



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

**PATRONES DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN AISLADOS DE
Neisseria gonorrhoeae EN MÉRIDA – VENEZUELA**

www.bdigital.ula.ve

Autora:

Carla Finol

C.I. V- 20.938.561

Tutora:

MSc. Kiralba Sánchez

Mérida, Octubre de 2017



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**



**PATRONES DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN AISLADOS DE
Neisseria gonorrhoeae EN MÉRIDA – VENEZUELA**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al
título de Licenciada en Bioanálisis**

www.bdigital.ula.ve

Autora:

Carla Finol

C.I. V- 20.938.561

Tutora:

MSc. Kiralba Sánchez

Mérida, Octubre de 2017

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso, por ser el pilar central de mi vida y quien bendice e ilumina siempre mi camino.

A mi compañero de vida, mi esposo Edwar, por su apoyo, su paciencia, su amor incondicional y por estar siempre ahí para mí. ¡Te Amo!

A mis padres Danilo y Ruth, base fundamental y esencial de quien soy hoy; por inculcarme la excelencia y la perseverancia como la clave del éxito, ustedes son mi ejemplo a seguir. ¡Los Amo!

A mis suegros por su apoyo en todo momento y por ser otros padres para mí.

A toda mi familia, amigos y demás personas que de alguna u otra forma me apoyaron en la culminación de esta meta.

Carla Finol

AGRADECIMIENTOS

A la Ilustre Universidad de los Andes.

Al Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Microbiológicas " *Prof^a Celina Araujo de Pérez*" por brindar sus instalaciones para la realización de este trabajo.

A mi tutora, Prof^a Kiralba Sánchez, por su dedicación, orientación y esmero. Quien además se convirtió en mi amiga y gran apoyo. Gracias infinitas por su paciencia y sobre todo por la excelencia de sus conocimientos impartidos.

A todo el personal de los servicios de ITS del Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes y del Hospital II El Vigía, por la inmensa colaboración proporcionada durante la recolección de las muestras.

Al personal del laboratorio clínico "ALFA", especialmente a la licenciada M^a Graciela Sequera por el apoyo brindado durante la realización de este trabajo de investigación.

Al personal del área de Esterilización y Preparación de Medios de Cultivo del Departamento de Microbiología y Parasitología; en particular a la Lcda. María Eugenia Nieves y a la Lcda. Yanelly Cuevas, por su apoyo y colaboración durante la elaboración de esta investigación.

A mi compañera Ariana Araque, que sin ser su obligación me brindó su apoyo incondicional en el laboratorio.

A todos, Mil Gracias

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I. EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema	3
Justificación de la Investigación	5
Objetivos de la Investigación	6
<i>Objetivo General</i>	6
<i>Objetivos Específicos</i>	6
Alcances y Limitaciones de la Investigación	7
<i>Alcances de la Investigación</i>	7
<i>Limitaciones de la Investigación</i>	7
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	8
Trabajos Previos	8
Antecedentes Históricos	11
Bases Teóricas	13
<i>Generalidades de Neisseria gonorrhoeae</i>	13
<i>Factores de Virulencia</i>	14
<i>Lipooligopolisacáridos</i>	14
<i>Proteínas de Membrana Externa</i>	15
<i>Pilis o Fimbrias</i>	16
<i>Enzimas</i>	16
<i>Variación Antigénica</i>	16

<i>Patogénesis</i>	17
<i>Manifestaciones Clínicas</i>	18
<i>Gonorrea genital</i>	18
<i>Localizaciones extragenitales</i>	19
<i>Complicaciones</i>	19
<i>Epidemiología</i>	20
<i>Tratamiento Antimicrobiano</i>	22
<i>Susceptibilidad y Resistencia Antimicrobiana de Neisseria gonorrhoeae</i>	24
<i>Diagnóstico de Laboratorio de Neisseria gonorrhoeae</i>	29
<i>Obtención de la Muestra Clínica</i>	29
<i>Aislamiento e Identificación Bacteriana</i>	29
<i>Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana</i>	33
Definición Operacional de Términos	36
Operacionalización del Evento de Estudio	38
CAPITULO III. MARCO METODOLÓGICO	40
Tipo de Investigación	40
Diseño de la Investigación	40
Población y Muestra	41
<i>Unidad de Investigación</i>	41
<i>Selección del Tamaño de la Muestra</i>	41
Sistema de Variables	41
Instrumento de Recolección de Datos	42
Procedimientos de la Investigación	42
<i>Obtención de la Muestra</i>	44
<i>Examen Directo</i>	44
<i>Cultivo</i>	44
<i>Identificación</i>	44
<i>Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana</i>	45
Diseño de Análisis	48

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
Resultados	49
Discusión	56
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	61
Conclusiones	61
Recomendaciones	63
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS	65
ANEXOS	73

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

N°		Pág.
1	Representación esquemática de la interacción entre <i>N. gonorrhoeae</i> y las células	17
2	Cadena Epidemiológica de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	21
3	Aislamiento e identificación de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43
4	Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana en <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	46

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

N°		Pág.
1	Taxonomía del Género <i>Neisseria</i>	13
2	Tratamiento Antimicrobiano de las Infecciones Gonocócicas	23
3	Características de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> y especies gramnegativas oxidasa-positiva relacionadas	31
4	Operacionalización del Evento de Estudio	39
5	Características epidemiológicas de 9 casos de infección gonocócica. Consulta ITS – IAHULA y Hospital II El Vigía, abril-junio 2017	50
6	Clasificación de 8 aislamientos clínicos de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> en función de la concentración mínima inhibitoria a la penicilina. Consulta ITS – IAHULA y Hospital II El Vigía, abril-junio 2017	52
7	Patrones de susceptibilidad antimicrobiana de 8 aislamientos clínicos de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> a los antibióticos: penicilina, ceftriaxone, cefixime, ciprofloxacina y tetraciclina. Consulta ITS - IAHULA y Hospital II El Vigía, abril-junio 2017	53
8	Clasificación de 8 aislamientos clínicos de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> en función de los halos de inhibición al disco de gentamicina (10µg). Consulta ITS – IAHULA y Hospital II El Vigía, abril - junio 2017.	54
9	Frecuencias Absolutas y Relativas de los fenotipos de sensibilidad antimicrobiana de 8 aislamientos clínicos de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> a los antibióticos: penicilina, ceftriaxone, cefixime, ciprofloxacina, tetraciclina y gentamicina. Consulta ITS – IAHULA y Hospital II El Vigía, abril-junio 2017.	55



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA



**PATRONES DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN AISLADOS DE
Neisseria gonorrhoeae EN MÉRIDA – VENEZUELA**

Trabajo de Grado

Autora:

Carla Finol

Tutora:

MSc. Kiralba Sánchez

RESUMEN

Neisseria gonorrhoeae multiresistente es un problema de salud pública emergente a nivel mundial. Se desconocen datos actualizados sobre la circulación de cepas de gonococos resistentes a los antibióticos a nivel local; por ello, este trabajo se orientó a determinar la sensibilidad antimicrobiana de 8 aislamientos clínicos de *N. gonorrhoeae* provenientes de pacientes con diagnóstico de gonococia que acudieron a dos servicios de ITS en Mérida – Venezuela, durante el periodo abril a junio 2017. Se empleó el método de difusión en disco a los antibióticos: penicilina, tetraciclina, ciprofloxacina, gentamicina, cefixime y ceftriaxone; se evaluó la concentración mínima inhibitoria a la penicilina por el método E-test. La interpretación de los resultados se realizó según los criterios aprobados por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), a excepción de la gentamicina cuyos puntos cortes son tentativos. Del total de cepas estudiadas, 7 resultaron resistentes a la penicilina, 6 fueron resistentes a la ciprofloxacina, 5 demostraron resistencia a la tetraciclina y una cepa fue resistente a la gentamicina. En cuanto a ceftriaxone y cefixime, todos los aislamientos fueron sensibles. Se detectaron 5 patrones de sensibilidad diferentes en la unidad de estudio seleccionada. Los resultados demuestran que ceftriaxone y cefixime pueden ser utilizados como terapia de primera línea contra la gonorrea; mientras que, la penicilina, ciprofloxacina y tetraciclina no se deben indicar con este fin. La gentamicina se perfila como tratamiento alternativo contra gonococos resistentes; no obstante, se requieren más estudios dirigidos a certificar su uso dentro del esquema terapéutico contra la gonococia.

Palabras claves: *Neisseria gonorrhoeae*, susceptibilidad, resistencia, antimicrobianos, difusión del disco, E-test.

INTRODUCCIÓN

Neisseria gonorrhoeae es un diplococo gramnegativo, reniforme, móvil, aerobio, intracelular que infecta estrictamente al hombre, siendo transmitido por contacto sexual o vía vertical en el canal de parto. Es el agente causal de la gonorrea que constituye la segunda Infección de Transmisión Sexual (ITS) de etiología bacteriana más prevalente y de notificación obligatoria, después de las ocasionadas por *Chlamydia trachomatis* (Ryan y Ray, 2011). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año se producen 106 millones de nuevos casos de gonorrea en el mundo, con un importante número de asintomáticos que pasan inadvertidos y constituyen un reservorio silencioso de esta infección (OMS, 2012).

Las infecciones producidas por *N. gonorrhoeae* se han convertido en un grave problema de salud pública, tanto en países desarrollados como en países en vía de desarrollo, debido a las altas tasas de resistencia a los antimicrobianos desarrollado por este patógeno y que han significado la pérdida de utilidad de diversas drogas como sulfonamidas, penicilinas y tetraciclinas (Tibebu, Shibabaw, Medhin y Kassu, 2013).

Hasta hace pocos años, las quinolonas y cefalosporinas de tercera generación tenían actividad contra cepas de *N. gonorrhoeae*; sin embargo, en diferentes países del mundo ya se han reportado gonococos resistentes al grupo de las quinolonas; de igual modo, se han registrado fallas en el tratamiento con cefalosporinas de tercera generación de administración oral, observándose una elevación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a este grupo de antibióticos (Tibebu y cols., 2013).

Hoy en día, las opciones terapéuticas contra la gonorrea son limitadas, a tal punto, que los organismos encargados de la vigilancia y control de enfermedades infecciosas advierten sobre la posibilidad de que la infección gonocócica se convierta en una enfermedad incurable. En consecuencia, se

ha propuesto la utilización de otros fármacos como gentamicina, ertapenem, asociaciones de macrólidos y rifampicina, aunque por los momentos están en proceso de investigación y no se prevé su uso a corto plazo (Díaz, Herrando y Díez, 2013).

La investigación de la susceptibilidad antimicrobiana no se practica de rutina en muchos centros asistenciales, debido en gran parte a las exigencias del microorganismo, lo cual representa un alto gasto económico a los laboratorios; es por ello, que no se cuente con datos sobre la resistencia de *N. gonorrhoeae* a nivel local ni regional.

En virtud de la emergencia de cepas de *N. gonorrhoeae* resistentes a los antibióticos a nivel mundial y la falta de información sobre el perfil de sensibilidad antimicrobiana de *N. gonorrhoeae* en el estado Mérida (Venezuela) que puedan sustentar el tratamiento empírico de la gonococia, se propone el presente estudio con la finalidad de describir el patrón de sensibilidad antimicrobiana en aislados de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de pacientes que acuden a la consulta de ITS del IAHULA e ITS del Hospital II El Vigía, en el estado Mérida-Venezuela, durante el periodo abril 2017 hasta junio 2017.

El presente trabajo se encuentra estructurado de la siguiente manera: el Capítulo I incluye el planteamiento del problema, justificación de la investigación, objetivo general, objetivos específicos, así como los alcances y limitaciones de la misma. El Capítulo II, contiene los trabajos previos de la investigación, antecedentes históricos, bases teóricas, definición operacional de términos y operacionalización del evento de estudio. Por otra parte, en el Capítulo III se desarrolla la metodología a través de la cual se llevó a cabo la investigación: tipo de investigación, diseño de la investigación, población y muestra, sistema de variables y la metodología para llevar a cabo la investigación. Posteriormente, en el Capítulo IV se realiza el análisis de los resultados y la discusión de los mismos, por último, el Capítulo V comprende las conclusiones y recomendaciones de la investigación.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

La gonorrea es posiblemente la enfermedad infecciosa en la cual se han ensayado mayor número de antimicrobianos a lo largo del tiempo. Antiguamente, cada nuevo tratamiento incorporado lograba solventar el problema; sin embargo, en la actualidad ha desaparecido este optimismo y la resistencia antimicrobiana que desarrolla *N. gonorrhoeae* permite calificarla como una amenaza a nivel mundial, a tal punto que la gonococia podría considerarse, en el futuro, como una Infección de Transmisión Sexual (ITS) incurable (Nabu y cols., 2014).

Según Figueroa (2013) el problema actual de la gonococia surge a partir de la década de los 70, cuando *N. gonorrhoeae* reveló resistencia a la penicilina, el antibiótico de primera línea para la época, inconveniente que pudo solventarse con el incremento de la dosis; sin embargo, esta medida no logró evitar la resistencia. Con el pasar del tiempo los gonococos se han mostrado resistentes a un gran número de antimicrobianos, incluyendo penicilinas, tetraciclinas, sulfonamidas y quinolonas.

Actualmente, el tratamiento de primera línea para la gonorrea está limitado a las cefalosporinas de tercera generación tales como ceftriaxone y cefixime.

No obstante, ya se han reportado cepas de *N. gonorrhoeae* resistentes a estos antibióticos (D'Alessandro y cols., 2013).

Ante esta problemática, la OMS emitió una alerta epidemiológica, donde destaca la necesidad de una vigilancia continua de la sensibilidad de *N. gonorrhoeae* frente a los diferentes grupos de antimicrobianos, lo cual permitirá conocer la situación local facilitando así la elección de una terapéutica adecuada (Flores, Márquez y Alvarado, 2012).

En Venezuela es poca la información disponible sobre los patrones de sensibilidad antimicrobiana en cepas de *N. gonorrhoeae* y al igual que en otros países los datos reflejan un incremento de la resistencia antimicrobiana; el desconocimiento sobre la susceptibilidad antimicrobiana de este patógeno incide en la falta de esquemas terapéuticos adecuados a la realidad de cada región geográfica, lo cual tiene implicaciones significativas desde el punto de vista clínico y epidemiológico.

Conviene agregar que aun cuando se siguen adoptando los lineamientos internacionales para el manejo de las ITS con características clínicas compatibles con la gonococia, la escasez de drogas, su alto costo, así como la falta de estudios microbiológicos que permitan la confirmación de los casos identificados, son todos elementos que dificultan la vigilancia y control de una de las ITS más prevalentes en la sociedad.

En base a todo lo anteriormente expuesto se plantea el siguiente enunciado holopráxico:

¿Cuál es el patrón de sensibilidad antimicrobiana en aislados de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de pacientes que acuden a la consulta de ITS del IAHULA e ITS del Hospital II El Vigía, en el estado Mérida-Venezuela, durante el periodo abril 2017 hasta junio 2017?

Justificación de la Investigación

La importancia del presente trabajo está plenamente justificada a partir de la alerta epidemiológica convocada por la OMS en el año 2012, donde se destaca la necesidad de reforzar la vigilancia de la susceptibilidad antibiótica de *Neisseria gonorrhoeae*, vigilar los fallos del tratamiento y mejorar las medidas preventivas y el tratamiento oportuno de esta enfermedad. En las consultas de ITS no es rutinario el aislamiento ni la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de este patógeno, pues tales procedimientos, además de complicados, implican un alto costo económico; en consecuencia, no se conocen los patrones de sensibilidad antimicrobiana de este agente de transmisión sexual.

Este estudio representa una fuente importante de información pertinente sobre la resistencia de las cepas que circulan en esta área geográfica, lo cual permitirá en lo sucesivo tomar acciones para detener la propagación de la gonococia resistente. Por otro lado, los resultados de la investigación derivarán en un plan de control para el logro de una definición cabal de las líneas de actuación frente a esta problemática a nivel local; así mismo, permitirá, la evaluación constante de la eficacia de los tratamientos disponibles.

