95% a Amikacina, 45% a tetraciclina y solamente 23% a Penicilina.²⁰

Un siguiente estudio realizado fue sobre las infecciones de *Neisseria gonorrhoeae* en trabajadoras sexuales comerciales (TSC) de la ciudad de La Paz, Bolivia: Resistencia a Antibióticos y la producción de β -Lactamasas.²¹

Discos de Cefinase fueron utilizados para realizar las pruebas de β -lactamasa, y para la susceptibilidad de antibióticos se utilizó la técnica de Bauer-Kirby.

De 272 pacientes tamizadas durante febrero-octubre 1992 se detectó *Neisseria gonorrhoeae* en 28 (10.3%). *Neisseria gonorrhoeae* se detectó de las muestras cervicales de 24 pacientes (8.8%), de muestras rectales, en 6 (2.2%), y de muestras faríngeas, en 2 (0.7%).²¹

Se detectó una resistencia a la Penicilina en un 36.7% (11/30), a la Kanamicina en un 17.9% (5/28), a la Gentamicina en un 13.3% (4/30), y a la tetraciclina en un 13.3% (4/30). Se detectó β -lactamasa en 13 (41.9%) de 31 cepas.

De las 30 cepas con las cuales se realiza las pruebas de susceptibilidad, ninguna demostró resistencia a la Ciprofloxacina y Ceftriaxona.

Demostrando así que las TSC de La Paz, la prevaecía de *Neisseria gonorrhoeae* es alta y la Penicilina no va a tratar en forma adecuada a una gran porción de pacientes infectadas.²¹

4.2. MARCO REFERENCIAL

4.2.1. Antecedentes Históricos

La gonorrea, enfermedad causada por la bacteria *Neisseria gonorrhoeae*, está ampliamente distribuida en el mundo y se la reconoció desde tiempos bíblicos. GALENO (130 dC) acuñó el termino gonorrea y cuya significación griega: **gonor** (“semilla”) y **rrhoia** (“flujo”) asumida como flujo de semen, fue clarificada en alguna medida por MAIMONIDES (1135-1204 dC), quien sostuvo que no se trataba de esperma sino, más bien, de un flujo extraordinario, circunstancial, debido a un microorganismo

Esta enfermedad fue descrita por primera vez, ya en tiempos modernos por el médico alemán Albert Neisser, a quien llamó la atención la presencia constante de una bacteria particular con morfología cocoide, en descargas purulentas de los pacientes infectados. No sólo lo encontró en descargas vaginales o uretrales, sino incluso en exudado conjuntival, y a este microorganismo lo llamo *Micrococcus gonorrhoeae*.

El aislamiento *in vitro* de la bacteria se realizo por primera vez en 1882 y lo llevaron a cabo Leistikow y Loeffler; en 1885 Bumm logró cultivos puros de este microorganismo y pudo demostrar la relación etiológica mediante la inoculación en personas voluntarias. En el mismo año Trevisan empleó el nombre definitivo de *Neisseria gonorrhoeae* para esta bacteria.²²

Neisseria gonorrhoeae es un diplococo intracelular Gram negativo identificado por primera vez por Albert Neisser a partir de exudados de pacientes con uretritis y oftalmia neonatal.¹⁷

La gonorrea, causada por la bacteria *Neisseria gonorrhoeae*, es una infección venérea endémica –La más antigua y frecuente de todos los tiempos- que ataca a la gran mayoría de las personas expuestas, aunque en ello la incidencia de mortalidad es relativamente poco significativa. A pesar de ello, en la actualidad, esta enfermedad se encuentra ubicada en el tercer lugar de incidencia a nivel mundial, con 62 millones de casos anuales, detrás de la infección por tricomonas (175 millones) y de la correspondiente a clamidias (92 millones).

Pero, la gonorrea solamente fue reconocida como enfermedad de transmisión sexual alrededor del siglo XIII, y no fue diferenciada de la sífilis sino hasta mediados del siglo XIX.

La *Neisseria gonorrhoeae*, agente etiológico de la gonorrea, fue observada por primera vez por Albert NEISSER en 1879, en exudados purulentos uretrales y conjuntivales. Luego, el aislamiento posterior del microorganismo, su inoculación en voluntarios humanos y su reaislamiento por parte de Bumm, en 1885, probaron la relación causal entre el microorganismo y la enfermedad.^{3,17}



Figura 1. Albert Neisser.

Cinco años después Hans Gram, bacteriólogo danés facilita la identificación del gonococo a través de las tinciones que hoy conocemos como coloración de Gram, y en 1885 Ernest Bumm aísla al microorganismo en un medio artificial.²³

Posteriormente, en 1959 Deacon y asociados introducen el test de anticuerpos fluorescentes para la identificación de esta especie y en 1964, Thayer y Martin desarrollan un medio selectivo con antibióticos, exclusivo para el crecimiento de *N. gonorrhoeae*.²⁴

Solamente durante el siglo XX, en Europa Occidental, es que se va logrando el conocimiento fundamental sobre el microorganismo y la respuesta del huésped a la infección que éste le genera. Fue así que durante la década de los 80s de ese siglo se logro un conocimiento mayor de la biología molecular del gonococo y de la patología de

la gonorrea respecto a otras enfermedades infecciosas sexuales, y que también asolaron a la población mundial en siglos pasados.

Esta infección a sido difícil de controlar en la mayoría de las poblaciones y sigue siendo un ejemplo principal de la influencia que pueden tener los factores sociales de comportamiento y los demográficos (asociados a comportamientos indebidos) sobre la epidemiología de esta enfermedad infecciosa, a pesar de la disponibilidad actual de un tratamiento antimicrobiano efectivo.²⁵



4.2.2. TAXONOMÍA DE *Neisseria gonorrhoeae*

Taxonómicamente, *Neisseria gonorrhoeae* está clasificada de la siguiente manera.²⁶

Tabla 1. TAXONOMÍA DE *Neisseria gonorrhoeae*

División I	Protofita
Clase II	β -proteobacteria
Orden	Neisseriales
Familia	<i>Neisseriaceae</i>
Genero	<i>Neisseria</i>
Especie	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>

4.2.3. Especies del Genero *Neisseria*

Hasta el momento existen 11 especies y 6 subespecies pertenecientes al genero *Neisseria* en los seres humanos.²⁶

Tabla 2 Características de identificación de especies de *Neisseria*.

ESPECIES	OXIDASA	CATALASA 30%	GLUCOSA	LACTOSA	MALTOSA	SACAROSA	FRUCTOSA	HABITATS
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	+	+	-	-	-	-	Seres humanos
<i>N. meningitidis</i>	+	+	+	-	+	-	-	Seres humanos
<i>N. lactámica</i>	+	+	+	+	+	-	-	Seres humanos
<i>N. cinerea</i>	+	+	-	-	-	-	-	Seres humanos
<i>N. polysaccharea</i>	+	+	+	-	+	-	-	Seres humanos
<i>N. sicca</i>	+	+	+	-	+	+	+	Seres humanos
<i>N. subflava</i>								
<i>bv. subflava</i>	+	+	+	-	+	-	-	Seres humanos
<i>bv. flava</i>	+	+	+	-	+	-	+	Seres humanos
<i>bv. perflava</i>	+	+	+	-	+	+	+	Seres humanos
<i>N. mucosa</i>	+	+	+	-	+	+	+	Seres humanos
<i>N. flavescens</i>	+	+	-	-	-	-	-	Seres humanos
<i>N. kochii</i>	+	+	+	-	-	-	-	Seres humanos

<i>N. elongata</i>								
<i>subesp. Elongata</i>	+	+	-	-	-	-	-	Seres humanos
<i>subesp. Glycolytica</i>	+	+	+ ^d	-	-	-	-	Seres humanos
<i>subesp. Nitroreducens</i>	+	+	-/+ ^d	-	-	-	-	Seres humanos
+: reacción positiva; -: reacción negativa; + ^d : reacción positiva débil; -/+ ^d : negativa a reacción positiva débil.								

“Elmer Koneman Diagnostico Microbiológico”

4.2.4. *Neisseria gonorrhoeae*

4.2.4.1. CARACTERÍSTICAS RELEVANTES DEL GONOCOCO

Neisseria gonorrhoeae es un diplococo gramnegativo, éste ha sido aislado solo en el humano, transmitiéndose de persona a persona fundamentalmente por contacto sexual. Este microorganismo sobrevive pobremente fuera de su ambiente natural en el hombre y tiene requerimientos nutritivos y ambientales muy complejos. Su metabolismo es aerobio y alcanza su crecimiento óptimo en 18 a 24 horas de incubación en medios enriquecidos con hemoglobina, proteínas y/o suplementos bien definidos que contienen aminoácidos, azúcares y vitaminas, a una atmósfera de 5-10% de CO₂, con temperaturas entre 35 – 37°C y un pH entre 7.0 – 7.6.

Es muy sensible a los cambios de temperatura, pH y humedad, siendo inhibido también por algunos componentes tóxicos del medio como ácidos grasos y sales. Para lograr su aislamiento, a partir de especímenes con flora mixta, se adicionan al medio de cultivo compuestos inhibidores de la misma.²⁷

El gonococo es un patógeno efectivo, y como tal es capaz evadir las defensas del huésped, así persiste dentro de éste y se transmite e infecta a otros susceptibles; de esta manera se perpetúa a sí mismo pero sin llegar, en muchas ocasiones, a causar daño severo. Esta adaptación y persistencia es la capacidad de producir escasa sintomatología o enfermedad, totalmente asintomática especialmente en mujeres, donde puede persistir y diseminarse sobre largos períodos. El huésped, al mismo tiempo que intenta eliminar a este patógeno a través de un sistema de co-evolución “patógeno – huésped”, un proceso

que involucra a ambos, la generación de diversidad genética en el patógeno y la selección de la respuesta inmunológica al nivel molecular del huésped.

Una de las principales características del gonococo es su alta variabilidad genotípica y fenotípica, por el cual trata de evadir la respuesta inmune del huésped. La variabilidad fenotípica ocurre por la expresión diferente en numerosos sitios del genoma bacteriano, mientras que la heterogeneidad y comportamiento variable del genotipo son logrados por la incorporación de nuevo material genético en dicho genoma. El nuevo material genético es adquirido mediante dos procesos: la conjugación y la transformación.

Un resultado de la adaptación evolutiva del gonococo al tracto genital es el desarrollo de requerimientos especiales para su crecimiento “*in vitro*”, por ejemplo para el CO₂, para sulfuros en forma de cisteína y para el hierro. El gonococo tiene requerimientos múltiples y adicionales en el crecimiento “*in vitro*”, lo cual las dificultades experimentadas en la formulación de medios de cultivo y en la obtención de óptimas condiciones para su crecimiento. Además, afecta la capacidad diagnóstica y empleo o desarrollo de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en el marco de los métodos tradicionales y accesibles de laboratorio.

El gonococo tiene una típica pared celular de bacterias gramnegativas. Muchos de los componentes de esta pared celular han sido intensamente estudiados y el conocimiento adquirido sobre estas investigaciones ha ayudado a explicar aspectos de la interacción huésped/parásito. La adhesión del microorganismo a la superficie epitelial, su capacidad de atravesar el epitelio y su reacción con los fagocitos están todos bajo la influencia de la estructura de la pared celular incluyendo los pilis, proteínas de membrana externa y los Lipooligosacaridos (LOS).²⁸

4.2.4.2. CARACTERÍSTICAS DE *Neisseria gonorrhoeae*

Es una bacteria muy delicada que no soporta la desecación ni las bajas temperaturas y requiere medios de cultivo complejos para crecer.

Los gonococos pueden utilizar relativamente pocos azúcares, y la glucosa es la fuente principal de energía y carbono. Pueden también utilizar el amonio o los nitratos como fuente de nitrógeno y sintetizar todos los lípidos que requieren, son aerobios obligados y se inhiben por muchos ácidos grasos presentes en los medios habituales de cultivo y por metales pesados.

En la actualidad, los científicos saben que la variación de la fase gonocócica ocurre como resultado del reordenamiento cromosómico de las cepas de *N. gonorrhoeae*. Cabe destacar que los gonococos son patógenos de las mucosas que invaden. Como tales deben persistir en un medio donde corren el riesgo de ser eliminados por la descamación de las células epiteliales (vaginales, bucales) y el flujo de los líquidos (flujo vaginal, secreción salival), se encuentran a merced de la acción de los anticuerpos y deben resistir a la destrucción de los leucocitos polimorfonucleares. Además, los gonococos se desplazan del lumen de la mucosa a la submucosa en el curso de la infección y algunas cepas invaden la sangre.²⁹

4.2.4.3. Morfología

Neisseria gonorrhoeae es un diplococo Gramnegativo cuyo tamaño oscila entre 0,6 a 1 μm de diámetro, siendo su tamaño de aproximadamente 0,8 μm de diámetro. Los cocos individuales tienen aspecto de riñón o de grano de café; cuando los microorganismos se presentan en pares los lados planos o cóncavos están adyacentes.

Los microorganismos se visualizan al microscopio de luz como diplococos intracelulares, dentro de los polimorfo nucleares neutrofilos.

Cuando se aíslan inicialmente, los gonococos crecen en colonias diminutas dentro de un borde circunscrito y al ser coloreados con Gram, se visualizan como diplococos Gram negativos típicos.³⁰

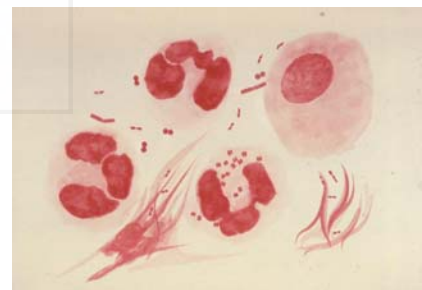


Figura 2. Diplococos Gram negativos intracelulares.

4.2.4.4. Ultraestructura

Neisseria gonorrhoeae carece de capsula, la superficie mas externa de su estructura esta compuesta por fimbrias, largos pelos de proteínas compuestos de subunidades de péptidos (pilis), con un peso molecular de aproximadamente oscila entre 16.000 y 23.000 Daltons. Estas subunidades están compuestas por 175 a 180 aminoácidos, y están considerados como factores de virulencia presentes solo en las cepas de virulencia.³

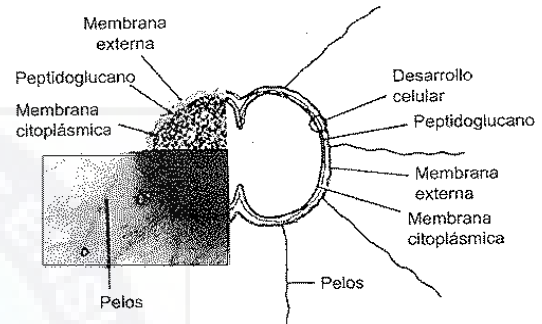


Figura 3. Ultraestructura.

4.2.4.5. Características fisiológicas

Neisseria gonorrhoeae se reproduce asexualmente por división binaria. Este diplococo es inmóvil, aerobio y/o anaerobio facultativo y crece mejor a una temperatura que oscila entre 35° C y 37° C, en una atmósfera entre 5% y 10% de CO₂ y con un pH entre 7.2 y 7.6. Los gonococos experimentan autólisis rápida cuando se exponen al aire del ambiente, a la desecación, luz ultravioleta, sales de plata, fenol y calor húmedo a 55° C. Se diferencia de otras *Neisserias* por su capacidad de transformar la glucosa, pero no la maltosa, sacarosa, lactosa, fructuosa y manosa en ácido, respuesta positiva en las pruebas de oxidasa y catalasa al 30%.³⁰

4.2.4.6. Mecanismos de patogenicidad

Las primeros estudios acerca de la patogenicidad de *Neisseria gonorrhoeae* no lograron reconocer cambios en los tipos de colonias. A finales de los años 60, Douglas Kellogg descubrió que los gonococos experimentan variación de fase durante el subcultivo. Después demostró que los gonococos de colonias pequeñas tenían pili y eran virulentos, en tanto que los gonococos de colonias grandes subcultivados no tenían pili y eran avirulentos. Dio el nombre de colonia T1 y T2 a los tipos de colonias pequeñas, brillantes y densas, típicas de los aislamientos recientes de casos de gonorrea y a las colonias grandes las llamó T3, T4 y T5, las cuales se caracterizaban por ser aplanadas,

granulosas y sin el brillo de los otros tipos de colonias observadas en los subcultivos. Es importante señalar que, puede lograrse por medio de los subcultivos la propagación de los tipos T1 y T2, si se seleccionan a través de la observación microscópica colonias individuales de estos tipos.³⁰

4.2.4.7. Estructura externa y antígenos

La composición antigénica de *Neisseria gonorrhoeae* es compleja; asociada con su estructura básica, la envoltura es similar a la de las otras bacterias gramnegativas. Los componentes de superficie se han relacionado con la adherencia, y la invasión tisular y celular, la citotoxicidad y la pérdida de las defensas del huésped, lo que tiene importancia en la patogenia de las enfermedades producidas por este microorganismo.³¹

4.2.4.7.1. Pili

Estos organelos permiten que *N. gonorrhoeae* se adhieran fuertemente a la superficie de las células endoteliales y epiteliales.

Los gonococos producen **Pili tipo IV**, conformados por al menos dos proteínas diferentes: la subunidad principal y altamente variable **PilE** (pilina) y la adhesina **PilC**: la primera constituye la mayor parte de la fibrilla y participa en el reconocimiento del receptor; por su parte, la **PilC** sólo se localiza en la punta del *pilus* y es crítica en la unión de la bacteria a las células epiteliales.

Este tipo de *pili* no es solo un conjunto de fimbrias pasivas involucradas en la adhesión, sino que también desempeña un papel importante en la dispersión de dichos agregados, en la transferencia génica y en la inducción de respuestas por parte de la célula hospedera (por ejemplo: el flujo del calcio citosólico, exocitosis, citotoxicidad y rearreglos del citoesqueleto y de la membrana plasmática).

Recientemente se logró identificar al primer receptor de los *pili* de *Neisseria*: la glicoproteína de superficie **CD46**, la cual está presente en casi todas las células humanas y que regula la cascada del complemento.

La proteína **PilE** experimenta una variación antigénica originada por la recombinación genética entre el *locus pilE* y algunas regiones homólogas situadas en varios *loci* clasificados como “silenciosos” (*pilS*). Dicha recombinación es unidireccional y puede ocurrir de forma intragénica o con ADN exógeno proveniente de algún gonococo destruido.

La variación antigénica depende de los genes en estructura de cassette normalmente incluyen dos componentes funcionales: el gen y el sitio de recombinación *attC* o elemento de 59 bases (59-be), localizado en el extremo 3' del gen.

Los cassettes en general se identifican por el nombre del gen que codifican y se los denomina con una letra a aquellos que contienen marcos de lectura abierta de función desconocida. Existen otros cassettes que codifican para toxinas, sistemas de modificación y restricción, lipoproteínas y determinantes de patogenicidad. Cada gen conforma su cassette, aunque existen pocos casos de dos genes en un mismo cassette.

Los integrones también pueden contener uno o más cassettes integrados en el sitio *attI*. Los cassettes consisten en un gen y un sitio de recombinación, los cuales pueden ensamblarse en arreglos en tandem y diseminarse a través de la población bacteriana por mecanismos de transferencia horizontal.

La integración de un cassette en un integrón involucra una recombinación sitio-específica mediado por la integrasa entre el sitio *attI* ubicado en el integrón y el sitio *attC* en un cassette circular libre en el citoplasma. Cassettes circulares simples o compuestos se regeneran por medio de la escisión, siendo importantes intermediarios en el proceso de la movilización.³²

4.2.4.7.2. Proteína Opa

La segunda etapa de la adhesión e invasión gonocócica parece estar regulada, en buena parte, por una familia de proteínas bacterianas de membrana externa denominadas **Opa**.

Estas moléculas proteicas, también conocidas como **P.II**, fueron las primeras en identificarse como invaginas gonocócicas y como ligandos capaces de unirse a los

azúcares de los lipooligosacáridos pertenecientes a otras células de *N. gonorrhoeae*, lo que resulta esencial en la formación de microcolonias.

Las **Opa** promueven la invasión de las células hospederas interactuando con distintos receptores de superficie: la unión de las variantes de esta proteína a su respectivo receptor desencadena diversas cascadas de señalización, lo que permite el ingreso de los gonococos y, posiblemente, la selección de diferentes destinos intracelulares. Los receptores de la **Opa** incluyen a varios miembros de la familia **CD66** y a ciertos proteoglucanos cuya porción polisacárida está constituida por sulfato de heparán (**HSPG**).

Adicionalmente, las **Opa** se unen al piruvato cinasa (**PK**) subtipo M2 humana, exoenzima soluble sintetizada por numerosas células (incluidas las epiteliales), que cataliza la conversión irreversible de fosfoenol-piruvato en piruvato, con la producción de **ATP**. Es posible que, de esta manera, los gonococos intracelulares unidos a la **PK** obtengan el piruvato que requieren, lo cual ayudaría a su supervivencia intracelular.

4.2.4.7.3. Proteína Rmp

La proteína de membrana externa **Rmp** (proteína modificable por reducción o P. III) se encuentra formando un complejo con las **Por**, a las que se encuentra unida no covalentemente. La cual esta involucrada en la invasión gonocócica de las células epiteliales humanas y en el bloqueo de los anticuerpos bactericidas dirigidos contra la porina y el lipooligosacarido (LOS).

