

Lij 115

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



**LA CITOADHERENCIA DE NEISSERIA
GONORRHOEA E Y SU IMPORTANCIA
COMO EVENTO INICIAL DE LA
PATOGENESIS**



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

**TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
JAIME ANTONIO SANCHEZ SANDOVAL**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

Introducción**Objetivo**

1.	La adherencia bacteriana	1
1.1	Preámbulo	1
1.2	El proceso infeccioso	4
2.	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	20
2.1	Taxonomía	20
2.2	Morfología y fisiología	26
3.	Importancia de la citoadherencia de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> en su interacción con el huésped	31
3.1	Citoadherencia y patogénesis	32
3.1.1	Estructuras bacterianas relacionadas con el fenómeno	35
3.1.1.1	Fimbrias	35
3.1.1.2	Cápsula	39
3.1.1.3	Proteínas de la membrana exterior	40
3.1.1.4	Lipopolisacáridos	42
3.2	Factores físicos y químicos involucrados en la interacción huésped-parásito	44
3.2.1	Interacciones electrostáticas	44
3.2.2	La presencia de cationes inorgánicos	48

		<i>vii</i>	
	3.2.3	El efecto del pH	50
	3.2.4	Interacciones hidrofóbicas	52
	3.2.5	Los carbohidratos superficiales de las células huésped	53
4.	Inmunidad		54
	4.1	La respuesta inmune ante la infección gonocócica	54
	4.1.1	Respuesta inmune celular	55
	4.1.2	Respuesta inmune humoral	57
	4.1.3	Perspectivas de vacunación	59
5.	Aspectos Clínicos y Epidemiológicos de la enfermedad		61
	5.1	Aspectos clínicos y uso de los antibióticos	61
	5.2	Aspectos epidemiológicos y sociales	78
	Discusión		84
	Conclusiones		87
	Referencias bibliográficas		89

INTRODUCCION

En los últimos años se han revalorado las interacciones físicas y químicas entre las bacterias y los tejidos, que dan como resultado la firme adhesión de dichos microorganismos, siendo éste el primer evento necesario para la colonización tisular.

En el caso de bacterias patógenas la colonización de un tejido conduce a un proceso infeccioso que altera, con mayor o menor severidad, el desarrollo armónico de los procesos vitales del organismo que lo sufre.

El microorganismo en el que se centra este trabajo es *Neisseria gonorrhoeae*, diplococo Gram negativo en el que se observan fenómenos de citoadherencia de cierta complejidad y de gran especificidad.

A lo largo de este trabajo se describen diversas estructuras y mecanismos fisiológicos que este microorganismo ha desarrollado para asegurar su adhesión a células huésped. Asimismo se hace una revisión de las contribuciones de diversos agentes físicos y químicos a la realización del fenómeno.

Por otro lado se analiza la problemática que plantean las infecciones gonocócicas en su detección y tratamiento, así como su impacto en la sociedad contemporánea.

La realización de este trabajo pretende ser una aportación en favor de la difusión del conocimiento, que es uno de los más sublimes quehaceres del hombre.

OBJETIVO

El objetivo que se persigue al realizar este trabajo es recopilar, hasta donde sea posible, los resultados de las investigaciones efectuadas en los últimos años acerca de la adherencia de *Neisseria gonorrhoeae* a tejidos vivos, así como revisar los conceptos surgidos en torno a este fenómeno. Mediante esta recopilación se pretende facilitar el acceso a la información disponible a futuras investigaciones sobre el tema.

CAPITULO 1

La adherencia bacteriana

1.1. Preámbulo.

Los microorganismos constituyen las formas de vida más abundantes sobre nuestro planeta; de ahí que el conocimiento de sus formas y estructuras, de su reproducción, fisiología y metabolismo, así como las técnicas para su identificación, hayan cobrado gran importancia y vayan siendo día a día más perfectos gracias a innumerables estudios e investigaciones que se efectúan en todo el mundo

El grupo mejor conocido de los microorganismos es el de las bacterias, las cuales viven y se multiplican en una amplísima gama de hábitats, debido principalmente a su alta tasa de mutación, su increíble poder de adaptación y la simplicidad de sus formas y estructuras en relación a otros seres vivos. Al mencionar el poder de adaptación de las bacterias se hace referencia a un sinnúmero de fenómenos, muchos de los cuales son sólo superficialmente conocidos en la actualidad, pero han permitido la ininterrumpida permanencia de las bacterias en nuestro planeta desde hace miles de millones de años. (99)

Durante la mayor parte del Precámbrico (cuatro mil quinientos a seiscientos millones de años) la Tierra estuvo habitada sólo por organismos microscópicos simples, muchos de ellos comparables en tamaño y complejidad a las modernas bacterias. Las condiciones en que vivían estos organismos difieren enormemente de las que rigen actualmente, si bien los mecanismos de la evolución son los mismos (82). Las variaciones genéticas hicieron que unos individuos estuvieran mejor adaptados que otros para sobrevivir y reproducirse en un determinado ambiente; de esta forma, los caracteres hereditarios de los organismos mejor adaptados estuvieron cada vez más representados en las generaciones siguientes. La aparición de nuevas formas de vida a través de este principio de selección natural, determinó a su vez grandes cambios en el ambiente físico, alterando en consecuencia las condiciones de la evolución. (29,82)

Cuando las algas marinas y los animales hicieron su aparición, los microorganismos, especialmente las bacterias, ya habían desarrollado las principales adaptaciones biológicas: diversas estrategias para la transformación energética y la alimentación, el movimiento, la irritabilidad, el sexo e inclusive formas de cooperación y competencia. Los microorganismos desarrollaron prácticamente todas las características de los seres vivos modernos. (1,99)

Así, todas las características que exhiben las bacterias modernas son consecuencia de fenómenos adaptativos que se han llevado a cabo bajo fuertes presiones selectivas.

Una adaptación desarrollada por ciertas bacterias es la adherencia a distintos sustratos. Este fenómeno, que se efectúa de modos diferentes según la especie bacteriana y las condiciones ambientales, resulta de vital importancia, ya que de no estar firmemente unidas al sustrato, las bacterias no podrían interactuar bioquímicamente con él, pues serían arrastradas constantemente por agentes ambientales como el aire, las corrientes de agua, las secreciones en animales y vegetales, etc. (1, 6)

El estudio de distintos ambientes ha revelado la existencia de asociaciones específicas entre las bacterias y distintos sustratos vivos e inertes. Las bacterias capaces de asociarse en esta forma exhiben en su superficie una o más de las estructuras especializadas que toman parte en los fenómenos de adherencia, como los pili, las fimbrias, los antígenos superficiales, los mucopolisacáridos asociados a la superficie y los ácidos lipoteicoicos. (1)

Los primeros estudios relativos a estas asociaciones los efectuaron edafólogos e investigadores marinos y en un principio se distinguieron al menos dos fases en el proceso de adherencia: una fase inicial reversible donde predominan las fuerzas de Van der Waals como efectores del fenómeno, y una segunda fase irreversible mediada por la síntesis de material polimérico extracelular. Posteriormente, el desarrollo de las ciencias biomédicas condujo a dar mayor importancia a las interacciones huésped-parásito a nivel ultraestructural; de ahí que, actualmente la citoadherencia de bacterias, especialmente de las patógenas a tejidos vivos, sea el objetivo de numerosas investigaciones. (1, 6, 46)

1.2. El proceso infeccioso.

Aunque el interés principal del presente trabajo es el fenómeno de citoadherencia y las variables que lo afectan, no hay que perder de vista que la adhesión de bacterias patógenas a tejidos de un organismo huésped es sólo una etapa inicial de la patogénesis, por lo que es necesario dar una visión general de lo que es el proceso infeccioso para apreciar mejor la trascendencia del fenómeno. (1)

La adherencia bacteriana a superficies tisulares ha venido captando recientemente mayor atención de los investigadores, como una etapa inicial importante en la patogénesis de las infecciones bacterianas; de no lograrse la adhesión al tejido, la célula bacteriana sería removida con rapidez por los fluidos que continuamente lavan las superficies tisulares. Dicho de otra manera, si se logra evitar la adhesión bacteriana al tejido, no habrá infección ni enfermedad; a pesar de que la citoadherencia puede asegurar al microorganismo su permanencia sobre el huésped, no es este fenómeno en sí mismo el responsable de los daños causados a los tejidos. (6)

Las bacterias se asocian de manera muy específica a las superficies tisulares, lo que involucra interacciones fisicoquímicas intercelulares muy complejas que imposibilitan su estudio mediante un solo modelo; dado el uso de múltiples modelos, los resultados deben tratarse con cuidado, evitando generalizaciones infundadas. (116)

Al hablar de una infección bacteriana se hace referencia a una interacción entre un sistema procarionte y otro eucarionte. Las bacterias patógenas dependen para su nutrición durante la fase infectiva de su crecimiento, de sustancias intracelulares del huésped (parasitismo intracelular) o bien de sus secreciones (parasitismo extracelular). Durante ese tiempo resisten los mecanismos de defensa celular y humoral del huésped. También durante la fase de transmisión, que sigue a la de infección, las células infectantes deberán sobrevivir a condiciones ambientales adversas, excepto en situaciones de transmisión directa (infecciones neonatales y venéreas), o por vectores intermediarios (infecciones por rickettsias). La infectividad bacteriana parece ser independiente de la fisiología, la aerotolerancia y la resistencia a condiciones adversas, así como de la forma, el tamaño y la reacción al colorante de Gram de la pared celular. (1, 6)

Todos los organismos que existen en nuestro planeta están predestinados, por su naturaleza biológica, a integrarse al continuo flujo energético que se da entre ellos y su ambiente, sea este último biótico o abiótico. Este flujo constituye las redes tróficas que son la base de la perpetuación de la vida. Así, cada organismo tiene su lugar dentro de la red trófica, adaptándose lo más perfectamente posible al nicho ecológico que ocupa. Los animales y el hombre han desarrollado, como parte de sus adaptaciones al medio en que viven, diversos mecanismos de defensa que están encaminados a impedir el ataque de los microorganismos, o por lo menos a evitar daños mayores en el caso de un ataque microbiano. En general puede clasificarse a estos mecanismos de resistencia a la infección como inespecíficos o específicos.

Entre los inespecíficos se cuenta a la piel y a las mucosas, que juntas constituyen barreras mecánicas eficientes al evitar que los microorganismos alcancen fácilmente tejidos internos, mucho más susceptibles a la acción microbiana. Otras barreras mecánicas con idéntica función son las vellosidades, vibrisas, etc., que además de su acción puramente mecánica, frecuentemente estas barreras tienen también acciones químicas gracias a secreciones como el sudor, la saliva, el serumen, las lágrimas y otras, que contienen sustancias activas contra los microorganismos, como ácidos grasos, sales, lisozima, etc.

Los mecanismos de defensa específicos son mediados principalmente por los anticuerpos en todas sus modalidades y los linfocitos en sus distintos linajes. (49).

De hecho, para que un microorganismo logre infectar, es requisito indispensable que de algún modo haya burlado al menos los mecanismos inespecíficos de resistencia y a veces también los específicos, y haya llegado a las proximidades de su tejido blanco para iniciar un proceso infeccioso.

La adhesión de células bacterianas a un determinado sustrato es el producto de cambios físicos y químicos y por ello su estudio puede llevarse a cabo mediante un modelo cinético en el que la velocidad de adhesión y la efectividad de ésta dependerán de diferentes variables relacionadas con las condiciones ambientales en que se desarrolla el fenómeno, tales como la

temperatura, la concentración de células bacterianas y el pH. En el caso de cultivos *in vitro*, la cinética de adhesión también se ve afectada por el tiempo transcurrido desde la iniciación del cultivo. En general se ha observado que las bacterias provenientes de cultivos frescos muestran propiedades adherentes más acentuadas que las células bacterianas largamente cultivadas.

Los estudios realizados indican que las interacciones entre las estructuras bacterianas y las del sustrato muestran un alto grado de especificidad, lo que parece ser una característica indispensable para que los microorganismos comensales y patógenos inicien la colonización del tejido blanco. Algunas observaciones apuntan que debe haber múltiples componentes superficiales bacterianos involucrados en la colonización del sustrato. Por ejemplo, *Streptococcus mutans* interactúa específicamente con algunas glicoproteínas mucoides de alto peso molecular presentes en la saliva y las secreciones de las parótidas. (23,24)

Cuando las bacterias alcanzan un ambiente natural favorable, se reproducen aceleradamente y en las nuevas generaciones se observa una mezcla de células móviles y otras con atributos adherentes que colonizan amplias zonas de tejido afectado, mientras las móviles extienden la colonización hacia nuevas superficies produciendo nuevas microcolonias. (24)

Como ya se dijo, en la adherencia bacteriana hay mediación de ciertas estructuras propias de las superficies de las bacterias. Las fimbrias y los pili (el término pili debe reservarse únicamente a las fimbrias o fibrillas

conjugativas) tienen un papel importantísimo en la citoadherencia a superficies tisulares; de ahí la correlación positiva entre la presencia de fimbrias y la virulencia bacteriana, en especial en casos de ataque a superficies mucosas. Las primeras observaciones revelaron que la mayoría de las bacterias adherentes, sobre todo las Gram negativas, están recubiertas con fimbrias o pelos delgados de cierta dureza. Las cepas no adherentes, que frecuentemente resultan menos virulentas, no presentan estas estructuras. Todos los aspectos anteriormente expuestos se conjugan de muy distintas maneras para dar origen a lo que se conoce como procesos infecciosos. (86)

Los eventos ultraestructurales que se desarrollan en todo proceso infeccioso son poco conocidos y aún falta mucho para llegar a conocerlos cabalmente. Sin embargo, pueden enunciarse varios de ellos que forman una secuencia observada en la mayoría de los casos: a) contacto, b) adherencia, c) penetración y d) uso de sustancias intracelulares. Estas dos últimas etapas se dan únicamente en infecciones causadas por patógenos intracelulares. (6)

El contacto, puede llevarse a cabo de distintos modos, desde el que es producto del azar o de un proceso de adsorción pasiva mediante la cual la bacteria llega a las proximidades de la envoltura exterior de la célula huésped, hasta el contacto que se produce por quimiotaxis activa en el que las bacterias capaces de manifestar un movimiento autónomo avanzan hasta alcanzar su presa. Existen muchas formas intermedias y combinadas entre

las anteriores, que son usadas por distintas especies bacterianas. Actualmente se sabe que existe lo que se ha llamado distancia crítica de contacto la cual, una vez alcanzada, hace inminente y prácticamente irreversible el contacto entre la bacteria y la célula huésped; esta magnitud varía de acuerdo a las características de los sistemas que entrarán en contacto. Por ejemplo, la distancia crítica de contacto entre *Salmonella typhimurium* y la célula epitelial intestinal es de 35 nm. (6, 107)

Es importante señalar que la mayoría de las células animales poseen en su superficie glicocálices amorfos o fibrilares (por ejemplo las fibronectinas en fibroblastos, las glicoforinas en eritrocitos y los glicocálices en las microvellosidades del epitelio intestinal) que recubren la membrana celular y poseen una densidad de carga aniónica. Las superficies de las células bacterianas son también de naturaleza aniónica, por lo que se infiere la existencia de una repulsión electrostática intensa entre las bacterias y las células blanco; sin embargo, se ha observado que las células bacterianas siempre quedan firmemente unidas al sustrato celular, lo que hace pensar que existen otras fuerzas electrostáticas capaces no sólo de contrarrestar la repulsión macroelectrostática, sino también de permitir el contacto y mantenerlo.

Algunas bacterias resuelven el problema de la repulsión electrostática produciendo estructuras especializadas como pili, cápsulas y arreglos de superficie, los cuales pueden alterar los atributos de carga de las superficies, aumentando significativamente la posibilidad de contacto y de adhesión.