En el campo científico el trabajo aportará datos actualizados sobre el perfil de sensibilidad antimicrobiana de *N. gonorrhoeae* y los mecanismos de resistencia más prevalentes en la población bacteriana, que podrán servir de apoyo para futuras investigaciones. Por lo demás, también ofrecerá valiosa información a las redes de vigilancia epidemiológica de resistencia a los antimicrobianos a nivel regional y nacional.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Describir el patrón de sensibilidad antimicrobiana en aislados de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de pacientes que acuden a la consulta de ITS del IAHULA e ITS del Hospital II El Vigía, en el estado Mérida-Venezuela, durante el periodo abril 2017 hasta junio 2017

Objetivos Específicos

1. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria a la penicilina en aislados clínicos de *Neisseria gonorrhoeae*.
2. Clasificar fenotípicamente los aislados de *Neisseria gonorrhoeae* como sensible, resistente e intermedio en función del comportamiento frente a los antibióticos penicilina, tetraciclina, ciprofloxacina, cefixime y ceftriaxone.
3. Establecer los halos de inhibición de *Neisseria gonorrhoeae* al disco de gentamicina de 30 µg.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

Hernández, Fernández y Baptista (2010) refieren que el alcance de una investigación está representado por la amplitud y la profundidad del conocimiento que se quiere saber. Al respecto, el presente estudio tiene un alto nivel de complejidad, sustentado por la profundidad del abordaje del tema sobre el estado del arte de la resistencia antimicrobiana de *N. gonorrhoeae*, el desarrollo de las habilidades y destrezas relacionadas con el trabajo de laboratorio, lo novedoso de los resultados y por ende de su aplicabilidad en el campo clínico.

Limitaciones de la Investigación

Las limitaciones fueron básicamente de orden económico, dado el alto costo de los reactivos; así como, la poca disponibilidad de algunos insumos por parte de las casas comerciales que operan en el país. Por otro lado, algunos factores externos que dificultaron el transporte de muestras hacia el laboratorio donde se procesaron, lo cual afectó la viabilidad de algunas cepas obtenidas que no pudieron ser estudiadas. En fin, solo se pudo obtener recursos para evaluar 9 cepas de *N. gonorrhoeae*.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Diversos estudios han sido realizados para determinar la sensibilidad y los mecanismos de resistencia antimicrobiana en *N. gonorrhoeae*, proporcionando así datos que pueden ser útiles y efectivos para el tratamiento de la enfermedad.

Bala y cols. (2016a), realizaron un estudio en la India donde evaluaron la susceptibilidad de 258 aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae* frente a la gentamicina y cefalosporinas de espectro extenso (CEE), aplicando la metodología de E-test. Los resultados obtenidos revelaron que el 60,1% de las cepas fueron multidrogo-resistentes (MDR); mientras que, el 5% presentó sensibilidad disminuida a las CEE. Entre ellos, el 84,5% de los gonococos MDR y el 76,9% de las cepas con susceptibilidad disminuida a las CEE fueron susceptibles a la gentamicina y no se presentó resistencia a este último antimicrobiano en ningún aislamiento MDR. Estos resultados permitieron concluir que la gentamicina podría ser tomada en cuenta como una opción de tratamiento eficaz para las cepas MDR o en la terapia dual para la gonococia, considerando que es esencial la investigación adicional sobre la respuesta al tratamiento clínico.

Cobo, Cabezas y Cabeza (2016) en España, determinaron la producción de β - lactamasa en 65 cepas de *N. gonorrhoeae* a través de la prueba de cefinasa; además, estudiaron el perfil de sensibilidad frente a los antibióticos penicilina, tetraciclina, ciprofloxacina, ceftriaxone, cefixime, azitromicina y espectinomicina por el método de dilución en agar. La frecuencia de la resistencia *in vitro* fue de 61,2% tanto a la penicilina como a tetraciclina, 64,6% a la ciprofloxacina y 13,8% a la azitromicina; la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación fue del 1,5%. Todos los aislamientos fueron sensibles a la espectinomicina. De igual manera, el 18,5% correspondió a cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de penicilinas (NGPP). Con tales datos se demostró que los antibióticos penicilina, tetraciclina y ciprofloxacina no son recomendados como tratamiento, pues podría presentarse falla terapéutica.

Lebedzeu y cols. (2015) realizaron un estudio en Bielorrusia, para evaluar la producción de β - lactamasa a través del método de cefalosporina cromogénica y determinar la susceptibilidad antimicrobiana de 193 cepas de *N. gonorrhoeae* frente a la penicilina, tetraciclina, ciprofloxacina, ceftriaxone, cefixime, espectinomicina y azitromicina mediante el método de E-test, con la finalidad de orientar el tratamiento empírico de la enfermedad. Los resultados afirmaron que en un 0,5% de las cepas hubo producción de β -lactamasa y se observó resistencia a la penicilina en 9%, a la tetraciclina en 36%, a la ciprofloxacina en 28%, a la azitromicina en 5% y al cefixime en 0,5%; así mismo, el 100% de los aislamientos presentó sensibilidad a ceftriaxone y espectinomicina. En conclusión, la penicilina, tetraciclina y ciprofloxacina no deben usarse en la terapéutica inicial y es necesaria una evaluación constante de los patrones de sensibilidad de *N. gonorrhoeae* para garantizar la terapéutica adecuada y evitar la propagación de la resistencia bacteriana.

Lee y cols. (2015) desarrollaron una investigación en Corea del Sur para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana de 210 aislamientos de *N. gonorrhoeae* a los antibióticos penicilina, tetraciclina, ciprofloxacina, ceftriaxone, azitromicina, cefpodoxima, cefixime y espectinomicina utilizando

la metodología de dilución en agar. Los resultados obtenidos demostraron resistencia a la ciprofloxacina en 97% de los casos, a la tetraciclina en 50%, a la penicilina en 29% y a la cefpodoxima, ceftriaxone, cefixime y azitromicina en 8%, 3%, 9% y 5% respectivamente. El 100% de los aislamientos presentaron sensibilidad a la espectinomicina. La reciente aparición de cepas resistentes a las cefalosporinas de espectro extenso (ceftriaxone y cefixime), es una preocupación importante que indica la necesidad de una mayor vigilancia de la resistencia antimicrobiana para prevenir la transmisión de estas cepas.

En Belo Horizonte, Brasil, Bedeschi, Pietra, Vieira, Preta y Teixeira (2013) llevaron a cabo una investigación cuyo objetivo era evaluar la susceptibilidad antimicrobiana de 201 aislamientos de *N. gonorrhoeae* frente a los antimicrobianos azitromicina, cefixime, ceftriaxone, ciprofloxacina, cloranfenicol, penicilina, tetraciclina y espectinomicina, mediante los métodos de difusión en disco y CMI. Entre los resultados destaca que el 4,5% de los aislamientos reveló resistencia a la azitromicina, el 21,4% a la ciprofloxacina y el 11,9% al cloranfenicol; de igual forma, se observó un 22,4% de resistencia a la penicilina y 32,3% a la tetraciclina. También se detectó sensibilidad en 100% de los aislamientos a cefixime, ceftriaxone y espectinomicina y se evidenció sensibilidad intermedia en 17,9% a la azitromicina, 4% a la ciprofloxacina, 16,9% al cloranfenicol, 71,1% a la penicilina y 22,9% a la tetraciclina. Los gonococos presentaron resistencia a la penicilina mediada por plásmidos en un 14,5% y a la tetraciclina en 11,5%. Los resultados muestran que la penicilina, la tetraciclina, el cloranfenicol y la ciprofloxacina no son apropiados para el tratamiento de la gonorrea y recomiendan precaución en el uso de la azitromicina.

En Cumaná, Venezuela, Flores y cols. (2012) evaluaron la producción de β -lactamasa en 20 aislados de *N. gonorrhoeae* mediante el método de la cefalosporina cromogénica y determinaron la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas por el método de difusión en disco a los antibióticos penicilina,

ceftriaxone, cefoxitin, tetraciclina y ciprofloxacina. Entre los resultados obtenidos se encontró producción de β -lactamasa en el 89,5% de los casos y resistencia antimicrobiana en más del 90% tanto a la penicilina como a la tetraciclina; también se evidenció sensibilidad en un 100% al ceftriaxone y cefoxitin y en un 75% a la ciprofloxacina. Estos datos sugieren el uso de ceftriaxone y cefoxitin como antibióticos de primera línea para tratar la gonorrea; así mismo, se recomienda no emplear la ciprofloxacina como tratamiento empírico si no están disponibles los resultados de las pruebas de sensibilidad.

Antecedentes Históricos

La gonorrea, una de las infecciones de transmisión sexual más estudiada en los últimos años, se encuentra ampliamente distribuida en el mundo y parece haber sido reconocida desde los tiempos bíblicos. Galeno en el año 130 a.C. asignó el término “gonorrea” del griego salida de flujo o semilla, por la consideración errónea de la secreción purulenta como una espermatorrea (Conde y Uribe, 1997). Esta entidad clínica es causada por la bacteria *Neisseria gonorrhoeae*, descubierta en 1879 por el dermatólogo y bacteriólogo alemán Albert Neisser, quien la detectó a partir de exudados de pacientes con uretritis y oftalmía neonatal (Pardi, Pérez, Pacheco y Mata, 2004).

El aislamiento *in vitro* de la bacteria fue realizado por primera vez en 1882 por Leistikow y Loeffler. En 1884 se facilitó su identificación gracias al bacteriólogo danés Hans Christian Gram a través de la tinción conocida como coloración de Gram. En 1885 Ernest Bum aísla el microorganismo en un medio artificial y pudo demostrar la relación etiológica mediante la inoculación en personas voluntarias. Años más tarde, los estudios del fisiólogo John Hunter

permitieron diferenciar la gonorrea de la sífilis (Conde y Uribe, 1997; Pardi y cols., 2004).

N. gonorrhoeae es un microorganismo que con el tiempo ha desarrollado notable resistencia a los antimicrobianos y frente al cual se han ensayado numerosos tratamientos para combatirlo. No fue sino hasta la década de 1930 que se logró resolver el problema con el descubrimiento de las sulfonamidas y luego de la penicilina en 1948 (Flores y cols., 2012).

A finales de la década de 1950 se detectó un aumento de la resistencia a la penicilina, por lo cual se elevó la dosis terapéutica para lograr inhibir el crecimiento del patógeno. Sin embargo, aparecieron nuevos reportes de fracasos terapéuticos y en 1970 se consideró el uso de la tetraciclina y la espectinomicina como alternativas terapéuticas. Progresivamente, estos antimicrobianos fueron abandonados como primera línea de elección al no lograrse los resultados esperados, pues en 1972 el tratamiento con una única dosis de tetraciclina mostró ineffectividad y desde 1973 se han reportado cepas resistentes a la espectinomicina (Llorente, Sosa, Llanes, Pérez y Hernández, 2002; Flores y cols., 2012).

En 1985 el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos incluyó ceftriaxone como terapia de primera línea para el tratamiento de la gonorrea y en 1993 recomendó el uso de las fluoroquinolonas (ciprofloxacina). No obstante, en 2007 surgieron cepas resistentes a este grupo de antimicrobianos, y el tratamiento con quinolonas dejó de ser recomendado. Hacia el año 2012 los protocolos para el tratamiento de la gonococia tanto europeos como americanos recomendaron el uso de cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxone o cefixime). Sin embargo, el uso de cefixime ha mostrado crecientes fallos terapéuticos, por lo cual actualmente se le recomienda sólo como alternativa al ceftriaxone y no como fármaco de primera línea (Díaz y cols., 2013; Flores y cols., 2012).

Bases Teóricas

Generalidades de Neisseria gonorrhoeae

Las bacterias son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria, son estructuralmente simples, pero rodeadas de una pared celular compleja que permite clasificarlas en grampositivas y gramnegativas según posean una gruesa o delgada capa de peptidoglicano, respectivamente (Murray, Rosenthal, y Pfaller, 2009).

Las especies de *Neisseria* son diplococos gramnegativos, aerobios, cuyos lados adyacentes se aplanan adoptando una morfología similar a la de un grano de café. Son bacterias inmóviles, no esporuladas, caracterizadas por producir ácido mediante la oxidación de carbohidratos y ubicadas taxonómicamente en la familia *Neisseriaceae* (Tabla 1) (Murray y cols., 2009; Prats, 2013).

Tabla 1. Taxonomía del Género *Neisseria*

Taxon	Nomenclatura
Reino	<i>Bacteria</i>
Orden	<i>Neisseriales</i>
Familia	<i>Neisseriaceae</i>
Género	<i>Neisseria</i>
Especies patógenas	<i>N. gonorrhoeae, N. meningitidis</i>

Fuente: Prats, 2013.

Neisseria gonorrhoeae, agente causal de la gonorrea, tiene requerimientos nutricionales exigentes y se identifica por oxidar únicamente la glucosa y producir enzimas como la catalasa y la oxidasa. Su crecimiento óptimo es a temperaturas entre 35°C y 37 °C, con atmósfera húmeda suplementada con CO₂ (Murray y cols., 2009).

Factores de Virulencia

Según Ryan y Ray (2011), una vez que el patógeno se instala en su hospedero las defensas del individuo determinan si ocurrirá o no una enfermedad; sin embargo, el patógeno puede presentar o desarrollar ciertas características que le permiten escapar o evadir el sistema inmune y causar enfermedad, lo cual se define como “factores de virulencia”.

Las bacterias gramnegativas se caracterizan por poseer una membrana externa que conforma la pared celular y un espacio denominado periplásmico comprendido entre la superficie interna de dicha membrana y la superficie externa de la membrana citoplasmática, donde se encuentran muchos de los factores de virulencia líticos de las especies patógenas (Murray y cols., 2009).

Lipopolisacáridos (LPS)

Son endotoxinas ubicadas en la membrana externa de las bacterias gramnegativas constituidas por tres zonas estructurales: lípido A, responsable de la actividad endotóxica; la región central del polisacárido y un antígeno somático O. En el caso de los gonococos existe una variante estructural que carece del antígeno O, por lo cual este LPS recibe la denominación de Lipooligosacárido (LOS) que es expulsado en grandes cantidades durante el crecimiento bacteriano, a través de la liberación espontánea de fragmentos de membrana externa que resultan tóxicos para la mucosa genital y otros tejidos del organismo (Murray y cols., 2009; Winn y cols., 2008).

Proteínas de Membrana Externa

Son aquellas proteínas que se ubican en la superficie de la membrana externa de la pared celular de los gonococos, y entre ellas suelen describirse los siguientes grupos:

Proteína Por (proteína I). Representan un grupo de proteínas integrales que forman poros o canales que permiten el paso de nutrientes al interior de la célula y la salida de los productos de desecho. Es una porina termoestable que se expresa en los gonococos bajo dos formas llamadas PorA (PIA) y PorB (PIB), las cuales están relacionadas, pero son inmunológicamente distintas; estas proteínas facilitan la supervivencia intracelular ya que evitan la fusión fagocitoso-lisosoma en los leucocitos polimorfonucleares. Una cepa de *N. gonorrhoeae* posee una de estas dos proteínas integrales, pero nunca ambas (Winn y cols., 2008).

Proteínas Opa (proteína II). Son proteínas transmembranales que incrementan la adherencia de *N. gonorrhoeae* a las mucosas y a las células fagocíticas y desempeñan una importante función en la señalización intercelular. Las células que expresan las proteínas Opa tienen un aspecto opaco cuando crecen *in vitro*, de allí su denominación (Murray y cols., 2009; Zúñiga, 2010).

Proteína Rmp (proteína III) o proteínas de reducción modificable. Desde el punto de vista antigénico esta proteína se conserva en todos los gonococos y protege a los antígenos de superficie (proteínas Por y LOS) de los anticuerpos bactericidas del suero humano (Pardi y cols., 2004).

Proteínas de Enlace al Hierro (fbp). El hierro es un componente indispensable para el desarrollo y metabolismo bacteriano, por lo cual, *N. gonorrhoeae* compite con el anfitrión humano mediante la unión de estas proteínas a la transferrina, lactoferrina y hemoglobina en la adquisición del hierro (Castro, 2014).