4.2.4.7.4. Porinas

Son las proteínas más abundantes en la membrana externa gonocócica son las porinas denominadas **Por** o P.I, cuya función primaria es la de permitir la difusión de nutrientes de bajo peso molecular a través de la membrana externa; sin embargo, dichas proteínas también desempeñan un papel significativo en la invasión de las células epiteliales: una vez concretada la adhesión, se translocan desde la superficie bacteriana hasta la superficie de la célula hospedera, lo cual se traduce en el colapso del potencial de membrana, debido a la incontrolada formación de poros; posteriormente, ello permite el

flujo de Ca^{++} , lo que al parecer promueve la invasión gonocócica y la inducción de apoptosis.

Las **Por** o P.I afectan a los neutrófilos: previa inserción en la membrana de estos últimos, inhiben la fagocitosis, la polimerización de la actina, la secreción de enzimas microbicidas, la expresión de los receptores para las opsoninas, la maduración del fagosoma y la fusión fagolisosomal; además, provocan la modificación de las reacciones del metabolismo oxidativo dependientes de la mieloperoxidasa, las cuales resultan fundamentales para convertir al peróxido en diversas especies reactivas de oxígeno: O_2^- y OH, destinadas a ocasionar la destrucción de los microorganismos.

Existen dos subtipos de **Por**: P.IA y P.IB. Las cepas productoras de la primera se asocian a la gonorrea diseminada, son más resistentes al suero e invaden a las células en ausencia de las **Opa**. Las clonas P.IB se relacionan con las infecciones localizadas y requieren de las proteínas **Opa** para concretar su internalización.³³

4.2.4.7.5. Proteasa IgA1

Neisseria gonorrhoeae secreta esta enzima, la cual resulta trascendental en los siguientes aspectos:

- Promueve la colonización bacteriana: escinde a nivel de la región de la bisagra a la IgA1s humana, correspondiente a una de las dos subclases de IgA localizadas en la mucosa (la otra subclase: IgA2, sólo representa el 10 al 20% del total).
- Contribuye a la evasión gonocócica de la fagocitosis, vía la remoción del extremo Fc de las moléculas de IgA unidas al microorganismo (dicha fracción Fc es la región reconocida por los fagocitos).
- Incrementa la sobrevivencia intracelular, ya que también escinde a la LAMP 1 (proteína 1 asociada a la membrana lisosomal); ésta es una glicoproteína que integra a la membrana lisosomal, se encuentra involucrada en la maduración

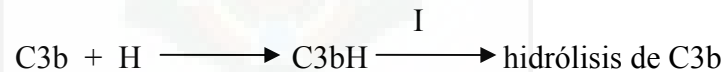
vacuolar o endosomal y presenta un segmento parecido a la región de la bisagra de la IgA1. La proteólisis provocada conduce a importantes alteraciones en los lisosomas de las células infectadas.

4.2.4.7.6. Lipooligosacáridos

El lipooligosacárido (**LOS**) situado en la superficie de *Neisseria gonorrhoeae*, exhiben las siguientes propiedades:

- **Mimetismo molecular.** La lacto-N-neotetraosa es muy parecida a ciertos segmentos presentes en algunos glucoesfingolípidos. Ello y el hecho de que otros fragmentos del LOS también comparten epitopos con los globósidos, gangliósidos y lactósidos humanos, explican la capacidad del microorganismo para evitar ser reconocido por el sistema inmunológico.
- **Sialización.** La sialización de la galactosa Terminal presente en el LOS es caracterizada por la enzima gonocócica sialiltransferasa, la cual habilita como donadora de ácido siálico a una molécula del hospedero conocida como ácidocitidínmonofosfato-N-acetilneuramínico (CMP-NANA).

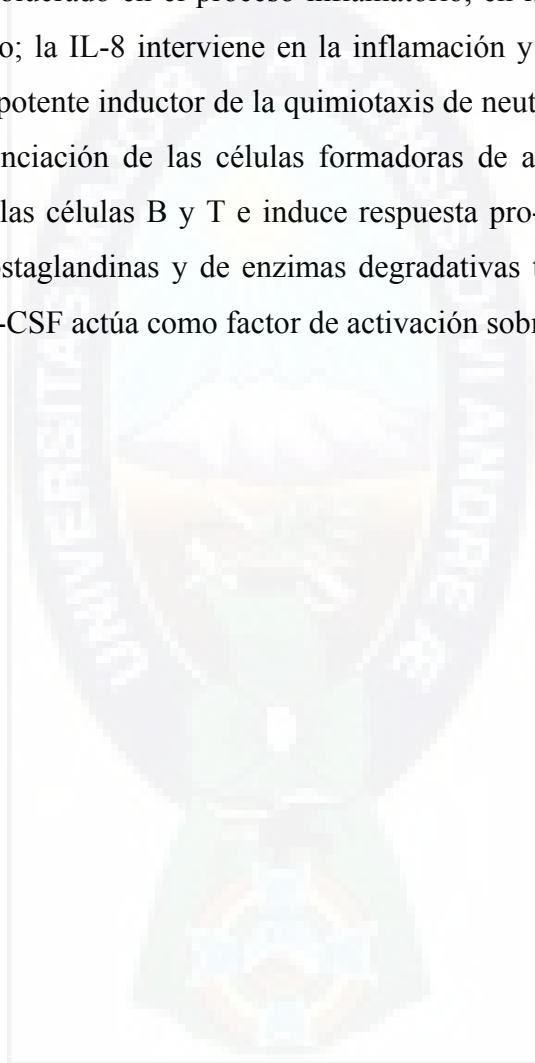
Este proceso origina la resistencia del microorganismo a la acción bactericida del suero, ya que impide la interacción de los componentes del complemento con la superficie bacteriana: el ácido siálico capta factor H, proteína del hospedero que bloquea el ensamble de la C3 convertasa participante en la vía alterna y, además, funge como cofactor en la reacción en la cual el factor plasmático I efectúa la proteólisis del péptido C3b:



Como consecuencia de su efecto bloqueador del sistema del complemento, la sialización también impide la producción del componente C5a, el cual representa uno de los principales factores quimiotácticos para la fagocitosis.

El LOS también es responsable de los eventos endotóxicos que ocurre durante las infecciones gonocócicas: estimula la producción de mediadores inflamatorios por parte de macrófagos y neutrófilos, destacando el TNF- α (factor de necrosis tumoral alfa), IL-8 (interleusina 8), IL-6, IL-1 y GM-CSF (factor estimulante de colonias de macrófago-granulocito).

El TNF- α esta involucrado en el proceso inflamatorio, en la fibrosis y en el daño a las trompas de Falopio; la IL-8 interviene en la inflamación y en la migración celular, ya que constituye un potente inductor de la quimiotaxis de neutrófilos y de células T; la IL-6 induce la diferenciación de las células formadoras de anticuerpos ; la IL-1 genera fiebre, estimula a las células B y T e induce respuesta pro-inflamatorias tales como la producción de prostaglandinas y de enzimas degradativas tales como la colagenasa; y finalmente, el GM-CSF actúa como factor de activación sobre células maduras.³³



4.2.4.7.7. H8 y Azulina modificada por lípidos (Laz)

Cannon *et al.* (1984) También describieron un antígeno denominado H.8 el cual es encontrado en *N. gonorrhoeae* y *N. meningitidis*. H.8 es una macromolécula expuesta en la superficie del microorganismo, inmunogénica y compuesta de lípidos y proteínas, los anticuerpos inducidos por ella no son protectores.



Tabla 3 Estructura y Antígenos.

Estructura	Funciones
1. Cápsula polifosfato proteína	Superficie hidrofílica
2. Pili	Asociado a colonias P+ P++ (T1 y T2), es decir, a la virulencia. Implicados en la adherencia del gonococo a células Incrementan la capacidad de transformación por ADN Inducen la síntesis de anticuerpos en el hombre Variabilidad antigénica Alteran la hidrofobicidad superficial e incrementan la carga neta Interacción con neutrófilos, resistencia a fagocitosis
3. Proteínas de membrana externa Proteína Por (PI) Proteína Opa (PII) (11 variantes) Proteína RMP (PIII)	Porina, canales de paso al interior celular Resistencia al poder bactericida del suero Transferencia a otras membranas de eritrocitos y células epiteliales Induce la síntesis de anticuerpos en el hombre Variabilidad antigénica Asociada a la formación de colonias opacas y a la adherencia intergonococos (unidades infecciosas) Incrementa la adherencia a las células Promueve la invasión a las células epiteliales Localización próxima a la proteína Por Unión a anticuerpos bloqueadores que impiden la acción de los anticuerpos bactericidas
4. Lipooligosacáridos (LOS)	Endotoxina Induce anticuerpos en el hombre Variabilidad antigénica Asociado a resistencia al suero y a enzimas (fagolisosomas)
5. Receptores de lactoferrina y transferrina y proteínas de retención de hierro (FeRP)	Captación de hierro Inducción de anticuerpos en humanos

4.2.4.8. Diagnostico de la Enfermedad Gonocócica

4.2.4.8.1. Microscópico

El método más rápido y sencillo es el examen microscópico del exudado. La uretritis gonocócica se define por la presencia de diplococos gramnegativos dentro de algunos PMN; cuando se observan formas atípicas en situaciones extracelulares, el diagnostico puede ser equívoco y se requiere el cultivo para confirmarlo.

La sensibilidad de la Tinción Gram del exudado para detectar *N. gonorrhoeae* es próxima al 100% en los casos sintomáticos de uretritis, pero solo del 50 – 70% en los pacientes asintomáticos; la especificidad en ambos grupos se acerca al 100%, es decir, que los resultados falsos positivos son excepcionales.

4.2.4.8.2. Cultivo

El método para la confirmación de una uretritis gonocócica y el de mayor dificultad de realizar, ya que permite realizar estudios de genética, resistencia a los antibióticos e investigar otras características deseadas sobre la cepa aislada.

Para el transporte se puede emplear el medio de Amies con carbón activado, es recomendable sembrar lo mas antes posible, en el medio de cultivo de elección que es el Agar Chocolate que consta (agar base GC, hemoglobina al 1% mas IsoVitalex al 1%) o Agar Thayer-Martin modificado en caso de que la muestra este contaminada (agar base GC, hemoglobina al 1%, IsoVitalex al 1% y los inhibidores vancomicina, colistin y nistatina (VCN), para inhibir microorganismos pertenecientes a la flora normal. Requiere de un pH igual a 7,4, temperatura de incubación de 35-37 °C y una atmósfera de 5-10% de CO₂.¹⁷ El desarrollo de las colonias tarda de 24 a 48 horas. La identificación se la realiza por medio de pruebas bioquímicas que son la catalasa al 30%, oxidasa y la prueba de producción de ácido en medio CTA.

4.2.4.8.3. Sondas genéticas

Se han desarrollado sondas comerciales específicas para los ácidos nucleicos de *N. gonorrhoeae*, para la detección de la bacteria en muestras clínicas. Las pruebas que usan estas sondas son sensibles, específicas y rápidas (se dispone del resultado en 2 a 4 horas).

El principal problema de este enfoque es que no se puede emplear para monitorizar la resistencia de los patógenos identificados.

4.2.4.8.4. Serología

Los investigadores han desarrollado pruebas serológicas que pueden detectar los antígenos gonocócicos y los anticuerpos dirigidos contra el microorganismo. Sin embargo, estos test no son sensibles ni específicos, y no es recomendable su uso.⁴

4.2.4.9. Epidemiología

Neisseria gonorrhoeae es el agente causal de la gonorrea, una infección bacteriana de gran importancia para la salud pública. En los estados unidos, la incidencia de gonorrea aumento de manera constante durante la década de 1960 y principios de los años 1970, con la incidencia más elevada –mas de 460 casos por 100 000 habitantes- que ocurrió en 1975. La “gonorrea epidémica” que sucedió durante esos años se atribuyo a varios factores, entre ellos, el incremento de la población de adultos jóvenes en riesgo, la importancia de variedades gonocócicas menos sensibles, el aumento del uso de métodos anticonceptivos sin barrera (la píldora anticonceptiva y los dispositivos intrauterinos).

En las décadas de 1980 y 1990, la incidencia de la gonorrea declino de modo sostenido. Esta declinación se debió en gran parte a los cambios de las conductas sexuales en particular entre varones homosexuales o bisexuales, en respuesta al SIDA y a la detección más eficaz de casos. En 1994 se informo por primera vez que los casos de infección por *Chlamydia trachomatis* excedían los de infección gonocócica. Sin embargo, la tendencia decreciente de la incidencia de infecciones gonocócicas entre varones homosexuales y bisexuales se ha revertido en los últimos años. Los datos del

proyecto de vigilancia de aislamientos gonocócicos (Gonococcal Isolate Surveillance Project) de los CDC muestran que la proporción de infecciones en varones homosexuales y bisexuales aumento de 4.5% en 1992 a 13.2% en 1999.²⁶

Los estudios epidemiológicos han mostrado que la infección por *N. gonorrhoeae* es la mas prevalente entre los seres humanos y que más afecta anualmente a nivel mundial, siendo en Chile la segunda ITS reportada.

La Gonorrea se da solo en humanos; no hay ningún otro reservorio conocido y no existe evidencia de inmunidad natural adquirida contra la infección por esta bacteria. Las mujeres tienen el 50% - 70% de probabilidades de adquirir la infección después de un único contacto con un hombre infectado, mientras que los hombres tienen un riesgo de alrededor del 20% - 30% tras un único contacto con una mujer infectada.³⁴

Las tasas de infección son iguales en hombres que en mujeres, son desproporcionadamente más altas en los de raza negra que en los hispanos y en los de raza blanca. El pico de incidencia de la enfermedad se encuentra en el grupo de edad entre 15 y 24 años, sin embargo es una estimación demasiado baja de la verdadera incidencia de la enfermedad, debido a que el diagnóstico y la forma de comunicar las infecciones gonocócicas son incompletos.

El principal reservorio de gonococos es la persona con una infección asintomática. El estado de portador asintomático es más frecuente en mujeres que en hombres. Hasta la mitad de las mujeres infectadas tienen infecciones leves o asintomáticas, mientras que la mayoría de los hombres están inicialmente sintomáticos. Los síntomas ceden generalmente en unas semanas en las personas que no se tratan, y se establece entonces el estado de portador asintomático. El sitio de la infección condiciona también si crea un estado de portador asintomático, siendo las infecciones rectales y faríngea más frecuentemente asintomáticas que las infecciones genitales.⁴

4.2.4.10 Tratamiento

Existen dos aspectos por considerar en el tratamiento de una enfermedad de transmisión sexual, especialmente, si se trata de una enfermedad que se propaga tan fácilmente como la gonorrea. El primer aspecto es curar a la persona afectada y el segundo aspecto lo constituye el hecho de localizar y examinar a todos los otros contactos sexuales y tratarlos para evitar y tratarlos para evitar una mayor diseminación de la enfermedad.

Existen tres razones, para no utilizar la penicilina como tratamiento de primera elección en la gonorrea. En primer lugar, la concentración de penicilina necesaria para inhibir la concentración de *N. gonorrhoeae* ha aumentado de forma constante, por lo que, para lograr la curación clínica, se requieren dosis considerablemente mayores de las que se utilizaban inicialmente. La dosis de penicilina G que se recomendaba para el tratamiento de la gonorrea no complicada a aumentado desde 200 000 unidades que se administraba hasta los 4.8 millones de unidades que se necesitan en la actualidad.

En segundo lugar, la resistencia a la penicilina mediada por la hidrólisis enzimática del anillo β -lactámico, que se describió por primera vez en el sudeste asiático, ahora se ve de forma universal.

En tercer lugar también se a aislado cepas penicilina-resistentes de *N. gonorrhoeae* que no producen β -lactamasas. Esta resistencia mediada cromosómicamente no se limita solo a la penicilina, sino que se extiende a tetraciclinas, y es resultado de los cambios en la superficie celular que evitan que los antibióticos entren en el gonococo. La resistencia a fluoroquinolonas como el ciprofloxacina ya es prevalente a África, Australia, el sudeste asiático y algunas ciudades de Estados Unidos.^{4, 34}

Tabla 4. Tratamiento de las infecciones gonocócicas no complicadas de cérvix, uretra y recto.

Medicamento	Dosis	Vía	Frecuencia
Ciprofloxacina	500 mg	Oral	Dosis Única
Azitromicina	1 gramo	Oral	Dosis Única
Ceftriaxona	250 mg	Intramuscular	Dosis Única
Cefixima	400 mg	Oral	Dosis Única
Espectinomicina	2 gramos	Intramuscular	Dosis Única

Tabla 5. Tratamiento de las infecciones gonocócicas de cérvix, uretra y recto en embarazadas.

Medicamento	Dosis	Vía	Frecuencia
Azitromicina	1 gramo	Oral	Dosis Única
Ceftriaxona	250 mg	Intramuscular	Dosis Única
Espectinomicina	2 gramos	Intramuscular	Dosis Única

Tabla 6. Tratamiento de la infección no complicada de faringe.

Medicamento	Dosis	Vía	Frecuencia
Ciprofloxacina	500 mg	Oral	Dosis Única
Ceftriaxona	125 mg	Oral	Dosis Única
Terapia dual			Por dos veces
Azitromicina	1 gramo	Oral	al día durante
Doxiciclina	100 mg	Oral	7 días.

Tabla 7. Tratamiento de la conjuntivitis gonocócica.

Medicamento	Dosis	Vía	Frecuencia
Ceftriaxona	1 gramo	Intramuscular	Dosis Única + lavado del ojo afectado con solución salina por única vez

Tabla 8. Tratamiento de la infección gonocócica diseminada (IGD).

Medicamento	Dosis	Vía	Frecuencia
Tratamiento inicial Ceftriaxona	1 gramo	Intramuscular o Endovenosa	1 vez al día
Terapia inicial Ceftriaxona	1 gramo	Endovenosa	Cada 8 horas
Pacientes alérgicos Ciprofloxacina Espectinomomicina	400 mg 2 gramos	Endovenosa Intramuscular	Cada 12 horas Cada 12 horas Se debe completar por la vía parenteral 24 a 48 horas

Tabla 9. Tratamiento de la Endocarditis y meningitis gonocócica.

Medicamento	Dosis	Vía	Frecuencia
Ceftriaxona	1 a 2 gramos	Endovenosa	Cada 12 horas, en la meningitis se debe completar 10 a 14 días y en la endocarditis 4 semanas.

(THOMPSON, L.; EYMIN, G.; FICH, F.)^{35, 36}

4.2.4.11 Mecanismos de resistencia de *Neisseria gonorrhoeae* a los antimicrobianos

Las Bacterias, por su tremenda capacidad de adaptación, pueden desarrollar mecanismos de resistencia frente a los antibióticos. Existe una resistencia natural o intrínseca en las bacterias si carecen de diana para un antibiótico (como la falta de pared celular en relación con los β -lactámicos). La resistencia adquirida es la realmente importante desde el punto de vista clínico: y se debe a la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutación cromosómica o por mecanismos de transferencia genética.

La resistencia mediada por cambios cromosomales: Se produce por mutaciones que son errores que se producen en el proceso de replicación del ADN, la mayoría de las mutaciones son lentas, escalonadas.

La resistencia extracromosomal: Esta mediada por plásmidos, transposones o integrones, que pueden pasar de una bacteria a otra.³⁷

En el primer caso, la resistencia se transmite de forma vertical de generación en generación, es decir en las sucesivas divisiones celulares. En el segundo caso, la transferencia de genes se realiza horizontalmente, por la transmisión que se produce de una bacteria donante a una receptora, a través de plásmidos u otro material genético

movible como integrones y transposones.³⁸ Existen tres mecanismos para que se produzca la transmisión horizontal:

- Transducción: cuando un virus bacteriano o bacteriófago actúa como vector del ADN de una bacteria donante a otra receptora.
- Conjugación: cuando las células bacterianas se ponen en contacto y hay transmisión directa de ADN de una bacteria donante a una receptora.
- Transformación: cuando la bacteria receptora incorpora ADN extracelular procedente de una bacteria donante.³⁹

Esto no solo permite la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas. De esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos.

Los eventos genéticos anteriormente descritos dan lugar a diversos tipos de alteraciones bioquímicas en el metabolismo bacteriano:

- Inactivación enzimática: Este tipo de mecanismo depende en muchos casos de plásmidos R. que produce enzimas que inactivan al antibiótico; las más importantes son las β -lactamasas y las β -lactamasas de espectro extendido.
- Disminución de la permeabilidad de la membrana celular: Las bacterias producen mutaciones en las porinas de la pared que impiden la entrada de ciertos antibióticos (β -lactámicos) o alteran los sistemas de transporte (aminoglucosidos en los anaerobios). En otras ocasiones provocan la salida del antibiótico por un mecanismo de expulsión activa impidiendo que se acumule en cantidad suficiente para que actúe eficazmente.
- Modificación de la estructura de la proteína blanco: Impidiendo o dificultando la acción de los antibióticos. Aquí podemos contemplar las alteraciones al nivel del ADN girasa (resistencia a quinolonas), del ARNr 23S (macrolidos) de las enzimas PBPs (proteínas ligadoras de penicilina) necesarias para la formación de la pared celular (resistencia a β -lactámicos).⁴⁰

4.2.4.11.1 Penicilinas

Los sitios blancos para las penicilinas y cefalosporinas son las proteínas ligadoras de la penicilina (PBPs) de pared celular en el gonococo. Alteraciones en la PBP-1 y PBP-2 disminuyen la capacidad de las penicilinas para ligarse al sitio blanco, incrementando por lo tanto la resistencia intrínseca del microorganismo a estos agentes.⁴¹

La Producción de la PBP-2 es codificada por el gen *penA*, mientras que mutaciones en el locus *penB* alteran la permeabilidad de la pared celular para antimicrobianos hidrofílicos y otros compuestos.