Existen algunos casos en los que el contacto y la penetración son prácticamente el mismo evento. (6, 104)

El segundo evento ultraestructural durante un proceso infeccioso es la adherencia. De acuerdo con investigaciones recientes se ha establecido que la citoadherencia a superficies tisulares se efectúa gracias a contribuciones tanto de la célula bacteriana como de la célula huésped. Es por ello que el fenómeno es altamente específico. La contribución bacteriana a la realización de la citoadherencia se debe fundamentalmente a atributos y cambios de su pared celular o de estructuras derivadas de ésta; por ello, a continuación se abrirá un paréntesis para enunciar algunas de las características de las paredes celulares bacterianas, para después describir su papel en la citoadherencia y la patogenicidad de las bacterias.

Todas las bacterias cuentan con una estructura exterior constituida por una membrana celular, un espacio periplásmico y una pared celular. (49)

La pared celular es una estructura rígida que se encuentra por debajo de las sustancias extracelulares (cápsulas y cubiertas mucilaginosas) y da forma a las células bacterianas. El espesor de la pared celular va de 100 a 200 angstroms; esta estructura constituye una importante fracción del peso seco total de la célula, que puede fluctuar entre 10 y 40%.

En las bacterias Gram positivas el principal componente de la pared celular es el mucopéptido, polímero en el que las unidades principales son los

aminoazúcares N-acetilglucosamina, ácido N-acetilmurámico y péptidos cortos que contienen alanina, ácido glutámico y ácido diaminopimélico o lisina. Además del mucopéptido, que es sustrato para la acción de la lisozima, las paredes de algunas bacterias Gram positivas contienen ácidos teicoicos (polímeros de fosfato de ribitol y fosfato de glicerol). En algunas especies las cantidades de ácidos teicoicos alcanzan el 30% del peso seco total de la pared celular. Otro componente de la pared celular de algunas bacterias Gram positivas es un mucopolisacárido compuesto de aminoazúcares y monosacáridos simples. (27, 49)

Las paredes celulares de las bacterias Gram negativas aparentemente están constituidas por tres capas: una interna de mucopéptido y dos externas, una de polisacáridos y otra de lipoproteína. No contienen ácidos teicoicos. El mucopéptido está unido aparentemente al material lipídico por enlaces glucosídicos. La lisozima debilita la pared celular de los Gram negativos y los detergentes pueden degradar la membrana por su acción sobre los lípidos de unión. La especificidad antigénica de las paredes celulares de las bacterias Gram negativas (antígenos somáticos O) está determinada por grupos de polisacáridos hapténicos ligados mediante un núcleo de polímero inespecífico a una cadena de heptosa-fosfato. Las unidades de heptosa de la cadena están a su vez unidas por medio del ácido 2-ceto-3-desoxioctulónico a lípidos. (20, 49, 87)

La función principal de la pared celular bacteriana es limitar firmemente a toda la célula, protegiéndola así de la lisis osmótica, la cual sería inevitable en ausencia de esta estructura. El ambiente interno de las células

bacterianas tiene una gran concentración osmótica, equivalente a sacarosa al 10 o 20 % en los medios ordinarios; sólo la rígida pared celular impide que la célula estalle. Sin embargo, dada su localización periférica y exterior, la pared celular también juega un importantísimo papel en el desarrollo de los eventos ultraestructurales del proceso infeccioso, tanto por sus propiedades físicas (carga electrostática, viscosidad, etc.) como por sus propiedades químicas y biológicas (arreglos moleculares, presencia de adhesinas, antigenicidad, etc.). (27, 49, 87)

La pared celular es una de las primeras estructuras que entran en contacto con el ambiente exterior y por ello resulta lógico pensar que de algún modo contribuye a que una bacteria resulte o no infecciosa. Actualmente existen evidencias de que la pared celular no sólo sirve como protección, sino también actúa como filtro o cedazo. Los polímeros que componen las distintas capas tienen un arreglo espacial tal, que dan origen a la formación de poros a través de los cuales pueden transitar determinadas moléculas, mientras otras son rechazadas; esta exclusión depende del peso molecular, la carga neta, la polaridad y el carácter hidrofóbico o hidrofílico de dichas moléculas. En el caso de las bacterias patógenas, se piensa que la pared celular impide el paso de algunas moléculas capaces de dañar a la bacteria (hidrolasas, antibióticos, etc.), dejando penetrar sustancias nutritivas, contribuyendo así a la continuación del proceso infeccioso. (1, 63)

Algunas bacterias presentan capas adicionales por encima de la superficie de la pared celular cuya consistencia puede ser la de un líquido sumamente viscoso o la de una sustancia paracrística, pero siempre son de naturaleza

proteica. A estas estructuras se les conoce como arreglos moleculares de superficie. Las evidencias experimentales hasta ahora acumuladas, sugieren dos funciones para estas estructuras: una primera función sería la de proteger a la célula ante cambios severos de pH o fuerza iónica en el ambiente circundante, atrapando el exceso de iones hidronio o cationes metálicos. La segunda función sería lograr la selectividad sobre las moléculas que van a pasar al interior, mediante la disposición espacial específica de proteínas globulares que dan origen a pequeños canales, con lo cual queda limitado el paso hacia el interior. (1, 43, 63)

No todas las bacterias presentan estos arreglos moleculares, pero en los últimos años se ha podido constatar que son mucho más frecuentes y comunes de lo que se pensaba.

A pesar de que los arreglos moleculares y su relación con la virulencia bacteriana son escasamente conocidos, es interesante observar que cuando menos un metal, el hierro, que es ávidamente absorbido por las paredes celulares, inhibe la capacidad de los leucocitos para degradar bacterias ya ingeridas. Algunas bacterias como *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* y *Mycobacterium tuberculosis* son capaces de sintetizar compuestos quelantes específicos para allegarse hierro (enteroquelina, siderocromo y micobactina) cuando su concentración en el medio es limitada, compitiendo incluso con los quelantes propios del huésped (transferrina y lactoferrina). Este fenómeno se acentúa en infecciones agudas. (116)

En todas las bacterias adherentes existen estructuras superficiales que les permiten quedar firmemente unidas al sustrato celular; estas estructuras se conocen como adhesinas y son capaces de interactuar estereoespecíficamente con ciertas macromoléculas localizadas en las membranas de las células huésped, a las que se les denomina receptores de membrana. Las adhesinas pueden representar una ventaja, o bien una desventaja para la bacteria durante el proceso infeccioso. Por un lado, permiten la adhesión bacteriana a las superficies tisulares epiteliales y a mucosas, favoreciendo la colonización de los tejidos más profundos, por otro, las mismas adhesinas promueven la unión a células fagocíticas propias del huésped, facilitando la eliminación de los patógenos. (6)

En muchos casos, las bacterias adherentes han desarrollado sistemas más específicos de adhesinas. Por ejemplo, las fimbrias manosa-específicas de *Escherichia coli*, la adhesina fimbrial de *Fratesus mirabilis* y el ácido lipoteicoico de *Streptococcus pyogenes* son capaces de interactuar con receptores de membrana tanto de células epiteliales como de fagocitos, mientras que las fimbrias del gonococo y las fimbrias manosa-resistentes de *E. coli* se combinan con receptores que sólo están accesibles en células epiteliales. También el factor de adhesión a leucocitos de *Neisseria gonorrhoeae* es capaz de unirse sólo a fagocitos pero no interactúa con receptores de células epiteliales. (23, 107)

Los efectos potencialmente adversos de la interacción adhesina-fagocito promovieron el desarrollo de mecanismos que permitieran a las bacterias patógenas evitar la adhesión a células fagocíticas mediante adhesinas

superficiales. Uno de esos mecanismos se basa en la síntesis de polímeros superficiales que interfieren en la interacción adhesina-receptor. Estos polímeros pueden inhibir la unión mediada por adhesinas de las bacterias a las células huésped, alterando la carga neta superficial, modificando la hidrofobicidad superficial o cambiando la orientación espacial de las adhesinas en la superficie bacteriana. Como ejemplo de lo anterior se puede citar que se ha comprobado que las cápsulas de polisacáridos de *Neisseria meningitidis* y de *Streptococcus pneumoniae*, así como la cápsula de ácido hialurónico de *Streptococcus pyogenes* interfieren para evitar la adhesión de estas bacterias tanto a células epiteliales como a fagocitos. La presencia de estos polímeros superficiales de interferencia es más frecuente en las bacterias que producen adhesinas indispensables para su supervivencia, como en el caso de *Streptococcus pyogenes*, que produce ácido lipoteicoico, el cual es una adhesina que le resulta indispensable. (1, 6, 34)

En contraste con lo anterior, muchas especies de bacterias Gram negativas producen adhesinas fimbriales que no son indispensables para su supervivencia. A pesar de ello, estos microorganismos también pueden sintetizar polímeros superficiales de interferencia para evitar la citoadherencia a células fagocíticas. Otra forma de evadir a los fagocitos, desarrollada por algunos Gram negativos, consiste simplemente en reprimir la síntesis de adhesinas no indispensables durante etapas críticas del proceso infeccioso. De hecho, la mayoría de los microorganismos fimbriados cuando se cultivan *in vitro* presentan fenotipos que incluyen o no el desarrollo de fimbrias de acuerdo con las condiciones a que se someta el cultivo. Para algunas bacterias patógenas la variación de expresión

fenotípica de adhesinas constituye un importante mecanismo de adaptación, sobre todo cuando el microorganismo tiende a atacar distintos tejidos en los que encuentra diferentes condiciones ambientales.

Las reacciones de adherencia entre las bacterias y sus tejidos blanco involucran distintos paquetes o conjuntos de receptores y adhesinas. La especificidad en la citoadherencia de una cepa dependerá de las adhesinas que posee y sólo se efectuará sobre células que presenten los receptores específicos para tales adhesinas. El trabajo con cepas silvestres de especificidad única y más recientemente con cepas genéticamente manipuladas, ha permitido efectuar análisis separados de adhesinas que se expresan simultáneamente en una misma cepa silvestre. (1, 37)

Aún no se ha aclarado por qué la adherencia de una bacteria patógena varía al enfrentarla a diferentes tejidos epiteliales. Las bases moleculares de esta variación todavía no se conocen. El decremento en la adherencia de una misma cepa bacteriana frente a distintos sustratos tisulares puede deberse a una deficiencia de síntesis de receptores, ocultamiento o superposición de éstos o bien a defectos en su orientación espacial. El incremento de la adherencia puede estar asociado a la producción de receptores adicionales para una determinada bacteria. (1)

Algunas evidencias sugieren que el mecanismo de adherencia a una célula epitelial puede ser distinto al de otra célula epitelial del mismo organismo. Svanborg y Eden en 1977 encontraron que la citoadherencia a células epiteliales de la cavidad oral de una cepa uropatógena de *E. coli* se veía

bloqueado por la presencia de manosa, mientras la adherencia de la misma cepa a células epiteliales exfoliadas del tracto urinario no se encontraba afectada, lo que sugiere que las células uroepiteliales tienen receptores diferentes a los que manifiestan las células epiteliales de la boca. Aparentemente, los receptores de las células uroepiteliales reconocen un ligando superficial (adhesina) distinto al que se enlaza a los residuos de manosa. (1, 24, 107)

La adherencia bacteriana puede también producirse sobre tejidos no epiteliales. La investigación de los mecanismos que permiten a las bacterias fijarse a células endoteliales ha originado cambios en el estudio de la endocarditis. Está demostrado, por ejemplo, que un gran número de estreptococos, estafilococos y neumococos pueden adherirse firmemente a las superficies endoteliales de las válvulas cardíacas humanas, pero son muy raros los casos de endocarditis por Gram negativos. Los estreptococos presentan al menos dos mecanismos para enlazarse a superficies endoteliales. En un primer mecanismo, el microorganismo es capaz de asociarse a superficies endoteliales intactas. En el segundo, los estreptococos, mediante la producción de dextranas en su superficie, se adhieren a la fibrina depositada en los tejidos endoteliales dañados; la capacidad de adherencia a endotelios dañados parece relacionarse con la infectividad de la cepa. (1, 6, 34)

En otro caso, Swanson y King, en 1978 encontraron que el mecanismo por el que *Neisseria gonorrhoeae* se adhiere a células fagocíticas es completamente diferente al mecanismo mediante el cual se adhiere a

células epiteliales, su adhesión a estas últimas parece estar mediada por fimbrias y, en contraste, la citoadherencia a fagocitos aparentemente está mediada por una proteína sensible al tratamiento con tripsina, conocida como factor de asociación a leucocitos, que se localiza en la superficie de la bacteria. En algunos casos se ha podido constatar que las fimbrias son capaces de enmascarar el factor de asociación a leucocitos a fin de evadir a los fagocitos. (1)

Se ha observado que algunos agentes físicos y químicos como la tensión superficial, las fuerzas de Van der Waals, la formación de puentes salinos, las fuerzas hidrofílicas e hidrofóbicas, los puentes de hidrógeno, la polaridad, etc. actúan conjuntamente para vencer las fuerzas de repulsión que existen entre el huésped y el agente patógeno y para mantener la unión entre ambos.

El tercer evento de la secuencia del proceso infeccioso es la penetración a la célula huésped. Este paso sólo se observa en el proceso infeccioso de parásitos intracelulares; la observación de células penetradas por agentes patógenos, por ejemplo gonococos intraleucocitarios, en ocasiones es suficiente para establecer un diagnóstico (6).

Ciertas bacterias patógenas, entre ellas las rickettsias, pueden instalarse en el interior de las células huésped y con frecuencia se les encuentra dentro de fagolisosomas de las células infectadas. De alguna manera estos microorganismos resisten o bien desajustan los mecanismos defensivos del huésped. Las bacterias capsuladas parecen ser más aptas para este tipo de

ataque. Sin embargo, el conocimiento actual de cómo logran las bacterias esta vida intracelular dista mucho de ser preciso y completo. A pesar de lo anterior, se han postulado tres posibles mecanismos para explicar la resistencia a la digestión lisosomal: a) Resistencia a las enzimas lisosomales, lo que permitiría la proliferación del agente patógeno dentro del fagolisosoma. b) Incapacidad del primer lisosoma para fusionarse, evitando así la liberación de enzimas líticas en el interior del fagosoma. c) Capacidad de escapar del fagosoma, con la consecuente invasión del citoplasma de la célula huésped. (27, 38, 49)

El último evento ultraestructural del proceso, el aprovechamiento de la sustancia intracelular del huésped, se efectúa degradando los constituyentes de la célula blanco de acuerdo a rutas bioquímicas generales o bien específicas del patógeno, para después, a partir de estos productos degradados, efectuar la biosíntesis de materiales necesarios para la proliferación y perpetuación del agente infeccioso. Sería muy largo y ajeno a los propósitos de este trabajo detallar todos los cambios bioquímicos involucrados en estos procesos, por lo que sólo se hace mención de ellos sin intención de profundizar.