Pilis o Fimbrias

Son estructuras que se extienden desde la membrana plasmática hacia la membrana externa y tienen diversas funciones como intervenir en la fijación de los microorganismos a las superficies mucosas, la transferencia de material genético y la movilidad. Los pilis están compuestos por pilina (genes *pilE*, *pilS*), una proteína que contribuye a su diversidad antigénica, lo cual le proporciona un mecanismo de resistencia ante la destrucción mediada por segmentados neutrófilos. La variación antigénica entre las pilinas es causa de la ausencia de inmunidad ante la reinfección por *N. gonorrhoeae*, factores que complican los intentos de elaborar una vacuna eficaz frente a la gonorrea (Murray y cols., 2009).

Enzimas

Algunas cepas de *N. gonorrhoeae* son capaces de producir betalactamasas de tipo penicilinasas que hidrolizan el anillo β -lactámico de la penicilina, proporcionándoles resistencia frente a este tipo de antimicrobianos (Murray y cols., 2007).

De igual manera, al infectar al ser humano *N. gonorrhoeae* es capaz de elaborar una proteasa que actúa destruyendo e inactivando a la IgA secretora, una inmunoglobulina que se encarga de la protección de las mucosas del ser humano (Conde y Uribe, 1997).

Variación Antigénica

La variación de antígenos de superficie (proteínas de membrana externa, pilis, LOS) es otro de los mecanismos que emplea *N. gonorrhoeae* para evadir la respuesta inmunitaria del hospedero. Esta variación implica la recombinación entre diversos genes del mismo cromosoma, tal como lo

explican Ryan y Ray (2011), una vez que el sistema inmune responde con la producción de anticuerpos, éstos se unen al antígeno respectivo; en consecuencia, se desarrolla un cambio rápido de moléculas que generan una subpoblación con una superficie antigénica distinta que continua la infección y permite al microorganismo eludir el sistema inmunitario del hospedero. Es por esta razón que el gonococo no genera inmunidad ante la reinfección.

Patogénesis

En primera instancia los gonococos se fijan a las microvellosidades de las células mucosas, penetrando las células por endocitosis, pudiendo luego multiplicarse dentro de la vacuola endocítica y pasar a través de ella al espacio subepitelial, donde se produce la infección (Figura 1). Al cabo de 24 horas, las células comienzan a destruirse y las bacterias permanecen dentro de una matriz de restos celulares denominada “unidad infecciosa” que ofrece al gonococo protección frente al sistema inmune del hospedero (Ausina y Moreno, 2006; Murray y cols., 2009).

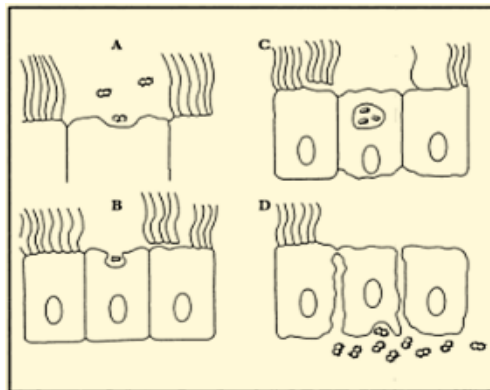


Figura 1. Representación esquemática de la interacción entre *N. gonorrhoeae* y las células. (A) Unión del gonococo a través de los pilis a la célula, (B) endocitosis, (C) desplazamiento de la vacuola y multiplicación gonocócica, (D) liberación del gonococo al subepitelio (Ausina y Moreno, 2006).

Los pilis, las proteínas PorB y Opa intervienen en la adherencia y penetración en las células hospederas; mientras que, los lipooligosacáridos gonocócicos estimulan la respuesta inflamatoria y la liberación del factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), responsable de la mayoría de los síntomas asociados a la enfermedad (Ausina y Moreno, 2006).

Manifestaciones Clínicas

Conde y Uribe (1997) afirman que los gonococos se transmiten principalmente por contacto sexual o, en su defecto, por vía perinatal, infectando diferentes tipos de mucosas cuya localización depende de las prácticas sexuales de cada individuo.

Gonorrea Genital

Las características clínicas de la gonorrea varían ampliamente entre hombres y mujeres. En el hombre produce mayor sintomatología y suele generar uretritis, con manifestaciones entre dos a siete días después de la exposición, tales como exudado purulento de la uretra anterior y disuria; en algunas ocasiones el paciente presenta prurito y solo rara vez sensación de dolor, fiebre e inflamación del glande. El gonococo puede dispersarse por toda la uretra ascendiendo a la próstata, conducto deferente, epidídimo y testículos (Heymann, 2005; Romero, 2007).

En la mujer la infección genera cervicitis mucopurulenta, por lo general asintomática, aunque algunas manifiestan secreción vaginal anormal con hemorragia después del coito; en niñas pre púberes puede generar vulvovaginitis gonocócica cuando se tiene contacto genital directo con la secreción de personas infectadas (Heymann, 2005).

Localizaciones extragenitales

La infección gonocócica se puede manifestar en otras zonas distintas a los genitales, con frecuencia se relaciona a los hábitos sexuales del individuo, como es el caso de la forma anorrectal, faríngea y a nivel ocular. Esta última se produce generalmente por auto inoculación, pero en algunos casos puede ser transmitido por la madre infectada al recién nacido durante el parto, manifestándose como conjuntivitis de exudado bilateral y purulento que puede provocar consecuencias graves como pérdida de la visión (Ausina y Moreno, 2006).

Complicaciones

Es importante resaltar que las formas complicadas de la gonococia engloban: enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), infertilidad o embarazo ectópico, epididimitis aguda, oftalmítis, infección diseminada con artritis-dermatitis y en algunas ocasiones endocarditis (Sandoval y cols., 2007; D'Alessandro y cols., 2013).

La enfermedad inflamatoria pélvica es el resultado de la propagación del microorganismo a lo largo de las trompas de Falopio, donde produce salpingitis y en consecuencia se obstruyen por tejido fibrótico. Ocasionalmente se afectan los tejidos pélvicos adyacentes, provocando un derrame del exudado al peritoneo que ocasiona, en algunas pacientes, peritonitis o abscesos pélvicos. El agravamiento de la EIP puede generar embarazo ectópico, producto de la cicatrización de las trompas uterinas, así como infertilidad (Castro, 2014).

La infección gonocócica diseminada (IGD), también conocida como síndrome de artritis-dermatitis, provoca infecciones a nivel de la piel y de las articulaciones. Esta forma de infección se produce cuando el gonococo invade el torrente sanguíneo a partir de una membrana mucosa, causando bacteriemia que puede conducir a infecciones metastásicas, tales como

endocarditis o meningitis, siendo más frecuente la artritis purulenta (Ryan y Ray, 2011).

Epidemiología

La gonorrea afecta exclusivamente al ser humano y este es su único reservorio conocido. Según Murray y cols. (2009) se trata de la segunda ITS de origen bacteriano más frecuente después de la clamidiasis, cuyas tasas de infección son iguales en ambos géneros, pero desproporcionadamente más elevadas en los individuos de raza negra que en los de raza blanca y los hispanos.

Neisseria gonorrhoeae se transmite principalmente por contacto genital con una persona infectada. Los individuos más susceptibles a la infección son aquellos sexualmente activos que no acostumbran el uso de preservativos. Las prostitutas y los hombres homosexuales son los grupos más afectados debido a la alta promiscuidad en estos grupos sociales (Figura 2) (Romero, 2007).

Hasta un 50% de las mujeres infectadas son asintomáticas, constituyendo el principal reservorio del contagio; mientras que, la mayoría de los hombres manifiestan síntomas desde el inicio (Murray y cols., 2009).

Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, 2016a) estiman que la incidencia de nuevos casos de gonorrea anualmente en Estados Unidos es de aproximadamente 820.000 casos, de los cuales menos de la mitad son detectados y reportados. De igual manera, se destaca que de ellos 570.000 son jóvenes con edades entre 15 - 24 años. En el año 2015 se notificaron un total de 395.216 casos en los Estados Unidos, equivalente a una tasa de 124 por cada 100.000 habitantes.

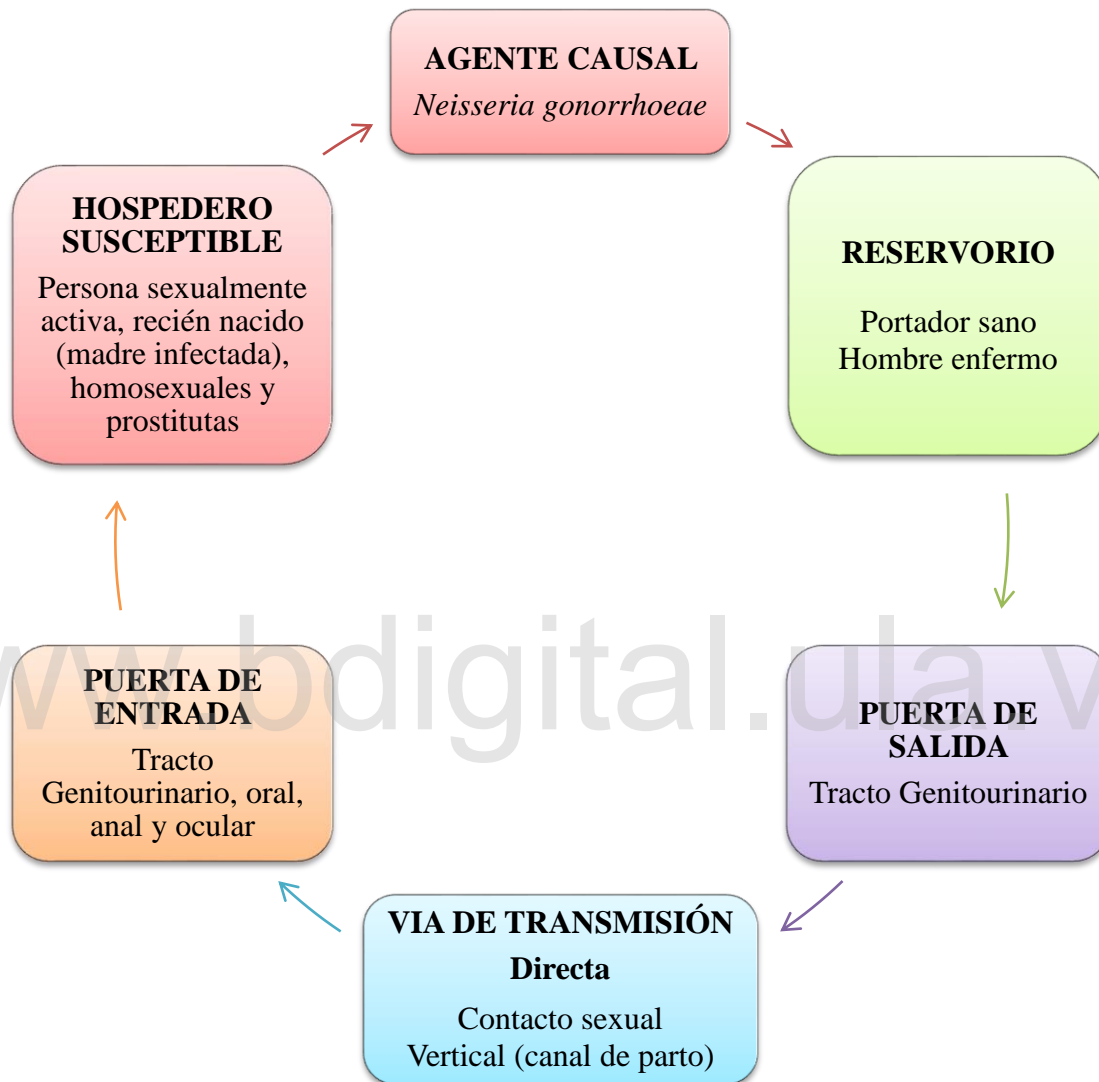


Figura 2. Cadena Epidemiológica de *Neisseria gonorrhoeae*

Cabe destacar que la gonorrea alcanzó un mínimo histórico en 2009, pero aumentó cada año durante el período 2009-2012. Después de una disminución temporal en el año 2013, la tasa de gonorrea aumentó nuevamente durante 2014-2015 en un 12,8% entre hombres y mujeres, presentándose el mayor número en hombres (CDC, 2016a).

Tratamiento Antimicrobiano

Los antimicrobianos son medicamentos cuya acción inhibe o impide la multiplicación de los microorganismos, por lo cual son utilizados para tratar las enfermedades infecciosas; sin embargo, algunos agentes infecciosos han desarrollado la capacidad de evadir estos efectos a través de diferentes mecanismos de resistencia. Tal es el caso de la gonococia, cuyo agente etiológico ha ido desarrollando resistencia a cada nuevo tratamiento emergente (Prats, 2013).

Para certificar el cumplimiento de la terapéutica por parte de los pacientes infectados con *N. gonorrhoeae*, Figueroa (2013) recomienda la administración en dosis única de esquemas como ceftriaxone, cefixime, ofloxacina o ciprofloxacina. Los casos de gonococos resistentes a quinolonas han aumentado notablemente, y en la actualidad no se admiten como tratamiento en diversas regiones del mundo.

En este contexto, el CDC en 2016 establece la terapia dual para infecciones gonocócicas usando antimicrobianos con diferentes mecanismos de acción (Tabla 2). En el caso de emplear cefalosporinas de tercera generación, éste se puede combinar con azitromicina con la finalidad de mejorar la eficacia del tratamiento y detener potencialmente la aparición y propagación de resistencia a las cefalosporinas. De igual forma, se aporta una ventaja adicional, pues la azitromicina es el antibiótico de primera elección contra *Chlamydia trachomatis*, ya que la mayoría de los pacientes con gonococia se encuentran

coinfectados con este microorganismo, una terapia dual resulta útil para tratar ambas infecciones simultáneamente.

En este orden de ideas, Unemo y Shafer (2014) destacan el uso de la azitromicina (2 g vía oral en una sola dosis) en varios países; sin embargo, no se recomienda como monoterapia empírica de la gonorrea. Esto se debe particularmente a la preocupación por una selección rápida de resistencia y a los posibles eventos adversos por el consumo de una alta dosis oral.

Tabla 2. Tratamiento Antimicrobiano de las Infecciones Gonocócicas

Tipo de infección	Régimen recomendado	Régimen alternativo
Rectal Cervicitis Uretritis	Ceftriaxone 250 mg en dosis única I.M. y azitromicina 1g V.O. en dosis única	(No disponible ceftriaxone) Cefixime 400 mg en dosis única V.O. y azitromicina 1g V.O. en dosis única
Faringitis	Ceftriaxone 250 mg en dosis única I.M. y azitromicina 1g V.O. en dosis única	
Conjuntivitis	Ceftriaxone 1g I.M. en una sola dosis y azitromicina 1g V.O. en dosis única	
Infección diseminada	Ceftriaxone 1g I.M. o I.V. cada 24 horas y azitromicina 1g V.O. en dosis única	Cefotaxime 1g I.V. cada 8 horas o ceftizoxima 1g I.V. cada 8 horas y azitromicina 1g V.O. en dosis única
Meningitis Endocarditis	Ceftriaxone 2,1 g I.V. cada 12 a 24 horas y azitromicina 1g V.O. en una dosis única	

Fuente: CDC, 2016b.

I.M.= intramuscular; V.O.= vía oral; I.V.= intravenosa

Susceptibilidad y Resistencia Antimicrobiana en Neisseria gonorrhoeae

Algunos microorganismos pueden sobrevivir a los efectos de los antimicrobianos mediante la expresión de diversos mecanismos de resistencia que alteran o bloquean pasos indispensables para una acción antibiótica eficaz. La resistencia suele dividirse en dos categorías, intrínseca o natural y adquirida; la primera resulta del estado genético o estructural normal inherente de un microorganismo, que incluso puede ser un marcador útil en su identificación,

y la segunda resulta de alteraciones en la composición genética habitual que provoca cambios en un microorganismo inicialmente susceptible; esta puede estar asociada a mutaciones genéticas o a la adquisición de genes de resistencia mediante mecanismos de transferencia genética como la transferencia de plásmidos. (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009).

Según el instituto de salud pública de Chile (2012), la resistencia adquirida se basa en mutaciones que pueden codificar propiedades que disminuyan la afinidad de la proteína bacteriana por el antibiótico o en su defecto, dificulten el acceso del antibiótico hacia la proteína diana como: (a) disminución de la permeabilidad celular, (b) aumento del eflujo transmembrana, (c) disminución de la captación microbiana, (d) destrucción del antibiótico o (e) neutralización del antibiótico antes de alcanzar su blanco de acción.