El efecto combinado de estos cambios trae consigo el incremento de la CIM de la penicilina a unas 120 veces. Los gonococos con estos cambios son llamados *N. gonorrhoeae* cromosomalmente resistentes (CMRNG).⁴²

Estos fenómenos también resultan en susceptibilidad disminuida a las cefalosporinas, a las tetraciclinas y otros agentes.⁴³

La resistencia a las penicilinas también ocurre por plásmidos, los que codifican para la producción de una β -lactamasa tipo TEM-1. Esta enzima hidroliza el anillo β -lactámico de antibióticos tipo penicilina convirtiéndolos en una forma no activa. En contraste con la lenta evolución del incremento paso a paso de la resistencia cromosomal, la resistencia plasmídica cambia la condición del germen susceptible a un estado de alto nivel de resistencia en un solo evento.⁴⁴

Ambos mecanismos de la resistencia a la penicilina pueden coexistir en un mismo aislamiento, lo cual es relevante debido al uso clínico y la existencia de inhibidores de las β -lactamasas como el ácido clavulánico. Así, la efectividad terapéutica de la combinación de una penicilina y un inhibidor de la β -lactamasa en cepas **PPNG** depende de la presencia o no de resistencia intrínseca del gonococo.

4.2.4.11.2 Cefalosporinas

La resistencia a estos antimicrobianos es de tipo cromosomal debido a los mismos cambios que acontecen para la susceptibilidad disminuida para la penicilina.⁴³ Resistencia cruzada para la penicilina y cefalosporinas tempranas como la cefuroxima se han descrito.⁴³⁻⁴⁵ Sin embargo, esto no se ha traducido para las cefalosporinas de últimas generaciones como la ceftriaxona y la cefixima.⁴⁴

Cefalosporinas constitutivamente encontradas en muchos otros géneros gramnegativos no han sido detectadas en *N. gonorrhoeae*. Si tal evento ocurriera sería devastador en posprogramas de tratamiento de la gonorrea, los cuales son dependientes del uso de las cefalosporinas de tercera generación.⁴⁴

4.2.4.11.3 Tetraciclinas

Las tetraciclinas no son recomendadas para el tratamiento de la gonorrea debido a que deben ser administradas en múltiples dosis por varios días.⁴⁶

La resistencia a la tetraciclina tiene origen cromosomal y plasmídico, este último es responsable de la resistencia de alto nivel. La resistencia cromosomal está ligada a alteraciones en el locus *mtr* y *penB*, las cuales reducen también la susceptibilidad a la penicilina, produciendo un incremento de las CIMs que son clínicamente significativas.

El alto nivel de resistencia a la tetraciclina en el gonococo (TRNG) es el resultado de la adquisición de un plásmido de 25.2 MDa que porta el determinante *tet-M* reportado por primera vez en 1986.⁴⁶

El determinante *tet-M* está ampliamente disperso entre la flora del tracto genital, este hecho junto a la habilidad para transferirse inter-géneros y la presión ecológica creada por el uso de tetraciclinas para tratar otras ITS ha contribuido a la dispersión del fenotipo TRNG.⁴²

4.2.4.11.4 Espectinomicina

La resistencia a la espectinomicina ocurre en un solo paso, un evento mediado cromosomalmente el cual resulta de un alto nivel de resistencia a este agente. La resistencia se debe a cambios ribosomales.⁴⁷ Existe la posibilidad de que el gonococo adquiera y mantenga genes de origen plasmídico con información para la destrucción de antibióticos aminoglucosidos.

4.2.4.11.5 Quinolonas

Las quinolonas más usadas en el tratamiento de la gonorrea son la ciprofloxacina y la ofloxacina. La resistencia a estos antimicrobianos se ha incrementado a través de los años de manera similar como ha ocurrido con la penicilina; en este proceso están involucrados múltiples cambios a nivel del cromosoma⁴⁴

Los sitios blancos para las quinolonas son las topoisomerasas, que regulan el trenzado de las cadenas de nucleótidos para formar la doble cadena, y que regulan también el enrollamiento de la doble hélice sobre si misma. De esta ultima función se encargan las topoisomerasas tipo II (ADN-girasa) y IV, cada una de las cuales esta compuesta por dos subunidades: *GyrA* y *GyrB* en el primer caso, y *ParC* y *ParE* en el segundo. Las fluoroquinolonas actúan al unirse a la subunidad *GyrA* e inhibir el superenrollamiento del ADN, por lo que se dice que estos compuestos inhiben la ADN-girasa (Topoisomerasa II).

La resistencia a las fluoroquinolonas en *N. gonorrhoeae* ocurre fundamentalmente por mutaciones en los genes *GyrA*, *GyrB* y *ParC*, que condicionan cambios en la secuencia de aminoácidos en las subunidades *GyrA* y *GyrB* de la topoisomerasa II (ADN-girasa) y en la subunidad *ParC* de la topoisomerasa IV.⁴⁸

5. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

5.1. Tipo de estudio

El presente estudio fue de tipo ensayo clínico, descriptivo y de corte transversal. Se determinó la prevalencia de la resistencia en cepas *Neisseria gonorrhoeae*. Se conformaron dos grupos: Trabajadoras sexuales comerciales (TSC) y no Trabajadoras sexuales comerciales.

Estudios de corte transversal: Este tipo de estudio denominado también de prevalencia, estudia simultáneamente la exposición y la enfermedad de una población bien definida en un momento determinado. Esta medición simultánea no permite conocer la secuencia temporal de los acontecimientos y no es por tanto posible determinar si la exposición precedió a la enfermedad o viceversa.⁴⁹

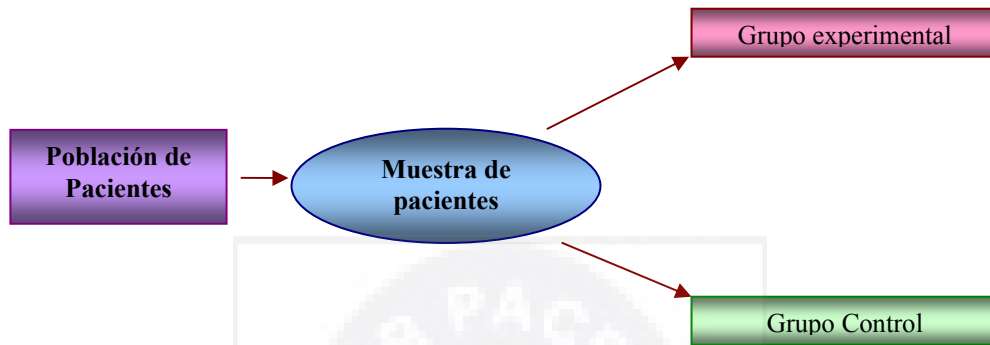


Figura 4. Diseño de ensayo clínico.

La realización de este tipo de estudio requiere definir claramente:

- La población de referencia sobre la que se desea extrapolar los resultados.
- La población susceptible a ser incluida en la muestra, delimitando claramente los que pueden ser incluidos en dichos estudios.
- La selección y definición de variables por la que se va a caracterizar el proceso.
- Las escalas de medida a utilizar.

Los estudios de corte se utilizan fundamentalmente para conocer la prevalencia de una enfermedad o un factor de riesgo.

Esta información es de gran utilidad para valorar el estado de salud de una comunidad y determinar sus necesidades. Así mismo, sirven como todos los estudios descriptivos para formular hipótesis etiológicas.^{49, 50, 51}

5.2 Medidas de frecuencia de la enfermedad

La medida más elemental de frecuencia de una enfermedad, o de cualquier otro evento en general, es el número de personas que la padecen o la presentan (por ejemplo, en este caso el número de personas con infección gonocócica). Sin embargo, dicha medida por sí sola carece de utilidad para determinar la importancia de un problema de salud determinado, pues debe referirse siempre al tamaño de la población de donde provienen

los casos y al periodo de tiempo en el cual estos fueron identificados. Para este propósito, en epidemiología suele trabajarse con diferentes tipos de fracciones que permiten cuantificar correctamente el impacto de una determinada enfermedad.^{49, 52}

5.3. Análisis estadístico

El procesamiento de la información se realizó en una base de datos, la hoja electrónica Excel y para el análisis estadístico, se utilizó el programa estadístico STATA, versión 8.0 estándar.

En base a los datos obtenidos de la ficha de resultado y la hoja de encuesta, se realizó el análisis.

Para intentar encontrar relación o asociación entre variables, se realizó la comparación de proporciones, para ello se utilizó la prueba de χ^2 , o el Test exacto de Fisher para los casos en los que se observó valores esperados inferiores a 5.

El análisis de promedios de variables cuantitativas continuas se realizó mediante la prueba paramétrica de t de student.

Para evaluar si los resultados obtenidos son estadísticamente significativos se observó la probabilidad “p”.

Si el valor “p” es superior a 0,05, no es una comparación estadísticamente significativa

Si el valor “p” es inferior a 0,05, la comparación es estadísticamente significativa.

5.4. Población y lugar

El área de estudio fue conformado por dos Centros de Salud especializados en vigilancia de ITS. Se tomó como universo todas las personas con infección gonocócica de estos centros durante 1 año (Mayo de 2007 a Abril de 2008).

Para la selección de los pacientes considerados para el presente estudio se tomarán en cuenta los siguientes criterios:

■ Criterios de Inclusión:

1. Pacientes de ambos sexos y de cualquier edad que asistan a los centros de consulta externa especializados en la vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual, con síntomas y signos de gonorrea, entre mayo 2007 a abril 2008.

■ Criterios de Exclusión:

1. Todos los pacientes que estén con tratamiento antibiótico, en caso de infección gonocócica.
2. Pacientes que no estén con síntomas y signos de infección gonocócica y que cursen con otro tipo de infección de transmisión sexual.

5.4.1. Tamaño de la Muestra

Se evaluaron 40 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* aisladas durante Mayo de 2007 y Abril de 2008 en las ciudades de La Paz y El Alto.

5.4.2. Área de estudio

El presente trabajo fue realizado en dos Centros de Salud, de las ciudades de La Paz y El Alto

Tabla 10. Centros de Salud de La Paz y El Alto.

CENTRO DE SALUD	MUNICIPIO
Centro de Salud “Piloto”	La Paz
Centro de Referencia Ambulatorio (CRA) El Alto	El Alto

5.5 Intervención

5.5.1. Procedimientos

Se contó con dos centros de salud, uno de la ciudad de La Paz y otro de la ciudad de El Alto. El personal del centro de salud realizó la recolección de los datos, y la toma de muestra por parte de los médicos de cada centro de salud.

Se incluyeron todas las personas con síntomas de infección gonocócica que asistieron a los centros de salud durante los meses de Mayo de 2007 a Abril de 2008. Se tomó una copia de la hoja de la Historia clínica de ITS, para registrar el código, su edad, sus

antecedentes generales, antecedentes de ITS, nivel de instrucción, ocupación y estado civil.

Las Tinciones en fresco fueron coloreadas con tinción Gram en el laboratorio del centro de salud. Finalmente estas fueron enviadas al Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del INLASA en La Paz para su confirmación.

5.6. Metodología General de la Investigación

Para el diagnóstico de la infección por *Neisseria gonorrhoeae* se realizaron los siguientes pasos.

5.6.1. Toma de muestra

La toma de muestra fue realizada gracias a la colaboración de los Médicos profesionales con especialidad en ginecología de:

Genitales: Fueron tomadas con un hisopo de alginato y se introdujo por la uretra del pene en el caso de los hombres y por la vagina hasta el cuello uterino haciendo un barrido en el caso de las mujeres.

5.6.2. Recolección de la Muestra y Transporte

Una vez obtenida la muestra, se introdujo el hisopo en un tubo que contenía una preparación con medio AMIES y Carbón activado, se inoculó bastante muestra y se mantuvo a temperatura ambiente para el transporte hacia el laboratorio de bacteriología para su inmediato procesamiento.

5.6.3. Cultivo

5.6.3.1. Siembra de la muestra

Una vez que la muestra llegó al laboratorio, el inóculo contenido en el medio de transporte, se colocó en la superficie del medio de cultivo, el cual se encontraba previamente a temperatura ambiente y se diseminó por estría de agotamiento para obtener colonias aisladas.



Figura 5. Siembra de la muestra.

5.6.3.2. Medios de cultivo

Los medios de cultivo utilizados fueron agar base GC (OXOID) con IsoVitalax al 1% y hemoglobina en polvo al 1%, para la preparación de los medios agar chocolate y agar Thayer Martin Modificado (TMM), realizando el registro correspondiente para el control de calidad de los medios de cultivo (ver anexo 1-2).

5.6.3.3. Incubación

El periodo de incubación fue de 18 a 24 horas, en algunos casos se dejó hasta 48 horas de incubación, en microaerofilia y humedad. La microaerofilia (5 – 10% de CO₂) se logró por el método de la vela, la humedad mediante un pequeño frasco con agua, que favorece el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae* a una temperatura de 35°C a 37°C (ver anexo 3).

5.7. Identificación

Para la identificación de *Neisseria gonorrhoeae* se realizó el siguiente procedimiento.

5.7.1. Observación Macroscópica

Neisseria gonorrhoeae presenta colonias pequeñas convexas, brillantes como gotas de rocío, mucoides, estas pueden ser transparentes u opacas, no pigmentadas y no hemolíticas (ver anexo 4).

5.7.2. Observación Microscópica

Se realizó una tinción de Gram (ver anexo 5) para observar diplococos con aspecto arriñonado gram negativos, su tamaño oscila entre 0.6 a 1 μm de diámetro su tamaño promedio aproximadamente 0.8 μm de diámetro (ver anexo 6).

5.7.3. Prueba de la Citocromo Oxidasa

Se utilizó un papel filtro impregnado con dihidrocloruro de tetrametil-p-fenilendiamina al 1% sobre una placa de vidrio se colocó con un aplicador de plástico colonias sospechosas de *Neisseria gonorrhoeae* (ver anexo 7).

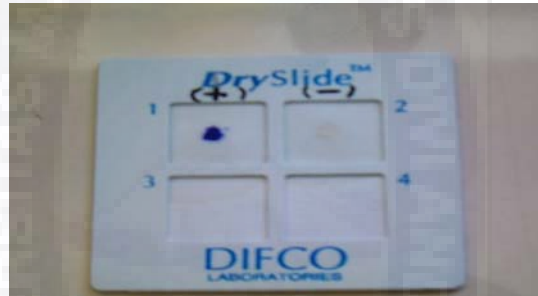


Figura 6. Prueba de la Oxidasa.

5.7.4. Prueba del superoxol

Se utilizó una gota de peróxido de hidrógeno al 30%, luego se hizo gotear sobre una placa ya inoculada con colonias sospechosas de *Neisseria gonorrhoeae* (ver anexo 8).

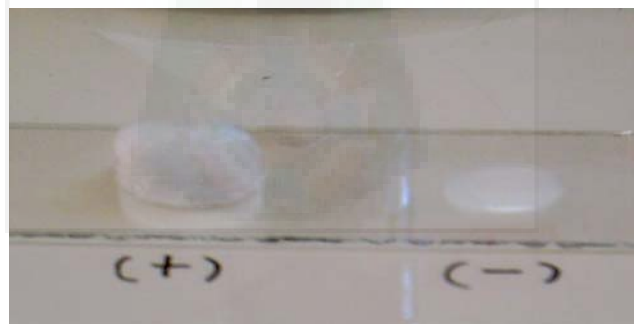


Figura 7. Prueba del Superoxol

5.7.5. Prueba de Fermentación de azúcares

Se utilizó el medio CTA (agar semisólido cisteína triptícasa) al cual se le adiciona 1% de los carbohidratos glucosa, maltosa y sacarosa (ver anexo 9).

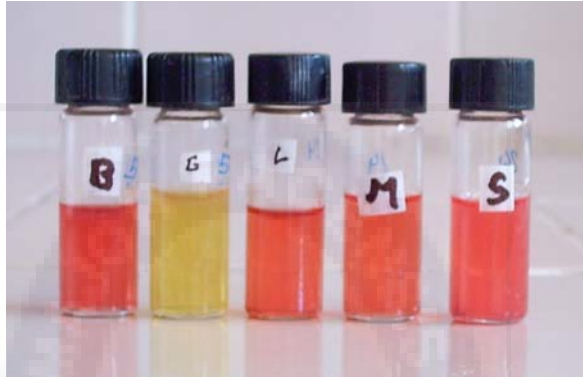


Figura 8. Fermentación de azúcares.

5.7.6 Prueba Tubos Reactivos Gonocek II

Se utilizó la prueba comercial de tubos Gonocek II para la identificación de *Neisseria gonorrhoeae*, en el cual se introduce 2 a 3 gotas de una suspensión concentrada de colonias en solución salina tamponada con fosfato (PBS) (ver anexo 10).

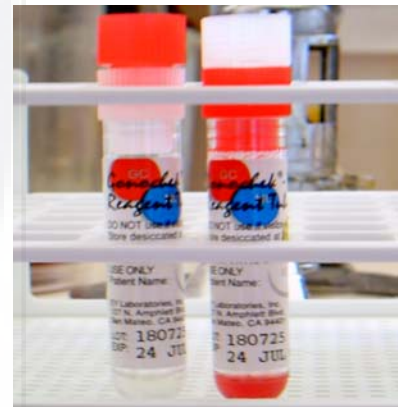


Figura 9. Tubos Gonocek-II.

5.7.7 Prueba de la β -Lactamasa

Se empleó la prueba de la cefalosporina cromogénica (Nitrocefin), método en la que se utiliza un disco impregnado con el reactivo cromogénico, al que previamente se hidrata con agua destilada estéril, luego se deposita varias colonias sospechosas de *Neisseria gonorrhoeae* (ver anexo 11).



Figura 10. Prueba de β -Lactamasa.

5.7.8. Conservación

Se realizó una siembra abundante, y se inoculó gran cantidad de colonias aisladas de *Neisseria gonorrhoeae* en caldo BHI suplementado con glicerol al 20% o usar caldo TSB con glicerol al 20%, conservar a -70°C.

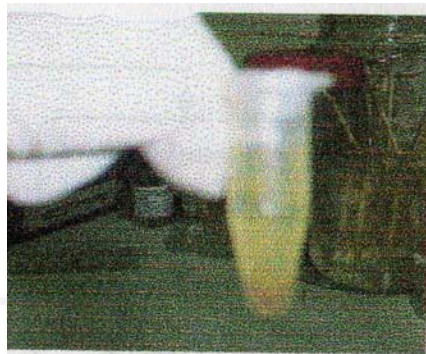


Figura 11. BHI con glicerol al 20%.

5.7.9. Prueba de difusión con disco

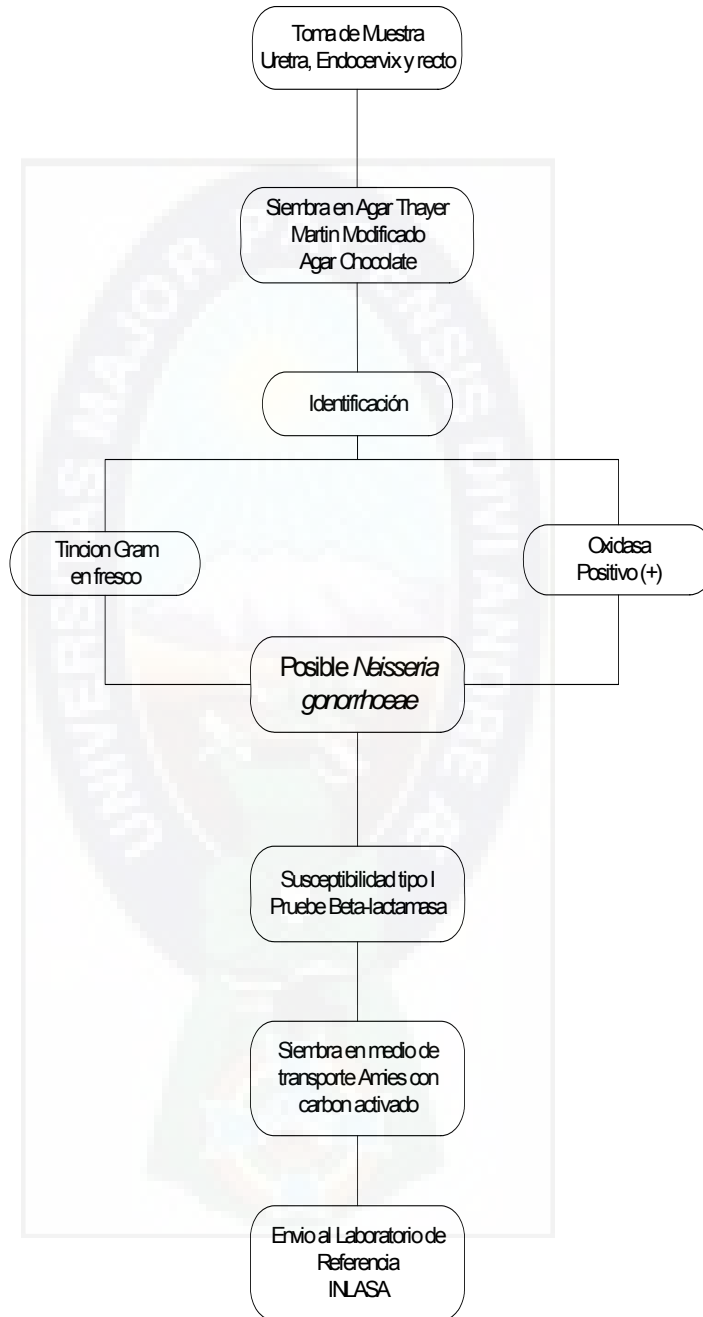
Se empleo el método de difusión con disco según las recomendaciones de la CLSI, se realizo la estandarización del método utilizando la cepa de referencia para evaluar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de gonococo (*Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226). Para la lectura se midieron los halos de inhibición (mm) del crecimiento del microorganismo y se compararon con los patrones establecidos (ver anexo 12), para le interpretación de resistencia mediada por cromosomas o plásmidos se mide el diámetro de los halos del disco de Penicilina y Tetraciclina (ver anexo 13).