Sólo en el caso de que la bacteria encuentre células fagocíticas, el último paso del proceso infeccioso es cambiado por la digestión lisosomal, que termina destruyendo a la célula invasora. (6)

CAPITULO 2

Neisseria gonorrhoeae

2.1. Taxonomía.

Dada la enorme cantidad y la gran diversidad de los seres vivos, entre los primeros investigadores de los fenómenos biológicos surgió la necesidad de contar con un sistema que permitiera clasificar y dar denominación adecuada a los organismos conocidos y a los que se descubrieran posteriormente. Así, nacieron la Taxonomía y la Sistemática, que están dedicadas a la clasificación, nomenclatura e identificación de los seres vivos. La clasificación es la agrupación de los organismos en taxones establecidos con base en las similitudes morfológicas, fisiológicas y genéticas. La nomenclatura es la asignación de nombres a los taxones de acuerdo a convenciones internacionales. La identificación es el conjunto de procesos que conducen a incorporar un determinado organismo a uno de los taxones previamente establecidos. En la clasificación de los seres vivos existen varios niveles taxonómicos; entre los cuales se pueden contar Superreinos, Reinos, Divisiones, Clases, Ordenes, Familias, Géneros, Especies, Subespecies y Tipos (4)

A primera vista parecería que la Taxonomía aporta un sistema perfectamente regularizado en el que cada organismo ocupa un sitio de acuerdo a sus características y una vez que se le asigna el lugar correspondiente, sólo restaría aprovechar las ventajas que ofrece la

clasificación, la nomenclatura y las técnicas de identificación en el trabajo biológico. La realidad no es tan simple; aunque la Taxonomía representa un importante intento de sistematización, en muchos casos no se han logrado resultados concluyentes; de hecho, todas las clasificaciones están sujetas a eventuales cambios y así lo sugieren nuevos descubrimientos. (10, 83)

En Bacteriología el taxón de mayor importancia práctica es la Especie. El concepto de especie aplicado a las bacterias resulta menos preciso que el aplicado a organismos superiores debido a la poca homogeneidad que exhiben las bacterias en comparación con seres vivos de mayor complejidad. (4, 10)

La especie bacteriana puede definirse como una colección de cepas que comparten muchas características y difieren considerablemente de otras cepas. Una cepa se obtiene a partir de los descendientes de un solo aislamiento en cultivo puro y usualmente se subcultiva sucesivamente con fines de distribución y estudio.

De entre todas las posibles cepas de una especie se selecciona una a la que se le designa cepa tipo, porque posee la representatividad de la especie.

(4)

Las definiciones anteriores se prestan a muchas subjetividades; sería deseable una definición más rigurosa y uniforme, pero tendría poco valor práctico. A pesar de las limitaciones anteriores, la Taxonomía aporta instrumentos de enorme utilidad para los microbiólogos, lo cual justifica la inclusión de los párrafos anteriores en este trabajo.

El agente etiológico de la gonorrea fue descubierto en 1879 por el doctor Albert Neisser al examinar al microscopio secreciones purulentas tomadas de sus pacientes. En reconocimiento a su trabajo, la especie descubierta y todas las relacionadas se integraron en el género *Neisseria*. Descubrimientos e investigaciones posteriores condujeron a Prévot, en 1933, al establecimiento de la Familia *Neisseriaceae*.

La Familia *Neisseriaceae* está constituida por cuatro géneros: *Neisseria*, *Moraxella*, *Acinetobacter* y *Kingella*, así como por algunas especies de afiliación incierta como *Moraxella urethralis*. (4)

En su gran mayoría, son cocos que pueden agruparse en pares o en masas y que generalmente presentan distintos planos de división. Algunas presentan formas alargadas o cocoides con un solo plano de división, agrupándose en pares o bien en cadenas cortas. Nunca forman endosporas y pueden ser capsuladas. Estos microorganismos son Gram negativos, aunque a veces presentan cierta resistencia a la decoloración; no presentan flagelos y algunos presentan fimbrias y pueden ser móviles.

Todos los géneros crecen en condiciones aerobias, aunque algunos lo hacen con lentitud en anaerobiosis. Sus temperaturas óptimas de crecimiento van de 32 a 37° C, aunque el género *Acinetobacter* presenta algunas cepas psicrófilas. Muchas especies tienen requerimientos nutricionales complejos, mientras que son pocas aquellas capaces de crecer en medios simples. El por ciento molar de G+C (guanina más citosina en el DNA) en estos microorganismos va del 38 al 55. La prueba de las oxidasas resulta positiva

para todos los géneros menos para *Acinetobacter*. Los géneros *Neisseria*, *Moraxella* y *Kingella* habitan principalmente en animales de sangre caliente, mientras *Acinetobacter* se encuentra generalmente en el suelo o en el agua.

La mayoría de las especies de la Familia *Neisseriaceae* cuenta con cepas que exhiben una activa transformación genética. Esta característica ha resultado, en muchos casos, de gran valor para la clasificación de estos microorganismos.

El género tipo de la familia es *Neisseria*, descrito por Trevisan. Se trata de cocos cuyos diámetros van de 0.6 a 1.0 μm ; es frecuente encontrarlas en pares y en ese caso los cocos toman una forma arriñonada. Sólo una especie, *Neisseria elongata*, constituye la excepción a lo anterior, siendo dipobacilos cortos de 0.5 μm de ancho o presentándose a veces en cadenas cortas.

En el caso de las especies cocales la división se da en dos planos perpendiculares, por lo que en ocasiones pueden encontrarse tétradas. Aunque no presentan endosporas, muchas especies cuentan con cápsulas y fimbrias. Son Gram negativas, aunque pueden resistir la decoloración, sobre todo si ésta no se efectúa correctamente. Son inmóviles y carecen de flagelos. (4)

Todas las especies son aerobias, pero una atmósfera rica en bióxido de carbono (3 a 10 %) favorece su desarrollo. Algunas especies son productoras de pigmentos carotenoides de color amarillo verdoso. También algunas son nutricionalmente exigentes y hemolíticas. Su temperatura óptima de crecimiento está entre los 35 y los 37°C.

Los integrantes del género son oxidasa positivos; la prueba de producción de catalasa resulta positiva en todos los casos, excepto en el de *N. elongata*. La anhidrasa carbónica es producido por todas las especies, menos por las llamadas falsas neisserias (*N. cavia*, *N. ovis* y *N. cuniculi*). Igualmente, todas las especies reducen los nitritos, excepto las antes mencionadas. Son quimioorganótrofos y algunas especies son sacarolíticas. Habitan en las membranas mucosas de los mamíferos. El porcentaje molar de G + C en el DNA de las distintas especies va del 46.5 al 53.5. La presencia o ausencia de fimbrias parece ser de poco valor taxonómico dentro del género.

Las bacterias pertenecientes a la especie *Neisseria gonorrhoeae* son diplococos Gram negativos, de forma arrionada, capsulados, frecuentemente fimbriados, estrictos en cuanto a su nutrición, con temperatura óptima de crecimiento entre 36 y 37 °C. Son oxidasa positivos, catalasa positivos, productores de anhidrasa carbónica; no producen hemólisis y producen ácido a partir de la glucosa; reducen los nitratos, sólo si se encuentran a altas concentraciones y sin producción de gas. El porcentaje molar de G+C en esta especie va del 50 al 53, variando de una cepa a otra. (4)

En la siguiente página se presenta un cuadro sinóptico de las diferentes especies que constituyen el género *Neisseria*.

CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE LAS ESPECIES DEL GENERO

Neisseria

Características:	Especies													
	1. <i>N. gonorrhoeae</i>	2. <i>N. meningitidis</i>	3. <i>N. lactamica</i>	4. <i>N. sicca</i>	5. <i>N. subflava</i>	6. <i>N. flavescens</i>	7. <i>N. mucosa</i>	8. <i>N. cinerea</i>	9. <i>N. dentrificans</i>	10. <i>N. elongate</i>	11. <i>N. canis</i>	12. <i>N. carnea</i>	13. <i>N. ovis</i>	14. <i>N. caniculi</i>
Forma de las células:														
Cocos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Bacilos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Arreglo de las células:														
Pares	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tétradas	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Cadenas cortas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Pigmento amarillo	-	-	+	+	+	+	+	+	+	ana	+	-	-	-
Hemólisis en agar sangre:														
Carnoso	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Cabello	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Cenizo	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
Humano	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
Acido producido a partir de:														
Glucosa	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-
Maltosa	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Fructosa	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Sacarosa	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Manosa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Lactosa	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Reducción de nitrato	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-
Reducción de nitrito	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Gas a partir de nitrato	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
% Molar de G+C en DNA	50-53	50-52	51	49-51	49-51	49-50	50-52	50-51	50	50	50	49-50	49-50	49-51

2.2. Morfología y fisiología.

En cuanto a los aspectos morfológicos generales, se puede afirmar que *Neisseria gonorrhoeae* comparte muchas características con otras bacterias Gram negativas. Su pared celular está constituida por tres capas: una capa interna de péptidoglicano y capas externas de lipopolisacárido y lipoproteína; carece de ácidos teicoicos. El péptidoglicano está aparentemente unido al material lipídico por enlaces glucosídicos. La pared celular es sensible a la acción de la lisozima, aunque esta sensibilidad varía entre las distintas cepas. (7, 45, 49, 79, 95)

La membrana exterior, las fimbrias y el material capsular parecen estar diseñados para optimizar la interacción del microorganismo con las células huésped. Resulta extraordinaria la capacidad de la superficie bacteriana para alterar su composición y sus propiedades biofísicas. Esta habilidad para diversificar estructuras refleja una adaptación a las variaciones que ocurren en el limitado biotopo que ocupa esta especie.

Ha sido ampliamente demostrado que existe una fuerte correlación entre la morfología colonial y la virulencia. Ya en los primeros años de este siglo se notaron diferencias en el aspecto de las colonias de *Neisseria gonorrhoeae*. Con base en ellas existen cinco formas coloniales distintas: T₁, T₂, T₃, T₄ y T₅. Los tipos T₁ y T₂, generalmente obtenidos en primer aislamiento, son virulentos, mientras los otros tipos, logrados a través de subcultivos,

prácticamente son avirulentos. Una diferencia importante entre ellos es que los tipos T₁ y T₂ son fimbriados y los T₃, T₄ y T₅ no presentan fimbrias. También hay diferencias en la composición de las membranas exteriores de estas cepas. Las T₂, T₃ y T₅ poseen proteínas asociadas a la opacidad colonial (COA+), en tanto que las cepas T₁ y T₄ carecen de ellas. A partir de una colonia T₂ pueden obtenerse todos los tipos restantes por subcultivo. La frecuencia de las variaciones de un tipo a otro es demasiado alta para poder pensar que se trata de eventos mutacionales normales. Las variantes fimbriadas T₁ y T₂ exhiben una carga electrostática negativa mayor a la de las cepas T₃, T₄ y T₅ que son avirulentas. La importancia de este hecho será tratado con más detalle posteriormente. (11,79, 119)

La membrana externa del gonococo reviste especial interés ya que su estructura presenta caracteres privativos de esta especie y además en ella se encuentran muchas de las macromoléculas relacionadas con la citoadherencia. Otras estructuras que resultan relevantes por las mismas razones son las fimbrias, que fueron los primeros organelos que se relacionaron con la adherencia a tejidos blanco.

Los mecanismos de adhesión a las células huésped, necesariamente están asociados a macromoléculas constituyentes de la superficie exterior del microorganismo y de las células huésped. (109, 109, 116)

Resulta claro que estas macromoléculas contribuyen en la caracterización física de la superficie bacteriana por sus efectos sobre la densidad de carga eléctrica y la hidrofobicidad; las interacciones entre polímeros seguramente influyen en las propiedades adhesivas de los mediadores de la citoadherencia. Las neisserias patógenas presentan arreglos superficiales que actúan como defensas ante los fagocitos del huésped y también forman una barrera a la difusión de anticuerpos y complemento, protegiendo así a la vulnerable membrana citoplásmica contra su acción lítica. A su vez, estas macromoléculas confieren a la superficie bacteriana una fuerte avidez por estructuras mucoides o membranosas. Así, las propiedades adhesivas de las neisserias se presentan como funciones complejas, resultantes de la interacción de los componentes y en particular de las fimbrias, los antígenos capsulares, los lipopolisacáridos y las diferentes proteínas de la membrana exterior. (116)

Un rasgo muy distintivo de la especie en cuestión es que el único carbohidrato que puede utilizar es la glucosa; por supuesto, esta característica sirve de base a las técnicas de identificación y de ningún modo resulta un obstáculo al desarrollo de *Neisseria gonorrhoeae*, ya que la glucosa puede considerarse como la llave de la síntesis de numerosos componentes celulares. (76)

Experimentos de cultivo continuo de *Neisseria gonorrhoeae* indican que más de las tres cuartas partes de la glucosa asimilada es catabolizada por la vía de Entner-Doudoroff. El resto es desviado hacia la vía de las pentosas y usado principalmente en la síntesis de éstas. En condiciones aerobias, el

único producto final no gaseoso del catabolismo de la glucosa es el acetato; éste se acumula en el medio y no es oxidado sino hasta que se agota la glucosa. Así, se producen y se acumulan en el medio dos moles de acetato por cada mol de glucosa catabolizado por la vía de Entner-Doudoroff. (76)

Asimismo, el piruvato es rápidamente catabolizado por este microorganismo. Se ha observado que el carbono carboxílico del piruvato es llevado hasta bióxido de carbono, mientras los carbonos del metilo y del carbonilo se acumulan en el medio como acetato y sólo ante el agotamiento de la glucosa son oxidados hasta bióxido de carbono. Así pues, el piruvato puede ser aprovechado por esta especie como recurso energético. Sin embargo, hay que señalar que los gonococos crecidos en presencia de piruvato son marcadamente más sensibles a la acción bactericida del suero humano, que aquéllos que crecen en un medio libre de piruvato. (25, 59, 76, 80)

Otro punto interesante en la fisiología de *Neisseria gonorrhoeae* es su tiempo de generación. De hecho, no existe información concerniente al tiempo de generación del gonococo *in vivo*, sin embargo, en otros microorganismos se ha demostrado que las tasas de división en tejidos de mamíferos son sensiblemente menores a las correspondientes a las condiciones de máximo crecimiento, por lo que cabe esperar que este alargamiento del tiempo de generación sea también válido para el gonococo. La explicación de este fenómeno es que *in vivo* la disponibilidad de sustratos aprovechables está limitada, y por otro lado, el microorganismo

gasta cierta cantidad de energía en desplegar estrategias que le permitan enfrentar los mecanismos de defensa del huésped. (76)

En los párrafos anteriores sólo se ha buscado bosquejar algunos fenómenos fisiológicos sobresalientes, que servirán como antecedente a los siguientes capítulos.

CAPITULO 3

Importancia de la citoadherencia de *Neisseria gonorrhoeae* en su interacción con el huésped

La patogenicidad de *Neisseria gonorrhoeae* y de otras bacterias se relaciona íntimamente con su capacidad de adhesión a las superficies mucosas. Entre los factores conocidos que intervienen en dicha adhesión se cuentan distintas estructuras bacterianas superficiales (ligandos o adhesinas) y componentes exteriores de las células huésped (receptores) que exhiben un alto grado de especificidad. (71, 86)

Las adhesinas se enlazan estereoespecíficamente con los receptores de las células huésped a fin de lograr la citoadherencia. Este fenómeno con frecuencia resulta ventajoso para el agente patógeno durante el proceso infeccioso, ya que promueve la colonización de los tejidos y la fagocitosis.

Neisseria gonorrhoeae ha desarrollado mecanismos de resistencia a la fagocitosis que le permiten sobrevivir a ella, e incluso aprovecharla como medio de diseminación, aunque esto no sucede en todos los casos y a veces la fagocitosis logra eliminar al patógeno. A pesar de que la citoadherencia permite al microorganismo permanecer en contacto con las células que explota para sobrevivir, no es la causa de los daños tisulares y de otro tipo que caracterizan a las infecciones gonocócicas. (71, 81)

La citoadherencia es un fenómeno muy complejo y sólo parcialmente conocido en el que intervienen muchas variables. En este capítulo se analizarán las que a juicio de muchos investigadores, son las más importantes, como las interacciones electrostáticas, la presencia de iones, el pH, las interacciones hidrofóbicas, la composición química de los receptores, etc y cómo cada una de ellas contribuye a la adhesión de *Neisseria gonorrhoeae* a sus tejidos blanco. (6, 64, 116, 118)

3.1. Citoadherencia y patogénesis.

El hábitat natural de *Neisseria gonorrhoeae* se encuentra en las superficies mucosas del organismo humano; un factor crítico en la adaptación de esta bacteria a su biotopo es el desarrollo de mecanismos que le permitan colonizar el tejido, a pesar del continuo flujo de secreciones que lo caracterizan. El gonococo debe ser considerado como un patógeno primario de los epitelios y el hecho de que únicamente produzca infecciones en el ser humano, demuestra el alto grado de adaptación que ha alcanzado en relación a su huésped. (116).