La transferencia de genes está dada principalmente a través de moléculas de ADN extracromosomal, autoreplicable y autotransferible denominadas plásmidos (Zúñiga, 2010).

N. gonorrhoeae manifiesta diversos mecanismos de resistencia adquirida que le confieren la propiedad de evadir el efecto de un gran número de antimicrobianos; además existe una especie de “memoria de resistencia” lo que le permite continuar siendo resistente a pesar de no estar expuesto a

presiones constantes de agentes antimicrobianos incluso por largos periodos de tiempo (Cruz, 2013; Herrera, 1999).

Esta resistencia en el gonococo resulta de la utilización indiscriminada de los antibióticos, que complica el control y favorece la diseminación de la resistencia frente a ellos. La variabilidad fenotípica y genética, aunado a la capacidad para incorporar nuevo material genético en el genoma (por conjugación o transformación), son características intrínsecas que agravan los fenómenos de adquisición y difusión de mecanismos de resistencia a los antibióticos en *N. gonorrhoeae*. Otero y Vázquez (2013) se refieren a esto como un problema que involucra múltiples factores donde no solo intervienen elementos inherentes a la bacteria, sino también relacionados al individuo y a los antimicrobianos.

A continuación, se describen algunos de los antimicrobianos que han sido utilizados en la terapia de la gonococia y las formas de resistencia desarrolladas por *Neisseria gonorrhoeae*.

Antibióticos β -lactámicos

Su nombre deriva de la presencia de un anillo beta-lactámico en su estructura que es esencial para su acción. Actúan sobre enzimas transpeptidasas, conocidas comúnmente como proteínas de unión de penicilina (PBPs), encargadas de sellar el entrecruzamiento de péptidos en la formación del peptidoglicano, un componente indispensable de la pared celular de las bacterias que les proporciona rigidez y estabilidad funcional. Dentro de este grupo se incluyen importantes antibióticos para el tratamiento de la gonococia como son las penicilinas en sus inicios y actualmente las cefalosporinas (Ryan y Ray, 2011).

Penicilina: Desde la introducción de este antibiótico como tratamiento de primera línea contra la gonorrea se comenzaron a desarrollar cepas productoras de penicilinas, una β -lactamasa tipo TEM-1 codificada por un gen

plasmídico, esta enzima hidroliza de manera eficiente el anillo β -lactámico de la penicilina; además, se han descrito cepas con resistencia mediada por mutaciones cromosómicas que provocan: (a) alteración de las PBPs, por medio de la mutación en genes *ponA* y *penB*, que codifican PBP1 y PBP2 respectivamente, (b) hiperexpresión de bombas de expulsión MtrCDE (mutación del gen *mtrR*) o (c) disminución de la entrada del antibiótico por alteración de porinas (mutación del gen *penB*) (Navarro, Calvo, Cantón, Fernández y Mirelis, 2011; Gianecini y cols., 2015).

Cefalosporinas: Se clasifican por generaciones (1°, 2°, 3° y 4°), siendo las de tercera generación más potentes contra organismos gramnegativos; de allí su efectividad frente a *N. gonorrhoeae*. La resistencia desarrollada por los gonococos a las cefalosporinas se debe principalmente a mutaciones que modifican las proteínas diana (PBP), y también a un aumento del flujo de salida y disminución de la afluencia del antimicrobiano, tal como lo describen Unemo y Shafer (2014). También han sido descritas mutaciones en los genes del mosaico *penA* (que codifica PBP-2), *penB* (que altera la porina PorB1b) y en el gen *mtrR* (que aumenta la expresión de la bomba de eflujo MtrCDE), lo que se traducen en pérdida de la eficacia del tratamiento. Cabe destacar, además, que las cefalosporinas, a diferencia de las penicilinas, poseen una configuración estructural que les proporciona resistencia a la hidrólisis producida por las betalactamasas.

Tetraciclinas

Inhiben la síntesis proteica a través de su unión a la subunidad 30S de los ribosomas, bloqueando la fijación del ARN de transferencia al brazo aceptor del complejo ARN mensajero-ribosoma, dando como resultado un efecto bacteriostático que provoca la muerte del microorganismo. Los gonococos pueden mostrar resistencia mediada por plásmidos y resistencia cromosómica (Unemo y Shafer, 2014).

En el primer caso se debe al gen *tetM*, precursor de la proteína tetM e inicialmente descrito en el género *Streptococcus*; esta proteína se une a los ribosomas causando una alteración en la conformación ribosomal, induciendo la liberación de la molécula de tetraciclina; y por consiguiente, se efectúa la síntesis proteica, este mecanismo le confiere al microorganismo resistencia de alto nivel a este antimicrobiano. Inicialmente el gen se integra al plásmido conjugativo y se mantiene de manera estable, pudiendo transferirse a otros gonococos por conjugación (Unemo y Shafer, 2014).

Según Prats (2013), la resistencia mediada cromosómicamente a las tetraciclinas incluye la hiperexpresión de bombas de expulsión por mutación del gen *mtrR* y disminución de la cantidad de antibiótico por mutación del gen *penB*.

Quinolonas

El cromosoma bacteriano comprende una doble cadena de ADN con disposición de doble hélice. La ADN girasa bacteriana que posee dos subunidades de GyrA y dos subunidades de GyrB y la topoisomerasa IV, tetrámero de dos subunidades ParC y dos ParE, son topoisomerasas de tipo II, esenciales para el metabolismo del ADN, que actúan rompiendo y enrollando el ADN. Así, las quinolonas intervienen inhibiendo estas enzimas y provocando un efecto bactericida (Unemo y Shafer, 2014).

En los gonococos, las mutaciones en los genes precursores *gyrA*, *gyrB* y *parC* provocan disminución de la afinidad de unión de la quinolona. Cabe destacar que mutaciones en *gyrB* confieren resistencia al ácido nalidíxico, pero mutaciones en genes *gyrA* y *parC* otorgan resistencia clínica a fluoroquinolonas como la ciprofloxacina (Navarro y cols., 2011; Prats, 2013).

Sulfonamidas

Estos antibióticos fueron el primer tratamiento utilizado contra la gonorrea. Son antimicrobianos bacteriostáticos que tienen una estructura similar al ácido paraaminobenzoico (PABA), compuesto de la vía metabólica en las bacterias. Ambas estructuras son tan similares que la enzima que debe convertir el PABA en ácido fólico se combina con la droga en lugar de hacerlo con el PABA, bloqueando la síntesis del ácido fólico sin el cual la célula bacteriana no puede vivir por ser un metabolito indispensable en la síntesis del ADN (Curtis, Barnes, Schnek y Massarini, 2008).

La resistencia expresada por los gonococos frente a este grupo de antimicrobianos puede estar mediada por un exceso en la síntesis del PABA (lo que diluye el antimicrobiano), o provocando una disminución de la afinidad de la sulfonamida por la enzima dihidropteroato sintasa (responsables de la conversión del PABA en ácido fólico) mediante alteraciones en el gen *folP* precursor de la enzima (Cruz, 2013; Unemo y Shafer, 2014).

Aminoglucósidos

En este grupo se incluye la espectinomicina, un antimicrobiano que se une a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano e interactúa específicamente con el ARNr 16S, y de esta manera inhibe la traducción de proteínas, provocando la muerte del microorganismo. Para los gonococos, se ha demostrado resistencia de alto nivel a este antibiótico, asociada a mutaciones puntuales en el sitio de acción de estos agentes (Unemo y Shafer, 2014).

Macrólidos

Fueron descubiertos cuando se detectó eritromicina de un microorganismo del suelo y años más tarde se desarrolló la azitromicina como su derivado

sintético. Los macrólidos inhiben la síntesis de proteínas a través de su unión por puentes de hidrógeno a la subunidad ribosómica 50S e interactúan con el ARNr 23S, lo cual provoca la liberación de polipéptidos incompletos dando lugar a un efecto bacteriostático (Jimmy y Duran, 2012).

La resistencia bacteriana del gonococo a este grupo antimicrobiano puede resultar de: inducción de una enzima mutante que metila el ARNr 23S, produciendo una alteración de la afinidad del receptor del macrólido logrando el bloqueo del mismo; o bien por mutaciones específicas en dicho ARNr o a través de un sistema de sobreexpresión de bombas de eflujo particularmente en la bomba MtrCDE (Unemo y Shafer, 2014).

Diagnóstico de Laboratorio de Neisseria gonorrhoeae

Obtención de la Muestra Clínica

La toma de muestra se realiza con torundas de dacrón o rayón, preferibles al algodón, que puede contener sustancias tóxicas; sin embargo, si la muestra es inoculada inmediatamente, no es tan importante el tipo de torunda. Es importante señalar que el sitio anatómico para su obtención depende de las características clínicas de la infección, del paciente y de sus hábitos sexuales. Si se trata de una mujer, la localización ideal es el endocérvix, y dependiendo de sus hábitos sexuales la muestra puede tomarse de recto, uretra o faringe; en el caso del hombre, la muestra se obtiene de la uretra, pero se puede considerar otra región según el tipo de prácticas sexuales del sujeto (Ausina y Moreno, 2006).

Aislamiento e Identificación Bacteriana

Los gonococos se pueden identificar como diplococos gramnegativos intracelulares, mediante microscopía (aumento × 1.000) a partir de frotis

teñidos con la coloración de Gram. Es el método diagnóstico más rápido, sencillo y económico y tiene una alta sensibilidad y especificidad (90%) en hombres sintomáticos que presentan la secreción uretral característica. Sin embargo, no se recomienda como único método para el diagnóstico de gonorrea cervical, faríngea o rectal, o en pacientes asintomáticos, ya que los resultados negativos no excluyen la infección. Además, la especificidad depende en gran medida de la experiencia del observador (Mandell, Bennett y Dolin, 2012).

El cultivo microbiológico, es la herramienta diagnóstica más útil, pues ofrece alta sensibilidad y una especificidad de hasta el 100%, siendo el único método establecido que permite pruebas completas de monitoreo y control de resistencia bacteriana. Sin embargo, abarca un proceso relativamente lento que requiere de estrictas condiciones de recolección, transporte y almacenamiento de la muestra para asegurar la viabilidad del microorganismo ya que los gonococos son extremadamente sensibles a factores ambientales externos, particularmente la desecación y los cambios de temperatura (Unemo y Shafer, 2014).

En este sentido, Prats (2013) describe que los gonococos son microorganismos sumamente exigentes cuyo crecimiento se ve favorecido cuando se cultivan en medios enriquecidos como el agar chocolate con suplementos nutricionales. En el caso de muestras provenientes de zonas naturalmente contaminadas como genitales, faringe y recto se recomienda el uso de medios especiales como el Thayer-Martin modificado que no solo posee suplementos, sino inhibidores antimicrobianos como vancomicina, colistín, nistatina y trimetoprim (Ausina y Moreno, 2006; Castro, 2014).

La inoculación simultánea en medios tanto selectivos como no selectivos incrementa al máximo la sensibilidad del método. Los medios de cultivo ya inoculados deben ser incubados a temperatura entre 35°C - 37°C, con humedad de 70-80% y tensión de CO₂ entre 3-7%. La incubación no debe

exceder las 72 horas, ya que por el fenómeno de autólisis las colonias tienden a desaparecer (Ausina y Moreno, 2006; Mandell y cols., 2012).

Una vez aislado el microorganismo existen pruebas bioquímicas y enzimáticas que permiten su identificación definitiva y su diferenciación de otras especies de *Neisseria* (Tabla 3). Entre ellas se describen la prueba de la oxidasa, las oxidación de azúcares y la prueba de resistencia al colistín.

Tabla 3. Características de *Neisseria gonorrhoeae* y especies gramnegativas oxidasa-positiva relacionadas.

Especie	Ácido					Reducción del Nitrato	Resistencia a Colistín
	G	M	S	F	L		
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	-	-	-	-	-	R
<i>N. meningitidis</i>	+	+	-	-	-	-	R
<i>N. lactamica</i>	+	+	-	-	+	-	R
<i>N. cinerea</i>	-	-	-	-	-	-	R
<i>N. sicca</i>	+	+	+	+	-	-	S
<i>N. flavescens</i>	-	-	-	-	-	-	S
<i>N. mucosa</i>	+	+	+	+	-	+	S

Fuente: CDC, 2013.

G= glucosa; M= maltosa; S= sacarosa; F= fructosa; L= lactosa; R=resistente; S= sensible.

Prueba de la oxidasa: Todas las especies de *Neisseria* son oxidasa positiva. Esta prueba utiliza reactivo de dihidrocloruro de tetrametil-p-fenilendiamina al 1% para detectar la presencia de la enzima citocromo

oxidasa. Si el reactivo que actúa como sustituto del oxígeno (aceptor final de electrones) es catalizado, se torna color púrpura e indica una prueba positiva (Perilla y cols., 2003).

Pruebas de detección de ácidos: Se determina la producción de ácido a partir de glucosa, maltosa, sacarosa y lactosa para diferenciar *Neisseria gonorrhoeae* de especies relacionadas. El método tradicional emplea el medio Cistina Trypticase Agar (CTA), esta base se suplementa con una solución al 1% del carbohidrato estéril y se añade como indicador rojo de fenol para detectar el ácido al cambiar el color de rojo (alcalino) a amarillo (ácido) (CDC, 2013).

Resistencia a colistín: Puede determinarse en agar chocolate GC usando los principios de la difusión en disco con un disco de 10 µg de colistina. Las cepas de *N. gonorrhoeae* son intrínsecamente resistentes a la colistina y crecerán alrededor de todo el disco al igual que las cepas de *N. meningitidis* y *N. lactamica*. Por el contrario, las cepas comensales son en su mayoría susceptibles a este antimicrobiano mostrando halos de inhibición de al menos 10 mm de diámetro. Esta prueba, por lo tanto, no es definitiva para identificar al gonococo, pero sí es útil en su diferenciación (Perilla y cols., 2003).

Resulta oportuno mencionar que en la actualidad y en entornos con mayores recursos, los ensayos para la detección de gonococos han sido reemplazados por pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (PAAN), cuya ventaja principal es la capacidad de detectar gonococos no viables, siendo un procedimiento menos exigente en lo que a recolección, transporte y almacenamiento de muestras se refiere. Las PAAN también son mucho más sensibles, rápidas y permiten la automatización, así como la detección simultánea de varios patógenos. No obstante, presentan una desventaja crítica al no permitir las pruebas de monitoreo de resistencia antimicrobiana (Unemo y Shafer, 2014).

Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana

La sensibilidad de los microorganismos frente a los antibióticos varía con el tiempo y el área geográfica; así como, del tipo de población a estudiar. En este sentido, es importante la investigación de los patrones de susceptibilidad en cada región, con la finalidad de lograr información sobre el tratamiento óptimo que pueda combatir la enfermedad y evitar la propagación de resistencia bacteriana (Mandell y cols., 2012).

Durante el proceso de determinación de la susceptibilidad antimicrobiana existen numerosos factores que pueden influir en el resultado del estudio; entre ellos cabe mencionar el medio de cultivo, el tamaño del inóculo bacteriano, la atmósfera de incubación y la concentración de los antimicrobianos utilizados. Es de suma importancia establecer controles de calidad (mediante el uso de cepas de referencia de susceptibilidad conocida) que garanticen resultados totalmente confiables (Perilla y cols., 2003).

Los métodos mas utilizados según Bernard (2007) incluyen la técnica de difusión en disco, el método de dilución en agar y el método epsilométrico (E-test). Del mismo modo Mal, Jabeen, Farooqi, Unemo y Khan (2016) describen la utilidad de un método poco común en la actualidad, el método de la sensibilidad dicotómica calibrada (CDS) cuyos resultados finales, al igual que la metodología convencional, se reflejan a través de un mecanismo de inhibición de crecimiento.