5.7.10. Recolección de datos

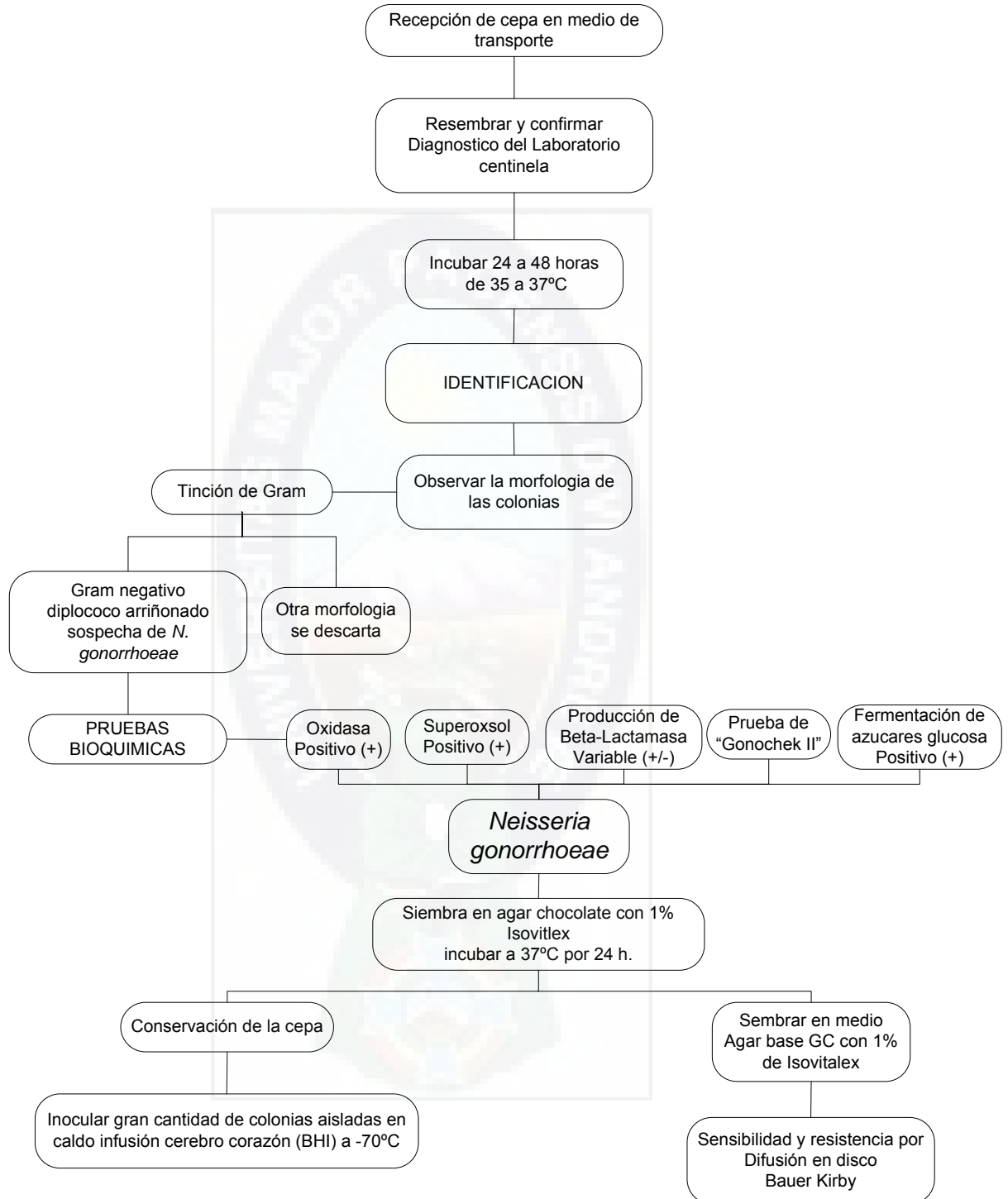
Los antecedentes del paciente fueron recolectados en encuestas (ver anexo 14).

Los datos del laboratorio fueron recolectados en fichas de resultados (ver anexo 15).

FLUJOGRAMA DE LA TOMA DE MUESTRA
LABORATORIO CENTINELA



PROTOCOLO PARA EL AISLAMIENTO DE *Neisseria gonorrhoeae*



6. RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio a un total de 40 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión de los Centros de Salud seleccionados.

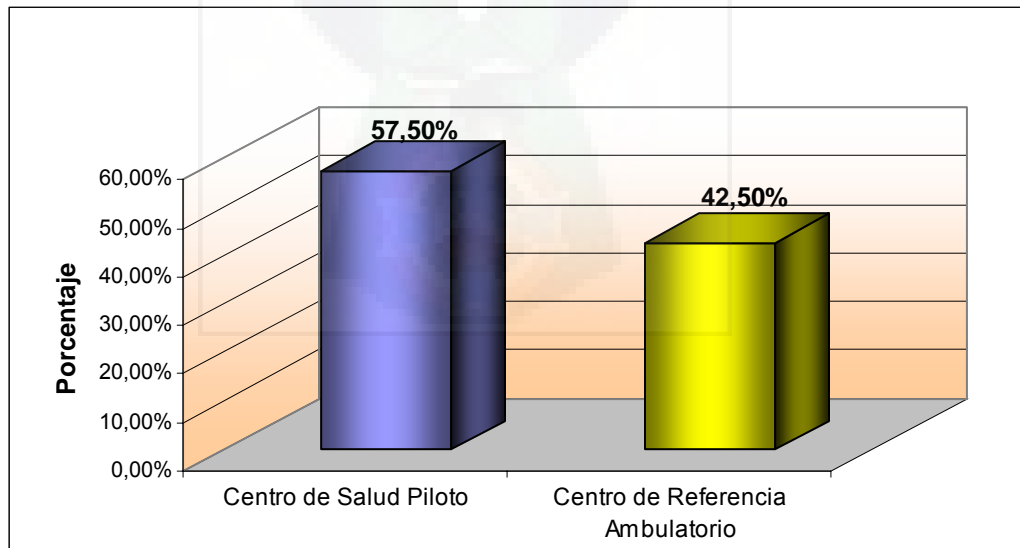
Las muestras fueron recolectadas en el Centro de Salud Piloto y el Centro de Referencia Ambulatorio, de mayo 2007 a abril 2008, cuyo número y proporción se observa en la (Tabla 11)

Tabla 11. Distribución de Pacientes Según Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Centro de Salud	Frecuencia	Porcentaje
Centro de Salud Piloto	23	57,5%
Centro de Referencia Ambulatorio	17	42,5%
TOTAL	40	100%

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Figura 12. Distribución de Pacientes Según Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.



Distribución de pacientes según género

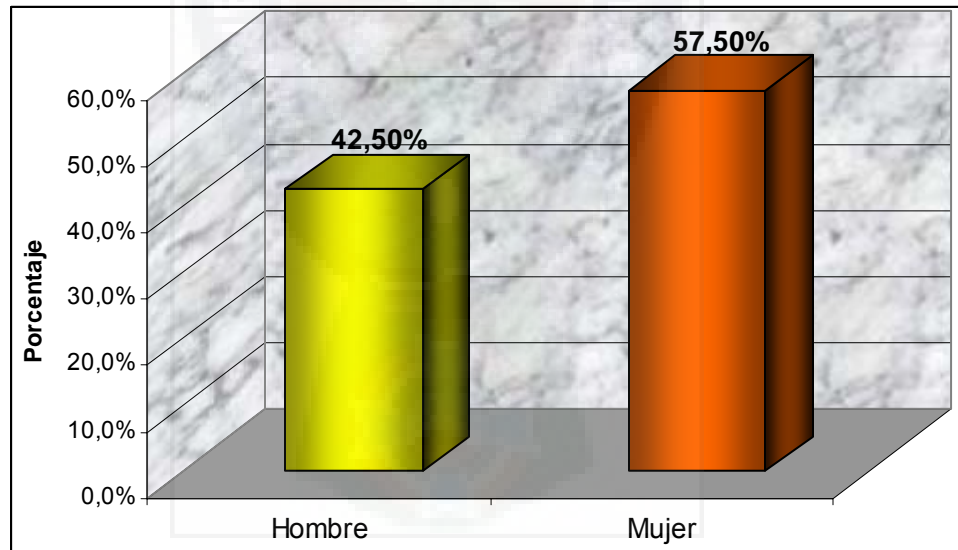
La mayoría de los pacientes de estudio fueron mujeres tal como se puede observar en la tabla 12.

Tabla 12. Distribución de pacientes según género procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Genero	Frecuencia	Porcentaje
Hombre	17	42,5%
Mujer	23	57,5%
TOTAL	40	100%

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Figura 13. Distribución de pacientes según género procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

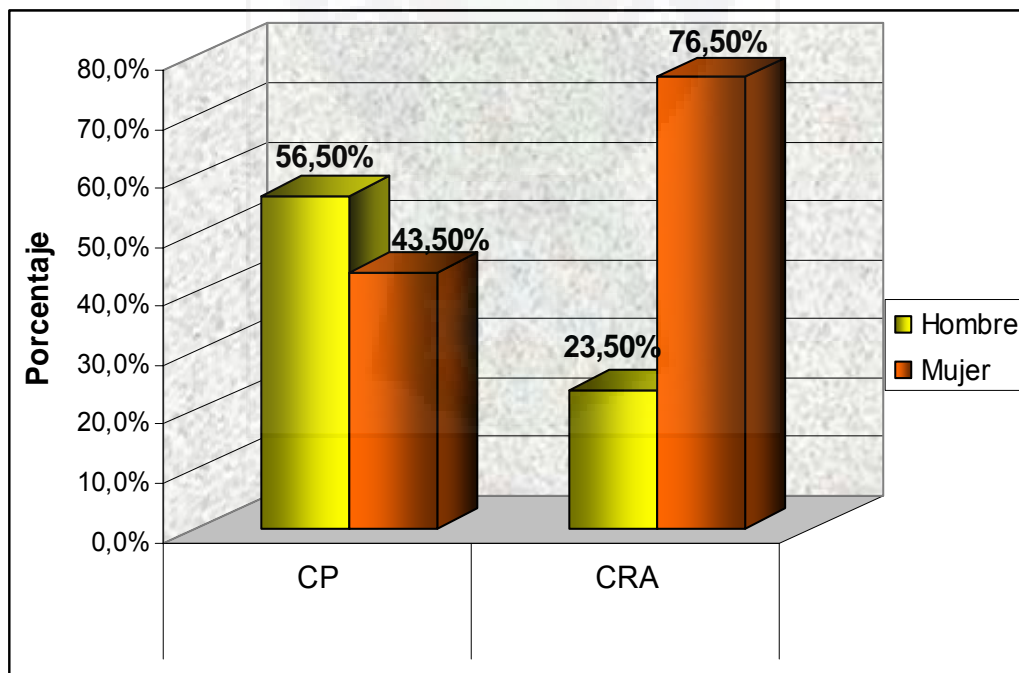


En la tabla 13 se ve la prevalencia de infección por gonococo es mayor en mujeres que acuden al Centro de Referencia Ambulatorio de la ciudad de El Alto que en el Centro de Salud Piloto de la ciudad de La Paz. Observándose una asociación estadísticamente significativa ($\chi^2 = 4.35$ $p = 0.037$)

Tabla 13. Distribución de Género con infección gonocócica según Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Centro de Salud	Genero				Total	
	Hombre		Mujer			
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Centro de Salud "Piloto"	13	56.5%	10	43.5%	23	100%
Centro de Referencia Ambulatorio	4	23.5%	13	76.5%	17	100%

Figura 14. Distribución de Género con infección gonocócica según Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.



CP = Centro de Salud Piloto.
CRA = Centro de Referencia Ambulatorio.

Edad de la población de estudio

La variable edad fue registrada en el total de la población. Las edades mínima y máxima fueron de 18 y 59 años respectivamente, el promedio alcanzado en ambos Centros de Salud fue de 28,8 años, con una desviación estándar de 9,5.

También se realizó la comparación de promedios de edad de los pacientes del Centro de Salud Piloto y el Centro de Referencia Ambulatorio, donde se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de edad de los pacientes del Centro de Salud Piloto y el Centro de Referencia Ambulatorio ($p < 0,05$) para la prueba de (t de student). Lo que quiere decir que los pacientes del Centro de Salud Piloto son en promedio cinco años menor que los del Centro de Referencia Ambulatorio (Tabla 14).

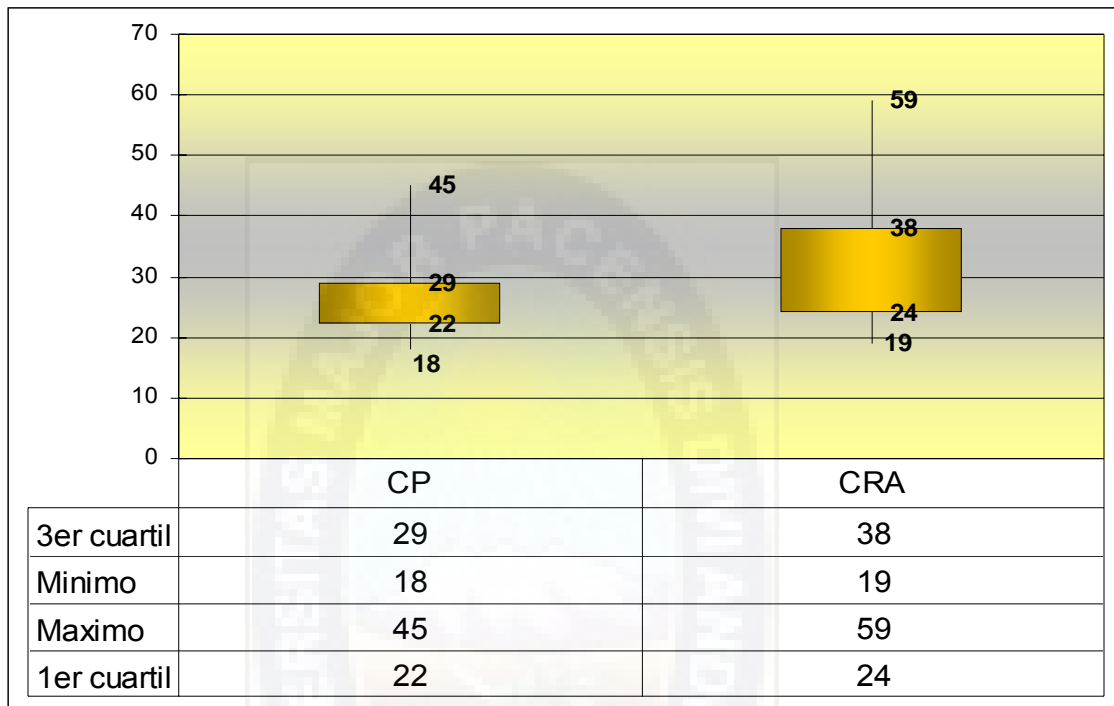
Tabla 14. Promedios de edad según Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Centro de Salud	Media	Desviación estándar	Rango	Población	Mediana	Moda
Centro Piloto	26,6	7,5	18 - 45	23	24	22
CRA	31,8	11,4	19 - 59	17	27	19
Ambos	28,8	9,5	18 - 59	40		

CRA = Centro de Referencia Ambulatorio.

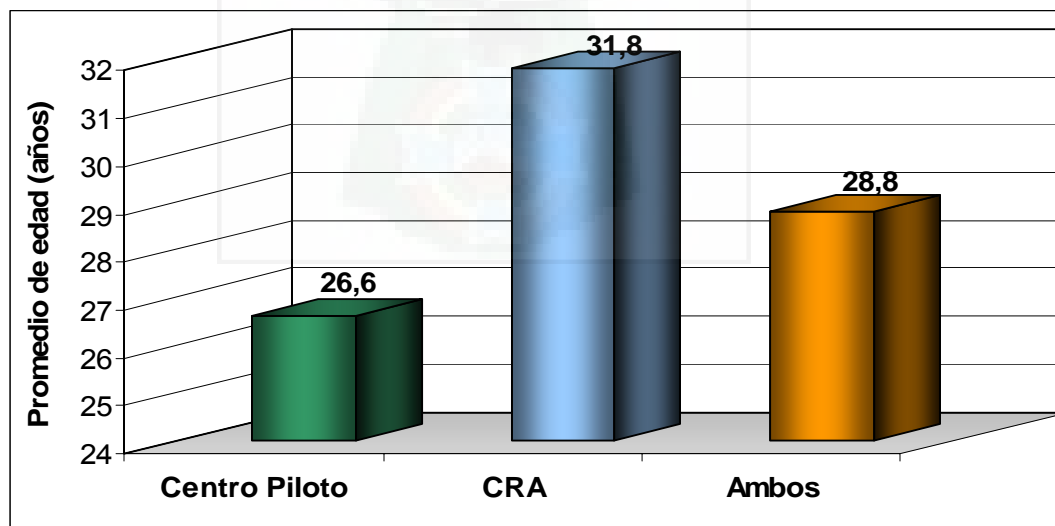
Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Figura 15. Promedios de edad según Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.



CP = Centro de Salud Piloto.
CRA = Centro de Referencia Ambulatorio.

Figura 16. Comparación de promedios de edad según Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.



CRA = Centro de Referencia Ambulatorio.

En la tabla 15 se observa la ocupación, el estado civil y los que presentan antecedentes de Infecciones de Transmisión sexual. Donde se puede evidenciar que la mayor parte de la población del Centro de Salud Piloto (Ciudad de La Paz) son estudiantes y en el Centro de Salud Regional Ambulatorio (Ciudad de El Alto) no se observan divorciados, de un total de 40 muestras, presentando solo 7 antecedentes de otra Infección de Transmisión Sexual.

Tabla 15. Distribución de la población según ocupación, estado civil e Infecciones de Transmisión Sexual procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Centro de Salud	Variables						
	Ocupación			ITS*	Estado civil		
	Estudiante	Ama de casa	Trabajos varios	Antecedente de infección	Soltero	Casado	Divorciado
Centro de Salud Piloto	14 (60,9%)	1 (20,0%)	8 (66,7%)	5 (71,4%)	18 (52,9%)	1 (50,0%)	4 (100,0%)
CRA	9 (39,1%)	4 (80,0%)	4 (33,3%)	2 (28,6%)	16 (47,0%)	1 (50,0%)	0 (0,0%)
Total	23 (100%)	5 (100%)	12 (100%)	7 (100%)	34 (100%)	2 (100%)	4(100%)

CRA = Centro de Referencia Ambulatorio.

ITS = Infección de Transmisión Sexual.

*Otras = Sífilis, gonorrea, herida genital, sífilis-gonorrea.