En general, se distinguen tres etapas en el curso de una infección gonocócica:

La primera está definida básicamente por la citoadherencia y en ella los microorganismos fimbriados tienen más éxito que los carentes de fimbrias. Durante la segunda tienen lugar los daños a los tejidos ocasionados a través de factores tóxicos, relacionados con los lipopolisacáridos de la pared

celular bacteriana. La tercera consiste en la diseminación del microorganismo por vía sanguínea; esta etapa no se presenta en todos los casos.

La virulencia bacteriana está íntimamente ligada a la capacidad de adhesión, sobre todo durante la fase temprana de la infección. En la Universidad de Nashville, Mc. Gee, Johnson y Robinson efectuaron experimentos *in vitro* con el fin de clarificar los distintos estadios que se suceden al ocurrir una infección gonocócica en trompas de Falopio mantenidas en cultivo. (70, 71,

112)

Durante las primeras veinticuatro horas posteriores a la inoculación, los individuos de cepas T₁ se adhieren y dañan más rápidamente la mucosa que los individuos de cepas T₄; el daño a la mucosa se manifiesta sobre todo por la lisis de las células ciliadas. (25,70)

La observación de que las bacterias se adhieren casi exclusivamente a células epiteliales no ciliadas y el hecho de que los daños principales afecten a células ciliadas, permiten suponer que dichos daños se efectúan mediante una o más toxinas, pues sólo mediante agentes químicos de este tipo el microorganismo lograría infligir un daño a distancia. En consonancia con lo anterior, se ha observado que los sobrenadantes obtenidos tras la centrifugación de los tejidos dañados exhiben propiedades tóxicas frente a otras células. Una vez adheridos, los gonococos se internan en el citoplasma de las células epiteliales no ciliadas y se multiplican en el interior. Sesenta

horas después de la inoculación, principian a invadir los tejidos subepiteliales y la infección tiende a generalizarse. (31, 41, 70, 71)

Si este mismo proceso es el que se da *in vivo* como lo sugieren varios estudios patológicos, al arribar las bacterias a los tejidos subepiteliales causan procesos inflamatorios como la salpingitis o pueden alcanzar los vasos sanguíneos, originando una infección gonocócica diseminada. (71)

Así, la adhesión de *Neisseria gonorrhoeae* a las mucosas es una importante etapa inicial en la patogénesis, que permite la colonización de los epitelios, confiere al agente patógeno una posición que le permite atacar a células vecinas por medio de toxinas y facilita la fagocitosis que en ocasiones sirve como mecanismo de diseminación de la infección. (31, 71)

3.1.1. Estructuras bacterianas relacionadas con el fenómeno.

3.1.1.1 Fimbrias.

Neisseria gonorrhoeae, al igual que muchas bacterias Gram negativas, en ocasiones presenta unos organelos de naturaleza proteica que rodean todo el cuerpo celular y se extienden hacia el exterior; son de apariencia filamentosa aunque poseen cierta rigidez. Estos organelos fueron reconocidos en otras especies hace más de treinta años; inicialmente Duguid les dió el nombre de fimbrias (del latín, *fimbriae* plural de fibra o ribete) que ha prevalecto como el más adecuado. En 1959, Brinton introdujo el

término *pili* (plural latino para pelo o pelusa), que en la actualidad se reserva exclusivamente para fimbrias conjugativas. Desde un principio las fimbrias se relacionaron con la citoadherencia bacteriana y posteriormente se descubrió su participación en fenómenos conjugativos. (1, 46, 86)

En *Neisseria gonorrhoeae* las fimbrias tienen una longitud que va de 0.5 a 4.0 μm y un diámetro de 7.0 nm; cada individuo puede presentar de 20 a 200 fimbrias localizadas en toda la periferia celular. La frecuencia de la fimbriación es superior al 90% en el primer aislamiento, esto es, *in vivo* casi todos los individuos son fimbriados; sin embargo, después de algunos subcultivos *in vitro*, el porcentaje de individuos fimbriados disminuye en relación a las condiciones de cultivo. De hecho, la mayoría de los microorganismos fimbriados cultivados *in vitro* desarrollan tanto fenotipos fimbriados como fenotipos no fimbriados, dependiendo de sus condiciones de crecimiento. (81, 86, 98)

Las fimbrias en esta especie presentan gran heterogeneidad y en apariencia son multifuncionales; entre sus posibles funciones se cuentan la adhesión interbacteriana, sobre todo durante su crecimiento en medios líquidos y la adherencia a células blanco. (86, 113)

Las fimbrias se enlazan a los receptores superficiales de las células epiteliales, promoviendo así la colonización de las mucosas; además, interactúan con los leucocitos polimorfonucleares y probablemente confieren resistencia a la fagocitosis. A pesar de que las fimbrias obtenidas

de diferentes cepas gonocócicas exhiben atributos funcionales y estructurales similares, entre ellas se presentan diferencias físicas, químicas y antigénicas. Como se mencionó antes, sólo los tipos coloniales T₁ y T₂ presentan fimbrias, mientras los tipos T₃, T₄ y T₅ carecen de ellas. La composición de estos organelos es básicamente proteica. Existen unidades polipeptídicas que se polimerizan para dar origen a las fimbrias. (49, 79, 81, 98, 100, 103, 113, 119)

Para conocer más a fondo la estructura y las propiedades biológicas de las fimbrias se han efectuado muchos estudios, entre los cuales destaca la escisión de las cadenas polipeptídicas al hacerlas reaccionar con bromuro de cianógeno, en la que se rompen los enlaces peptídicos cuyo carbonilo es aportado por un resto de metionina. (59)

Estos experimentos han permitido identificar tres regiones importantes dentro de las secuencias aminoácidas de las fimbrias: una región llamada CNBr-2, de composición muy constante que es responsable de la unión a receptores específicos de las células huésped; una región denominada CNBr-3 que es de composición muy variable y confiere la especificidad antigénica y un fragmento CNBr-1 que contiene el extremo N-terminal y que mantiene una gran homología con las fimbrias de otras especies bacterianas como *Neisseria meningitidis*, *Moraxella nonliquefaciens* y *Pseudomonas aeruginosa*. Existen sólo siete sustituciones de aminoácidos en este fragmento de veintinueve posiciones y de ellas, cuatro son cambios que conservan el equilibrio electrostático. (98, 101)

El análisis del contenido de fósforo en fimbrias purificadas de *Neisseria gonorrhoeae*, ha revelado la presencia de dos residuos de fosfato en cada unidad polipeptídica; otros estudios han llegado a la conclusión de que las fimbrias no son de naturaleza glicoproteica, aunque algunos autores reportan la presencia de hexosas; esto último tal vez sea debido a contaminación con lipopolisacáridos de la membrana exterior. (98, 116)

Las proteínas fimbriales contienen aproximadamente 200 residuos de aminoácidos y su peso molecular es de $19,000 \pm 2,500$ daltons, variando de una cepa a otra. Las proteínas fimbriales del gonococo poseen un alto porcentaje de aminoácidos hidrofóbicos como valina, leucina, metionina, fenilalanina, isoleucina, tirosina y triptófano. Su punto isoeléctrico promedio es de 5.3, lo que revela cierta riqueza en ácidos glutámico y aspártico. Estas proteínas son de cadena única y presentan dos puentes disulfuro entre residuos de cisteína y serina fosfatada. Además, mantienen cierta homología (aproximadamente 50%) con actinas de células eucarióticas, sobre todo en los extremos terminales. Esta mención, de ningún modo tiende a establecer afinidades filogenéticas. Los extremos terminales adoptan espontáneamente una forma helicoidal de cien grados de arco, lo que resulta en la exposición hacia el exterior de los aminoácidos más hidrofóbicos; en un medio acuoso, estos extremos tienden a formar agregados micelares. (98, 116)

La composición en aminoácidos de las fimbrias gonocócicas procedentes de distintas cepas sugiere algunas variaciones estructurales, que se reflejan sobre todo en marcadas diferencias antigénicas.

Recientemente se ha observado que las variantes opacas y transparentes de un mismo antecesor, difieren en sus propiedades fisicoquímicas y biológicas. (55)

Las investigaciones efectuadas hasta ahora permiten establecer cuatro tipos de fimbrias presentes en *Neisseria gonorrhoeae*: α , β , γ y δ . Los pesos moleculares de sus unidades polipeptídicas son: para α , 19,500; para β , 20,500; para γ , 21,000; y para δ , 18,500. Los puntos isoeléctricos son: α , 6.0; β , 5.3; γ , 5.5; y δ , 6.5. (56, 57)

En las fimbrias δ los contenidos de aspartato, asparagina y serina resultan menores que los de otros tipos. Las proteínas α contienen un residuo extra de fenilalanina en comparación con las β y las γ . Asimismo existen polipéptidos comunes a las β y γ , lo que sugiere cierta afinidad estructural e incluso antigénica. Las fimbrias α parecen ser mucho más abundantes que las demás. Otra observación interesante es que parecen ser menos adhesivos a las células epiteliales de la boca que las β . (55, 56, 57)

Todo lo anterior hace pensar que el microorganismo, siendo un parásito casi obligado, se encuentra sometido a fuertes presiones selectivas que lo han llevado a desarrollar múltiples fenotipos para evadir las defensas del huésped, así como para sobrevivir en las variables condiciones ambientales que le impone su nicho ecológico. (55, 56, 57)

3.1.1.2. Cápsula.

La existencia de material capsular en *Neisseria gonorrhoeae* continúa siendo tema de fuertes controversias entre los investigadores, aunque cada vez son más los que aceptan la presencia de cápsulas en este microorganismo. Ya desde 1977, tres grupos distintos de investigación lograron identificar material capsular en gonococos, mediante preparaciones con tinta china; posteriormente técnicas de microscopía electrónica y reacciones inmunológicas, revelaron una estructura semejante a una cápsula. Inclusive, la octava edición del Manual de Bergey presenta a *Neisseria gonorrhoeae* como un microorganismo capsulado, aunque no todas las cepas poseen esta característica. (4, 45, 78)

Aparentemente, la cápsula de *Neisseria gonorrhoeae* se hace más evidente durante la fase logarítmica de su crecimiento. Algunos autores sugieren tinciones con azul alciano o con rojo de rutenio como técnicas recomendables para la observación del material capsular. Hasta la fecha se desconoce la composición química de la cápsula del gonococo, pero la tinción con rojo de rutenio sugiere que podría contener importantes cantidades de un polisacárido con carácter ácido. De acuerdo a este mismo reporte, el espesor de la cápsula va de 40 a 60 nm. (45)

Las cápsulas son generalmente factores de virulencia; desafortunadamente los estudios acerca de la cápsula de *Neisseria gonorrhoeae* apenas principian, por lo que habrá que esperar nuevos resultados experimentales para conocer en detalle el papel que desempeña en la patogénesis. (116)

3.1.1.3 Proteínas de la Membrana Exterior

La membrana exterior del gonococo puede ser aislada fácilmente sin sufrir grandes daños, gracias a que tiende a formar vesículas proyectadas hacia el exterior. Esto ha permitido estudiar profundamente las proteínas que la componen. (44)

Las proteínas presentes en la membrana exterior revisten un interés especial, tanto por su potencial antigénico como por su participación en las interacciones bacteria-huésped que determinan el curso de una infección. Estudios recientes han demostrado que aún en una misma cepa pueden ocurrir variaciones en la composición proteica superficial, que influyen decisivamente en la virulencia de las bacterias. (43, 44)

Estas proteínas aparecen como promotoras de la citoadherencia interbacteriana y también están involucradas en la adhesión a células epiteliales y neutrófilos de sangre periférica; lo anterior se ha demostrado *in vitro* (100)

Hasta el presente se han establecido tres familias o grupos de proteínas constituyentes de la membrana exterior de *Neisseria gonorrhoeae*, llamadas proteínas I, II y III. (7, 8, 43, 44, 60, 77, 100)

La proteína I es la que se encuentra en mayor cantidad, su peso molecular va de 32,000 a 39,000 daltons. Se considera que es la que determina la

especificidad antigénica y está presente en todas las variables coloniales. A partir de ellas se han aislado tres fracciones. Se ha comprobado que los fragmentos de mayor peso molecular son más sensibles a la proteólisis enzimática que aquellos de menor peso molecular. El tratamiento enzimático sólo logra escindir pequeños fragmentos de la cadena (10% aproximadamente) y parece ser que sólo estos fragmentos están totalmente expuestos al exterior. El contenido de aminoácidos hidrofóbicos es más o menos del 26%. En general, la composición en aminoácidos de proteína I no difiere mucho de la de proteínas análogas presentes en otros Gram negativos. (7, 8, 77, 116)

La llamada proteína II es privativa de las cepas con morfología colonial opaca. Su peso molecular varía entre 24 y 30 kilodaltons; se han aislado cinco fracciones diferentes (II, IIa, IIb, IIc y IId), aunque en un solo individuo no se han localizado más de dos de ellas. Su contenido en aminoácidos hidrofóbicos es muy similar al de la proteína I. La proteína II es termolábil; su estructura terciaria es tal que una considerable porción de su cadena se encuentra en el exterior de la membrana, aunque su reactividad antigénica parece ser menor a la de la proteína I. (44, 108, 116)

El tercer grupo o proteína III es el menos estudiado, tal vez porque parece no ser un factor crucial en la virulencia de *Neisseria gonorrhoeae*. Su peso molecular es de 30,000 daltons y es prácticamente resistente a la proteólisis enzimático. Se encuentra en escasa cantidad y se une a la proteína I para formar heteropolímeros superficiales. Sólo se le encuentra en algunas cepas. (8, 109)

Hasta la fecha no se ha logrado proponer un mecanismo que explique totalmente las variaciones en las proteínas de la membrana exterior, no obstante, se sabe que el microorganismo maneja estos cambios en provecho de su supervivencia. Una posibilidad es que estas proteínas se deriven de una modificación post-traducciona1 en un gen común a todas, quizá por rompimiento proteolítico de la señal que desencadena el acomodo de las proteínas en la membrana exterior, o bien mediante adiciones subsecuentes a un péptido inicial común. (44, 75, 105)

Las alteraciones en el contenido de estas proteínas de la membrana exterior se relacionan con variaciones en algunos de los factores que determinan la virulencia, como la susceptibilidad a la actividad bactericida del suero humano, la citoadherencia a células epiteliales y la susceptibilidad a la fagocitosis. Cambios producidos en el huésped, tales como variaciones en enzimas proteolíticas durante el ciclo menstrual, pueden ejercer presiones selectivas para originar fenotipos ventajosos para un microambiente particular. (44, 75)

3.1.1.4 Lipopolisacáridos.

Los lipopolisacáridos son el principal componente de las paredes celulares de las bacterias Gram negativas. En general, se puede afirmar que todo lipopolisacárido bacteriano posee un esqueleto trisacárido, unidad que se repite y que está formada por dos heptosas y ácido octulosónico. A este esqueleto se hallan unidas cadenas laterales de oligosacáridos y el ácido

graso β -hidroximirístico que confiere a esta compleja estructura su carácter lipídico. Los lipopolisacáridos forman una membrana lipídica exterior y contribuyen a la complicada especificidad antigénica de las células Gram negativas. Inmediatamente por debajo del lipopolisacárido yace la capa de péptidoglicano, también conocido como mucopéptido, que completa la estructura de la pared celular. (59, 117)

El lipopolisacárido (LPS) de la pared celular de *Neisseria gonorrhoeae* desempeña un importante papel en la resistencia que ofrece el microorganismo ante mecanismos inmunológicos del huésped.