Método de dilución en agar: Es una prueba cuantitativa consistente en preparar placas de agar con concentraciones definidas del antibiótico a estudiar, generalmente a una concentración de 128 µg/mL y haciendo diluciones dobles hasta obtener un gradiente decreciente del antibiótico (64; 32; 16; 8; 4; 2...). La selección de dicho gradiente, dependerá del antibiótico y del tipo de cepa a probar. Posteriormente se inocula en el agar una suspensión calibrada del microorganismo y se incuba por un periodo de 18-24 horas. Si la cepa logra crecer en la superficie del medio, se reporta como resistente a esa

concentración del antibiótico. Si, por el contrario, no crece, se reporta como sensible a esa concentración (Winn y cols., 2008).

Con esta técnica se puede obtener la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), definida como la mínima concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de una cepa bacteriana determinada (Winn y cols., 2008).

Método epsilométrico (E-test): Se basa en el uso de tiras de plástico con concentración predefinida de un antibiótico en particular y que poseen una escala interpretativa de CMI, lo cual lo convierte en un método comparable al de dilución en agar con la ventaja de ser mucho menos extenso y laborioso. La tira se coloca sobre el agar previamente inoculado con el microorganismo y al difundir el antibiótico se observará la inhibición del crecimiento en forma elíptica alrededor de la misma. La CMI del antibiótico se determina en el sitio donde la elipse de crecimiento bacteriano intercepta la escala de concentración de la tira (Bernard, 2007).

Método de difusión en disco (técnica de Kirby-Bauer modificado): Es un método cualitativo cuyo uso solo se recomienda en caso de no poder realizarse la determinación de CMI (recursos limitados u otras razones); sin embargo, en casos novedosos, raros o emergentes debe ser confirmado por pruebas cuantitativas que arrojen resultados de CMI (Unemo y Shafer, 2014).

La prueba consiste en colocar sobre la superficie del agar (previamente inoculado con el microorganismo) discos de papel impregnados con el antibiótico a evaluar. Luego de un periodo óptimo de incubación el agente se difunde en el medio a partir del disco, originando un halo de inhibición que se extiende hasta el punto crítico en el cual la concentración del antimicrobiano logra inhibir el crecimiento bacteriano. El resultado se expresa en milímetros luego de medir el diámetro del halo, relacionándose de manera inversa con la CMI, a mayor diámetro menor CMI y viceversa; la interpretación se realiza bajo las formas de “sensible, sensibilidad intermedia y resistente” (Bernard, 2007; Winn y cols., 2008).

Método de sensibilidad dicotómica calibrada: La prueba de sensibilidad dicotómica calibrada (CDS) es un método para determinar la susceptibilidad a los antibióticos mediante la difusión de discos en agar y fue desarrollada en 1969 por Sydney M. Bell (Singh, Bala, Kakran y Ramesh., 2017). El principio de este método se basa en que todo antibiótico debe ser probado y calibrado, es decir, el tamaño de las zonas de inhibición observadas con cada especie debe estar correlacionado con valores cuantitativos como la CMI (Bell, 1975). Los resultados se interpretan midiendo el radio anular de las zonas de inhibición categorizados como susceptibles, intermedios susceptibles y resistentes (Mal y cols., 2016).

Prueba de la cefalosporina cromogénica: según lo describen Winn y cols (2008) todos los aislamientos de *N. gonorrhoeae* deben ser evaluados para la producción de β -lactamasas, preferiblemente mediante el método de nitrocefina cromogénica. La prueba consiste en hacer un pequeño frotis sobre un disco de nitrocefina con una porción de colonia. Los microorganismos que contienen β -lactamasa cambian el color inicial del disco (amarillo-naranja) a rojo intenso al hidrolizarse la nitrocefina.

La presencia de la enzima indica resistencia del microorganismo a todas las amino, carboxi y ureidopenicilinas, independientemente de los resultados de sensibilidad *in vitro* (Navarro y cols., 2011).

Detección fenotípica de resistencia a cefalosporinas de espectro extenso (CEE): se basa en la prueba de difusión del disco utilizando el disco de cefpodoxima de 10 μ g, las cepas que contienen un alelo de mosaico *penA* que codifica una proteína de unión a penicilina en mosaico 2 (PBP2) desarrollan halos de inhibición ≤ 11 mm alrededor del disco de cefpodoxima. Es una prueba fácil, rápida y de bajo costo que permite la detección de gonococos con susceptibilidad disminuida a CEE mediante la expresión de PBP2 (Limnios y cols., 2011).

Definición Operacional de Términos

Bactericida

Se refiere a aquel fármaco que destruye los microorganismos, produciendo una disminución del número bacteriano (Forbes y cols., 2009).

Bacteriostático

Es aquel fármaco cuya actividad inhibe el crecimiento de los microorganismos sin destruirlos, es decir, a diferencia del efecto bactericida impide el crecimiento bacteriano sin afectar por sí solo su número inicial (Forbes y cols., 2009).

Bomba de expulsión

Es uno de los recientes mecanismos descritos que explican la resistencia bacteriana a los antimicrobianos y es aquel capaz de eliminar varios tipos o familias de antibióticos, (también denominado bombas de expulsión activa multidroga), mediante el cual la célula bacteriana transporta fármacos antimicrobianos del interior al exterior de la célula para resistir a su efecto (Ryan y Ray, 2011).

Catalasa

Es una enzima bacteriana que cataliza la liberación de agua y oxígeno a partir del peróxido de hidrogeno, su presencia se determina por la producción rápida de burbujas cuando el cultivo bacteriano se mezcla con una solución de peróxido de hidrogeno (Forbes y cols., 2009).

Oxidasa

La citocromo oxidasa es aquella enzima de oxidorreducción que cataliza la transferencia de electrones al oxígeno molecular con la formación de agua, la prueba para detectarla consiste en cubrir las colonias bacterianas con el reactivo clorhidrato de tetrametil-p-fenilendiamina al 1% (Ryan y Ray, 2011).

Topoisomerasa

Tanto los eucariontes como los procariontes tienen topoisomerasas de los tipos I y II que tienen la capacidad de eliminar superenrollamiento del ADN, sin embargo, las bacterias tienen además una topoisomerasa del tipo II especial, conocida como ADN girasa, que introduce superenrollamiento negativo, en lugar de eliminarlo. Esto facilita el desenrollamiento de la doble hebra, estimulando muchas reacciones, incluida la iniciación tanto de la duplicación como de la transcripción del ADN (Watson, Baker, Bell, Gann, Levine y Losick 2006).

Sensible (S)

Un microorganismo sensible a un determinado antimicrobiano indica que el antibiótico en cuestión puede ser una elección adecuada para tratar la infección causada por el aislamiento bacteriano probado (Forbes y cols., 2009).

Intermedio

Cuando se obtiene este tipo de sensibilidad significa que el antimicrobiano es útil en sitios del cuerpo donde pueda concentrarse o si se usan en

concentraciones elevadas del fármaco sin alcanzar niveles de toxicidad, pero garantizando la actividad terapéutica (Forbes y cols., 2009).

Resistente

Esta categoría indica que el antimicrobiano en cuestión no es una opción adecuada para tratar la infección causada por el microorganismo, debido a que éste no es inhibido por el antibiótico a las concentraciones terapéuticas ideales o la bacteria ha desarrollado mecanismos de resistencia que evaden la actividad del fármaco (Forbes y cols., 2009).

Operacionalización del Evento de Estudio

Las variables de estudio y por ende el evento, están representados por conceptos abstractos. Estos conceptos deben ser transformados en empíricos para poder ser medidos; a este proceso se le denomina Operacionalización cuya finalidad se basa en identificar los indicadores que afirmen la presencia del evento de estudio (Palella y Martins, 2010).

En este sentido esta investigación descriptiva y de campo, admitió como evento de estudio susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *N. gonorrhoeae* (Tabla 4).

Tabla 4. Operacionalización del Evento de Estudio

Evento de Estudio	Definición Conceptual ¿Qué es?	
Sensibilidad de <i>N. gonorrhoeae</i> a los antibióticos: penicilina, ceftriaxone, cefixime, tetraciclina y ciprofloxacina.	Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son ensayos in vitro que reflejan el efecto de los antibióticos frente a microorganismos en condiciones de laboratorio, con la finalidad de observar la respuesta del paciente al tratamiento, la evolución de la infección y detectar la resistencia del microorganismo que está causando el proceso infeccioso (Murray y cols., 2009).	
Definición Operacional ¿Cómo se mide?	Dimensiones	Indicadores
Método de difusión en disco: es un método cualitativo que consiste en colocar discos impregnados de antibiótico sobre la superficie del agar inoculada con el microorganismo y al difundirse el agente en el medio a partir del disco origina un halo de inhibición (Winn y cols., 2008).	Susceptible	Diámetro del halo (mm): PEN ≥ 47 ; CRO ≥ 35 ; CEF ≥ 31 ; TET ≥ 38 ; CIP ≥ 41
	Intermedia	PEN 27-46; TET 31-37; CIP 28-40
	Resistente	PEN ≤ 46 ; TET ≤ 30 ; CIP ≤ 27
Método de concentración mínima inhibitoria (E-test): Es una prueba cuantitativa con el mismo principio de la difusión en disco pero aplica tiras de plástico que contienen una escala interpretativa con la concentración de un antibiótico específico (Bernard, 2007).	Susceptible	Concentración PEN $\leq 0,06 \mu\text{g/mL}$
	Intermedia	PEN= 0,12-1 $\mu\text{g/mL}$
	Resistente	PEN $\geq 2 \mu\text{g/mL}$

Fuente: Finol y Sánchez, 2017.

PEN= penicilina; CRO= ceftriaxone; CEF= cefixime; TET= tetraciclina; CIP= ciprofloxacina.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Hurtado (2012), afirma que los tipos de investigación se relacionan directamente con el logro esperado durante el proceso de investigación y pueden ser: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. En este sentido, la presente investigación es de tipo descriptiva, ya que se describió el comportamiento de un microorganismo (*N. gonorrhoeae*) frente a diversos antimicrobianos.

Diseño de la Investigación

Hernández y cols. (2010) definen que el diseño es aquella estrategia que se emplea para conseguir la información que se requiere en una investigación y permite responder a la pregunta de investigación. En tal sentido, el diseño de esta investigación: de campo, no experimental, de corte transversal ya que los datos fueron recolectados en el mundo empírico de laboratorio y sin ejercer manipulación de las variables.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

La Unidad de estudio estuvo conformada por 9 cepas de *N. gonorrhoeae* provenientes de un estudio sistematizado a 17 pacientes con sintomatología urogenital compatible con infección gonocócica, que acudieron a la consulta de ITS del IAHULA e ITS del Hospital II El Vigía, en el estado Mérida-Venezuela, durante el periodo abril 2017 a junio 2017.

Selección del Tamaño de la Muestra

La selección se realizó a través de un muestreo no probabilístico intencional, ya que los elementos fueron elegidos en base a las necesidades del investigador (Arias, 2006).

Los pacientes fueron seleccionados a conveniencia, según reunieran los siguientes criterios de inclusión: pacientes con sintomatología clínica de uretritis (hombres) o cervicitis (mujeres), sin antecedentes de tratamiento antibiótico al menos 8 a 10 días previos a la obtención de la muestra clínica.

Sistema de Variables

Arias (2006), define que las variables son características que pueden sufrir cambios y se pueden medir, analizar o manipular en una investigación. Según su función se pueden clasificar en tres categorías: independiente, dependiente e interviniente. Sin embargo, en esta investigación por ser de tipo descriptiva las variables no han sido sistematizadas.

Instrumento de Recolección de Datos

En el presente estudio, la recolección de datos y la información clínico – epidemiológica de los pacientes se realizó a través de la observación directa, para lo cual se aplicó el instrumento tipo entrevista (Anexo A).

Los procedimientos se hicieron siguiendo los lineamientos establecidos en la Declaración de Helsinki para investigación en seres humanos reseñado en el Código de Bioética y Bioseguridad del Fondo Nacional para la Ciencia y Tecnología (Briceño y cols., 2002).

Procedimientos de la Investigación

Previa a la obtención de la muestra clínica, cada paciente fue informado sobre los objetivos de la investigación, con el propósito de que pudiese manifestar de forma voluntaria, su deseo de participar o no en el presente estudio; de igual modo, se solicitó su consentimiento o del representante legal por escrito (Anexo B).

El análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Microbiológicas “*Profª Celina Araujo de Pérez*”, adscrito al Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

La recolección de la muestra y su procesamiento se llevaron a cabo de acuerdo al siguiente protocolo (Figura 3):

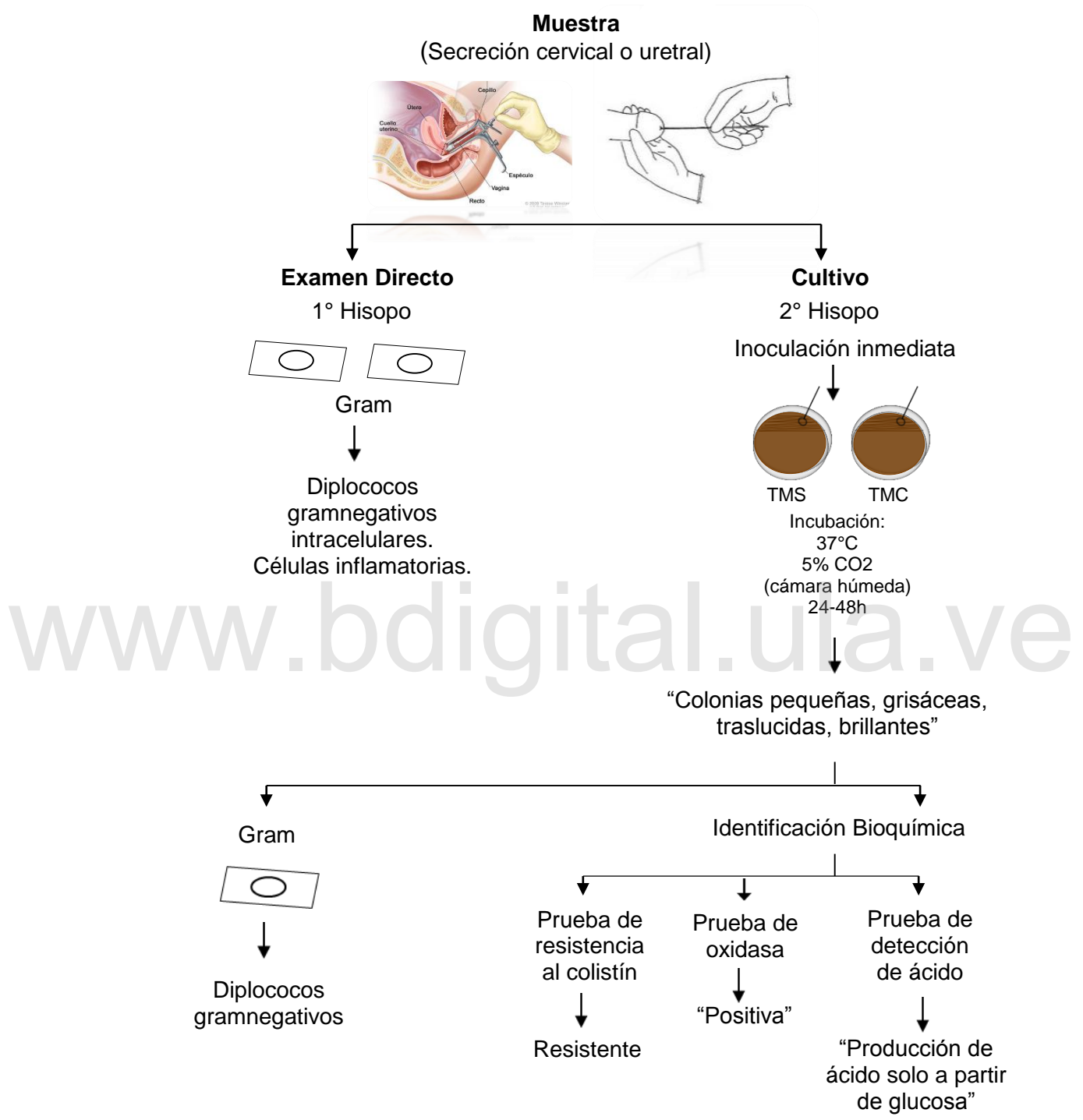


Figura 3. Aislamiento e Identificación de *Neisseria gonorrhoeae*

Obtención de la muestra

La muestra clínica consistió en una secreción purulenta, ésta fue obtenida con hisopos de algodón estériles de la parte anterior de la uretra en el caso de los hombres y del endocérvix en el caso de mujeres. De cada paciente se recolectaron dos hisopados consecutivos; con el primer hisopo se prepararon dos frotis para coloración de Gram y con el segundo se inocularon los medios de cultivo Thayer Martin modificado (Diagnostic Liofilchem) y Agar Chocolate con base GC (DIFCO™) suplementado con Vitox (OXOID).