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Tabla 16. Distribución de la población según nivel de estudio en casos reportados de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

ESTUDIOS	Centros de Salud		Total
	CP	CRA	Total
Superior	12	1	13
Bachiller	7	3	10
Secundaria	4	7	11
Primaria	0	5	5
Ninguno	0	1	1
Total	23	17	40

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Figura 17. Distribución de la población según nivel de estudio en casos reportados de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

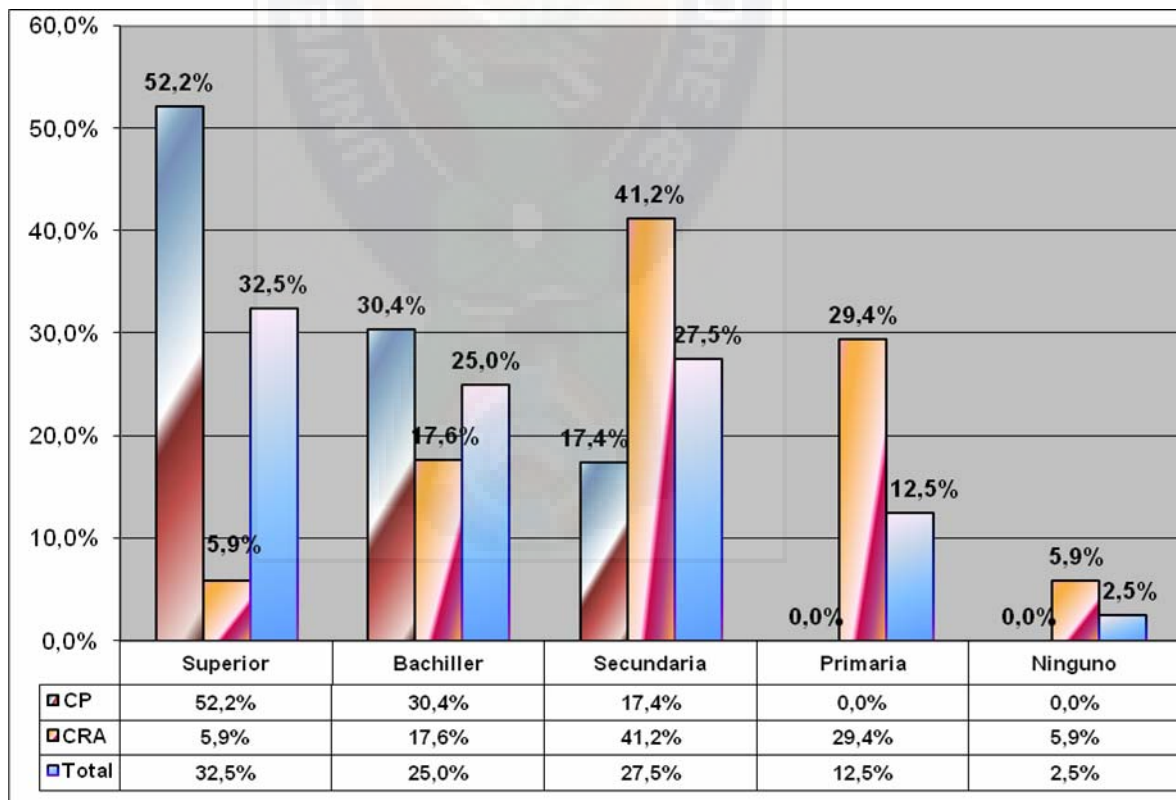


Tabla 17. Comparación de proporciones entre género y nivel de estudio, en casos reportados de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

ESTUDIOS		sexo		Total
		Hombre	Mujer	
	Superior	8	5	13
	Bachiller	4	6	10
	Secundaria	5	6	11
	Primaria	0	5	5
	Ninguno	0	1	1
Total		17	23	40

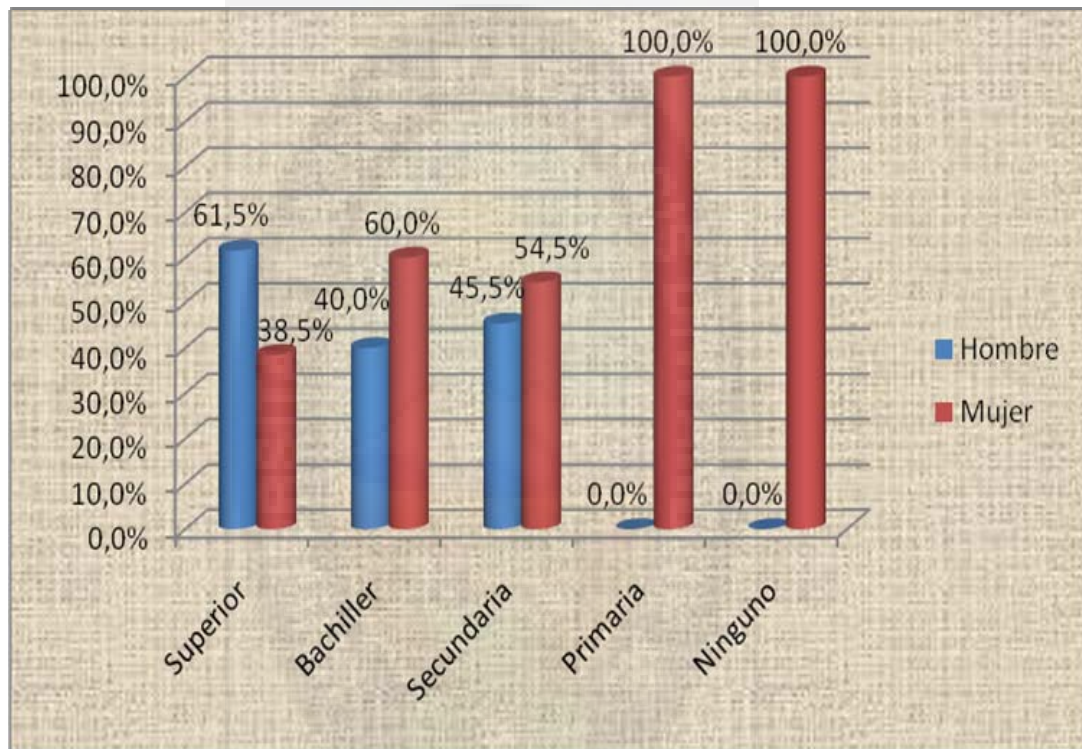
Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Tabla 18. Comparación de proporciones entre género y nivel de estudio, según porcentaje, en casos reportados de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

ESTUDIOS	Porcentajes	sexo		Total
		Hombre	Mujer	
Superior	% de estudios	61,50%	38,50%	100,00%
	% de sexo	47,10%	21,70%	32,50%
Bachiller	% de estudios	40,00%	60,00%	100,00%
	% de sexo	23,50%	26,10%	25,00%
Secundaria	% de estudios	45,50%	54,50%	100,00%
	% de sexo	29,40%	26,10%	27,50%
Primaria	% de estudios	0,00%	100,00%	100,00%
	% de sexo	0,00%	21,70%	12,50%
Ninguno	% de estudios	0,00%	100,00%	100,00%
	% de sexo	0,00%	4,30%	2,50%
Total	% de estudios	42,50%	57,50%	100,00%
	% de sexo	100,00%	100,00%	100,00%

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Figura 18. Comparación de proporciones entre género y nivel de estudio, en casos reportados de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.



Población con algún tipo de Infección de Transmisión Sexual

Para los pacientes con antecedente de al menos una Infección de Transmisión Sexual (7/40), se observó que el 57.1% refirieron haber tenido sífilis, y el 82.5% refirieron no haber tenido ningún tipo de Infección de Transmisión Sexual. La distribución de las demás infecciones se muestra en la tabla 18, 19.

Tabla 19. Distribución de la población con antecedentes de Infección de Transmisión Sexual procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Tipo de ITS	Frecuencia	Porcentaje
Ninguno	33	82,5%
Sífilis	4	10,0%
Gonorrea	1	2,5%
Herida Genital	1	2,5%
Sífilis y Gonorrea	1	2,5%
TOTAL	40	100%

ITS = Infección de Transmisión Sexual.

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

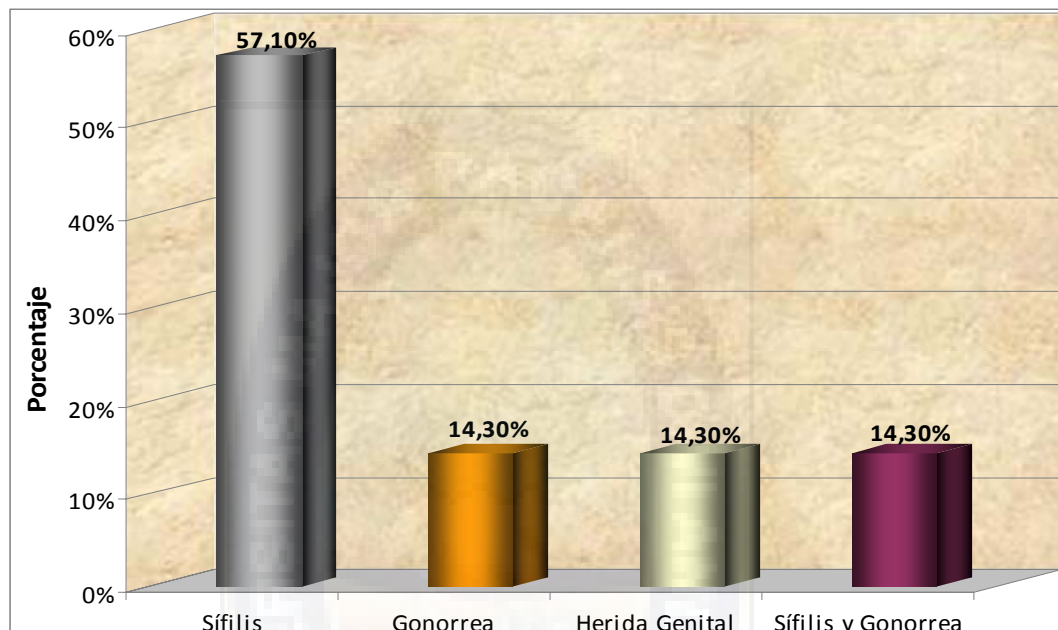
Tabla 20. Distribución de la población con antecedentes de Infección de Transmisión Sexual procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Tipo de ITS	Frecuencia	Porcentaje
Sífilis	4	57,1%
Gonorrea	1	14,3%
Herida Genital	1	14,3%
Sífilis y Gonorrea	1	14,3%
TOTAL	7	100%

ITS = Infección de Transmisión Sexual.

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Figura 19. Distribución de la población con antecedentes de Infección de Transmisión Sexual procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.



En la tabla 21 se muestra el lugar de procedencia, donde podemos observar que el 65,0% de los pacientes provienen de la ciudad de La Paz y en menor porcentaje del interior del país.

Tabla 21. Distribución de casos reportados de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Procedencia	Frecuencia	Porcentaje
La Paz	26	65,0%
El Alto	4	10,0%
Provincia	5	12,5%
Santa Cruz	3	7,5%
Cochabamba	2	5,0%
TOTAL	40	100%

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

En la tabla 22 se muestra la comparación de proporciones entre edad y la resistencia a la penicilina y la sensibilidad disminuida a la misma, donde no se observó diferencia estadísticamente significativa, ($p > 0,05$; $\chi^2 = 0,0540$).

Tabla 22. Comparación de proporciones entre edad y la resistencia a la penicilina, en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializado en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Edad (años)	Susceptibilidad a la Penicilina					
	Resistente		Sensibilidad Intermedia		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
18 – 28	12	66.7	14	63.6	26	65
29 - 59	6	33.3	8	36.4	14	35
Total	18	100	22	100	40	100

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Con el fin de observar un efecto de la producción de penicilinas en las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* sobre la resistencia a la penicilina se realizó el análisis respectivo (tabla 23).

La proporción de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de penicilinas fue de 83,3% en aquellas cepas resistentes a la penicilina ($\chi^2 = 29,33$; $p < 0,01$), existiendo una diferencia estadísticamente significativa. Por lo tanto se confirma que la producción de penicilinas confiere una resistencia al antimicrobiano mediada por plásmidos.

Tabla 23. Relación entre la resistencia a la penicilina, y la producción de penicilinas mediada por plásmidos en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

PPNG	Susceptibilidad a la Penicilina					
	Resistente		Sensibilidad Intermedia		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Positivo	15	83.3	0	0.0	15	37.5
Negativo	3	16.7	22	100	25	62.5
Total	18	100	22	100	40	100

PPNG = *Neisseria gonorrhoeae* productora de penicilinas.

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Para observar si todas aquellas cepas resistentes a la penicilina mediadas por cromosoma se realizo el análisis de proporciones.

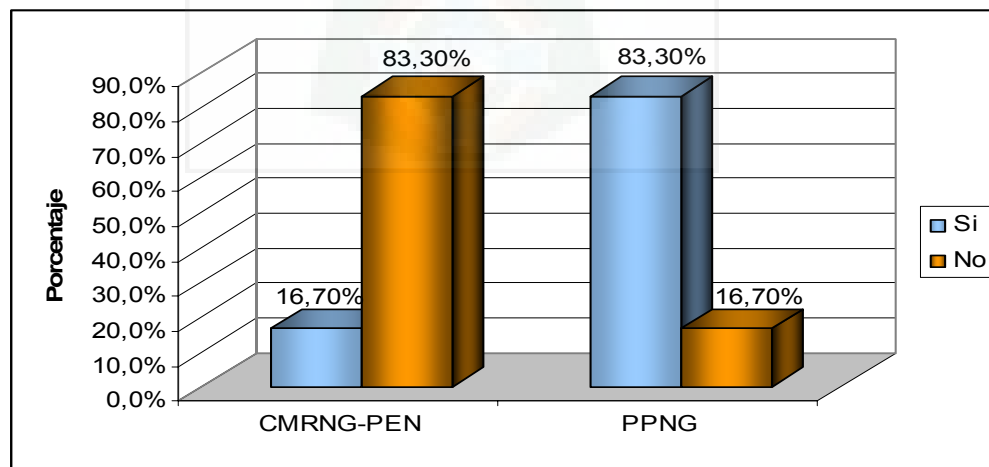
Donde se observo una diferencia que se encuentra al límite de la significatividad ($p > 0,05$) para la prueba de test exacto de Fisher, por lo tanto se podría decir que tres cepas de toda la población presentan resistencia a la penicilina por cromosoma (tabla 24)

Tabla 24. Resistencia a la penicilina mediada por cromosoma en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

CMRNG-PEN	Susceptibilidad a la Penicilina					
	Resistente		Sensibilidad Intermedia		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Positivo	3	16.7	0	0.0	3	7.5
Negativo	15	83.3	22	100	37	92.5
Total	18	100	22	100	40	100

CMRNG-PEN = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a penicilina mediada por cromosomas.
Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Figura 20. Distribución porcentual de las cepas con resistencia mediada por plásmidos y la resistencia mediada por cromosomas para Penicilina procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.



En la tabla 25 se muestra que la proporción de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* fue de 45,0% en aquellas cepas resistentes a la tetraciclina mediada por plásmidos y 55,0% de resistencia a la tetraciclina mediada por cromosomas ($\chi^2 = 11,61$; $p < 0,001$), existiendo una diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 25. Resistencia a la Tetraciclina mediada por plásmidos en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

TRNG	Susceptibilidad a la Tetraciclina					
	Resistente		Sensibilidad Intermedia		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Positivo	9	45	0	0.0	9	22,5
Negativo	11	55	22	100	31	77,5
Total	20	100	22	100	40	100

TRNG = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a la Tetraciclina.

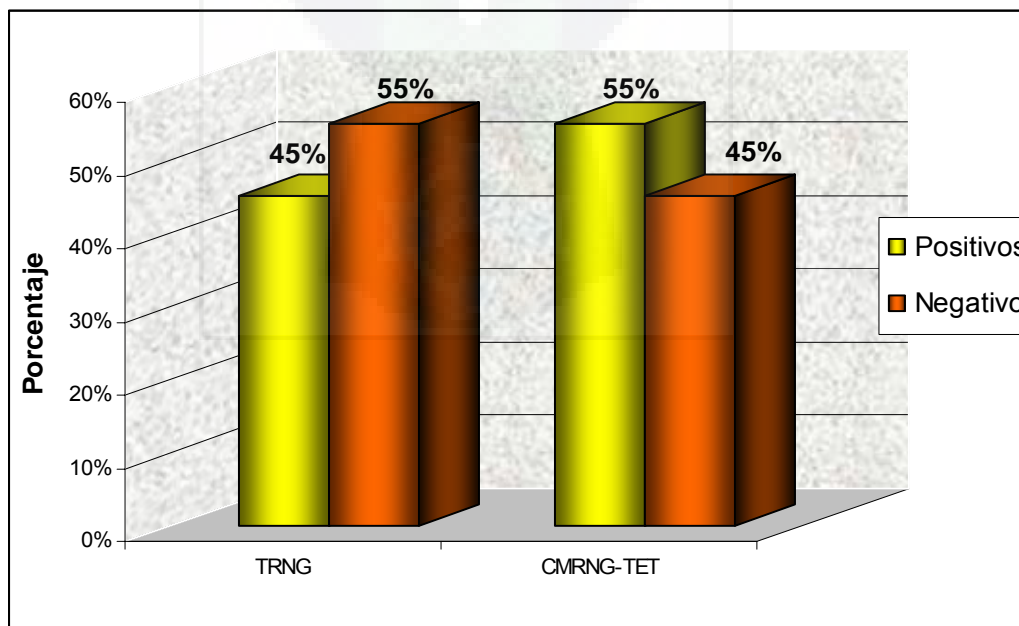
Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.

Tabla 26. Resistencia a la Tetraciclina mediada por cromosomas en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Susceptibilidad a la Tetraciclina						
CMRNG-TET	Resistente		Sensibilidad Intermedia		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Positivo	11	55	0	0.0	11	27,5
Negativo	9	45	20	100	29	72,5
Total	20	100	20	100	40	100

CMRNG-TET = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a la tetraciclina mediada por cromosomas.
Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica

Figura 21. Distribución porcentual de las cepas con resistencia mediada por plásmidos y la resistencia mediada por cromosomas para Tetraciclina procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.



En la Tabla 27 se observan el número de casos de los que presentan un mecanismo de resistencia, mediado por cromosomas o bien por la adquisición de algunos plásmidos de resistencia ya sea para la Penicilina o la Tetraciclina, y aquellos que no presentan ningún mecanismo de resistencia a los antimicrobianos ya mencionados pero que tienen una sensibilidad Intermedia.

Tabla 27. Comparación entre mecanismos de resistencia mediados por cromosoma, plásmidos y aquellos con sensibilidad Intermedia en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

	PPNG Halo ≤ 19 mm Cefinase (+)	TRNG Halo ≤ 19 mm	CMRNG-PEN Halo ≤ 26 hasta 18 mm	CMRNG-TET Halo ≤ 30 hasta 18 mm	Sensibilidad Intermedia PEN Halo de 27 – 46 mm	Sensibilidad Intermedia TET Halo de 31 – 37 mm
NG	6 mm	17 mm	26 mm	29 mm	37 mm	34 mm
NG	6 mm	16 mm	26 mm	21 mm	35 mm	33 mm
NG	6 mm	18 mm	20 mm	30 mm	29 mm	37 mm
NG	6 mm	14 mm	-	30 mm	34 mm	37 mm
NG	6 mm	14 mm	-	27 mm	32 mm	32 mm
NG	6 mm	16 mm	-	30 mm	32 mm	33 mm
NG	6 mm	13 mm	-	28 mm	35 mm	34 mm
NG	6 mm	15 mm	-	28 mm	37 mm	32 mm
NG	6 mm	17 mm	-	30 mm	39 mm	34 mm
NG	6 mm	-	-	29 mm	39 mm	34 mm
NG	6 mm	-	-	30 mm	34 mm	35 mm
NG	6 mm	-	-	-	34 mm	36 mm
NG	6 mm	-	-	-	33 mm	34 mm
NG	6 mm	-	-	-	29 mm	33 mm
NG	6 mm	-	-	-	32 mm	32 mm
NG	-	-	-	-	34 mm	32 mm
NG	-	-	-	-	31 mm	33 mm
NG	-	-	-	-	33 mm	31 mm
NG	-	-	-	-	30 mm	32 mm
NG	-	-	-	-	37 mm	33 mm
NG	-	-	-	-	35 mm	-
NG	-	-	-	-	31 mm	-
Total	15	9	3	11	22	20

PPNG = *Neisseria gonorrhoeae* productora de penicilinas.

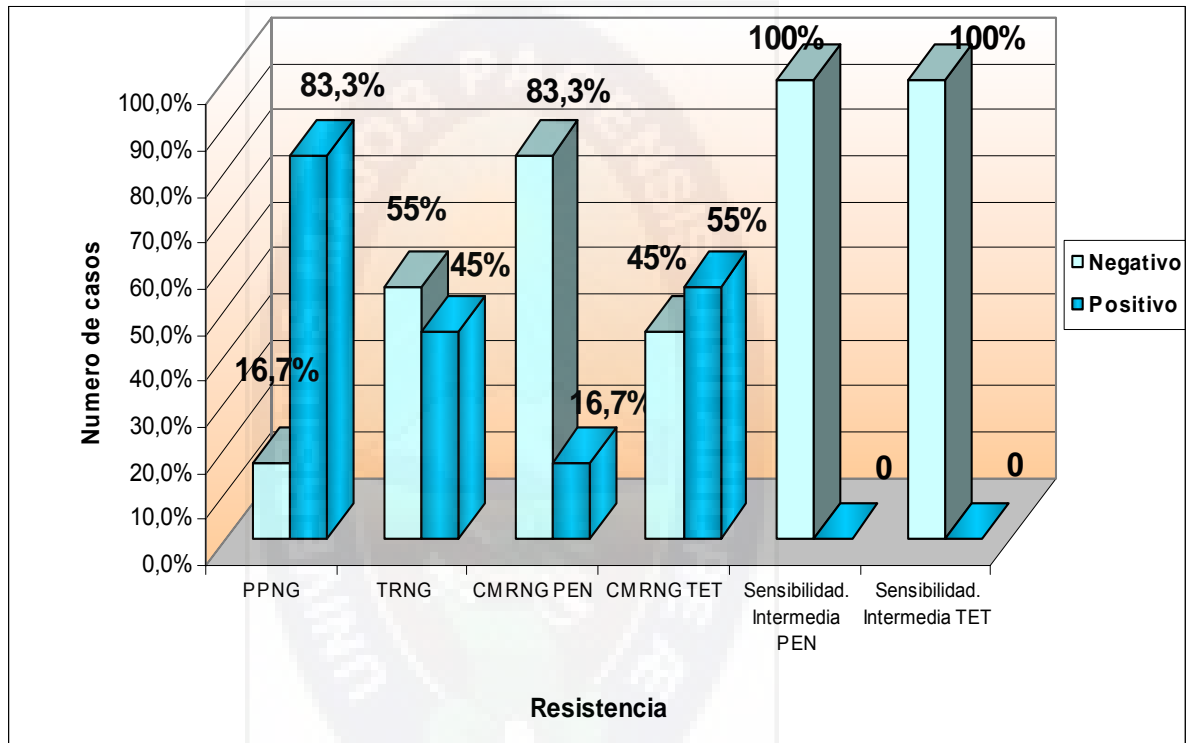
TRNG = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a la Tetraciclina.

CMRNG-PEN = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a penicilina mediada por cromosomas.

CMRNG-TET = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a la tetraciclina mediada por cromosomas.

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica

Figura 22. Comparación entre mecanismos de resistencia mediados por cromosoma, plásmidos y aquellos con sensibilidad Intermedia en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.