El LPS es un importante antígeno que interacciona con el suero humano normal y también con las piocinas, sustancias que tienen poder bactericida y son producidas por algunos bacilos Gram negativos como *Pseudomonas aeruginosa*. Los cambios en la sensibilidad del gonococo a la acción del suero humano normal y a las piocinas, están siempre acompañados de variaciones en la estructura del LPS. Aparentemente el LPS contiene muchas de las determinantes antigénicas que reaccionan con el suero humano normal y es responsable directo de la toxicidad gonocócica sobre epitelios. (21, 71, 76, 80)

En estrecha relación con el LPS, existe en la pared celular de *Neisseria gonorrhoeae* otra estructura, el péptidoglicano. Su composición es muy similar a la de sus análogos en otras bacterias Gram negativas y contiene aproximadamente cantidades equimolares de ácido murámico, glucosamina, L-alanina, ácido glutámico, ácido meso-diaminopimélico y D-alanina. (95)

Para *Neisseria gonorrhoeae* la probabilidad de una interacción directa entre el péptidoglicano y el huésped es bastante alta, lo que no ocurre entre otras bacterias Gram negativas. Estudios *in vitro* han demostrado que el gonococo puede promover esta interacción excretando hacia el medio circundante fragmentos solubles de péptidoglicano. (74, 90, 94, 96, 110)

3.2. Factores Físicos y Químicos Involucrados en la Interacción Huésped-Parásito.

3.2.1. Interacciones Electroestáticas.

Las células fimbriadas de *Neisseria gonorrhoeae* son más eficientes en la citoadherencia que otras células de la misma especie. Se les ha agrupado en los tipos coloniales T₁ y T₂.

Estas células tienen un punto isoelectrico de 5.3, lo que indica una alta proporción de grupos acídicos ionizados en la superficie, que confiere a las bacterias una carga electrostática negativa neta; esta carga permanece prácticamente sin cambio en un intervalo más o menos amplio de pH (5.0 a 7.5), dentro del que se ubican las secreciones mucosas de todos los sitios que pueden ser hábitat de esta especie. Las células eucarióticas presentan también carga negativa neta, atribuible especialmente a los grupos ionizados del ácido siálico presentes en las glicoproteínas superficiales.

La presencia de aniones tanto en la bacteria como en la célula blanco produce fuerzas electrostáticas que se incrementan cuando la bacteria se aproxima a su huésped y origina una considerable repulsión que se opone a la adherencia. Pero también se sabe que en la superficie de las células eucarióticas y muy probablemente en las del microorganismo, existen algunos grupos con carga positiva neta debidos a la lisina y la hidroxilisina, a los extremos N-terminales de las proteínas, a los fosfolípidos y a las aminas glucolípídicas. Parece lógico pensar que estos grupos catiónicos podrían dar origen a mosaicos de carga complementarios durante la unión de ambas células, promoviendo así la citoadherencia. (6, 61, 116)

Sin embargo, hasta la fecha no hay evidencia experimental de que esto suceda de modo tan simple, sobre todo porque aún los medios más finos para la detección de regiones de diferente densidad de carga, como los métodos de microscopía electrónica, resultan demasiado burdos para advertir diferencias de carga a nivel molecular; por otro lado, no puede perderse de vista que los puntos isoeléctricos claramente señalan la mayor abundancia relativa de grupos aniónicos. Mediante experimentos de bloqueo químico de grupos iónicos, se comprobó que al eliminar la carga negativa en la superficie bacteriana se incrementa la adherencia y al aumentar la carga negativa la adherencia disminuye. (116)

Al neutralizar toda carga electrostática (entiéndase polos, no dipolos) mediante el bloqueo de todos los grupos aniónicos y catiónicos se observó que la citoadherencia permanece constante en un nivel semejante al

observado en ausencia del bloqueo, lo que indica que la citoadherencia se lleve a efecto a pesar de la oposición de las fuerzas electrostáticas generadas por los grupos aniónicos de las dos superficies; esto es, existen factores microelectrostáticos capaces de sobrepasar la barrera macroelectrostática que se opone a la adhesión. (6, 116)

Uno de los factores que permiten vencer la repulsión macroelectrostática entre *Neisseria gonorrhoeae* y la célula huésped es la presencia de fimbrias en la superficie del microorganismo. Las fuerzas electrostáticas de repulsión tienen un alcance máximo aproximado de 0.02 a 0.03 μm , distancia menor a la longitud de las fimbrias que va de 0.4 a 4.0 μm . Aunque las fimbrias son de naturaleza aniónica, gracias a su forma alargada y estrecha están en posibilidad de dirigirse específicamente a sitios de densidad de carga catiónica y, una vez unidas al receptor, servir como puentes de tracción. (6, 86, 116)

Otro factor que interviene en la superación de la repulsión electrostática es la atracción de largo alcance contemplada en la teoría DLVD (Derjaguin-Landau, 1941; Verwey-Overbeek, 1948). (116)

Esta teoría considera que la energía de interacción de dos partículas cargadas de igual signo y magnitud, es la suma algebraica de la energía electrostática de repulsión y las fuerzas de Van der Waals.

Recuérdese que las fuerzas de Van der Waals surgen como resultado de vibraciones atómicas y moleculares, produciendo dipolos fluctuantes; las

interacciones electromagnéticas entre átomos o moléculas con frecuencias de vibración similares producen fuerzas de atracción. (17)

Mediante el análisis matemático de las ecuaciones que describen estas fuerzas, en 1973 Curtis llegó a la conclusión de que la energía de repulsión decrece con la distancia más rápidamente que las fuerzas de Van der Waals, obteniéndose así, para la repulsión entre dos partículas, un máximo y dos mínimos. La cohesión entre las dos superficies se ve favorecida cuando la distancia tiende a cero, o sea cuando el contacto es inminente (primer mínimo) y también en una zona localizada a más de 0.01 μ m (segundo mínimo). A distancias comprendidas entre estos dos mínimos las fuerzas interactuantes producen repulsión. (116)

El primer mínimo de repulsión, más cercano a las superficies en cuestión, sólo se alcanza después de haber llegado al segundo y haber vencido las fuerzas repulsivas presentes en la zona comprendida entre ambos. En cuanto a la zona del segundo mínimo hay que señalar que la atracción producida en ella es mucho más débil que la existente en la región del primer mínimo. (116)

En la región del segundo mínimo la citoaderencia es un fenómeno reversible, que se ve favorecido por la fuerza iónica que generalmente existe en el ambiente del tracto urogenital debido a la osmolaridad de la orina (50 a 1400 mosm/l), así como por la alta concentración de iones cinc de las secreciones prostáticas (hasta 1 mg/ml). (116)

Resulta claro que las atracciones de largo alcance por sí solas no explican la citoadherencia de *Neisseria gonorrhoeae*, sin embargo, la existencia de la zona del segundo mínimo de repulsión representa una fase preliminar importante, que junto con otros factores como la presencia de fimbrias, la interacción entre polímeros, las fuerzas hidrofóbicas y otros, dan como resultado la adhesión de *Neisseria gonorrhoeae* a células blanco. (6, 64, 65, 66, 116)

3.2.2. La Presencia de Cationes Inorgánicos.

La topografía irregular de la superficie celular de *Neisseria gonorrhoeae* sugiere que los contactos con la célula huésped se llevan a cabo mediante enlaces muy específicos. Así, una posibilidad en el mecanismo de la adhesión es que cationes inorgánicos funcionen como puentes de unión entre ligandos y receptores.

Este tipo de interacción involucra energías químicas de enlace, por lo que la distancia para que se lleven a cabo debe ser aproximadamente de 1 nanómetro (0.001 μm) de tal forma que la bacteria, para tender este puente, necesita haber superado la barrera macroelectrostática. Aunque se han investigado varios cationes inorgánicos di y trivalentes como el calcio, el magnesio, el cinc y el hierro, solamente de éste último se tiene evidencia experimental de que sirve como puente de unión entre las adhesinas y los receptores celulares. (35, 102)

Es un hecho muy conocido, aunque poco comprendido, que el hierro desempeña un papel importante en la patogenicidad de *Neisseria gonorrhoeae* e inclusive en algunos experimentos la concentración de este catión, en ciertos niveles, es directamente proporcional a los parámetros de virulencia de la bacteria. También se ha reportado que una concentración de 10 mM de iones férricos en el medio propicia la adherencia entre las bacterias. (6, 64, 65, 116)

En relación a la teoría DLVO, se ha demostrado que la presencia de iones férricos en el medio incrementa las tasas de adhesión, al reducir notablemente la magnitud de las fuerzas repulsivas y, por lo tanto, sus distancias de operación.

Algunos investigadores sostienen que los iones férricos establecen enlace covalente con residuos de histidina de las fimbrias cuando están en su forma no protonada (pH 7.4) y a glicoproteínas propias de las membranas celulares en los tejidos del huésped. Sin embargo, hay que aclarar que a pH menores, como los que existen en el tracto genital femenino, la histidina es incapaz de enlazarse a cationes férricos. En otros ambientes, como la uretra masculina o el epitelio bucal, sí pueden darse pH cercanos a la neutralidad que permiten la formación del puente catiónico. Es importante mencionar que lo anterior no sucede con los cationes ferrosos, los cuales aparentemente no tienen influencia sobre el desarrollo del fenómeno. (116)

Por lo que toca a otros cationes como el calcio y el magnesio, parece que no

intervienen directamente en la citoadherencia; sin embargo, en altas concentraciones o en su ausencia total, se observa la autólisis bacteriana. Esto es fácilmente explicable; a muy altas concentraciones producen alteraciones en el equilibrio osmótico celular y en su ausencia total hay fuertes deficiencias enzimáticas, pues ambos actúan como cofactores enzimáticos. (59, 116, 117)

3.2.3. El Efecto del pH.

El potencial de hidrógeno constituye un factor frecuentemente decisivo en el curso de las reacciones químicas; por ello, no debe extrañar que en el caso de la citoadherencia, que es un fenómeno biológico pero también molecular, el pH desempeñe un papel de importancia.

Aparentemente, la existencia de un medio ácido, es uno de los factores que influyen en el tropismo positivo que muestra *Neisseria gonorrhoeae* hacia ciertos tejidos. Se piensa que el pH del medio afecta la composición de la superficie del microorganismo. (35, 65, 102)

Las superficies mucosas que coloniza *Neisseria gonorrhoeae* resultan ser un ambiente de gran complejidad, rico en mucinas y variable en su composición iónica. Ahí, los microorganismos se encuentran expuestos a distintos y cambiantes pH que van desde los que presenta el semen y las secreciones prostáticas (7.19 y 6.45, respectivamente) hasta los variables pH de la orina, cuyo rango va de 4 a 8. En la mujer, durante el ciclo

menstrual el pH del moco endocervical varía entre 5.9 y 7.3; en el moco ectocervical de 4 a 7.4 y en la vagina puede ir de 3.5 a 5.8; después del coito las secreciones masculinas ejercen un fuerte efecto amortiguador en el tracto genital femenino, lo que tal vez coadyuve a la adherencia inicial al evitar un pH extremo. (35, 116)

Resultados experimentales indican que al desarrollarse en medios neutros, las células bacterianas adquieren una carga negativa moderada, la cual se incrementa sensiblemente cuando los microorganismos crecen en medios ácidos. Las cepas fimbriadas T₁ y T₂ poseen una carga negativa neta mayor a las que tienen las cepas T₃, T₄ y T₅; pero el incremento de carga negativa que experimentan al disminuir el pH es mayor para las cepas no fimbriadas que para las fimbriadas. Así, el pH modifica las fuerzas electrostáticas existentes entre las bacterias y sus tejidos blanco y también sobre la fuerza iónica presente en el medio. (65)

Algunos autores han reportado que la tasa de citoadherencia gonocócica a células epiteliales vaginales se triplica a pH 4.5 en comparación a la que corresponde a pH 7. Se han obtenido resultados parecidos al exponer células epiteliales de la boca a fimbrias purificadas. En general, puede establecerse que pH comprendidos entre 5.5 y 7.0 resultan óptimos para la citoadherencia de *Neisseria gonorrhoeae* a células epiteliales de la boca, la vagina y la uretra. (116)

3.2.4. Interacciones Hidrofóbicas.

La presencia de cargas electrostáticas parciales en las moléculas, debidas a las deformaciones de las nubes electrónicas, es responsable de los fenómenos de polaridad. Dos moléculas polares ejercen entre si fuerzas atractivas que las permiten asociarse fácilmente, mientras que una molécula polar en presencia de otra no polar, experimenta y a la vez ejerce una repulsión conocida como interacción hidrofóbica. (59, 117)

La citoadherencia a superficies mucosas se da en un medio acuoso, de manera que la exclusión de grupos hidrofóbicos de la red acuosa induce la aproximación de superficies hidrofóbicas o no polares, favoreciendo la acción inespecífica de las fuerzas de Van der Waals; una interacción hidrofóbica subsecuente promueve la unión a receptores específicos constituyentes de la membrana de la célula huésped. En el caso de *Neisseria gonorrhoeae* las principales determinantes de la hidrofobicidad superficial son las proteínas de la membrana exterior y algunos aminoácidos presentes en las subunidades protéicas de las fimbrias. El carácter hidrofóbico de estas determinantes parece depender del pH del medio. (65, 66, 116)

Algunos estudios revelan que las cepas gonocócicas que poseen en su membrana exterior la proteína II son menos hidrofóbicas que aquellas que poseen las proteínas IIa, IIb y IIc. También existen reportes que señalan que los cepas T₂ exhiben un carácter hidrofóbico menor al de las cepas T₁, T₃, T₄ y T₅.

Por otra parte, las fimbrias contienen un alto porcentaje de aminoácidos no polares (25 a 46%) y esto contribuye a la hidrofobicidad de la célula bacteriana. A pH 7.2 las células fimbriadas son menos hidrofóbicas que las no fimbriadas, lo que sugiere que en este caso las fimbrias adquieren carácter hidrofílico; pero a pH 6.0 la hidrofobicidad celular disminuye, aunque las fimbrias aumenten su carácter hidrofóbico. (64, 65, 116)

Se ha demostrado que los pH bajos incrementan la adherencia de las fimbrias purificadas a células epiteliales de la boca y también la adhesión de bacterias a células vaginales.

Así, a pH bajos, las fimbrias resultan factores de adhesión más eficientes, tanto por su carga negativa más acentuada como por su incrementado carácter hidrofóbico. (65, 66)

3.2.5. Los Carbohidratos Superficiales de la Célula Huésped.

A lo largo de este trabajo se ha mencionado repetidamente que la citoadherencia bacteriana y en particular la de *Neisseria gonorrhoeae* a células epiteliales, son fenómenos biológicos de alta especificidad. Para lograr esto, el microorganismo cuenta con una serie de atributos estructurales y fisiológicos y también aprovecha ciertos factores ambientales que se han tratado en forma detallada. Sin embargo, en el desarrollo de la citoadherencia, las células huésped, y en especial sus receptores superficiales, constituyen un factor de la mayor importancia

CAPITULO 4

INMUNIDAD

4.1. La Respuesta Inmune ante la Infección Gonocócica.

Las enfermedades infecciosas están íntimamente relacionadas con las funciones del sistema inmunológico. Probablemente estas funciones se desarrollaron en un periodo temprano de la evolución biológica como respuesta a factores de presión selectiva presentes en el medio. La respuesta inmune es un atributo biológico de todos los vertebrados e inclusive se ha detectado en algunos animales inferiores como lombrices de tierra, insectos y crustáceos. En todos los casos, los mecanismos defensivos se basan en la capacidad del organismo para discriminar sus propios tejidos de otras células o materiales que eventualmente podrían dañarlo a través de un proceso infeccioso. (38, 105)

Las infecciones por *Neisseria gonorrhoeae* en el hombre provocan diversos fenómenos inmunológicos, que van desde el despliegue de respuestas por distintos tipos de leucocitos, hasta la aparición de inmunoglobulinas antigonocócicas en la circulación y las secreciones de pacientes infectados. *Neisseria gonorrhoeae* presenta una alta variación antigénica de una cepa a otra en relación a la presencia de fimbrias, proteínas superficiales, lipopolisacáridos, material capsular y otros antígenos de superficie, lo que explica las situaciones de personas que sufren ataques repetidos de infección gonocócica.