Examen Directo

La lectura del Gram se realizó con objetivo de inmersión (100X); se consideró como diagnóstico sugestivo de infección por *N. gonorrhoeae*, aquellas muestras donde se observaron diplococos gramnegativos intracelulares y extracelulares (Anexo C).

Cultivo

Los medios de cultivo inoculados fueron incubados entre 35°C y 37°C, en atmosfera húmeda y en condiciones de microaerobiosis, por espacio de 24 a 48 horas. Al cabo de este tiempo se observó el desarrollo de colonias pequeñas, brillantes, elevadas, grisáceas y traslúcidas (Anexo D); a partir de las cuales se realizó Gram para confirmar la morfología del microorganismo y repique en Agar Chocolate suplementado con VitoX®.

Identificación

Del cultivo puro se realizó la prueba de producción de citocromo oxidasa, utilizando el reactivo dihidrocloruro de tetrametil-p-fenilendiamina al 1%; la

reacción positiva se manifestó por la formación de un compuesto coloreado de púrpura (Anexo E).

La prueba de detección de ácidos se llevó a cabo mediante la inoculación de 3 a 4 colonias en tubos conteniendo azúcares preparados con base CTA (Cystine, tryptone agar, Himedia) y 1% de los carbohidratos glucosa, lactosa, sacarosa y maltosa para cada tubo. La producción de ácido a partir de glucosa permitió la identificación definitiva de las cepas de *N. gonorrhoeae*, lo cual se evidenció por el cambio de color del indicador rojo de fenol a amarillo (Anexo F).

Resistencia a colistín: se realizó conjuntamente con la prueba de susceptibilidad antimicrobiana Kirby Bauer, utilizando un disco de 10 µg de colistín. Todas las cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en el presente estudio fueron resistentes al colistín (halo=6mm) (Anexo G).

Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana (PSA)

El proceso para la determinación de los patrones de susceptibilidad antimicrobiana de *N. gonorrhoeae* se llevó a efecto según recomendaciones establecidas por el CLSI (Figura 4).

a. Preparación del inóculo: Se elaboró una suspensión del microorganismo en solución salina fisiológica, éste se ajustó al estándar 0,5 de McFarland (bioMerieux), equivalente a una concentración microbiana de 10^8 UFC/mL (CLSI, 2017).

b. Método de difusión en disco (Kirby – Bauer modificado): se impregnó un hisopo estéril con la suspensión anterior y se inoculó en placas de agar base GC con 1% de suplemento de crecimiento (L-cistina, guanina HCl, tiamina HCl, ácido para-aminobenzoico, B12, cocarboxilasa, dinucleótido de nicotinamida y adenina, adenina, L-glutamina, glucosa, nitrato férrico, L-cisteína HCl, OXOID); las placas se mantuvieron a temperatura ambiente por espacio de 10 minutos antes de la aplicación de los discos de antibióticos, entre ellos:

Preparación del Inóculo a partir de cepa fresca

Suspensión de colonias en S.S.F.



Ajuste de turbidez a patrón 0,5 de McFarland

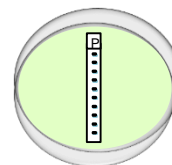
Inoculación en medio GC + 1% de suplemento



Método de Difusión en Disco



Método de Concentración Mínima Inhibitoria a la penicilina



Incubación:
37°C
5% CO₂
(cámara húmeda)
24-48h

Lectura de Antibiograma

Reporte e interpretación de Resultados

Figura 4. Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana en *Neisseria gonorrhoeae*

penicilina (10 unidades, OXOID), tetraciclina (30µg, BBL), ciprofloxacina (5 µg, OXOID), cefixime (5 µg, OXOID), ceftriaxone (30 µg, BBL) y gentamicina (10 µg, OXOID).

La incubación de las placas se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones: temperatura a 37 °C y ambiente enriquecido con 5% de CO₂, durante un periodo de 20-24 horas. Finalmente se realizó la medición de los halos de inhibición y la interpretación se confrontó con la información suministrada por el CLSI (2017) (Anexo H).

Para el control de calidad de los discos empleados se utilizaron las cepas: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Anexo I).

c. Método M.I.C. Evaluator® (OXOID): Este sistema permitió determinar cuantitativamente la concentración mínima inhibitoria a la penicilina, a través de un gradiente de antibiótico estabilizado en una tira de plástico con 30 graduaciones, para ofrecer un intervalo entre 256 µg/mL – 0,015 µg/mL. En una placa de Agar GC más suplemento, previamente inoculado con la suspensión de *N. gonorrhoeae*, se colocó sobre la superficie del agar una tira de M.I.C.E. con la escala hacia arriba y el gradiente de antibiótico hacia abajo. La incubación de la placa se realizó a 37 °C, en microaerobiosis, durante un periodo de 20-24 horas. La lectura de la CMI se efectuó en el punto donde el crecimiento del microorganismo tocó la escala graduada de la tira, cuya interpretación se realizó según lo establecido por el CLSI (2017) (Anexo J).

Para el control de calidad de las tiras se utilizó la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Diseño de Análisis

Los datos recolectados en un proceso de investigación pueden ser analizados a través de dos tipos de enfoques: cualitativo y cuantitativo (Palella y Martins, 2010; Hurtado, 2010). En la presente investigación los datos fueron analizados a través de un enfoque cuantitativo, ya que los datos se expresaron numéricamente y se analizaron a través de estadísticos descriptivos. Específicamente los datos obtenidos fueron analizados según el diseño bivariante y bicategorico a través del *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) versión 15.0. El análisis estadístico se realizó en una fase:

- Fase descriptiva, mediante frecuencias absolutas y relativas.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Características epidemiológicas de nueve casos clínicos de infección gonocócica

Fueron estudiados un total de 17 pacientes con características clínicas compatibles con gonorrea. De ellos, se detectaron 9 casos de *N. gonorrhoeae*, representando una frecuencia del 52,94%. Entre las características epidemiológicas se encontró que la mayoría de los pacientes eran individuos del sexo masculino, procedentes del Estado Mérida; todos reportaron un contacto sospechoso infectante, en su mayoría casual (Tabla 5).

Resultados de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos (PSA)

- La sensibilidad a la penicilina fue evaluada por los métodos de difusión en disco (Kirby-Bauer) y CMI. De los 9 aislamientos de gonococos solo se pudo estudiar la sensibilidad a 8 cepas, dado que un caso no mantuvo la viabilidad en las PSA. Del total estudiado, 7 aislados resultaron resistentes a la penicilina (CMI \geq 4 μ g/mL) y uno con sensibilidad intermedia (CMI=0,5 μ g/mL). Hubo correlación entre los rangos interpretativos de ambos métodos.

Tabla 5. Características epidemiológicas de 9 casos de infección gonocócica. Consulta ITS – IAHULA y Hospital II El Vigía, abril-junio 2017

Caso N°	Edad	Género	Procedencia	Contacto Infectante	Tratamiento Previo
1	18	F	HOSPITAL II EL VIGÍA	Casual	No
2	12	M	IAHULA	Casual	Amoxicilina - Penicilina
3	33	M	HOSPITAL II EL VIGÍA	Esposa	No
4	48	M	IAHULA	Casual	Penicilina
5	23	M	HOSPITAL II EL VIGÍA	Casual	No
6	35	M	HOSPITAL II EL VIGÍA	Casual	Ciprofloxacina
7	53	M	HOSPITAL II EL VIGÍA	Casual	No
8	19	M	HOSPITAL II EL VIGÍA	Casual	No
9	22	M	HOSPITAL II EL VIGÍA	Casual	No

Fuente: Finol y Sánchez, 2017.

F= femenino; M= masculino; IAHULA= Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes.

- En la Tabla 6 se especifican los resultados obtenidos de la CMI a la penicilina para los 8 aislamientos de *N. gonorrhoeae*. Se puede observar que 4 cepas presentaron CMI mayor a 32 µg/mL con halos de inhibición menores a 16 mm.
- Todas las cepas resultaron sensibles a ceftriaxone y cefixime. En cuanto a la ciprofloxacina, 6 aislamientos de *N. gonorrhoeae* fueron resistentes y solo 2 aislamientos fueron sensibles. Frente a la tetraciclina 5 cepas resultaron resistentes, 2 con sensibilidad intermedia y un aislado fue sensible (Tabla 7).
- Con base a los datos obtenidos se detectaron 5 patrones de sensibilidad diferentes en la unidad de estudio seleccionada (Tabla 7).
- Con respecto a la gentamicina, el CLSI no ha establecido criterios de susceptibilidad para *N. gonorrhoeae*. En la Tabla 8 se registraron los halos de inhibición que presentaron las 8 cepas de gonococos evaluadas, tomando como puntos de corte para su interpretación la información suministrada por Bala y cols. (2016b).
- En la tabla 9 se describen las frecuencias absolutas y relativas de los fenotipos de sensibilidad obtenidos en esta investigación.

Tabla 6. Clasificación de 8 aislamientos clínicos de *Neisseria gonorrhoeae* en función de la concentración mínima inhibitoria a la penicilina. Consulta ITS – IAHULA y Hospital II El Vigía, abril-junio 2017.

Cepa N°	Concentración Mínima Inhibitoria (µg/mL) ^a								
	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	>32
1		x							
2									x
3						x			
4									x
5									x
6					x				
7					x				
8									x

Fuente: Finol y Sánchez, 2017.

a= Rangos de control de la C.M.I (µg/mL) según CLSI, 2017: sensible ≤ 0,06; intermedia: 0,12-1, Resistente ≥ 2.

Tabla 7. Patrones de susceptibilidad antimicrobiana de 8 aislamientos clínicos de *Neisseria gonorrhoeae* a los antibióticos: penicilina, ceftriaxone, cefixime, ciprofloxacina y tetraciclina. Consulta ITS – IAHULA y Hospital II El Vigía, abril-junio 2017

Cepa N°	PEN	CRO	CEF	CIP	TET	Perfil de Susceptibilidad
1	I	S	S	R	R	I
2	R	S	S	R	R	II
3	R	S	S	S	R	III
4	R	S	S	R	S	IV
5	R	S	S	R	I	V
6	R	S	S	R	R	II
7	R	S	S	S	R	III
8	R	S	S	R	I	V

Fuente: Finol y Sánchez, 2017.

I: intermedio; S: sensible; R: resistente; PEN: penicilina; CRO: ceftriaxone; CEF: cefixime; TET: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina.

Tabla 8. Clasificación de 8 aislamientos clínicos de *Neisseria gonorrhoeae* en función de los halos de inhibición al disco de gentamicina (10µg). Consulta ITS – IAHULA y Hospital II El Vigía, abril-junio 2017.

Cepa N°	Diámetro de halo (mm) ^a	Interpretación
1	10	R
2	17	S
3	18	S
4	24	S
5	20	S
6	19	S
7	17	S
8	19	S

Fuente: Finol y Sánchez, 2017.

R: resistente; S: sensible

a: Rangos de interpretación del diámetro del halo según Bala y cols. (2016b): sensible ≥ 16 mm; moderadamente sensible: 13-15 mm , resistente ≤ 12 mm.

Tabla 9. Frecuencias Absolutas y Relativas de los fenotipos de sensibilidad antimicrobiana de 8 aislamientos clínicos de *Neisseria gonorrhoeae* a los antibióticos: penicilina, ceftriaxone, cefixime, ciprofloxacina, tetraciclina y gentamicina. Consulta ITS – IAHULA y Hospital II El Vigía, abril-junio 2017

Fenotipos de Sensibilidad*						
Antibióticos	Sensible ^a		Sensibilidad Intermedia ^b		Resistente ^c	
	N°	%	N°	%	N°	%
PEN	0	0	1	12,5	7	87,5
CRO	8	100	0	0	0	0
CEF	8	100	0	0	0	0
CIP	2	25	0	0	6	75
TET	1	12,5	2	25	5	62,5
GN	7	87,5	0	0	1	12,5

Fuente: Finol y Sánchez, 2017.

PEN: penicilina; CRO: ceftriaxone; CEF: cefixime; TET: tetraciclina; CIP: ciprofloxacina; GN: gentamicina.

* Determinados por el método de Difusión en Disco según el diámetro del halo (mm).

a: PEN \geq 47; CRO \geq 35; CEF \geq 31; TET \geq 38; CIP \geq 41; GN \geq 16.

b: PEN 27-46; TET 31-37; CIP 28-40; GN 13-15

c: PEN \leq 46; TET \leq 30; CIP \leq 27; GN \leq 12

Discusión

El control de las infecciones gonocócicas se fundamenta en el tratamiento empírico con un antibiótico efectivo a dosis única en la primera presentación clínica del paciente; la selección del antibiótico se basa en los datos suministrados por el programa de vigilancia de la resistencia antimicrobiana del gonococo (GRASP, por sus siglas en inglés, Gonococcal Resistance to Antimicrobial Surveillance Programme); no obstante, el CDC recomienda desarrollar programas de monitorización de la resistencia en cada área geográfica, con el fin de establecer esquemas terapéuticos actualizados que garanticen la curación del paciente.

En Venezuela, así como en otros países en vías de desarrollo la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos plantea retos importantes, en el caso particular de *N. gonorrhoeae* existen dificultades para la práctica de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (PSA) debido a las exigencias nutricionales del microorganismo que aumenta los costos para su ejecución; en consecuencia, en los principales centros de atención para pacientes con ITS no se practican de rutina cultivos ni PSA para gonococos, lo que conlleva al desconocimiento de los patrones de susceptibilidad de este importante patógeno de transmisión sexual.

Al respecto, el Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS) ha establecido como protocolo para el tratamiento de la gonococia el uso de azitromicina y cefalosporinas de tercera generación, apoyado en datos nacionales e internacionales de resistencia de los gonococos, Sin embargo, los centros asistenciales de salud administran la gentamicina en dosis única como terapia anti-gonocócica, basándose, en la experiencia empírica, la efectividad del fármaco y su bajo coste económico; no obstante, faltan datos validados que certifiquen su uso como tratamiento contra la gonorrea. (MPPS, 2014)

Con base a los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede evidenciar el alto porcentaje de resistencia de *N. gonorrhoeae* a la penicilina (100% de cepas resistentes o sensibilidad disminuida), tetraciclina (87,5% resistentes o con sensibilidad intermedia) y ciprofloxacina (75% de cepas resistentes); de manera que, ninguno de estos antibióticos puede ser indicado como tratamiento empírico de elección. Resultados similares han sido descritos en la literatura internacional (Bedeschi y cols., 2013; Brunner y cols., 2014; D'Alessandro y cols., 2013; Lee y cols. 2015 y Sethi y cols., 2013).

En Venezuela, la resistencia de *N. gonorrhoeae* a los antibióticos no se ha documentado suficientemente; son escasas las publicaciones sobre este tóxico. En este sentido, Flores y cols. (2012), en el estado Sucre reportaron 19 de 20 aislamientos que representó el 95% de los gonococos, resistentes a la penicilina, siendo el 89,5% productor de penicilinasas. En nuestro trabajo no se logró conseguir el reactivo para la detección de la enzima betalactamasa; no obstante, 4 cepas de *N. gonorrhoeae* (50%), presentaron CMI para la penicilina mayor a 32 µg/mL, con halos de inhibición menores a 16 mm, considerándose como cepas probablemente productoras de β-lactamasa, tal como lo describe el CLSI (2017).

Un aspecto interesante en este estudio fue el uso de la prueba E-test para la determinación de la CMI a la penicilina, obteniéndose una excelente correlación con el método de difusión del disco (Kirby – Bauer modificado) de acuerdo a las especificaciones del CLSI (2017); aun cuando es un ensayo sencillo de realizar para la investigación de CMI tiene la limitante del alto costo económico comparado con el método convencional.