PPNG = *Neisseria gonorrhoeae* productora de penicilinas.
 TRNG = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a la Tetraciclina.
 CMRNG-PEN = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a penicilina mediada por cromosomas.
 CMRNG-TET = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a la tetraciclina mediada por cromosomas.
 Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica

En la Tabla 28 podemos observar la frecuencia de resistencia mediados por cromosomas o plásmidos según centros de salud en estudio, donde se puede ver que en el Centro de Salud “Piloto” existe una mayor resistencia mediada por cromosomas a la Tetraciclina, contrariamente en el Centro de Referencia Ambulatorio existe una mayor resistencia mediada por cromosomas a la Penicilina.

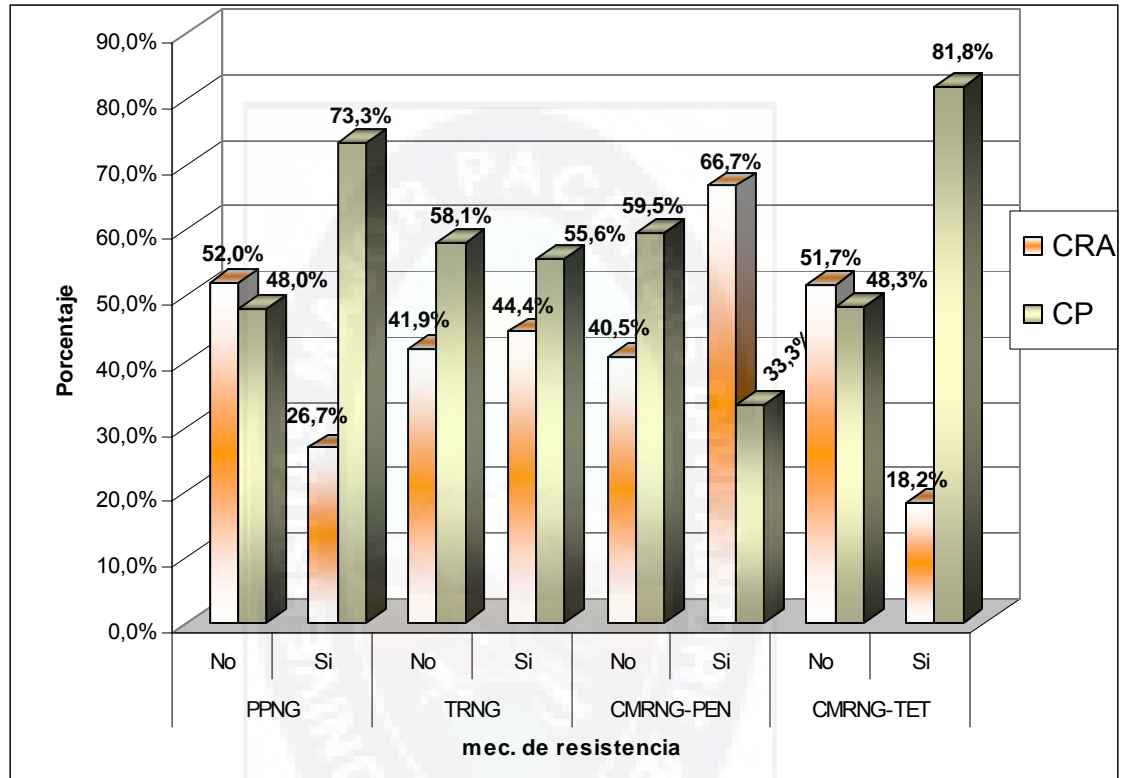
En ambos Centros de Salud existe una misma frecuencia de casos con resistencia a la Tetraciclina mediada por plásmidos, lo contrario ocurre en la resistencia a la Penicilina mediada por plásmidos, que se ve con una mayor frecuencia en el Centro de Salud “Piloto”.

Tabla 28. Comparación entre mecanismos de resistencias mediadas por cromosomas y plásmidos según Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Centros de Salud	CRA	Población	PPNG		TRNG		CMRNG-PEN		CMRNG-TET	
			No	Si	No	Si	No	Si	No	Si
			%	%	%	%	%	%	%	%
Centros de Salud	CRA	Población	13	4	13	4	15	2	15	2
		%	52,0%	26,7%	41,9%	44,4%	40,5%	66,7%	51,7%	18,2%
Centros de Salud	CP	Población	12	11	18	5	22	1	14	9
		%	48,0%	73,3%	58,1%	55,6%	59,5%	33,3%	48,3%	81,8%
Total		Población	25	15	31	9	37	3	29	11
Total		%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica

Figura 23. Comparación de mecanismos de resistencias mediados por cromosomas y plásmidos según Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.



De todas las cepas estudiadas el 45,0% y el 50,0% resultaron resistentes a la penicilina y a la tetraciclina respectivamente y todas fueron susceptibles al resto de los antimicrobianos utilizados (tabla 29). Nueve cepas (45,0%) presentaron resistencia simultánea a la penicilina y a la tetraciclina (multiresistencia).

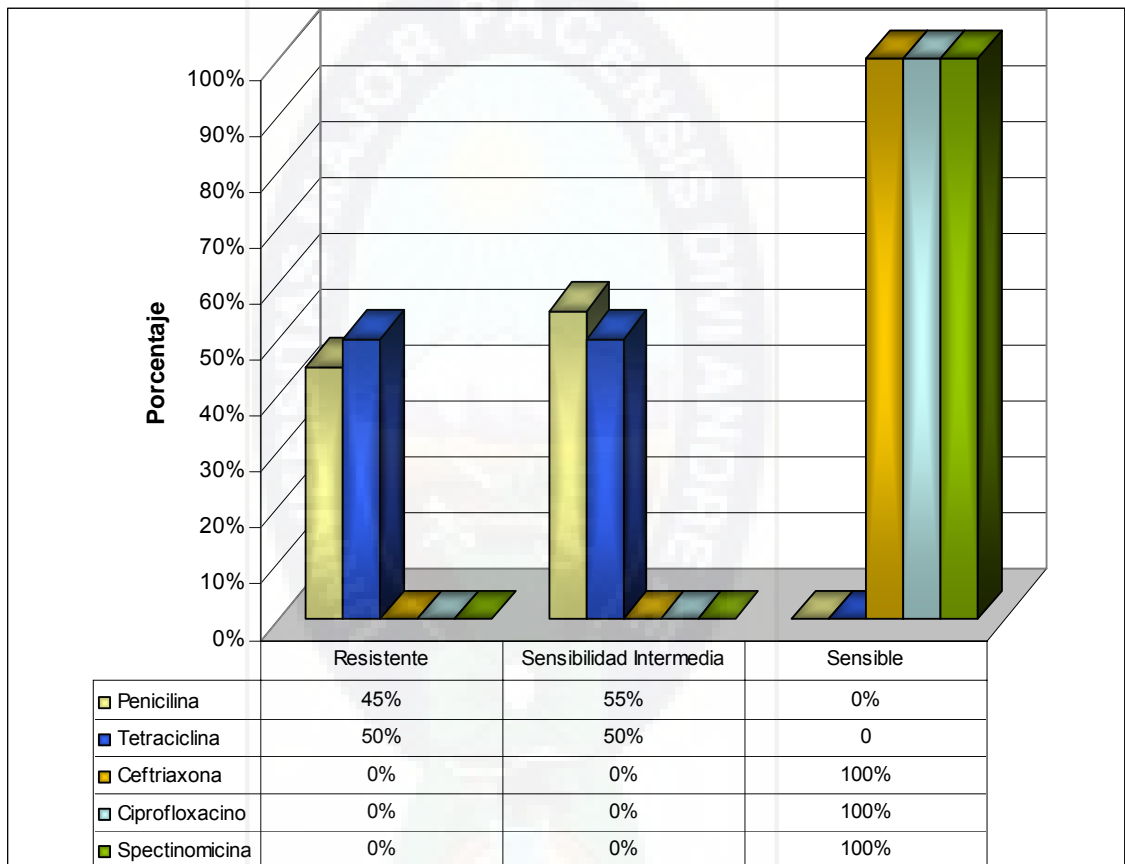
Tabla 29. Susceptibilidad antimicrobiana de 40 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

Antimicrobiano	Susceptibilidad (%)		Susceptibilidad Intermedia (%)		Resistencia (%)	
	n	%	n	%	n	%
Penicilina			22	55	18	45
Tetraciclina			20	50	20	50
Ceftriaxona	40	100				
Ciprofloxacina	40	100				
Espectinomicina	40	100				

Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica

En esta figura se puede observar la distribución en porcentaje de las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* y el comportamiento de esta bacteria frente a cada Antimicrobiano.

Figura 24. Susceptibilidad antimicrobiana de 40 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.



7. DISCUSION

El presente estudio se realizó en los Centros de Salud seleccionados de las ciudades de La Paz el Centro de Salud “Piloto” y el Centro de Referencia Ambulatorio de la ciudad de El Alto, en cada ciudad se vio la prevalencia posible, de mecanismos de resistencias ya sea mediada por cromosomas ó por plásmidos. El mismo que comprende un periodo de un año.

Durante el periodo de estudio (mayo de 2007 a Abril de 2008) se incluyeron un total de 40 pacientes que tuvieron una infección gonocócica y asistieron a los centros de salud seleccionados; 17 (42,5%) fueron del Centro de Referencia Ambulatorio de los cuales 4(23,5%) son hombres y 13 (76,5%) que son mujeres. y 23 (57,5%) del Centro de Salud Piloto, de los cuales 13 (56,5%) son hombres y 10 (43,5%) son mujeres, En este análisis se puede ver una relación estadísticamente significativa.

Por lo general la mayor incidencia de infecciones gonocócicas se presenta en el sexo masculino lo que no coincide con los resultados obtenidos en este estudio, donde el 42,5% de las infecciones se registraron en el sexo masculino, en comparación con el sexo femenino con 57,5% que corresponde a veintitrés mujeres las cuales asistieron al Centros de Salud “Piloto” y al Centro de Referencia Ambulatorio (ver tablas 11, 12 y 13 Figuras 12, 13 y 14).

En un Estudio realizado en la India la mayoría de los pacientes con gonorrea estaba entre los 15 y 30 años de edad (92%), que estaban solteros (72%) y todos afirmaron haber adquirido la infección a través del contacto con una Trabajadora Sexual Comercial, un (98%) eran heterosexuales también reportaron un (20%) de sífilis en los pacientes, mientras que el chancroide y las verrugas venéreas estaban presentes en (4%) en cada paciente.⁵¹ En el presente estudio se determino que los pacientes con gonorrea atendidos en el Centro de Salud “Piloto” estaban entre 18 y 45 años de edad 57,5%, y para los pacientes atendidos en el Centro de Referencia Ambulatorio estaba entre 19 y 59 años de edad 42,5%, (ver tabla14, figura 15 y 16).

El estado civil reporto los siguientes datos, para el Centro de Salud “Piloto” estaban solteros el 52,9% y para el Centro de Referencia Ambulatorio fue de 47,0%, en relación a los casados el Centro de Salud “Piloto”, refiere 50,0% y de igual manera para el Centro de Referencia Ambulatorio con 50,0%, y solo se puede observar un 100% de divorcios en El Centro de Salud “Piloto”, donde no se observa una relación estadísticamente significativa (ver tabla 15).

Otro estudio realizado se observan a pacientes con uretritis o cervicitis gonocócica según su ocupación donde se ve que el 20% de las cepas aisladas correspondían a pacientes cuya ocupación era minero, seguido de los estudiantes con 16%, y el 40% que corresponde a otros tomándose (Ama de casa, vigilantes, comerciantes).⁵²

En este estudio realizado se observo que el 60,9% de las cepas correspondían a pacientes que eran estudiantes, en el Centro de Salud “Piloto”, y 39,1% corresponde al Centro de Referencia Ambulatorio. Siendo que en el Centro de Salud “Piloto” el 17,4% recibe educación secundaria, el 30,4% es bachiller y el 52,2% recibe educación superior, lo cual no sucede en el Centro de Referencia Ambulatorio ya que el 5,9% no recibió ningún tipo de educación, el 29,4% solo curso la primaria, el 41,2% recibe educación secundaria, 5,9% educación superior y el 17,6% es bachiller (ver tabla 15-16 y figura 17).

Entre las Infecciones de Transmisión Sexual en el presente estudio se reportaron los siguientes datos 57.1% de sífilis en los pacientes, mientras que gonorrea, herida genital y sífilis conjuntamente con gonorrea fue del 14.3%, habiendo una mayor frecuencia de infecciones múltiples en el Centro de Salud “Piloto” 71,4% (5) y de 28,6% (2) para el Centro de Referencia Ambulatorio (ver tabla 19, 20 y figura 19).

Según la Organización Médiala de la Salud, la gonorrea en un importante problema en la salud publica en el ámbito mundial. En un estudio realizado por Ávila y cols., el año 1995-1999, se demostró un ascenso significativo en las Infecciones de Transmisión Sexual. Al determinar el tipo de infección mas Frecuente, gonorrea tuvo un mayor porcentaje 20,65% seguido de infecciones no gonocócicas con un 12,34%.

En el presente estudio se determinó que 42,5% de los pacientes que acudieron a consulta presentaron uretritis y 57,5% presentó cervicitis, a todos aquellos que en la tinción Gram se observaron diplococos gramnegativos extra e intracelulares se les realizó el cultivo en los medios de agar chocolate con 1% de IsoVitalex para mejorar el crecimiento en el medio y agar Thayer Martin para muestras contaminadas ya que este medio consta con inhibidores (VCN de la línea BBL) y así poder confirmar el diagnóstico.

Una vez determinada la presencia de este microorganismo en las muestras clínicas analizadas, se investiga la producción de β -lactamasa con el uso del método de la cefalosporina cromogénica (nitrocefina), el cuál se basa en el cambio de coloración cuando la fracción amida del compuesto unido al anillo β -lactámico es hidrolizado por la β -lactamasa.

En Venezuela diferentes investigadores han reportado hallazgos de *Neisseria gonorrhoeae* resistentes a la penicilina, productoras y no productoras de β -lactamasa. Así, en 1989 se realizó la búsqueda en seis pacientes, y se encontró la primera cepa de *Neisseria gonorrhoeae* productora de penicilinas, constituyéndose de esta manera en el primer microorganismo de estas características, aislado en la ciudad de La Paz, mientras que de 593 cepas aisladas entre 1991 y 1994, no se encontró producción de esta enzima. Posteriormente en Venezuela se reporta una importante presencia de este mecanismo de resistencia al encontrarse 77,2% de producción de β -lactamasa en 22 cepas resistentes a la penicilina.

Durante la presente investigación se logro demostrar la producción de β -lactamasa. La resistencia a la penicilina en las cepas aisladas puede ser explicada por un mecanismo mediado por plásmidos, habiéndose encontrado también resistencia a la penicilina mediada por cromosomas, lo cual puede ocasionar modificaciones en las **PBPs**. Al aplicar la prueba de chi cuadrado (χ^2) entre las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de β -lactamasas (**PPNG**) y las no productoras de β -lactamasas, se observó asociación estadísticamente significativa, esto indica que la elevada tasa de resistencia a la penicilina obtenida en este estudio, estuvo determinada únicamente por los

mecanismos de resistencia mediados por las cepas productoras de β -lactamasas (ver tabla 23 y figura 20).

Habiéndose encontrado también otro mecanismo, presente en las cepas no productoras de β -lactamasas, las cuales son llamadas **CMRNG** fueron encontradas en este estudio (ver tabla 24 y figura 20). Desde el punto de vista epidemiológico, la tasa de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de β -lactamasas tiene importancia clínica, debido a que estas cepas pueden diseminarse con facilidad, por medio de transferencia de plásmidos a otras cepas que si son sensibles a la penicilina o a cepas resistentes a otros antimicrobianos y por ende crear cepas multiresistentes que pueden distribuirse ampliamente por el país.

La frecuencia de resistencia a la penicilina encontrada en este estudio fue de 45,0% (ver tabla 29) coincidiendo con lo reportado por investigaciones realizadas en Maracaibo donde encontraron 31,25% y 44% de resistencia a la penicilina²¹, cifras superiores a lo reportado en Sao Paulo, Brasil, donde se encontró 23% de resistencia a la penicilina entre 65 aislamientos.

Por otra parte, las tetraciclinas al igual que las penicilinas, por largo tiempo constituyeron opciones terapéuticas de primera elección, hoy en día no del todo efectivas por la adquisición de resistencia a estos antimicrobianos por parte del gonococo.

La mayoría de los autores reportan resistencia a la tetraciclina, encontrándose variaciones entre las distintas regiones; en Brasil se han reportado cifras de resistencia que oscilan entre el 2% y 40%, mientras que en Cuba se han encontrado hasta 60% de resistencia. En Venezuela, la resistencia a la tetraciclina oscila entre 48% y 63%, siendo estas cifras más elevadas que las encontradas en el presente estudio.

Los resultados obtenidos en la presente investigación revelan 45% (9) de resistencia a la tetraciclina mediada por plásmidos (ver tabla 25) y en 45% de las cepas aisladas presentaron resistencia tanto a la penicilina como a la tetraciclina, la resistencia

simultanea a estos antimicrobianos es alarmante en algunos países como es Cuba donde se encontraron 59,3% de resistencia.

La frecuencia de la resistencia a la tetraciclina hallada en nuestro estudio es superior al reportado en Chile que es de 45.7%, y Nueva Delhi (India).⁵¹

En este estudio se encontraron 55% cepas con resistencia a la tetraciclina mediada por cromosomas **CMRNG** (ver tabla 26). En este estudio se realizo una comparación entre tipos de resistencia mediadas por cromosomas o plásmidos y los que no presentaban ningún tipo de mecanismo de resistencia pero tenían sensibilidad disminuida a los antimicrobianos de penicilina y tetraciclina, el 83,3% presentaba una resistencia a la penicilina mediada por plásmidos (**PPNG**), el 16,7% mostraba una resistencia a la penicilina mediada por cromosomas (**CMRNG**). Para la tetraciclina el 45% tenía una resistencia mediada por plásmidos (**TRNG**) y el otro 55% una resistencia mediada por cromosomas, un 100% (22) presentaba sensibilidad disminuida a la penicilina, y por ultimo 100% (20) tenía una sensibilidad disminuida a la tetraciclina (ver tablas 27 y figura 22). La distribución de estos mecanismos de resistencia por Centros de Salud se puede observar en la (tabla 28 y figura 23).

La ceftriaxona demostró durante la presente investigación una excelente actividad contra el gonococo con una sensibilidad del 100%. El CDC, en 1985 incluyo a la ceftriaxona como alternativa en el tratamiento de la gonorrea no complicada, posteriormente la eleva a un régimen de primera elección, pero en algunos sitios de EEUU, África y Asia se han detectado cepas de *Neisseria gonorrhoeae* con susceptibilidad disminuida a la ceftriaxona, asociado en cierto grado con resistencia cromosomita de bajo nivel a la penicilina.¹⁹

En Venezuela la ceftriaxona es poco utilizada porque no hay en el mercado presentaciones que contengan solo 125 ó 250mg. (ver tabla 5 y 6), que son dosis recomendadas para el tratamiento de la gonorrea y las presentaciones que existen tienen un elevado costo, por ese motivo en ese país la penicilina es el clásico medicamento usado para el tratamiento de la gonorrea, siendo que no es un tratamiento eficaz contra la infección.

En la presente investigación la ciprofloxacina y la espectinomisina demostraron buena actividad contra este microorganismo con un 100% de sensibilidad (ver tabla 29 y figura 24).

De las 40 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* se pudo observar que el 45% presenta resistencia a 2 antimicrobianos. Como ocurre en la mayoría de las ITS los grupos de población más afectados corresponden a: TSC, estudiantes, trabajadores.

En relación a la población mas afectada, los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que corresponde a los pacientes que se desempeñan como estudiantes 57,5% (23) seguido de trabajos varios con 30% (12), este hecho se debe a un incremento en la promiscuidad sexual.

En base a los resultados obtenidos en este estudio se puede aseverar que la penicilina no puede seguir utilizándose como droga de primera línea en este tipo de infecciones debido a los altos niveles de resistencia encontrados, por esta razón que el CDC incluyo a la ceftriaxona como terapia de primera elección en el tratamiento de las infecciones gonocócicas en los Estaos Unidos. Sin embargo es necesario resaltar que *Neisseria gonorrhoeae* puede generar o adquirir, en el transcurso del tiempo, diferentes formas de resistencia antimicrobiana, que nos llevaría a la necesidad de introducir modificaciones en los esquemas terapéuticos (ver tablas 4, 5, 6, 7, 8, 9) sobre todo en aquellos pacientes automedicados, utilizándose en ellos esquemas de dosis únicas de cefalosporinas (ceftriaxona) o fluoroquinolonas (ciprofloxacina). En relación al uso de las tetraciclinas que durante buen tiempo constituyo una buena opción terapéutica, hoy en día no es efectiva, debido a que el gonococo se ha hecho resistente a la acción de este antibiótico.

El número de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* evaluadas en el presente estudio, no refleja la prevalencia de infecciones gonocócicas ni de la resistencia antimicrobiana del gonococo por departamento debido a la representatividad de la muestra y a los sesgos de selección, pero al menos nos da una pauta aproximada de la susceptibilidad antimicrobiana del gonococo.

La emergencia de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* resistentes y multiresistentes a los antimicrobianos, motivan a realizar un seguimiento permanente de la resistencia antimicrobiana del gonococo para poder recomendar el uso adecuado de los antibióticos para el tratamiento de la infección gonocócica; por ello el comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), recomienda que el régimen de tratamiento debe ser cambiado cuando la resistencia a un determinado antibiótico alcance el 5%, por tanto el tratamiento con penicilina y tetraciclina en la actualidad no se lo utilice más.