Uno de los principales objetivos de estudiar la respuesta inmune humana frente a una infección gonocócica, es encontrar un inmunógeno adecuado que permita la elaboración de una vacuna eficaz. Aunque hasta la fecha esto no se ha logrado, las perspectivas a mediano plazo son alentadoras. (14, 38)

4.1.1. Respuesta Inmune Celular.

Distintos autores han demostrado la importancia de los neutrófilos polimorfonucleares en el control y a veces también en la diseminación sistémica de *Neisseria gonorrhoeae*. (14, 22, 26, 28, 85, 93)

La asociación de las bacterias con los neutrófilos polimorfonucleares (LPMN) se efectúa por medio de una citotoxina superficial de naturaleza proteica conocida como factor de asociación a leucocitos (FAL), que promueve la adherencia y la posterior fagocitosis de las bacterias. El FAL parece ser el principal promotor de la quimiotaxis de los LPMN hacia los gonococos; sin embargo, para ello se requiere la activación del sistema del complemento. Esto se ha demostrado en distintos experimentos de consumo de complemento y en la ausencia de actividad quimiotáctica en sueros tratados con calor o con EDTA. (28, 42, 50)

La presencia de *Neisseria gonorrhoeae* en el tejido blanco desencadena una reacción inflamatoria en la cual la fagocitosis de bacterias por LPMN es un proceso muy activo. De hecho, se ha planteado la hipótesis de que la

ingestión de un gonococo facilita la fagocitosis de otros. Sin embargo, se ha observado que no todos los microorganismos fagocitados son degradados y los que logran sobrevivir dentro del fagocito frecuentemente se reproducen en el interior de éste y terminan por destruirlo. Los acúmulos restantes que pueden observarse en bacterioscopias al Gram, rodeados de remanentes leucocitarios, se conocen como unidades infectivas y se ha sugerido que estos elementos están mejor capacitados para evadir los mecanismos de defensa celular y humoral del huésped y producir una infección diseminada. (3, 13, 14, 22, 114)

La falla que presentan los LPMN para degradar los gonococos adheridos o ingeridos, parece deberse más a una deficiencia al generar fagosomas, que a un defecto en los mecanismos bactericidas intracelulares. (22, 91, 92)

Los macrófagos son otro tipo de células blancas que cooperan activamente en la fagocitosis de bacterias durante una infección gonocócica, pero en ellos no se ha observado la supervivencia intracelular de *Neisseria gonorrhoeae*. (22)

A pesar de que la respuesta inmune celular no garantiza la destrucción de todo inóculo infectante de *Neisseria gonorrhoeae*, sí contribuye de manera importante a contener o dificultar la diseminación del agente patógeno y frecuentemente ofrece un elemento de gran valor diagnóstico, sobre todo en pacientes masculinos, en los que la aparición de gonococos intraleucocitarios en secreciones constituye en sí misma una prueba diagnóstica del padecimiento. (49, 62, 91, 92)

4.1.2. Respuesta Inmune Humoral.

Neisseria gonorrhoeae, como ya se ha establecido, cuenta con distintos mecanismos que le permiten burlar o evadir las barreras inespecíficas del huésped y, una vez que lo logra, estimula la síntesis de anticuerpos específicos en la circulación y las secreciones del huésped, lo que refuerza la defensa de éste frente a la infección. La respuesta humoral ante el gonococo se manifiesta por la rápida aparición de anticuerpos IgG e IgA secretorios en las secreciones genitales. Ambas clases de anticuerpos parecen ser capaces de inhibir la adherencia de gonococos a las células de las mucosas *in vitro* de manera específica. (38, 51, 68, 112)

Las observaciones clínicas sugieren que los anticuerpos locales IgA no protegen permanentemente contra la reinfección, aunque mantienen sus niveles durante cierto lapso después de la infección, que puede ir de uno a cuatro meses. A pesar de lo anterior, los anticuerpos locales (IgG y sobre todo IgA secretoria) tienen un alcance limitado en su función protectora. En el tracto genital femenino se han desarrollado factores de tipo enzimático como ciertas proteasas que atacan a anticuerpos con el fin de evitar que éstos puedan actuar sobre los espermatozoides, que de alguna manera son elementos extraños susceptibles de ser reconocidos como tales. Asimismo, el plasma seminal humano contiene potentes inhibidores de los anticuerpos mediados por el complemento y de los anticuerpos responsables de la opsonización. (12, 36, 112)

Por otro lado, *Neisseria gonorrhoeae* posee la capacidad de sintetizar proteasas que hidrolizan las cadenas ligeras de la IgA secretoria, neutralizando así un importante recurso defensivo del huésped. La detección de un aumento en los niveles de IgA secretoria constituye una prueba de apoyo en el diagnóstico y el tratamiento de las infecciones gonocócicas. (14, 112)

También el sistema del complemento parece desempeñar un importante papel en la lucha del huésped contra la infección. De hecho, los pacientes con deficiencias en la síntesis de algún elemento del complemento como C₅, C₆, C₇ o C₈ muestran mayor susceptibilidad a las infecciones gonocócicas. Muy probablemente esto se debe a la incapacidad para generar el complejo de ataque a la membrana que, una vez unido a la superficie bacteriana, promueve la citolisis mediante la acción de la lisozima. La proteína C₈ posee propiedades opsónicas, por lo que su ausencia o su conformación espacial inadecuada entorpecen el proceso de la fagocitosis, que generalmente está mediada por algún elemento humoral. (42)

Neisseria gonorrhoeae también provoca la formación de anticuerpos séricos; en su mayoría, éstos son clasificados como IgG y pueden ser opsónicos o bactericidas. Sin embargo, estos anticuerpos son específicos, por lo que no tienen efecto sobre antígenos diferentes a aquéllos que provocaron su formación. Esta especificidad constituye el mayor obstáculo para la obtención de una vacuna, pues, como ya se ha dicho, el gonococo se caracteriza por su extremada variabilidad antigénica. (14, 22, 38, 49, 67, 75)

4.1.3. Perspectivas de Vacunación

En la búsqueda de una vacuna para prevenir las enfermedades debidas a *Neisseria gonorrhoeae* se han probado distintos inmunógenos y son cuatro con los que se han obtenido algunos resultados: las fimbrias, las proteínas de la membrana exterior, el material capsular y los lipopolisacáridos de la pared celular.

De todos los inmunógenos de prueba, las fimbrias son los más ampliamente estudiados y probados. Su composición, estructura y localización en la periferia celular les confieren una alta inmunogenicidad, que puede verse incrementada con la incorporación de adyuvantes como la alúmina y con el uso de distintos medios dispersantes como el amortiguador Tris o la etanolamina que modifican el tamaño de la partícula en suspensión. Se han elaborado muchas vacunas a base de fimbrias que presentan altas tasas de protección en condiciones experimentales, pero que pierden mucha de su utilidad al aplicarse a grandes poblaciones, pues los anticuerpos que originan son altamente específicos y no resultan efectivos al usarse contra un microorganismo que presenta una enorme variabilidad antigénica. (40, 55, 56, 57, 88, 89, 100, 115)

En el caso de las vacunas elaboradas a partir de los lipopolisacáridos de la pared celular y del material obtenido de la cápsula (probablemente polisacáridos de carácter ácido) el principal problema que se presenta es el escaso poder inmunogénico de estas fracciones celulares, ya que su poca

complejidad estructural y su relativamente bajo peso molecular son características no deseables en un buen inmunógeno. A esto hay que añadir el ya conocido problema de la constante variación del mosaico antigénico que existe en estos materiales y el tiempo relativamente corto en que se ha experimentado con ellos. (21, 30)

Las proteínas superficiales de *Neisseria gonorrhoeae* también se han usado recientemente como inmunógenos de prueba y los resultados obtenidos, aunque son todavía modestos, en el futuro pueden proporcionar la base para la elaboración de una vacuna segura. De hecho, estas proteínas son semejantes a sus homólogas presentes en otras bacterias Gram negativas que se usan en vacunas ya desarrolladas. Su poder inmunogénico es alto, pero al igual que las otras fracciones celulares del gonococo usadas como inmunógenos de prueba, estas proteínas cambian su composición y su conformación espacial de una cepa a otra y a veces de una generación a otra. (19, 38, 69, 89, 106)

El futuro para la obtención de un inmunógeno de calidad y potencia es prometedor; por el momento es necesario ir armando lentamente el rompecabezas que plantea la heterogeneidad de las fimbrias y la participación de las proteínas superficiales, así como la purificación del inmunógeno para conocer el material activo responsable del amplio espectro de protección. La generación inducida de inmunidad mediante una vacuna conducirá seguramente a una disminución sustancial en la frecuencia de infecciones por *Neisseria gonorrhoeae*, al promover en el huésped mecanismos que impiden su adherencia y colonización. (14)

CAPITULO 5

ASPECTOS CLINICOS Y EPIDEMIOLOGICOS DE LA ENFERMEDAD

5.1. Aspectos clínicos y uso de los antibióticos.

La patogénesis de cualquier enfermedad infecciosa comprende obligadamente diversos eventos; de éstos los más importantes son la adherencia y la colonización en el sitio receptor del huésped, que generalmente es una superficie mucosa. De esta condición primaria depende la supervivencia y la viabilidad del agente potencialmente patógeno, el cual tendrá que resistir a los mecanismos de defensa inespecíficos y específicos movilizados por el huésped. (14)

La infección gonocócica plantea en nuestros días un importante problema de salud pública. Las investigaciones recientes han permitido el conocimiento de nuevas facetas de la relación huésped-parásito y de la epidemiología del mal. Actualmente, a nivel mundial existe un sostenido incremento de la gonorrea y en general de las enfermedades de transmisión sexual.

Por su elevada morbilidad estos padecimientos son responsables de pérdidas económicas y alteraciones psicológicas y sexuales; en obstetricia y ginecología cobran relevancia particular por afectar a fetos y neonatos. (5, 14, 18)

La infección por *Neisseria gonorrhoeae* puede originar distintos cuadros clínicos, entre otros podemos señalar uretritis, epididimitis, cervicitis, proctitis, faringitis, conjuntivitis, ceguera y neumonia del lactante, endometritis, perihepatitis, bartholinitis, síndrome de infección amniótica, salpingitis, vaginitis, parto prematuro e infección gonocócica diseminada. Los hechos anteriores se agravan por la aparición creciente de cepas resistentes a antibióticos y también por la alta frecuencia de infecciones latentes y asintomáticas. (2, 5, 27, 39, 49, 84, 111)

Neisseria gonorrhoeae es una bacteria extraordinariamente sensible a los cambios de temperatura, pH y humedad. Fuera de su hábitat muere rápidamente, de tal manera que la transmisión de una persona infectada a otra susceptible suele ocurrir durante el contacto físico interno, que permite y facilita que la bacteria pase de su sitio de infección en un huésped hacia la superficie mucosa de un nuevo huésped susceptible. Los sitios de colonización más frecuentes son las mucosas genital y uretral; sin embargo, en relaciones sexuales no habituales pueden colonizarse las mucosas rectal, faríngea y conjuntival. (2, 14, 27)

En el sexo masculino la manifestación más usual de la infección es la uretritis aguda, caracterizada por la súbita aparición de disuria y descarga

uretral purulenta. En cambio, entre las mujeres la infección puede cursar asintomática o presentarse como descarga vaginal purulenta acompañada de disuria e irregularidad menstrual. En el caso de los recién nacidos, la infección se adquiere durante el paso del producto a través de las vías genitales infectadas; la conjuntivitis inicial progresa rápidamente para afectar a todas las estructuras del ojo y frecuentemente da por resultado la ceguera; a este cuadro se le conoce como *ophthalmia neonatorum*. Entre homosexuales pueden presentarse infecciones orofaríngeas y proctitis. (14, 27, 49)

Los sitios apropiados para las tomas de muestras dependen de la edad, sexo, preferencias sexuales del individuo y presentación de la infección. Es importante hacer notar que para la lubricación del instrumento utilizado en la obtención del espécimen (espejo vaginal o anoscopio) debe usarse sólo agua caliente, pues otras sustancias pueden resultar tóxicas para el gonococo. Si se utilizan hisopos, hay que asegurarse de que el algodón no contenga ácidos grasos insaturados, pues también tienen acción inhibitoria.

De preferencia, la muestra debe ser sembrada inmediatamente en los medios de cultivo apropiados; si lo anterior no es posible, la muestra debe ser enviada al laboratorio en medios de transporte que contengan carbón activado para adsorber las sustancias inhibitorias. (5,14)

Se ha mencionado la alta susceptibilidad del gonococo a condiciones ambientales adversas. Si a ello se añade que con frecuencia hay una pequeña

cantidad de bacterias en la muestra clínica, se comprende la importancia de manejarla adecuadamente para preservar la población que contenga. Las opciones son:

a) Siembra directa. Sin lugar a dudas este es el procedimiento de elección. El aislamiento de gonococos tiene su máximo rendimiento cuando las muestras se siembran en medios de cultivo adecuados, inmediatamente después de haber sido obtenidas. Son dos los medios más convenientes: el de Thayer-Martin modificado (TMM) y el denominado New York City (NYC). Una vez hecha la inoculación se incuba de inmediato a 35-37°C en una atmósfera que contenga de 3 a 10% de dióxido de carbono y en condiciones que preserven la humedad.

b) Medio de transporte no nutritivo. El medio de Stuart mantiene la viabilidad del gonococo de seis a doce horas siempre que no se encuentre a temperaturas muy altas o bajas; después de este período disminuye la eficiencia de recuperación a tal grado que a las veinticuatro horas habrá sólo una pequeña porción superviviente de la población original. Por ello no se recomienda su uso a menos que la resiembra se haga en un lapso menor de doce horas. Hay que tomar en cuenta, por otra parte, la economía y larga vida de este medio, el cual puede ser almacenado aún a temperatura ambiente.

c) Sistemas nutritivos de transporte. En los Estados Unidos se han ideado dos sistemas en los que se combinan las características de un medio selectivo de crecimiento y las condiciones ambientales (principalmente

concentraciones de bióxido de carbono) que favorecen el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae*.

Uno consiste en botellas que contienen TMM acondicionadas con 10% de bióxido de carbono en su interior. Se inoculan manteniéndolas en posición vertical para evitar pérdidas de bióxido de carbono. La superficie del agar debe quedar sembrada con un inóculo grueso. Se incuban durante dieciocho o veinticuatro horas antes de enviarse al laboratorio. A pesar del incremento de recuperación que se tiene al usar este medio, principalmente cuando las muestras tardan varios días en llegar a su destino, se reportan algunos inconvenientes: es difícil obtener colonias aisladas, el agua de condensación impide una fácil observación del crecimiento, favoreciendo la propagación de cualquier contaminante y el estrecho cuello de las botellas dificulta las resiembras.

El otro sistema es la cámara JEMBEC, consistente en una placa rectangular de poliestireno, con cubierta removible y un orificio interno que contiene una tableta generadora de bióxido de carbono hecha a base de bicarbonato de sodio y ácido cítrico. Puede contener TMM o NYC. Para inocular la placa se gira el hisopo en la mitad de la superficie del agar, estriando el resto con un asa bacteriológica. Se coloca la tableta en el orificio, se emplaza la cubierta y la placa se coloca dentro de una bolsa de plástico que cierra herméticamente. El agua que se desprende del medio es suficiente para activar la tableta que proporciona la cantidad de bióxido de carbono necesaria para la incubación. Como en el caso anterior, los mejores resultados se obtienen incubando el sistema antes de enviarlo al

laboratorio, con la ventaja de facilitar las resiembras y la aparición y observación de colonias aisladas (5, 14, 27, 38, 49, 62, 67)

d) Examen directo. La tinción de Gram es el método de elección para especímenes genitales. En el caso de varones sintomáticos un frotis de exudado uretral preparado, teñido e interpretado correctamente, es casi tan confiable como el cultivo para fines diagnósticos. Solamente en estos casos podría no efectuarse el cultivo si el frotis es positivo, observándose leucocitos polimorfonucleares (LPMN), con diplococos Gram negativos intracelulares. Tratándose del sexo femenino la situación es otra: aproximadamente la mitad de las mujeres que presentan cultivo positivo tienen frotis negativos; se recomienda en todos los casos hacer frotis y cultivo. Esto también se aplica a los hombres asintomáticos, quienes por lo general no dan resultados positivos al examinar el frotis.