Con relación al comportamiento de *N. gonorrhoeae* frente a la tetraciclina, se encontró un alto porcentaje de resistencia al mismo (62,5%), resultados similares lo refieren García y cols. (2016), quienes afirman que en la actualidad la resistencia a la tetraciclina supera el 70%.

El CLSI (2017) describe, que los gonococos con diámetros ≤ 19 mm de la zona de inhibición al disco de tetraciclina de 30 µg, indican usualmente un

mecanismo de resistencia mediado por plásmidos. En nuestra investigación, 2 de las cepas evaluadas (25%) presentaron diámetros entre 13 y 15 mm, lo que permite inferir la posible presencia de plásmidos portadores del gen *tetM* en estos aislamientos.

En este estudio, la mayoría de los aislamientos (75%) presentó resistencia a la ciprofloxacina, lo que concuerda con los hallazgos recientes de D'Alessandro y cols. (2013), Sethi y cols. (2013), Brunner y cols. (2014), Lee y cols. (2015), Cobo y cols. (2016).

Las cefalosporinas de tercera generación también conocidas como cefalosporina de espectro extenso (CEE), son los antibióticos de elección para el tratamiento de la gonococia a nivel mundial; no obstante, desde la aparición de la primera cepa de *N. gonorrhoeae* con sensibilidad disminuida a las CEE, en Japón en el año 2001, se han descrito cada vez más casos a nivel mundial. Brunner y cols. (2014) aislaron 1 cepa resistente de 582 aislamientos, Cobo y cols. (2016) identificaron 1 de 65 aislamientos, Lebedzeu y cols. (2015) detectaron 1 cepa resistente de un total de 193 estudiadas; por su parte, Lee y cols. (2015) aislaron 9 cepas de 210 casos.

En esta investigación todos los aislamientos clínicos de *N. gonorrhoeae* fueron sensibles a ceftriaxone y cefixime; estos resultados concuerdan con los hallazgos de otros autores (Bedeschi y cols., 2013; D'Alessandro y cols., 2013; Sethi y cols., 2013).

La existencia de cepas de gonococos resistentes o con sensibilidad disminuida *in vitro* a las CEE, conlleva al uso de terapia dual para el tratamiento de las infecciones gonocócicas (CDC, 2016).

Estos datos demuestran la importancia de monitorear la susceptibilidad antimicrobiana de *N. gonorrhoeae* en cada región, dado el alarmante desarrollo de gonococos resistentes a múltiples fármacos.

En este sentido, a nivel internacional ya se están evaluando esquemas terapéuticos alternativos para tratar los aislamientos de gonococos resistentes y con sensibilidad disminuida a las cefalosporinas de tercera generación; por

consiguiente, en esta investigación se incluyó el estudio de la respuesta del gonococo frente a la gentamicina, un aminoglucósido que ha sido utilizado desde el año 2007 para el tratamiento de la gonorrea en países en vías de desarrollo como la India (Bala y cols., 2016a).

En un trabajo realizado por Bala y cols. (2016b) con el apoyo de la OMS y otros entes internacionales, los investigadores propusieron puntos de corte interpretativos para la gentamicina frente a *N. gonorrhoeae*, tanto para el método de difusión en disco como para CMI. Los datos no han sido validados por alguno de los principales organismos de referencia de puntos de corte como CLSI, EUCAST o CDS; sin embargo, la investigación se realizó por dos métodos de difusión del disco y determinación de CMI, bajo un esquema de aseguramiento de la calidad, utilizando 10 cepas de referencia internacional.

Los puntos de corte propuestos para CMI a la gentamicina se clasifican en sensible ≤ 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, moderadamente susceptible 8-16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y resistente ≥ 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Por el método de difusión del disco los puntos de cortes referidos son: sensible ≥ 16 mm, moderadamente susceptible 13-15 mm y resistente ≤ 12 mm. Mediante la técnica CDS los valores de referencia se corresponden con: Sensible ≥ 6 mm, menos sensible 3-5 mm y resistente ≤ 2 mm (Bala y cols., 2016b).

De acuerdo a la información suministrada en la referida publicación, el presente estudio detectó 7 de 8 cepas de *N. gonorrhoeae* (87,5%) sensibles a la gentamicina y una cepa fue resistente (12,5%). Estos datos reafirman la necesidad de implementar estudios de vigilancia epidemiológica de la sensibilidad antimicrobiana de los gonococos a la gentamicina, puesto que, algunos autores (Bala y cols., 2016b; Unemo, 2015) sugieren que este antibiótico podría ser considerado como una opción de tratamiento efectivo dada la baja resistencia que se observó en sus estudios; sobre todo, contra cepas de *N. gonorrhoeae* multidrogo-resistentes en poblaciones de escasos recursos.

De igual manera, se recomienda en aquellos entornos donde no sea factible la realización de CMI, realizar la prueba de difusión del disco utilizando un disco de gentamicina de 10 µg; esta determinación sería de gran utilidad como estrategia para la vigilancia de gonococos resistente a los antimicrobianos.

En este estudio, las limitaciones de orden económico no permitieron la evaluación de un mayor número de cepas de *N. gonorrhoeae*: no obstante, esta investigación tiene un gran aporte científico porque es el primer ensayo que proporciona datos actualizados de sensibilidad a los antimicrobianos a nivel local; por otra parte, podemos percibir la variabilidad de los mecanismos de resistencia en los gonococos que circulan en la población como lo demuestran los diferentes patrones de sensibilidad antimicrobiana detectados; en este sentido, es imperioso fomentar los programas de vigilancia epidemiológica de gonococos resistentes a los antibióticos y así poder establecer esquemas terapéuticos eficaces en cada área geográfica.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- En la presente investigación, 7 de 8 cepas (87,5%) de *N. gonorrhoeae* fueron resistentes a la penicilina (CMI \geq 4 μ g/mL), siendo 4 aislamientos sospechosos de producir β -lactamasa (CMI \geq 32 μ g/mL).
- Todos los aislamientos de *N. gonorrhoeae* fueron sensibles a las cefalosporinas de espectro extenso, ceftriaxone y cefixime.
- Del total de cepas evaluadas, el 62,5% de los gonococos fueron resistentes a la tetraciclina; siendo 2 cepas (25%) resistentes por un posible mecanismo mediado por plásmidos (halo de inhibición \leq 19mm).
- El 75% de los aislamientos clínicos de *N. gonorrhoeae* fueron resistentes a la ciprofloxacina.
- Con base a los puntos de corte provisionales para la gentamicina frente a *N. gonorrhoeae* se registraron 7 cepas (87,5%) sensibles a este antibiótico y 1 (12,5%) fue resistente.

- En este estudio se determinaron 5 patrones de sensibilidad antimicrobiana diferentes en 8 aislamientos clínicos de *N. gonorrhoeae*.
- Esta investigación aporta datos importantes sobre la presencia de gonococos multirresistentes en la población merideña.
- Los resultados obtenidos en este trabajo confirman el hecho de que la penicilina, tetraciclina y ciprofloxacina no se deben indicar para el tratamiento de la gonococia a nivel local.
- Respecto a la gentamicina, se requiere de estudios más amplios y sistematizados con metodologías recomendadas por organismos internacionales como el CLSI antes de que se puedan recomendar formalmente criterios definitivos para la interpretación de las categorías de susceptibilidad de este antimicrobiano.

www.bdigital.ula.ve

Recomendaciones

- Practicar estudios microbiológicos para la confirmación etiológica de los casos clínicos sospechosos de gonococia.
- Realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana a todo aislamiento de *N. gonorrhoeae*, con la finalidad de detectar resistencia a los antimicrobianos.
- En laboratorios con escasos recursos se recomienda la utilización de la técnica de difusión en disco para determinar la susceptibilidad a los antimicrobianos de primera elección entre ellos: ceftriaxone, cefixime y azitromicina; así mismo, anexar un disco de gentamicina de 10 µg con el fin de implementar un sistema de vigilancia epidemiológica de la susceptibilidad de *N. gonorrhoeae* a este antibiótico.
- Con base a la revisión exhaustiva sobre el tema, los autores recomiendan el uso de la terapia dual ceftriaxone-azitromicina para el tratamiento de la gonococia no complicada a nivel local.
- En caso de utilizar la gentamicina como tratamiento alternativo contra la gonorrea, se recomienda la realización de pruebas de susceptibilidad y el seguimiento clínico-microbiológico del paciente. Es preponderante la recolección de información científica para la validación de los puntos de corte interpretativos para dicho antibiótico.
- Desde el punto de vista epidemiológico se recomienda la caracterización molecular de las cepas de *N. gonorrhoeae* para detectar los diferentes mecanismos de resistencia que se describen en este

importante patógeno de transmisión sexual y trazar su distribución en la población con el objeto de fortalecer los programas de vigilancia epidemiológica de la resistencia a los antimicrobianos.

- Extender este tipo de estudios a un mayor número de cepas de *N. gonorrhoeae* y en diferentes áreas geográficas de nuestro país, para fortalecer las guías terapéuticas nacionales.
- Contribuir con el sistema de prevención primaria de las ITS para el control de la gonococia en la población sexualmente activa y por consiguiente limitar la diseminación de la resistencia a los antimicrobianos.

www.bdigital.ula.ve

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

- Alarco, J. (2014). Resistencia bacteriana: una pandemia silente. *Revista Médica Panacea*, 4(1), 1-2.
- Arias, F. (2006). *El Proyecto de Investigación. Introducción a la metodología científica* (5° ed.). Caracas, Venezuela: Episteme.
- Ausina, V. y Moreno, S. (2006). *Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Madrid, España: Editorial Medica Panamericana.
- Bala, M., Singh, V., Bhargava, A., Kakran, M., Joshi, N. C. y Bhatnagar, R. (2016a). Gentamicin Susceptibility among a Sample of Multidrug-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Isolates in India [Resumen en línea]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(12), 7518-7521. Disponible: <http://aac.asm.org/content/60/12/7518.short> [Consulta: 2017, abril 25].
- Bala, M., Singh, V., Philipova, I., Bhargava, A., Joshi, N. C. y Unemo, M. (2016b). Gentamicin *in vitro* activity and tentative gentamicin interpretation criteria for the CLSI and calibrated dichotomous sensitivity disc diffusion methods for *Neisseria gonorrhoeae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71, 1856-1859.
- Bedeschi, L., Pietra, E., Vieira, V., Preta, V. y Teixeira, M. (2013). Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from patients attending a public referral center for sexually transmitted diseases in Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46(3), 304-309.
- Bernard, J. (2007). *El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico*. Madrid, España: Marbán Libros.

Bravo, J., Torrico, E., Trigoso, C., Trigoso, M., Garnica, M. y Aruni, J. (2009). Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de dos centros de salud en la ciudad de la Paz y El Alto. *BIOFARBO*, 17(2), 8-14.

Briceño, E.; Suárez, E.; Michelangi, C.; Feliciangeli, D.; Ptaiza, E.; Mendible J.; Villalón, E.; Aguilera, M.; Ceballo, H.; Godoy, J.; Camilloni, C. (2002). *Código de Bioética y Bioseguridad. Ministerio de Ciencia y Tecnología (FONACIT)*. (2° ed.). Venezuela.

Brunner, A., Nemes-Nikodem, E., Mihalik, N., Marschalko, M., Cárpatos, S. y Ostorhazi, E. (2014). Incidence and antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from patients attending the national *Neisseria gonorrhoeae* reference laboratory of Hungary. *BMC Infectious Diseases*, 14(1), 433.

Castro, A. (2014). *Bacteriología médica basada en problemas*. (2° ed.). Bogotá, Colombia: El Manual Moderno.

Centers for Disease Control and Prevention. (2013). Acid Detection Test. En *Centers for Disease Control and Prevention*. [Página web en línea]. Disponible: <https://www.cdc.gov/std/gonorrhea/lab/tests/acid.htm> [Consulta: 2017, marzo 27].

Centers for Disease Control and Prevention. (2016). Gonorrhea. En *Centers for Disease Control and Prevention*. [Página web en línea]. Disponible: <http://www.cdc.gov/std/stats15/gonorrhea.htm> [Consulta: 2016, octubre 16].

Centers for Disease Control and Prevention. (2016). Gonococcal Infections. En *Centers for Disease Control and Prevention*. [Página web en línea].

Disponible: <http://www.cdc.gov/std/tg2015/gonorrhea.htm> [Consulta: 2016, octubre 31].

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2017). *M100. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (27° ed). Wayne, PA.

Cobo, F., Cabezas, MT. y Cabeza, MI. (2016). Antimicrobial susceptibility and typing of *Neisseria gonorrhoeae* strains from Southern Spain, 2012–2014. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(1), 3-7.

Conde, C. y Uribe, F. (1997). Gonorrea: la perspectiva clásica y la actual. *Salud Pública de México*, 39(6), 543-579.

Cruz, A. (2013). Infección por *Neisseria gonorrhoeae* intratable: ¿la amenaza del siglo XXI? *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología*, 21(4), 298-301.

Curtis, H., Barnes N., Schnek, A. y Massarini A. (2008). *Curtis. Biología* (7° ed.). Madrid, España: Editorial Medica Panamericana.

D'Alessandro, F., Velasco, P., Konowalczyk, A., Dourado, E., Montoto, M., Manzoti, G., Scorzato L., Romeo A., Millara M. y Perrone M. (2013). *Neisseria gonorrhoeae* multirresistente. Una realidad de nuestro hospital. *Revista Argentina de Urología*, 78(4), 130-133.

Díaz, A., Herrando, I. y Díez, M. (2013). Resistencias Antibióticas de *Neisseria gonorrhoeae*: Una situación emergente. *Boletín Epidemiológico Semanal*, 21(14), 178-192.

Figuroa, R. (2013). Uretritis gonocócica. *Perinatología y Reproducción Humana*, 27(2), 113-122.

Forbes, B., Sahm, D., y Weissfeld, A. (2009). *Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico* (12° ed.). Madrid, España: Editorial Medica Panamericana.

- Flores, E., Márquez, Y. y Alvarado, L. (2012). Susceptibilidad antimicrobiana y producción de betalactamasa en aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae*, Cumaná, estado Sucre, Venezuela, 2008-2009. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32(1), 18-21.
- García, S., Casco, R., Losada, M., Perazzi, B., Vay, C. y Famiglietti, A. (2016). Estado actual de la gonorrea. *Revista de la Asociación Médica Argentina*, 129(2), 6-9.
- Gianecini, R., Oviedo, C., Guantay, C., Piccoli, L., Stafforini, G., y Galarza, P. (2015). Prevalence of *bla*TEM-220 gene in Penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* strains carrying Toronto/Rio plasmid in Argentina, 2002 – 2011. *BMC Infectious Diseases*, 15, 571.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2010). *Metodología de la Investigación* (5° ed.). México: Mc Graw Hill.
- Herrera, M. (1999). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: Metodología de laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 34, 33-41.
- Heymann, D. (2005). *El control de las enfermedades transmisibles*. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud.
- Hurtado, J. (2010). *Metodología de la investigación. Guía para una comprensión holística de la ciencia*. (4° ed.). Caracas, Venezuela: Quirón Ediciones
- Instituto de Salud Pública de Chile. (2012). Alerta de resistencia en infección por *Neisseria gonorrhoeae*. *Boletín Laboratorio y Vigilancia al Día* (12), 1-12.

Jimmy, E. y Duran, R. (2012). Macrólidos y Aminoglucósidos. *Revista de Actualización Clínica*, 26, 1275-1280.

Lebedzeu, F., Golparian, D., Titov, L., Pankratava, N., Glazkova, S., Shimanskaya, I., Charniakova, N., Lukyanau, A., Domeika, M., y Unemo, M. (2015). Antimicrobial susceptibility/resistance and MG-MAST characterization of *Neisseria gonorrhoeae* in Belarus, Eastern Europe, 2010-2013. *BMC Infectious Diseases*, 15(1), 29.

Lee, H., Unemo, M., Kim, HJ., Seo, Y., Lee, K. y Chong, Y. (2015). Emergence of decreased susceptibility and resistance to extended-spectrum cephalosporins in *Neisseria gonorrhoeae* in Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(9), 2536-2542.