8. CONCLUSIONES

1. En la identificación de *Neisseria gonorrhoeae* se realizó mediante diferentes pruebas en la cual la prueba de la oxidasa demostró la presencia de la enzima citocromo oxidasa, en la prueba de superoxol se utilizó peróxido de hidrógeno al 30% ya que esta bacteria produce muy poca cantidad de enzima catalasa y se necesita una concentración mayor de peróxido de hidrógeno para hacer evidente la producción de esta enzima., La prueba de gonochek-II que tiene una sensibilidad del 99% y una especificidad de 86,6% para la Bacteria que se estudio.
2. La frecuencia de resistencia en *Neisseria gonorrhoeae* frente a la edad de 18 a 28 es de 66,7% (12) y de 29 a 59 años reporta un 33,3% (6) de resistencia a la penicilina y en los mismos intervalos para la tetraciclina una resistencia de 65% (13) y de 35% (7) respectivamente, los que tienen una mayor resistencia son los de estudios superior con un 50% (9) y 35% (7), para dichos antimicrobianos. El mayor porcentaje de muestras esta en la ciudad de La Paz con 65%, siendo los estudiantes los que tiene mayor resistencia.
3. La frecuencia de resistencia a la penicilina fue de 18 cepas, para la tetraciclina fueron 20 cepas con resistencia y el total de las cepas fueron 40 en este estudio, y se las confronto frente a ceftriaxona, ciprofloxacina y espectinomicina y presentaron una alta actividad antimicrobiana frente a cepas de *Neisseria gonorrhoeae*.
4. En el Centro de Salud “Piloto” mayor porcentaje de resistencia a la penicilina con un 66,7% y para el Centro de Referencia Ambulatorio un 33,3%, con respecto a la resistencia a la tetraciclina un 70% se encuentra en el Centro de Salud “Piloto” y el 30% en el Centro de Referencia Ambulatorio.
5. Los mecanismos de resistencia que mas se encontró en este estudio fue el de resistencia a la penicilina mediada por plásmidos con 83,3%, otro mecanismo encontrado para la resistencia a penicilina fue la resistencia mediada por

cromosomas con 16,7%. Para la tetraciclina se observaron los dos tipos de mecanismos en diferente proporción 45% estaba mediado por plasmidos, y el 55% mediado por cromosoma existe una alta proporción de infecciones gonocócicas causadas por cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de β -lactamasas.



BIBLIOGRAFIA:

1. BARBOZA, G.; VALBUENA, A.; VASQUEZ, D.; LUGO, L.; Incidencias de *Neisseria gonorrhoeae* productora de β -lactamasa. *Antibióticos e Infección* 1996; 4: 31-36.
2. GARZA VELASCO, R.; GÓMEZ PEREZ, I.; La Gonorrea: Aspectos Bioquímicos Inherentes al Agente Causal y algunos otros Factores que sustentan la actual Pandemia Mundial. Departamento de Biología, Facultad de Química UNAM, 2005.
3. SOSA, Jorge. Estudio de la resistencia a los Antimicrobianos y Caracterización Molecular en Cepas de *Neisseria gonorrhoeae* Aisladas en Cuba. *Tesis de Grado*, 2002.
4. SAN JUAN, M.; GONZALEZ, C.; PÉREZ, R. Agentes vivos de las Enfermedades Infecciosas más Prevalentes en Chile. *Tecnología Médica*, 2006.
5. GARCIA RODRIGUEZ J.A. Microbiología Médica general. tomo I ed. Española año 1996. Mosby/Doyma.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for treatment of sexually transmitted diseases, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1998; 47(1): 2, 53-70.
7. PORTILLA, J. Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* Procesadas en el Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú. 1998 – 1999. 2003, vol. 20, no. 4.

8. OTERO, L.; VILLAR, H.; VASQUEZ, J. A.; VASQUEZ, F. Quinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*: A new public health problem in Spain. 2002, vol. 20, no. 3, pag. 123 – 1.
9. MORSE S. A. Epidemiología de la gonorrea en Estados Unidos de Norteamérica. *Diagn Ter Infect* 1990; 10:167-168.
10. IBARRA, A.; SARO, G.; CABERO, M.; CARRERA, C. y GARCÍA, J. Actualización terapéutica de las Enfermedades de Transmisión Sexual. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 1997; 15: 431-436.
11. KONEMAN, Elmer. *Diagnostico Microbiológico*. ED Panamericana, 5ed, Madrid España. 2001.
12. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment guidelines. *M.M.W.R. Morbid. Mortal. Weekly Rep.* 1998; 42 (RR-1).
13. LLORENTE, C.; SOSA, J.; LLANES, R.; PÉREZ, J.; HERNANDEZ, J. Susceptibilidad antimicrobiana y perfil plasmídico en cepas de *Neisseria gonorrhoeae* aisladas en Cuba. *Bioquímica* vol. 27, no. 3, 69-74, 2002
14. JOKLIK W, WILLET H, AMOS B. *Zinsser Microbiología*. 18 ed. México: Editorial Médica Panamericana; 1991.
15. MADIGAN MT, MARTINKO JM, PARKER J. *Brock Biología de los Microorganismos*. 8 ed. Madrid: Prentice Hall Iberia; 1997.
16. GARCÍA, EN.; MONDRAGÓN, V. A.; CONDE, C. J. *Salud Publica de México*, 1992, vol, 34, no. 3.
17. LANZ, J.; De FREITAS, H.; BETANCOURT, J.; NUÑEZ, N.; VELASQUEZ, W. Antimicrobial Susceptibility and b-lactamase Production in Strains of

Neisseria gonorrhoeae Isolated in Patients from the University Hospital “Dr. Manuel Núñez Tovar”, Monagas State-Venezuela. *Kasmera*, Enero - junio 2004, vol. 32, no. 1.

18. MORALES BRAVO, D.; GALLEGOS, B.; LUENGO, H.; GALÚE, M.; VARGAS, J. Resistencia antimicrobiana y producción de β -lactamasa de *Neisseria gonorrhoeae*. Diciembre 2002, vol. 30, no. 2.
19. TRIGOSO, C.; ARMAZA, F. *Neisseria gonorrhoeae*; Productora de penicilinas, primera cepa aislada en La Paz (Bolivia), Cuadernos Hospital de Clínicas órgano oficial de la Facultad de Medicina, Vol. 39, no. 1, 1993, pag. 7 – 9.
20. MOLLINEDO, E.; ROCHA, R.; ARMAZA, F.; ESTENSORO, M.; MAYDANA, R. Efectividad Terapéutica de la Ciprofloxacina en monodosis (VO) para la cura clínica y Bacteriológica de la Uretritis Gonocócica en pacientes varones. Cuadernos Hospital de Clínicas órgano oficial de la Facultad de Medicina, Vol. 40, no. 2, 1994, pp. 14 – 17.
21. ESTENSSORO, M.; ARMAZA, F.; VEGA, J.; GARNICA, M.; LEWIS, J.; LEVINE, W. Las Infecciones de *Neisseria gonorrhoeae* en Trabajadoras Sexuales Comerciales (TSC) de La Pas, Bolivia: Resistencia a Antibióticos. INLASA y Proyecto de Salud Infantil y Comunitaria, MPSSP, USAID. La Paz, Bolivia y los Centros Nacionales de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), Atlanta, E.U.
22. CONDE GONZÁLEZ C.J. Gonorrea: La Perspectiva clásica y la actual. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 1994.
23. CHUE P. Gonorrea - its natural history, oral manifestations, diagnosis, treatment and prevention. *JADA* 1975; 90: 1.297-301.

24. MADIGAN MT, MARTINKO JM, PARKER J. Brock Biología de los Microorganismos. 8 ed. Madrid: Prentice Hall Iberia; 1997.
25. MURRAY, P.R.; KOBAYASHI, G.S.; PFALLER, M.A.; ROSENTHAL K.S. Microbiología Médica. 2ª. ed. Harcourt Brace de España. 1997; 215-226.
26. KONEMAN, E. Diagnostico Microbiológico. Ed. Panamericana. 6ª ed. Bs. Aires Argentina. 2008.
27. QUENTIN, N.; MYRVIK Ph.D. y Colaboradores. Bacteriología y Micología medica. 2ª ed. México: Editorial panamericana pag. 268 – 271.
28. SOSA, J.; TOLEDO, H.; LLOP, A. Estudio de la resistencia a los Antimicrobianos y Caracterización Molecular de *Neisseria gonorrhoeae* Aisladas en Cuba. 2002, pag. 14 – 15.
29. BROOKS, G.; BUTEL, J.; MORSE, S. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 16 ed. México: Editorial El Manual Moderno; 1999.
30. PARDI, G.; PEREZ, M. F.; PACHECO, A.; MATA de HENNING, M. Algunas Consideraciones sobre *Neisseria gonorrhoeae*. Acta Odontológica Venezolana, vol. 42, no. 2, 2004.
31. BASUALDO, J. A.; COTO, C. E.; De TORRES, R. Microbiología Biomédica. 1996, pag. 256.
32. ORMAN, Betina. La resistencia bacteriana y sus mecanismos de dispersión. Revista de la Facultad de Odontología (UBA), Año 2006, vol. 21, nº 50/51.
33. GARSA, R.; GOMEZ, I. La gonorrea: Aspectos Bioquímicos Inherentes al agente causal y algunos otros Factores que sustentan la actual Pandemia Mundial. Educación química, vol. 14, no. 3, 2003, pag. 126 – 131.

34. PEREA, E. J. Microbiología Clínica, “Enfermedades de Transmisión Sexual”. Ed. Doyma, Barcelona 1993. pag. 269 – 271.
35. THOMPSON, L. Tratamiento de la gonorrea en adolescentes y adultos. Unidad de Infectología y Medicina el Viajero, Clínica Santa Maria, Santiago de Chile. Revista Chilena, vol. 17, no. 2, 2000, pag. 158 – 160.
36. EYMIN, G.; FICH, F. Enfermedades de Transmisión Sexual. Julio 2003
37. DAZA, R. M. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Hospital Universitario Clínica Puerta de Hierro. Madrid, vol. 22, no. 3-1998.
38. FERNANDEZ, F.; LOPEZ, J.; PONCE, L. M.; MACHADO, C. Resistencia Bacteriana. Hospital Militar Central “Dr. Luís Díaz Soto”. Revista Cubana Medicina Militar, vol. 32, no. 1-2003, pag. 44 – 48.
39. SUSMANN, O. A.; MATTOS, L.; RESTROPO, A. Resistencia Bacteriana. Universidad de Medicina. Bogotá Colombia, vol. 43, no. 1-2002.
40. AVELLANEDA, J. M.; PECHO, E. Estudio de la resistencia a los antibacterianos en el Centro Médico Naval de enero a diciembre del 2000. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tesis de grado.
41. DOUGHERTY, T.J. Involvement of a Change in Penicillin Target and Peptidoglycan Structure in Low-Level Resistance to β -Lactam Antibiotics in *Neisseria gonorrhoeae*. Vol. 28, No. 1, July 1985, p. 90-95.
42. ISON, C. A. Antimicrobial agents and gonorrhoeae: therapeutic choice, resistance and susceptibility testing. 1996; 72:253-257.

43. ISON, C. A.; WOODFORD, P. J.; MADDERS, H.; CLAYDON, E. Drift in Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to Ciprofloxacin and Emergence of Therapeutic Failure. Vol. 42, No. 11, Nov. 1998, p. 2919–2922.
44. TAPSALL, J. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.3
45. RICE, R. J.; BIDDLE, J. W.; JEANLOUIS, Y. A.; DEWITT, W. E.; BLOUNT, J. H.; MORSE, S. A. Chromosomally mediated resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the United States: results of surveillance and reporting, 1983-1984. 1986, vol. 153, n^o2, pp. 340-345
46. GILL, M. J.; SIMJEE, V.; AL-HATTAWI, K.; ROBERTSON, B. D.; EASMON, C. S. F.; ISON, C. A. Gonococcal Resistance to β -Lactams and Tetracycline Involves Mutation in Loop 3 of the Porin Encoded at the *penB* Locus. Vol. 42, No. 11, Nov. 1998, p. 2799–2803.
47. MANESS, M. J.; FOSTER, G. C.; SPARLING, P. F. Ribosomal Resistance to Streptomycin and Spectinomycin in *Neisseria gonorrhoeae*. vol. 120, No. 3, 1974, p. 1293-1299.
48. VENTRIGLIA, M. V.; VIVES, E. A.; MEDVEDOVSKY, D.; ROTHLIN, R. Farmacología II. Quinolonas.2003.
49. KARK, S. Epidemiology and community medicine. Nueva York. Appleton-Century-Crofts 1975; 19-21.
50. KLEIMBAUM, D.; KUPPER, I. Morgenstern H. Epidemiologic Research. Belmont: Lifetime Learning Publications 1982.

51. BHALLA, P.; SETHI, K.; REDDY, B. S. N.; MATHUR, M. D. Antimicrobial susceptibility and plasmid profile of *Neisseria gonorrhoeae* in India (New Delhi). 1998; 74: 210-212.
52. SANDOVAL, M.; GUEVARA, A.; WARD, L.; RAMOS, R.; SUAREZ, Y.; MARLLY, S. Susceptibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* a los antibióticos β -lactámicos, tetraciclina y quinolonas. vol. 35, no. 2: 118-126, 2007.



Anexo N° 1

AGAR BASE GC CON SUPLEMENTO

Hojas # 1 de 3

Este medio de cultivo se emplea como medio basal para la preparación del medio Thayer Martin modificado y como agar chocolate con o sin enriquecimiento para la recuperación de *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* y otros microorganismos exigentes en sus requerimientos.

Formula	g/L
Pluripeptona	15.0
Almidón soluble	1.0
Fosfato dipotásico	4.0
Fosfato monopotásico	1.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	15.0
pH 7.2 ± 0.2	

Preparación

Suspender 38 gramos de agar base GC en 1 litro de agua destilada estéril, hervir tres veces hasta la disolución completa, esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos y 1.5 libras de presión.

Enfriar hasta 50°C, añadir 1% de Isovitalex

Suplemento IsoVitalex

Cada vial (para 1000 mL de medio)

Vitamina B₁₂

por litro

0,01g

AGAR BASE GC CON SUPLEMENTO

Hojas # 2 de 3

L-glutamina	10,0g
Adenina	1,0g
Hidrocloruro de guanina	0,03g
Acido p-aminobenzoico	0,013g
Nicotinamida adenina dinucleótido	0,25g
Pirofosfato de tiamina	0,1g
Nitrato férrico	0,02g
Clorhidrato de tiamina	0,003g
Clorhidrato de L-cisteína	25,9g
L-cistina	1,1g
Dextrosa	100,0g

Descripción

El enriquecimiento IsoVitalex es un suplemento definido químicamente que ha sido desarrollado específicamente para ayudar al crecimiento de gonococos, a pesar de que posee amplias aplicaciones para otros microorganismos.

Almacenamiento del medio

El medio deshidratado puede almacenarse de 10 – 30°C hasta antes de la fecha de vencimiento.

El medio preparado debe almacenarse de 2 – 8°C, por un periodo máximo de tres semanas.

Control de calidad*Neisseria gonorrhoeae*

ATCC 49226

Anexo Nº 2

AGAR THAYER MARTIN

Hojas # 1 de 2

Fundamento

El medio de Thayer Martin es un medio selectivo que contiene antibióticos (VCN) los cuales van a inhibir el desarrollo de otros microorganismos como cocos Gram positivos, bacilos Gram negativos y hongos. Con lo cual solo desarrollan los diplococos Gram negativos del tipo *Neisseria*.

Material

Placa de agar Thayer Martin

Estufa de CO₂ a 35°C

Hisopo

Asa bacteriológica

Procedimiento

Tomar la muestra con hisopo, sembrar en la placa en forma de “Z”, haciendo girar el hisopo, estriar con ayuda de un asa bacteriológica.

Incubar en microaerofilia y observar a las 24 a 48 horas.

Lectura

Observar desarrollo de las colonias a las 24 a 48 horas.

Interpretación

La presencia de colonias como gotas de rocío.

Control de calidad

Neisseria gonorrhoeae

ATCC 49226

Anexo N° 3

INCUBACION

Hojas # 1 de 1



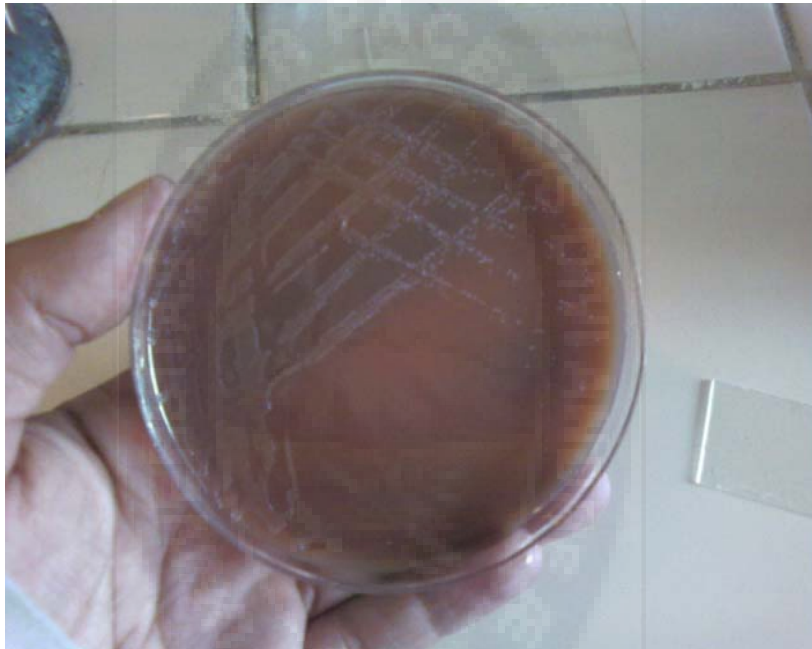
Se incuba en la estufa de la Unidad de Investigación del Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica INLASA.

La microaerofilia (5 – 10% de CO₂) se logra introduciendo una vela en la jarra y la humedad mediante un pequeño frasco con agua

Anexo Nº 4

OBSERVACION MACROSCOPICA DE LAS COLONIAS
DE *Neisseria gonorrhoeae*

Hojas # 1 de 1



Colonias de un cultivo puro de *Neisseria gonorrhoeae*

Características

Las colonias son convexas, brillantes, prominentes, mucoides, semejan a gotas de rocío, desarrollan de 18 a 24 horas después del aislamiento primario.

Anexo Nº 5

TINCIÓN GRAM

Hojas # 1 de 2

Fundamento

En las bacterias Gram positivas (ácidos teicoicos y magnesio) el cristal violeta se fija a la pared celular y con la acción del lugol (mordiente) se produce el cristal violeta-yodo, el cual es resistente a la decoloración con alcohol acetona.

El decolorante en las bacterias Gram negativas actúa como un solvente de los lípidos presentes en los poros de la pared que aumentan de tamaño liberando en complejo cristal violeta-yodo, tomando la bacteria el colorante de contraste (safranina).

Materiales

- Bacteria para tinción Gram
- Cristal violeta
- Lugol
- Alcohol-Acetona
- Safranina
- Solución fisiológica estéril

Controles:

Staphylococcus aureus

ATCC 25923

Escherichia coli

ATCC 25922

Procedimiento

Suspender las colonias en una gota de solución fisiológica, en un porta objetos

Dejar secar al medio ambiente

Fijar a la llama del mechero (pasar tres veces por la llama soportando la temperatura en el dorso de la mano)

Cubrir el porta con cristal violeta por 1min

Lavar con agua

Cubrir con lugol por 1 min

Lavar con agua

Cubrir con alcohol-acetona por 1 min

Lavar con agua

Cubrir con safranina por 1 min

Lavar con agua y dejar secar

Lectura

Realizar la lectura en microscopio con aceite de inmersión (objetivo de inmersión).