El frotis de especímenes provenientes del recto muestran una gran variedad de microorganismos, dificultando su interpretación. Se dice, sin embargo, que los frotis hechos de exudado rectal en homosexuales con proctitis muestran frotis de pacientes con uretritis aguda, presentando incluso una imagen parecida: gran cantidad de LPMN con gonococos fagocitados.

Cuando sea necesario efectuar el frotis y cultivo se empleará un hisopo para cada uno. El frotis se hace de inmediato, girando el hisopo sobre la superficie del portaobjetos de tal forma que se descargue uniformemente.

Son mejores los frotis delgados, pues se evitan los posibles errores que provocarían preparaciones gruesas, que siempre resultan difíciles de decolorar.

Cuando se observa un exudado obtenido de un caso de uretritis masculina gonocócica aguda, aparecen muchos LPMN sin bacterias ingeridas, en tanto que otros contienen dos o más pares de gonococos y unos cuantos albergan diez o más pares. No se observan otros tipos de bacterias o bien su número es muy escaso. Los frotis de descarga cervical en ocasiones tienen las mismas características, pero es más frecuente encontrar una mezcla de LPMN, células epiteliales y otras bacterias. Ahora bien, aunque se observen diplococos Gram negativos intraleucocitarios, esto debe considerarse un resultado presuntivo hasta tener el del cultivo. La razón es la presencia de cocobacilos Gram negativos en el tracto genital femenino (*Acinetobacter*, por ejemplo). Otras posibles fuentes de error son los cocos Gram positivos decolorados en exceso y los cocobacilos entéricos que dan apariencia de coloración bipolar. Así pues, solamente debe reportarse la observación de diplococos Gram negativos intracelulares, pero nunca la observación de *Neisseria gonorrhoeae*. También es importante describir en el reporte el tipo de células observado (LPMN, células epiteliales, etc.) y especificar su abundancia por medio de cruces. El reporte del género y la especie sólo deberá emitirse tras el cultivo. (3, 5, 14, 62)

Los frotis al Gram de pus conjuntival cuando hay oftalmía y de lesiones cutáneas o de líquido sinovial de pacientes con infección gonocócica

diseminada, pueden contribuir al diagnóstico, ya que en ocasiones no hay crecimiento en los cultivos. Por lo que toca a la técnica con anticuerpos fluorescentes, ésta no es la más recomendable pues presenta algunas desventajas: los conjugados comerciales no tienen suficiente sensibilidad ni especificidad; además, no se recomienda el examen directo de las muestras, excepto cuando se trata de pettequias, en las que se han obtenido buenos resultados.

En el aislamiento y cultivo de *Neisseria gonorrhoeae* se utilizan distintos medios de cultivo de acuerdo a las necesidades de cada caso. El medio de Thayer-Martin modificado es geloso chocolate adicionada de cuatro antibióticos: vancomicina (3µg/ml) que inhibe bacterias Gram positivas, colistina (7.5 µg/ml) que inhibe Gram negativos incluyendo a neisserias saprofitas, nistatina (125 µg/ml) que inhibe hongos y algunas levaduras y lactato de trimetoprim (5µg/ml) que inhibe el *swarming* (diseminación en ondas a través del agar, también conocido como fenómeno de Dienes) en *Proteus sp.* Cuando se prepara correctamente y se usa fresco proporciona los nutrientes necesarios para el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae*, inhibiendo el desarrollo de diversas especies saprofitas que se localizan en la orofaringe y la región anogenital y que contaminan las muestras obtenidas. (3, 14)

Un medio similar, el agar de Martin-Lester, en lugar de nistatina incorpora una sustancia antifúngica, la anisomicina (20µg/ml). El Departamento de Salud de la ciudad de Nueva York formuló el medio NYC, que contiene eritrocitos hemolizados y plasma de caballo, extracto de levadura,

vancomicina (2µg/ml), colistina (5.5 µg/ml), anfotericina B (1.2 µg/ml) y lactato de trimetoprim (3µg/ml). Este medio transparente favorece un buen crecimiento no sólo de neisserias patógenas, sino también de micoplasmas.

Es importante notar que las concentraciones de vancomicina empleadas en los medios selectivos descritos, inhiben del 3 al 10% de los gonococos; algunas cepas son sensibles al trimetoprim, pero sus efectos no impiden el crecimiento como lo hace la vancomicina. Sin embargo, el empleo de medios selectivos es necesario pues la flora normal de la faringe, del recto y del aparato genital femenino crece más rápidamente que *Neisseria gonorrhoeae* e incluso puede inhibir su desarrollo. En general, los medios adicionados de antibióticos dan mejores resultados que los que no los tienen. Además, en pacientes con cuadros sugestivos de gonorrea y cultivo negativo se procesa otra muestra sembrando en agar chocolate y TMM o NYC para registrar los posibles gonococos sensibles a la vancomicina.

Para obtener buenos resultados en el aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae* es necesario controlar cuidadosamente las condiciones de incubación; a pesar de que los gonococos no tienen estricto requerimiento de bióxido de carbono para crecer, son estimulados por este compuesto. Si no es posible incubar las muestras en una estufa que proporcione esta atmósfera, en su lugar puede usarse un frasco provisto de una vela blanca (las velas de color pueden producir sustancias tóxicas); la concentración de bióxido de carbono cuando se extingue la flama después de cerrar herméticamente el frasco, es de 3% aproximadamente. (3, 5, 14, 62)

Otro factor importante para el desarrollo del gonococo es un alto índice de humedad. En un frasco con vela el agua que se evapora del medio de cultivo es suficiente; las estufas con sistema que proporciona bióxido de carbono tienen una cámara con agua para dar el porcentaje de humedad requerido. Otra alternativa es colocar recipientes con agua en la parte inferior de la estufa. Cuando las placas de agar se observan un poco secas es conveniente agregar unas gotas de caldo estéril en su superficie, dejando secar antes de incubar y aislar. (14)

El período mínimo de incubación de las placas es de cuarenta y ocho horas. Para los hemocultivos deben hacerse resiembras del medio líquido empleado a gelosa chocolate a las veinticuatro y cuarenta y ocho horas de incubación y prolongar ésta por cinco días más. Siempre que sea posible las muestras deben sembrarse tanto en gelosa chocolate como en TMM o NYC para lograr aislar los gonococos sensibles a la vancomicina.

Después de veinticuatro horas de incubación las colonias de *Neisseria gonorrhoeae* tienen un diámetro entre 0.5 y 1.0 mm, son de color blanco grisáceo, elevadas y brillantes y se observan mejor mediante un microscopio estereoscópico. (14, 27, 62)

Como ya se ha mencionado, existen cinco diferentes morfologías coloniales. Las colonias T₁ y T₂ predominan en aislamientos clínicos recientes. Están formadas por células fimbriadas y virulentas. Si se hacen resiembras seleccionando estos tipos de cepa se conserva la virulencia, de lo contrario,

los pases sucesivos no selectivos promueven la aparición de los tipos T₃, T₄ y T₅, compuestos por bacterias no fimbriadas y avirulentas. Si la cepa ha crecido en un medio opaco como gelosa chocolate o agar TMM, la luz incidente revela las siguientes características: las colonias T₁ son pequeñas y elevadas, las T₂ son abombadas y ligeramente más grandes, ambas son brillantes y húmedas. Las colonias T₃, T₄ y T₅ son más grandes, más delgadas y no reflejan la luz. Los cinco tipos de colonia se observan también en las cepas atípicas (AHU-) que tienen requerimientos de arginina, hipoxantina y uracilo para crecer en medios químicamente definidos. Las colonias de células atípicas son más pequeñas y crecen más lentamente. En cualquier caso el período de incubación no debe exceder las cuarenta y ocho horas para evitar la autólisis del cultivo. Si éste se quiere preservar por dos o tres días es mejor guardarlo a temperatura ambiente en un frasco con vela.

(14, 27, 62)

Las pruebas básicas iniciales para la identificación son la bacterioscopia con tinción de Gram y la prueba de oxidasa. **(2, 4, 14, 27)**

Para efectuar la prueba de oxidasa se colocan en un papel filtro dos o tres gotas de una solución al 1% de cloruro de di o tetrametilparafenilendiamina, se toma una asada de las colonias y se deposita en la porción del papel humedecida con el reactivo. La reacción se considera positiva cuando aparece un color púrpura antes de diez segundos o un cambio de rosa a negro antes de veinte segundos, según se emplee tetra o dimetilfenilendiamina respectivamente. Los diplococos Gram negativos y oxidasa positivos se identifican presuntivamente como pertenecientes al género *Neisseria*.

Deben hacerse ambas pruebas (bacterioscopia al Gram y prueba de oxidasas) para evitar confusiones con bacilos oxidasa positivos como *Eikenella* y *Kingella*, cuyas colonias son parecidas a las de gonococos y pueden llegar a crecer en medios selectivos, en especial cuando no tienen la suficiente humedad o han permanecido en incubación por más de cuarenta y ocho horas. La identificación definitiva se hace mediante pruebas de utilización de carbohidratos o por métodos serológicos. (3, 5, 14, 27)

La técnica de identificación más común para *Neisseria gonorrhoeae* es la de oxidación de carbohidratos, que consiste en investigar la degradación de diversos carbohidratos adicionados a un medio base que contiene cistina. Se prueban soluciones al 1 o 2% de glucosa, maltosa, sacarosa, lactosa y fructosa, esterilizadas por filtración y añadidas al medio semisólido CTA. Para obtener buenos resultados es necesario depositar un inóculo grueso obtenido de una resiembra en gelosa chocolate; no se recomienda utilizar las placas de primoaislamiento por el peligro de arrastrar contaminantes y la posible baja viabilidad de los gonococos después de haber crecido en un medio selectivo. Los tubos se incuban a 35 o 37°C en una estufa estándar durante veinticuatro horas; para esta prueba no debe usarse atmósfera de dióxido de carbono. Las reacciones de cada especie ya se han mostrado en una tabla del capítulo anterior; baste decir que es típico de los gonococos producir ácido únicamente a partir de la glucosa. (4, 14)

Se han descrito pruebas rápidas de oxidación en las que los resultados no dependen del crecimiento de la cepa, sino de las enzimas presentes en

colonias bien crecidas. Se realizan con soluciones de carbohidratos que contienen rojo de fenol a las que se agrega un inóculo muy denso de la cepa; se incuba en baño María a 37°C y los resultados se observan en un lapso no mayor de cuatro horas.

Otra alternativa es un método más sensible conocido como sistema BACTEC, que consiste en tres viales que contienen glucosa, maltosa y fructosa marcadas con ^{14}C . Después de inocularse con la cepa a probar se incuban durante tres horas a 35°C y se investiga si hay desprendimiento de bióxido de carbono marcado. (14)

Mediante métodos serológicos se confirma la identidad de colonias sospechosas. El que utiliza anticuerpos fluorescentes es rápido y requiere un pequeño inóculo, sin embargo, necesita equipo especializado y se dan reacciones falsas positivas con *Staphylococcus aureus* y con *Neisseria meningitidis*. En pruebas de coagulación es necesario usar un control negativo del reactivo coagulante. La sensibilidad de la prueba aumenta si los gonococos se lisan eliminando el lipopolisacárido mediante un agente quelante. (14, 58, 111)

Rutinariamente no se efectúan pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos sobre aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae*; la mayoría de las infecciones aún responde a tratamientos con penicilina. A partir de 1970 aparecieron cepas que gracias a un plásmido producen β -lactamasas, enzimas que rompen el anillo de la penicilina. Estas cepas, llamadas productoras de penicilinasas, se aislaron casi simultáneamente en los Estados Unidos e

Inglaterra y desde entonces se han reportado en otros países. No se han diseminado tanto como se temió en un principio y sólo en determinadas áreas hay alta incidencia.

No se puede descartar la posibilidad de que el plásmido R, que codifica la síntesis de penicilinas, se haya originado en la zona anorrectal como consecuencia de la interacción de gonococos y enterobacterias. De cualquier modo los porcentajes de cepas productoras de penicilinas van de 30 a 40% en las Filipinas a 0.2% en los Estados Unidos. Es posible que el plásmido R no tenga gran estabilidad y se pierda con facilidad cuando no existen condiciones de presión selectiva. (14)

Con pacientes que no responden al tratamiento habitual, a veces se efectúan pruebas para investigar β -lactamasas por métodos acidométricos o yodométricos. (3, 14)

En las últimas décadas las ciencias de la salud han experimentado un acelerado crecimiento, lo que ha originado el replanteamiento de muchos conceptos considerados como fundamentales. Uno de ellos es la revelación de la profilaxis y la medicina preventiva y su predominio sobre la terapia curativa. Gracias a este cambio de enfoque han sido posibles los espectaculares avances de la Inmunología y la Higiene. Sin embargo, en el tratamiento de ciertos padecimientos y en particular de las infecciones por *Neisseria gonorrhoeae*, sigue siendo indispensable el uso de drogas antimicrobianas, lo que puede acarrear una serie de problemas cuando no se administran debidamente.

Son cuatro los grupos de drogas antimicrobianas que se usan en el tratamiento de las infecciones por *Neisseria gonorrhoeae*: las penicilinas o antibióticos β -lactámicos, las sulfonamidas, las cefalosporinas y la espectinomicina.