Lewin, B. (1993). *Genes* (2° ed., Vol. 2). Barcelona, España: Reverté.

Limnios, A., Tapsall, J., Kahlmeter, J., Hogan, T., Ray, S., Lam, A. y Unemo, M. (2011). Cefpodoxime 10 µg disc screening test for detection of *Neisseria gonorrhoeae* with mosaic PBP2 and decreased susceptibility to extended-spectrum cephalosporins for public health purposes. *APMIS* 119(6), 356-363.

Llorente, C., Sosa, J., Llanes, R., Pérez, J. y Hernandez, J. (2002). Susceptibilidad antimicrobiana y perfil plasmídico en cepas de *Neisseria gonorrhoeae* aisladas en Cuba. *Bioquímica*, 27(3), 69-74.

Mal, P., Jabeen, K., Farooqi, J., Unemo, M. y Khan, E. (2016). Antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Pakistan by Etest compared to Calibrated Dichotomous Sensitivity and Clinical Laboratory Standards Institute disc diffusion techniques. *BMC Microbiology*, 16, 236

Mandell, G., Bennett, J. y Dolin, R. (2012). *Enfermedades Infecciosas. Principios y prácticas* (7° ed., Vol. 2). Barcelona, España: Elsevier.

Ministerio del Poder Popular para la Salud. (2014). *Protocolos Clínicos de Atención Integral a las y los Adolescentes: Servicios del primer y segundo nivel de atención* (1° ed.). Caracas, Venezuela.

Murray, P., Rosenthal, K. y Pfaller, M. (2009). *Microbiología Médica* (6° ed.). España: Elsevier.

Nabu, S., Lawung, R., Isarankura-Na-Ayudhya, P., Isarankura-Na-Ayudhya, C., Roytrakul, S. y Prachavasittikul, V. (2014). Reference map and comparative proteomic analysis of *Neisseria gonorrhoeae* displaying high resistance against spectinomycin. *Journal of Medical Microbiology*, 63(3), 371-385.

Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández-Cuenca, F., y Mirelis, B. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(7), 524-534.

Organización Mundial de la Salud. (2012). La OMS aconseja actuar urgentemente contra la propagación de la gonorrea resistente a los antibióticos. En *Organización Mundial de la Salud* [Página web en línea]. Disponible:http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2012/gonorrhoea_20120606/es/ [Consulta: 2016, septiembre 20].

Otero, L., y Vazquez, F. (2013). *Neisseria gonorrhoeae* multirresistente: ¿regreso al pasado? *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(9), 565-567.

Parella, S. y Martins, F. (2010). *Metodología de la Investigación Cuantitativa*. Caracas, Venezuela: FEDUPEL.

Pardi, G., Pérez, M., Pacheco, A. y Mata, M. (2004). Algunas consideraciones de *Neisseria gonorrhoeae*. *Acta Odontológica Venezolana*, 42(2), 122-127.

Perilla, M., Ajello, G., Bopp, C., Elliott, J., Facklam, R., Knapp, J., Facklam R., Knapp J., Popovic T., Wells J. y Dowell S. (2003). *Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo*. Atlanta, Georgia, EUA: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades.

Prats, G. (2013). *Microbiología y Parasitología Médicas*. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.

Romero, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias* (3° ed.). México, D.F.: Editorial Médica Panamericana.

Ryan, K. y Ray, C. (2011). *Sherris microbiología médica* (5ª. ed.). México: McGrawHill.

Sandoval, M., Guevara, A., Ward, L., Ramos, R., Suarez, Y. y Salomon, M. (2007). Susceptibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* a los antibióticos β -lactámicos, tetraciclinas y quinolonas. *Kasmera*, 35(2), 118-126.

Sethi, S., Golparian, D., Bala, M., Dorji, D., Ibrahim, M., Jabeen, K. y col. (2013). Antimicrobial susceptibility and genetic characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from India, Pakistan and Bhutan in 2007–2011. *BMC Infectious Diseases*, 13, 35.

Singh, V., Bala, M., Kakran, M. y Ramesh, V. (2017). Comparative assessment of CDS, CLSI disc diffusion and Etest techniques for antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae*: a 6-year study. *BMJ Open*, 2, 1-7.

Tibebu, M., Shibabaw, A., Medhin G., Kassu A. (2013). *Neisseria gonorrhoeae* non-susceptible to cephalosporins and quinolones in Northwest Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, 13, 415-420

Unemo, M. (2015). Current and future antimicrobial treatment of gonorrhoea - the rapidly evolving *Neisseria gonorrhoeae* continues to challenge. *BMC Infectious Diseases*, 15, 364.

Unemo, M. y Shafer, W. (2014). Antimicrobial Resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st Century: Past, Evolution, and Future. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(3), 587-613.

Zúñiga, M. (2010). *Neisseria gonorrhoeae*: un patógeno que impone grandes retos. *Revista Colombiana de Enfermería*, 5(5), 67-70.

Watson, J., Baker, T., Bell, S., Gann, A., Levine, M. y Losick, R. (2006). *Biología Molecular del Gen*. (5° ed.). Madrid, España: Editorial Medica Panamericana.

Winn, W., Stephen, A., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schrenckenberger, P., y Woods L. (2008). *Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas en color* (6° ed.). Madrid, España: Editorial Medica Panamericana.

www.bdigital.ula.ve

ANEXOS

ANEXO A
Recolección de datos clínico-epidemiológicos

HISTORIA CLÍNICO – EPIDEMIOLÓGICA DEL PACIENTE

N° Historia: _____

I PARTE: Datos filiatorios

Apellido y Nombre: _____ Edad: _____

Procedencia: _____

Ocupación: _____

Teléfono: _____

II PARTE: Antecedentes epidemiológicos:

N° de parejas sexuales: _____

Fecha de última relación sexual (contacto sospechoso): _____

Antecedentes de ITS: SI _____ NO _____ Cuál: _____

Consumo de antibióticos, tratamiento oral o tópico (últimos 15 días): _____

Uso de protección (métodos de barrera): _____

III PARTE: Sintomatología Clínica

Secreción: Abundante () Moderada () Escasa ()

Color: Blanquecina () Amarillenta () Verdosa ()

Eritema: SI _____ NO _____

Prurito: SI _____ NO _____

Ardor: SI _____ NO _____

Tiempo de evolución: _____

Examen clínico: _____

Diagnóstico clínico: _____

Tipo de muestra: _____

Fecha: _____

ANEXO B
Consentimiento Informado



**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA
RECOLECCION DE DATOS DEL TRABAJO DE
INVESTIGACIÓN**



“Patrones de Sensibilidad Antimicrobiana en Aislados de *Neisseria gonorrhoeae* en Mérida – Venezuela”

Mérida, _____ de _____ de 2017

Investigador principal: _____

Sede donde se realizará el estudio: Consulta de ITS del Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes y Hospital II El Vigía

Yo, _____ portador(a) de la C.I. N° _____ he sido informado (a) sobre los objetivos del presente trabajo de investigación y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar anónimamente en este trabajo de investigación.

Firma del participante

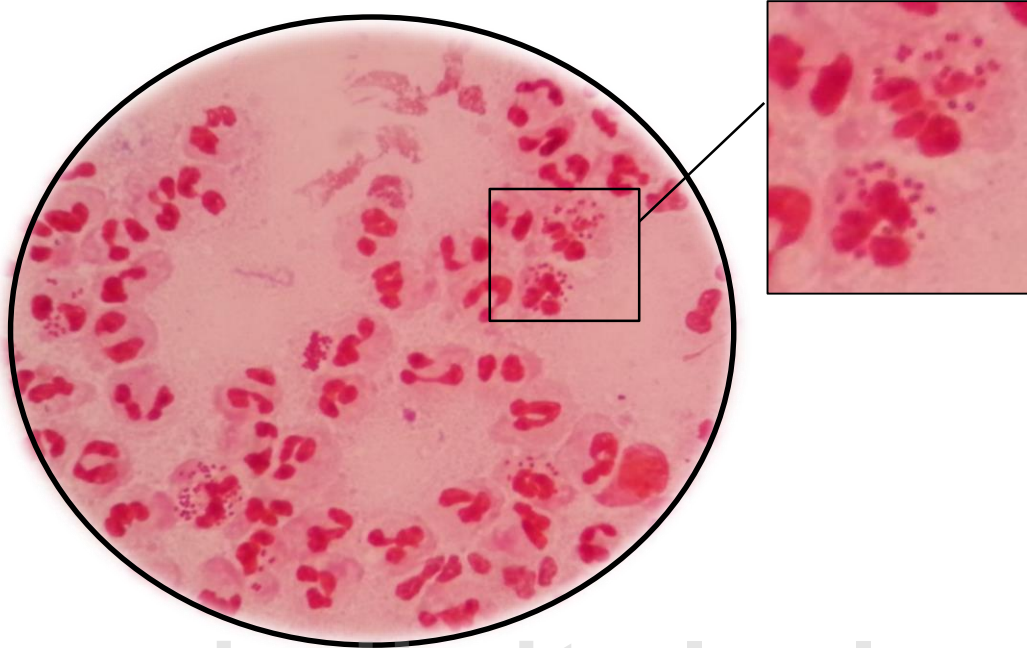
Firma del investigador

C.I. N° _____

C.I. N° _____

ANEXO C

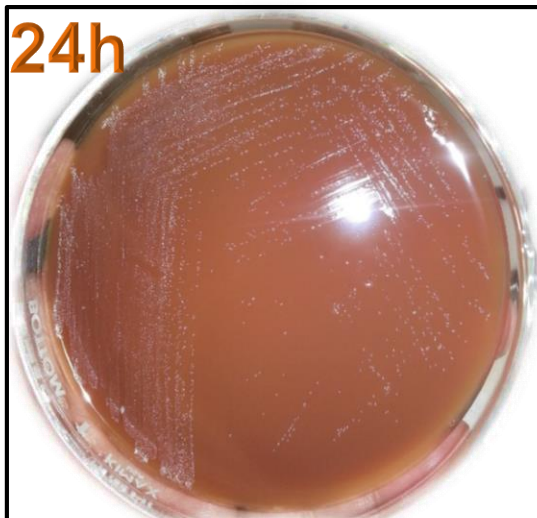
Diplococos Gram negativos Intracelulares



www.bdigital.ula.ve

ANEXO D

Morfología de Colonias de *N. gonorrhoeae*



ANEXO E

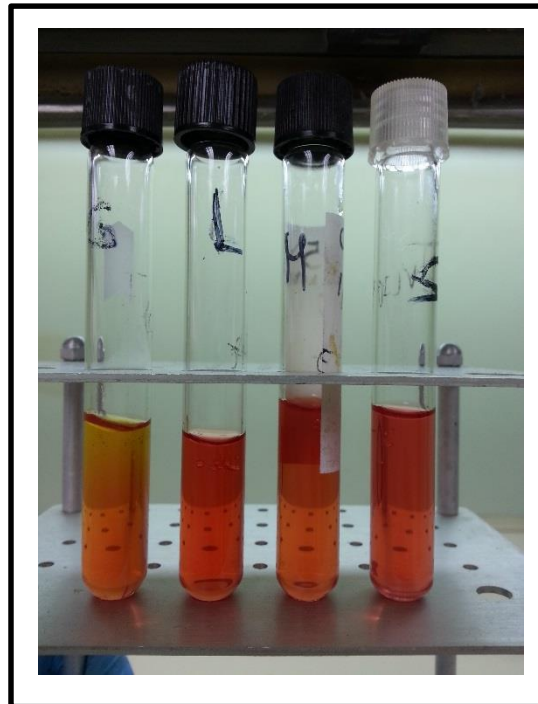
Reacción Positiva de Prueba de Oxidasa



www.bdigital.ula.ve

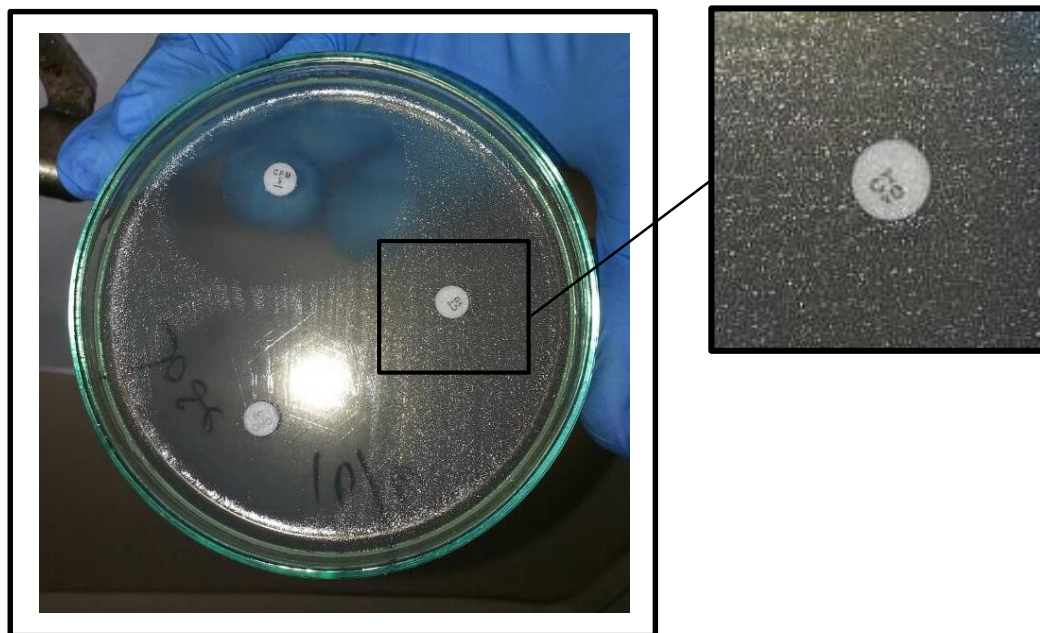
ANEXO F

Prueba de Detección de Ácido



ANEXO G

Prueba de Resistencia al Colistín



ANEXO H

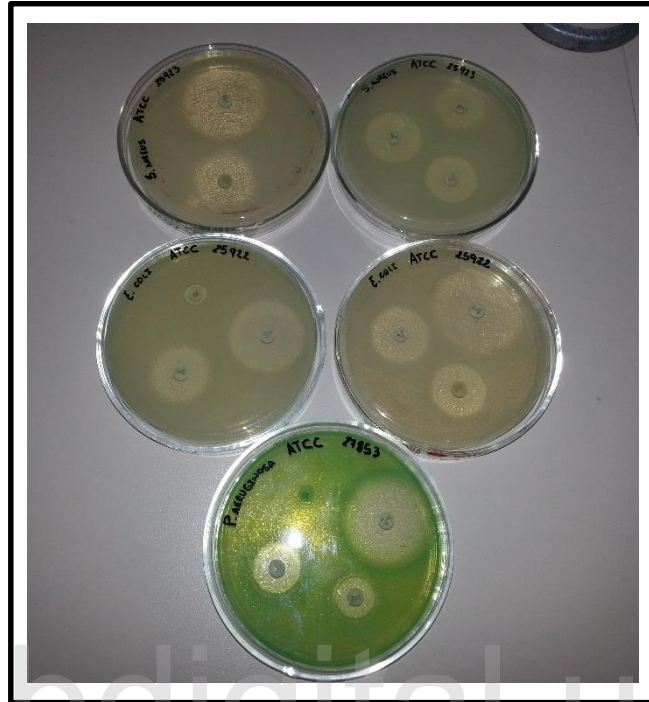
Halos de Sensibilidad Antimicrobiana

Agente Antimicrobiano	Categorías Interpretativas y Puntos de Corte del Diámetro de Inhibición (mm)		
	Sensible	Intermedia	Resistente
Penicilina	≥ 47	27-46	≤ 26
Ceftriaxone	≥ 35	-	-
Cefixime	≥ 31	-	-
Tetraciclina	≥ 38	31-37	≤ 30
Ciprofloxacina	≥ 41	28-40	≤ 27

Fuente: CLSI, 2017

ANEXO I

Control de Calidad de Discos de Antibiótico



www.pdigital.ula.ve

ANEXO J

Método de Concentración Mínima Inhibitoria