Interpretación

Staphylococcus aureus da una coloración violeta

Gram positivo

Echerichia coli de una coloración rosada

Gram negativo

Neisseria gonorrhoeae

Diplococos Gram negativos, con los lados adyacentes arriñonados

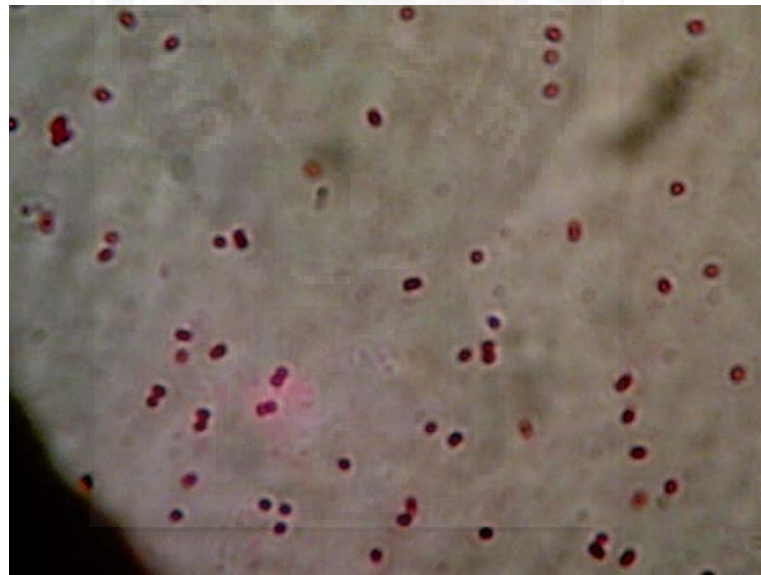
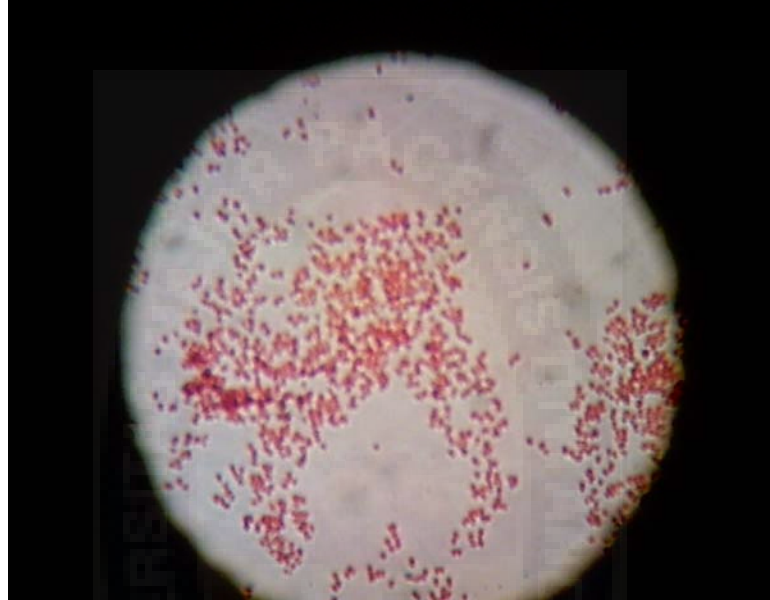
Bibliografía

1. Mins, Playfair, Roitt, Wakelin, Williams; **Microbiología Médica**; editorial Diorki, servicios Integrales de Edición. General Moscardó, 30 Madrid – España; 1995.
2. David H. Martin; **Clínicas médicas de Norteamérica “Enfermedades de Transmisión Sexual”**; nueva editorial internacional S.A. de C.V.; colonia Atrampa, 06450, México, D.F; 1991.
3. Deanna Grimes; **Enfermedades Infecciosas**; Mosby, división de Times Mirror de España, S.A.; 1994.

Anexo N° 6

OBSERVACION MICROSCOPICA DE LAS COLONIAS
DE *Neisseria gonorrhoeae*

Hojas # 1 de 1



Tinción Gram de *Neisseria gonorrhoeae*

Características

Son diplococos Gram negativos en forma de riñón.

Anexo Nº 7

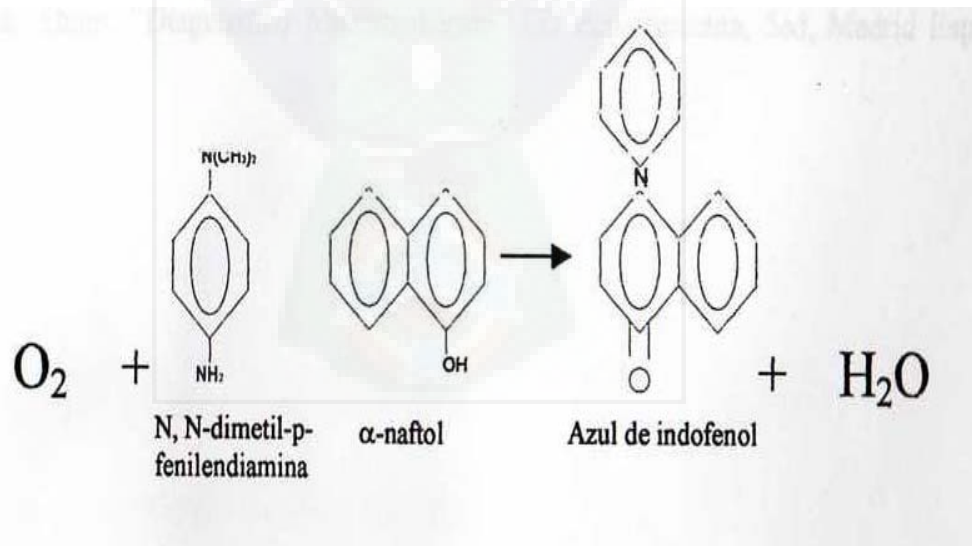
PRUEBA DE LA CITOCROMO OXIDASA

Hojas # 1 de 2

Fundamento

Los citocromos son proteínas que forman parte de algunas cadenas transportadoras de electrones (hidrogeno) al oxígeno con la formación de agua, propias del metabolismo respirador. El sistema citocromo se encuentra en microorganismos aerobios, microaerofilicos y anaerobios facultativos, de tal forma que la prueba de la oxidasa es importante para identificar microorganismos que carecen de la enzima o son anaerobios estrictos. La prueba tiene su utilidad para diferenciar colonias sospechosas de pertenecer a alguna de las *Enterobacteriaceae* (todas negativas) y para identificar las colonias sospechosas de pertenecer a otros géneros como: *Neisserias*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Campylobacter*, *Helicobacter* y *Pasteurela* que son positivas.

La prueba de citocromo oxidasa utiliza ciertos colorantes como el que sustituye al oxígeno como aceptor artificial de electrones. En estado reducido el colorante es incoloro; sin embargo, en presencia de citocromo oxidasa y oxígeno atmosférico la p-fenilendiamina se oxida y forma azul de indofenol.



Materiales

1. Disco de Oxidasa (Difco).
2. Colonias bacterianas
3. Aplicador de madera o plástico

Control de calidad

Control positivo: *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853

Control negativo: *Escherichia coli* ATCC 25922

Procedimiento

Realizar la prueba a partir de un cultivo de 18 a 24 horas, de un medio que no contenga azúcares.

- Humedecer el disco con agua destilada estéril.
- Colocar la colonia sobre el disco con aplicador de madera o plástico

Lectura

Observar el cambio de color a los pocos segundos

Interpretación

El desarrollo de un color morado a púrpura indica una reacción positiva.

La ausencia de color indica una reacción negativa.

Neisseria gonorrhoeae

Da una prueba positiva a la oxidasa, por lo tanto se observa una presencia de color violeta a los pocos segundos.

Bibliografía

1. Marisol Albarracín López; **Manual de Bacteriología de Infecciones de Transmisión Sexual**, Editorial Offset Boliviana Ltda. “EDOBOL”, La Paz – Bolivia; 2001.
2. Mac Faddin; **Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica**, Editorial Médica Panamericana, México, D.F: 1990.
3. Konemen Elmer; **“Diagnostico Microbiológico”** ED Panamericana, 5ed, Madrid España. 2001.

Fundamento

La catalasa es una enzima producida por *Neisseria gonorrhoeae*, desdobra el peroxido de hidrogeno (H_2O_2) en agua y oxigeno (H_2O y O_2). Es una proteína de estructura similar a la hemoglobina, excepto por que los cuatro átomos de hierro de su molécula están en estado oxidado (Fe^{+3}), en lugar del estado reducido (Fe^{+2}). Excepto los estreptococos la mayor parte de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas poseen actividad catalasa.

El peroxido de hidrogeno se forma como uno de los productos finales de oxidación del metabolismo aerobio de los hidratos de carbono. Si se permite que se acumule, resulta letal para las células bacterianas. La catalasa convierte el peroxido de hidrogeno en agua y oxigeno según la siguiente reacción:



Material

1. Peroxido de hidrogeno al 30% almacenado en botella de color ámbar
2. Cultivo de 18 a 24 horas de *Neisseria gonorrhoeae* a probar

Control de calidad

Control Positivo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Control Negativo: *Escherichia coli* ATCC 25922

Procedimiento

Con una ansa de platino, recoger colonias del cultivo puro del microorganismo en estudio sobre la superficie de un porta objetos. Agregar una gota de peroxido de hidrogeno.

Lectura

Observar la producción abundante de burbujas

Interpretación

La aparición rápida y sostenida de burbujas o efervescencia constituye una reacción positiva, debido a que algunas bacterias poseen enzimas distintas de la catalasa que pueden descomponer el peróxido de hidrógeno.

La formación de pequeñas burbujas después de 20 a 30 segundos no se considera un resultado positivo. Se debe tener mucho cuidado cuando se trabaja con medios de cultivo que poseen sangre.

Bibliografía

1. Konemen Elmer; “**Diagnostico Microbiológico**” ED Panamericana, 5ed, Madrid España. 2001.

Anexo Nº 9

FERMENTACION DE AZUCARES

Hojas # 1 de 2

Fundamento

Determinar la capacidad del microorganismo de fermentar (degradar) un hidrato de carbono específico incorporado a un medio básico, produciendo ácido o ácido con gas visible. Este medio tiene como indicador el rojo fenol, el cual es rojo en pH alcalino y amarillo cuando el pH es menor a 6.8.

Material

Tubos con azúcares (soluciones al 1%)

- Glucosa
- Lactosa
- Maltosa
- Sacarosa

Tubos de solución fisiológica

Aguja Bacteriológica

Pipetas Pasteur

Tubo con base CTA

Cultivo puro de 18 a 24 horas de incubación en agar chocolate

Control:

Neisseria gonorrhoeae

ATCC 49226

Procedimiento

Realizar una suspensión de las colonias

Sembrar con una pipeta Pasteur entre 3 a 5 gotas en cada tubo que contenga cada uno de los azúcares

Con la ayuda de una aguja bacteriológica perforar el medio para que se introduzca la suspensión

Incubar a 35°C durante 24 horas

Lectura

Observar el cambio de color

Interpretación

La presencia de un color amarillo indica una fermentación positiva

La presencia de un color rojo indica que no hubo una fermentación y es negativo.

Neisseria gonorrhoeae

Glucosa	+
Lactosa	-
Maltosa	-
Sacarosa	-

Bibliografía

1. Marisol Albarracín López; **Manual de Bacteriología de Infecciones de Transmisión Sexual**, Editorial Offset Boliviana Ltda. “EDOBOL”, La Paz – Bolivia; 2001.

Anexo Nº 10

GONOCHEK-II

Hojas # 1 de 3

Fundamento

Cada uno de los tres sustratos cromogénicos contenidos en los tubos reactivos Gonocheck-II, produce un color distintivo en la hidrólisis. La hidrólisis del 5-bromo-4-cloro-3-indol- β -galactósido o la beta -galactosidasa , produce un color azul, lo cual significa un presuntivo resultado positivo para *Neisseria lactamica*. El sustrato gamma-glutamil-aminopeptidasa para hidrólisis, da un color amarillo, el cual es un resultado positivo para *Neisseria meningitidis*. La hidrólisis de la L-prolil-4-metoxinaftilamida por la prolilaminopeptidasa, libera un derivado, la beta-naftilamida, el cual forma un complejo con el tinte diazo (desarrollador del color), presente en la tapa roja de tubo reactivo Gonocheck-II, para producir un color rosado/rojo, el cual es un presuntivo resultado positivo para *Neisseria gonorrhoeae*.

Material

Solución fisiológica

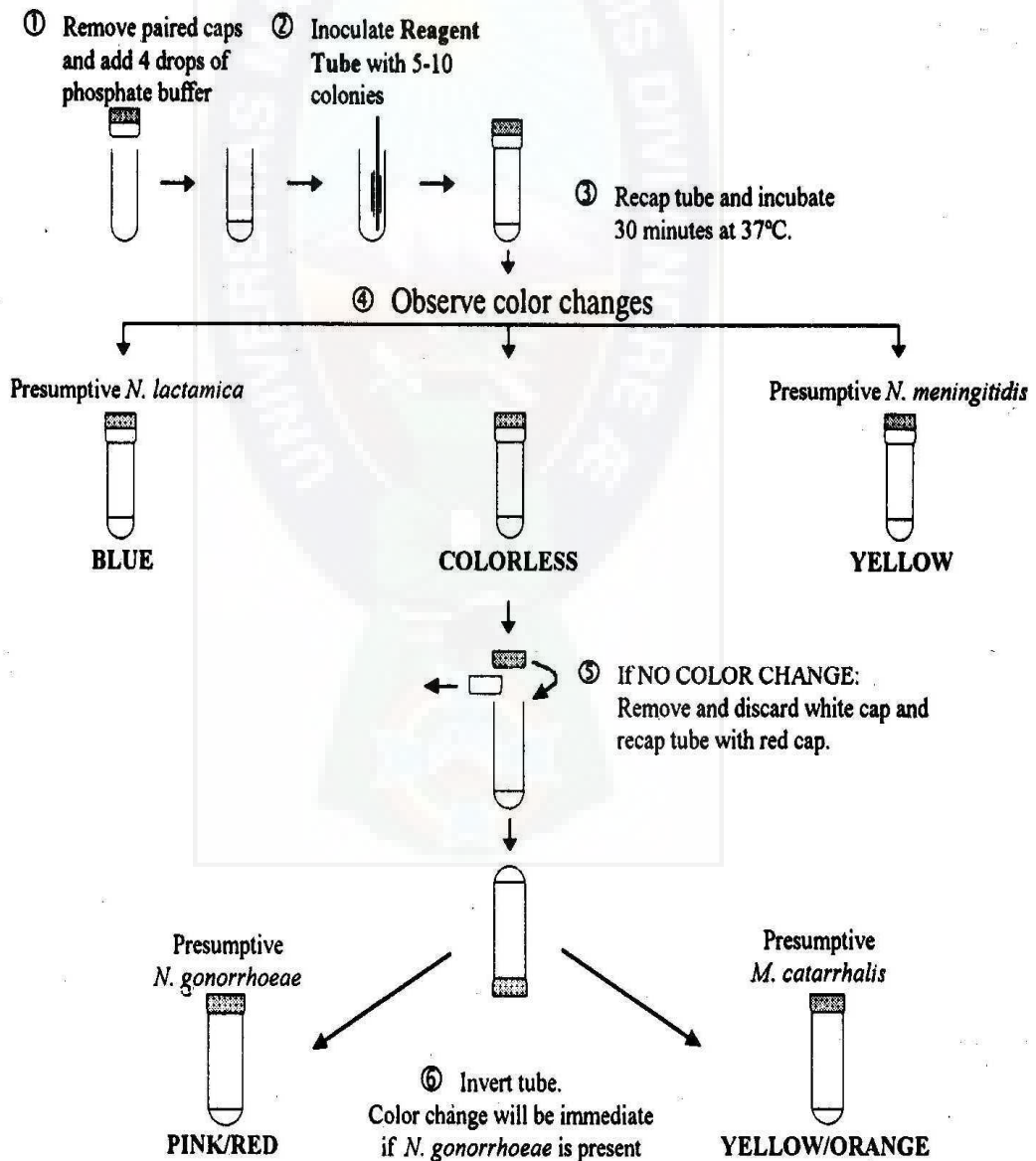
Cultivo bacteriano de 18 a 24 horas

Ansa bacteriológica

Pipetas Pasteur

Tubos reactivos Gonocheck-II



Control de calidad*Neisseria gonorrhoeae* ATCC 19424*Neisseria meningitidis* ATCC 13077*Neisseria lactamica* ATCC 23970**Procedimiento**

Lectura

Observar el cambio de color

Interpretación

El cambio de coloración en el tubo a azul indica presuntivo resultado positivo para *N. lactamica*. Un color amarillo indica un presuntivo resultado positivo para *N. meningitidis*. La formación de un color rosado/rojo indica un presuntivo resultado positivo para *N. gonorrhoeae*.

Bibliografía

1. KONEMAN, E. Diagnostico Microbiológico. Ed. Panamericana. 6^{ta} ed. Bs. Aires Argentina. 2008.

Anexo Nº 11

PRUEBA DE LA BETA-LACTAMASA

Hojas # 1 de 2

Fundamento

Los antibióticos beta lactámicos actúan sobre la pared bacteriana como agente bacteriostático y luego bactericida.

Este efecto antimicrobiano se ve limitado por algunos microorganismos que producen beta-lactamasa entre los cuales tenemos al *H. influenzae*, estas enzimas rompen el anillo beta-lactámico con la producción del ácido penicilinoico, lo que produce muchos fracasos terapéuticos con el uso de penicilinas, ampicilinas cefalosporinas.

El método cromogénico se basa en el cambio de color de amarillo a rojo de una cefalosporina cromogénica (nitrocefina) cuando la fracción amida del compuesto unida al anillo beta-lactámico es hidrolizado por la beta-lactamasa.

Material

Agua destilada

Discos de cefalosporina cromogénica (BBL)

Cultivo bacteriológico de 18 a 24 horas

Aplicador de plástico o madera

Control de calidad

Control positivo: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Control negativo: *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 29216

Staphylococcus aureus ATCC 25923

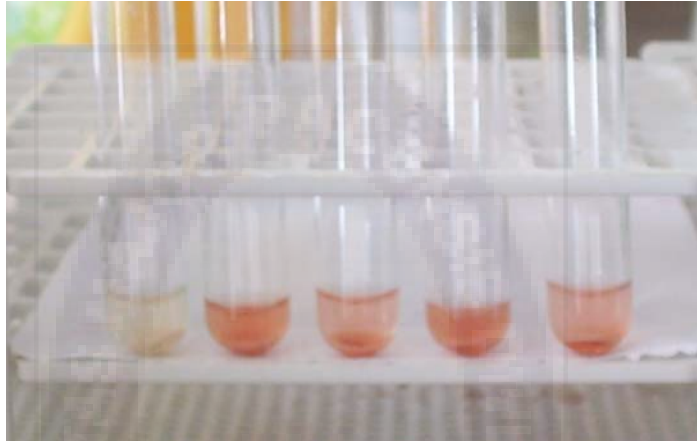
Procedimiento

Colocar el disco en un porta objetos y humedezca el disco con una gota de agua destilada.

Con e aplicador, remover una colonia bien aislada y frotarla sobre la superficie del disco.

Lectura

Observar el cambio de color sobre la superficie del disco.



Interpretación

La presencia de un color rosado en la superficie del disco indica un resultado positivo, es decir que el microorganismo estudiado produce Beta-lactamasa.

La ausencia de un cambio de color en el disco indica un resultado negativo.

Bibliografía

1. Marisol Albarracín López; **Manual de Bacteriología de Infecciones de Transmisión Sexual**, Editorial Offset Boliviana Ltda. “EDOBOL”, La Paz – Bolivia; 2001.

Anexo Nº 12

PRUEBA DE DIFUSION CON DISCO ESTANDARIZACION	Hojas # 1 de 1
---	-----------------------

Rango de tamaño de zona de inhibición (mm) aceptable para la cepa de referencia de *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226 (método de difusión con disco)

Antimicrobianos	Contenido del disco	Rango
Penicilina	10 U	26 - 34
Tetraciclina	30 µg	30 - 42
Ceftriaxona	30 µg	39 - 51
Ciprofloxacina	5 µg	48 - 58
Espectinomicina	100 µg	23 - 29

Criterios para la interpretación de la susceptibilidad *in vitro* de *Neisseria gonorrhoeae* a los antimicrobianos (método de difusión con disco)

Antimicrobianos	Sensibilidad		
	Resistente	disminuida	Susceptible
Penicilina	≤ 26	27 - 46	≥ 47
Tetraciclina	≤ 30	31 - 37	≥ 38
Ceftriaxona	≤ *	-*	≥ 35
Ciprofloxacina	≤ 27	28 - 40	≥ 41
Espectinomicina	≤ 14	15 - 17	≥ 18

* Criterio para susceptibilidad disminuida y resistencia a estas drogas no disponible aún.

Fuente: CLSI 2008.1

Anexo N° 13

DIAMETROS DE INTERPRETACION DE RESISTENCIA CROMOSOMAL O PLASMIDICA	Hojas # 1 de 1
---	-----------------------

	RESISTENCIA		
	PPNG (mm)	TRNG (mm)	CMRNG (mm)
PENICILINA	≤ 19 cefinase (+)	-	19 hasta ≤ 26
TETRACICLINA	-	≤19	19 hasta ≤ 30

Fuente: CLSI 2008.1

Anexo Nº 14

RECOLECCION DE DATOS	Hojas # 1 de 1
----------------------	----------------

ENCUESTAS

Fecha de recolección de de la muestra:

Código de H.C:

Diagnostico clínico.....

Antecedentes del Paciente:

Nivel de instrucción:

Ninguna Primaria Secundaria Superior Técnico Bachiller

Profesión / Ocupación:

Estudiante Ama de casa Trabajo varios

TSC: Si No

Estado civil:

Soltero Casado Divorciado

Otras ITS:

Ninguna Sífilis Gonorrea Herida genital otras

Recibe tratamiento:

Si No

Anexo Nº 15

FICHAS DE RESULTADOS	Hojas # 1 de 1
-----------------------------	-----------------------

FICHA DE RECEPCION DE CEPAS

Codigo de Origen: _____ Codigo de recepción: _____

Lab/Hosp. Origen: _____ Fecha de recepción: _____

Responsable: _____

1. IDENTIFICACION DEL PACIENTE

SEXO MASCULINO FEMENINO EDAD

LUGAR DE PROCEDENCIA _____

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO _____

2. ANTECEDENTES DE CEPA

MUESTRA DE ORIGEN:

URETRAL CERVIX CONJUNTIVAL

3. PRUEBAS DE IDENTIFICACION

OXIDASA SUPEROXOL PPNG

PRUEBA DE AZUCARES	
Glucosa	_____
Lactosa	_____
Sacarosa	_____
Maltosa	_____

GONOCHEK

ANTIBIOTICO	LECTURA (mm)	INTERPRETACION		
		R	I	S
Penicilina 10UI	_____			
Tetraciclina 30µg	_____			
Ceftriaxona 30µg	_____			
Ciprofloxacina 5µg	_____			
Spectinomycinina 100µg	_____			