Los antibióticos β -lactámicos se consideran, junto con las sulfonamidas, como el tratamiento de elección debido al alto porcentaje de cepas que son sensibles a su acción. (9, 26, 30, 38, 49, 72)

Las penicilinas se derivan de hongos del género *Penicillium* y se obtienen por extracción de cultivos sumergidos desarrollados en medios especiales. Todas las penicilinas participan de una misma estructura básica. Un anillo de tiazolidina está unido a un anillo β -lactámico que lleva un grupo amígeno libre. Los radicales ácidos unidos al grupo amígeno pueden ser separados por amidasas bacterianas. La integridad estructural del núcleo del ácido 6-aminopenicilánico es esencial para la actividad biológica de estos compuestos. Si el anillo β -lactámico es desdoblado enzimáticamente por las penicilinasas, el producto resultante, el ácido peniciloico, está desprovisto de actividad antibacteriana; sin embargo, porta el determinante antigénico de las penicilinas y actúa como hapteno sensibilizante cuando se une a las proteínas séricas. (49)

Todas las penicilinas tienen el mismo mecanismo de acción: inhiben la síntesis de las paredes celulares bacterianas bloqueando el enlace cruzado terminal de los glucopéptidos lineales en el péptidoglicano. Esto provoca una

fragilidad osmótica que conduce a la lisis bacteriana. Algunos autores han propuesto que además de producir fragilidad osmótica, las penicilinas poseen otras propiedades tóxicas poco conocidas. (27, 48, 49)

Entre los antibióticos β -lactámicos de mayor uso contra *Neisseria gonorrhoeae* se citan la penicilina G, la cefodizima, la ceftazidima y el aztreonam. (49, 52)

A partir de 1970 principiaron a aparecer cepas resistentes a la penicilina. La proliferación de estas cepas ha sido lenta pero sostenida. La resistencia a la penicilina se debe a la adquisición por parte de las bacterias, de un plásmido conjugativo que codifica la síntesis de enzimas llamadas penicilinasas o β -lactamasas, las cuales rompen el anillo β -lactámico de las penicilinas, neutralizando su actividad antimicrobiana. (14, 49)

Debido a la aparición de cepas resistentes a la penicilina se han buscado otras drogas que no sean susceptibles al ataque de las penicilinasas. Una de las alternativas en la sustitución de la penicilina es el grupo de las sulfonamidas. El ácido p-aminobenzoico (PABA) es un metabolito esencial para la síntesis del ácido fólico, el cual es un intermediario importante en la síntesis de las purinas. El mecanismo de acción del PABA probablemente involucra una condensación ATP-dependiente de una pteridina con el PABA para formar ácido dihidropterico, el cual subsecuentemente es convertido en ácido fólico. Las sulfonamidas son análogos estructurales del PABA. Pueden entrar en la reacción sustituyendo al PABA y competir por el centro activo de la enzima. Como resultado de esto se forman análogos no

funcionales del ácido fólico, los cuales impiden el crecimiento ulterior de la célula bacteriana. El trimetoprim inhibe la reductasa del ácido dihidrofólico de las bacterias de manera mucho más eficiente que las enzimas de las células de los mamíferos. Estas enzimas convierten al ácido dihidrofólico en ácido tetrahidrofólico, intermediario en la síntesis de purinas y de DNA. Las sulfonamidas y el trimetoprim producen un bloqueo concatenado que tiene como resultante un aumento acentuado de su actividad en las infecciones del aparato urinario. (49)

Otro grupo de antibióticos que se han usado en el tratamiento de las enfermedades por *Neisseria gonorrhoeae* es el de las cefalosporinas. Estas sustancias se han obtenido de un moho del género *Cephalosporium* y su núcleo, el ácido 7-aminocefalosporánico guarda un gran parecido estructural con el ácido 6-aminopenicilánico, por lo que su mecanismo de acción es prácticamente el mismo que el de las penicilinas, con la diferencia de que resiste mejor la acción de las penicilinasas. La cefalexina y la cefaloglicina se absorben suficientemente bien en el intestino para ser excretadas en cantidades importantes en la orina, de manera que las infecciones de las vías urinarias pueden tratarse con éstas. La cefalotina y la cefaloridina se distribuyen ampliamente en los tejidos y hasta pueden alcanzar el SNC, por lo que se recurre a su uso en casos de infección diseminada. (49, 53, 54)

Además de las drogas ya mencionadas, en ocasiones se usa la espectinomocina, que es un aminociclitol para administración intramuscular propuesto como alternativa de la penicilina en el tratamiento de la gonorrea.

Cerca del 10% de las cepas gonocócicas son resistentes a ella, pero se reportan tasas de curación superiores al 85%. (32, 49)

De manera intencional se han omitido las estadísticas referentes a la efectividad de los distintos antibióticos. Al examinar los altos porcentajes de sensibilidad de distintas cepas podría pensarse en la conveniencia de generalizar el uso de aquellos antibióticos cuya efectividad se acerca al 100%. Es precisamente esto lo que en muchos casos ha alentado la aparición y proliferación de cepas resistentes.

5.2. Aspectos Epidemiológicos y Sociales.

Durante la Segunda Guerra Mundial se presentó un grave incremento de las enfermedades de transmisión sexual en general y de la gonorrea en particular. A esta fase siguió, entre 1955 y 1960, un rápido descenso que en la mayoría de los países alcanzó una baja sin precedente, pero después se inició un período de recrudescencia que perdura hasta nuestros días.

En la mayoría de los países existe un sostenido incremento y en 1970 la OMS estimó que las infecciones gonocócicas afectaban a 70 o 75 millones de personas en todo el mundo. En lo que respecta a la gravedad de estas enfermedades, también se ha observado una mayor incidencia de complicaciones, especialmente entre las mujeres. En algunas zonas de los países en desarrollo los estudios de prevalencia han mostrado que la

gonorrea y otras uretritis son endémicas, como ocurre, por ejemplo, en ciertas zonas de Africa y del lejano Oriente. En varios países desarrollados la blenorragia notificada se encuentra entre las tres enfermedades transmisibles más comunes, como en el caso de la Gran Bretaña, Francia y los países escandinavos, siendo probablemente en los Estados Unidos la enfermedad más corriente de este grupo. En algunas zonas urbanas de la India las enfermedades venéreas ocupan el segundo lugar en cuanto a frecuencia, después de las enfermedades parasitarias. Los datos anteriores han sido reportados a la OMS de manera oficial por los gobiernos, aunque existen reconocidas limitaciones en lo referente a la declaración de la morbilidad de las enfermedades de transmisión sexual, lo cual es señal de notificación insuficiente por parte de los médicos e instituciones a las autoridades de salud. (3,33)

El incremento en la incidencia de la gonorrea en los últimos años ha ocurrido, paradójicamente en una época en que se han alcanzado grandes progresos médicos y de salud pública. Pero hay que tener presente que es también esta época la que ha producido un cambio radical en las perspectivas demográficas, económicas y de comportamiento de la sociedad. Se ha creado entre la población un clima de opinión en favor de las actividades sexuales, que está facilitando la transmisión de este tipo de infecciones y está cambiando su ecología.

Existen muchos factores que propician la diseminación de las enfermedades de transmisión sexual; a continuación se exponen algunas características de los más relevantes.

El factor demográfico aparece en primer lugar; debido al rápido incremento demográfico, crece día a día el número de individuos susceptibles que están expuestos a la infección. Además, los grupos de jóvenes sexualmente activos representan actualmente una mayor proporción de la población.

Pocos factores han modificado tanto nuestro ambiente y nuestras vidas como lo ha hecho el progreso tecnológico, con su acelerada industrialización y su explosiva urbanización, que caracterizó a la década anterior. La mayoría de las personas que emigran hacia zonas urbanas son jóvenes y a las mujeres se les emplea más que en el pasado. En las zonas urbanas han surgido nuevas situaciones físicas, sociales y de salud mental que tienden a facilitar la actividad sexual. Actualmente, la mayor frecuencia de enfermedades de transmisión sexual se debe principalmente a encuentros casuales, conductas promiscuas y prostitución en zonas metropolitanas que experimentan un rápido crecimiento con la migración desde zonas rurales. (33)

Como resultado de la urbanización, de la industrialización y del desarrollo económico, los grupos de trabajadores migratorios se han convertido en una característica de nuestro tiempo. Estos grupos están sometidos a problemas de vivienda, soledad, idioma, cultura, etc. que los convierten en importantes diseminadores de enfermedades de transmisión sexual.

Entre los llamados ambulantes crónicos, como los marinos, estas enfermedades son de 15 a 20 veces más comunes que entre las poblaciones sedentarias.

Asimismo, entre las poblaciones móviles que inherentemente son las más expuestas, se debe incluir al elemento militar, el cual tradicionalmente ha sido considerado como importante reservorio. La probabilidad de que estos padecimientos aumenten y de que ocurran epidemias durante períodos de guerra es un hecho histórico, que se ha podido confirmar recientemente en varias zonas perturbadas del mundo.

En estos complejos problemas, los factores culturales no tienen menor importancia que los demográficos. Durante los años de la postguerra, el cambio experimentado en las normas de la moral y la conducta, la emancipación social, económica y psicológica de la mujer y una generalizada afluencia económica cuyas tendencias hoy en día están totalmente revertidas, aumentaron la promiscuidad sexual y contribuyeron a lo que se ha denominado la revolución sexual. Favorecida por estas nuevas actitudes, la promiscuidad se ha visto directamente estimulada por el énfasis que se hace a través de la influencia que ejercen los medios masivos de comunicación.

Al mismo tiempo ha habido un relajamiento de las influencias restrictivas de la familia, la religión y la opinión pública; un menor miedo a las infecciones debido a la disponibilidad de tratamientos simples y eficaces y también un menor temor a la gravedad, a raíz de la introducción comercial de anticonceptivos. Finalmente, existe una actitud más tolerante hacia el aborto controlado en algunos países, si bien éste no se extiende a todas las naciones.

Entre los factores culturales debe incluirse el problema de la prostitución; una investigación profunda acerca de este tema excede los objetivos de este trabajo, sin embargo, cabe mencionar que los prostíbulos continúan siendo los principales focos de diseminación de la gonorrea; debido a los cambios que están experimentando los comportamientos sexuales de la sociedad en su conjunto, la prostitución tiende a ser uno más de los factores que determinan la prevalencia de esta enfermedad, dejando de ser el principal.

(33)

Por supuesto, México no se sustrae a la problemática antes descrita. En nuestro país las infecciones gonocócicas durante la última década se han contado entre las diez enfermedades infecciosas con más alta incidencia.

Hay que destacar que existen irregularidades graves con respecto a la notificación de casos. De hecho, sólo los hospitales y clínicas de la Secretaría de Salud efectúan reportes, mientras los demás organismos del Sector Salud (IMSS, ISSSTE, DIF, etc.) y los organismos privados no han reportado ningún caso desde 1975. Esto constituye un serio obstáculo para el establecimiento de políticas de salud pública tendientes a controlar el mal que, por el número de casos reportados, aparentemente sigue en aumento.

La distribución de la incidencia en el territorio nacional, muestra que las entidades federativas con mayores problemas de infecciones gonocócicas son: Distrito Federal, Baja California, Coahuila, Chiapas, Chihuahua, Jalisco, Quintana Roo, Tabasco y Veracruz.

Resulta fácil advertir, con base en lo anterior, que las regiones fronterizas, las turísticas, las de mayor concentración industrial y en general las que cuentan con grandes poblaciones flotantes son las más expuestas. (15, 16, 47)

Como se ha visto, los servicios médicos y de salud pública no han logrado resolver la situación actual de expansión de la gonorrea. En el futuro deberá considerarse la suficiencia o insuficiencia de estos servicios, en relación con las necesidades que se presenten. Con el fin de reducir la creciente incidencia, las autoridades de salud deben proporcionar más personal capacitado y mayor número de servicios adecuados para hacer posible el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad, así como para aplicar más activamente las técnicas existentes y las técnicas mejoradas de localización de casos, incluso la ubicación epidemiológica de los mismos y el examen de los grupos de alto riesgo. Es necesario impartir a los jóvenes una educación para la salud más acertada y una formación en la vida familiar, a fin de que aprendan a prevenir la enfermedad y asegurar que los enfermos obtengan tratamiento oportuno.

Discusión.

La parte final de este trabajo está dedicada a esbozar algunos comentarios sobre los puntos de mayor interés de la exposición anterior y presentar algunas interrogantes que seguramente serán motivo de futuras investigaciones.

A pesar de ser un microorganismo sumamente adaptado al ambiente en que se desarrolla, como lo demuestra su condición de parásito casi obligado, *Neisseria gonorrhoeae* presenta una sorprendente versatilidad en sus estructuras y su virulencia.

Ya se ha mencionado que cepas con gran poder de adherencia, pierden esta característica al ser cultivadas *in vitro* por algún tiempo. Esto nos hace pensar en los sofisticados mecanismos que regulan el aprovechamiento de la energía en los seres vivos. Al ser cultivadas, las bacterias ya no requieren gastar energía en el mantenimiento de factores de adherencia en un medio que no opone resistencia a ésta. *In vivo* la situación es muy distinta y el microorganismo se ve obligado a acentuar sus características adherentes para asegurar su supervivencia. De alguna manera, señales producidas en el ambiente circundante inciden sobre las bacterias y desencadenan estos cambios en su metabolismo. El control sobre estos cambios seguramente reside en la información genética, pero hasta el momento no se sabe exactamente cómo se lleva a cabo la variación de la expresión fenotípica de adhesinas.

Neisseria gonorrhoeae presenta diversos grados de adherencia al enfrentarse a distintos tejidos epiteliales. Las bases moleculares de este fenómeno son un reto a tomar en futuras investigaciones. El decremento en la adherencia de una misma cepa podría deberse a una deficiencia en la síntesis de receptores, ocultamiento o superposición de éstos, o bien a defectos en su estereoquímica. Por ejemplo, en algunos casos las fimbrias enmascaran el factor de asociación a leucocitos, entorpeciendo la quimiotaxis. Al mismo tiempo, el incremento en la adherencia podría estar

asociado a la producción de receptores adicionales o también a cambios en los mecanismos bacterianos de reconocimiento de receptores.

La citoadherencia de *Neisseria gonorrhoeae* a distintos tipos de células, examinada desde un punto de vista estrictamente fisicoquímico resulta fascinante pero, al mismo tiempo, son tantas las variables que intervienen en el fenómeno, que es casi imposible proponer un modelo de alcance general. Sin embargo, la búsqueda de novedades en este campo continúa, sobre todo por la trascendencia que pueden tener tanto en el control y ulterior desaparición de este agente patógeno, como en el avance integral de la Biología Molecular.

La respuesta inmune que acompaña a las infecciones por *Neisseria gonorrhoeae* se perfila como la gran esperanza en la prevención y control de estos padecimientos pero, por sus características, actualmente sólo tiene aplicación masiva en el diagnóstico. La inmunidad que despierta *Neisseria gonorrhoeae* es sólo parcial y de corta duración; es por esto que se presentan casos de infecciones repetidas. La localización más frecuente del agente patógeno en el tracto genital, expone a los anticuerpos secretorios a un bloqueo que dificulta su función. La respuesta celular, a pesar de ser un importante mecanismo defensivo, en ocasiones llega a convertirse en un medio de diseminación debido a la supervivencia y reproducción intraleucocitarias de las bacterias.

Estas características, aunadas a la enorme variabilidad en el mosaico antigénico que presenta *Neisseria gonorrhoeae*, son los principales obstáculos para implementar la prevención y el control por medios inmunológicos. Sin embargo, es ya pensable la existencia de una vacuna en los próximos años y muy probablemente el inmunógeno estará compuesto por dos fracciones: Una procedente de antígenos fimbriales y otra de las proteínas superficiales.

Las enfermedades por *Neisseria gonorrhoeae* son padecimientos conocidos desde la Antigüedad. En México, como en muchos otros países, actualmente representan un serio problema de salud pública y están entre las diez enfermedades infecciosas con más altas tasas de morbilidad.

Resulta curioso observar que, a diferencia de lo que sucede con otras enfermedades infecciosas, en el caso de las producidas por *Neisseria gonorrhoeae* se ha logrado desarrollar métodos de detección y diagnóstico bastante confiables y también se cuenta con los avances técnicos necesarios para implementar tratamientos adecuados. A pesar de esto, la tasa de morbilidad va en aumento. Las causas de esta situación contradictoria son múltiples. Entre ellas podemos citar que con frecuencia los pacientes no acuden oportunamente al servicio médico o no lo hacen en forma regular debido al fuerte contenido psicológico que presupone el padecimiento; es más, muchos pacientes optan por la automedicación. Todo esto compromete el éxito de la lucha contra el agente patógeno.

Por otro lado, también existen deficiencias en la información y en la capacitación del personal médico y paramédico, que en muchas ocasiones promueve el uso indiscriminado de antibióticos, lo que motiva la aparición y proliferación de cepas resistentes.

La solución a estos complejos problemas no reside tanto en el desarrollo de nuevos sistemas de diagnóstico y tratamiento, sino en la elevación cualitativa de la educación de la población en general y en la mejor preparación y concientización de los trabajadores de la salud.

Conclusiones

1. La citoadherencia de *Neisseria gonorrhoeae* a células epiteliales humanas constituye un requisito indispensable para la colonización tisular y sólo después de que se ha llevado a cabo, pueden iniciarse los procesos que caracterizan a las infecciones gonocócicas.
2. A pesar de que la citoadherencia puede asegurar al microorganismo la permanencia en su huésped, no es este fenómeno en sí mismo el responsable del daño a los tejidos, el cual, en gran parte, es producto de la presencia de factores tóxicos relacionados con los lipopolisacáridos de la pared celular.
3. En general, pH comprendidos entre 5.5 y 7.0 resultan óptimos para la citoadherencia de *Neisseria gonorrhoeae* a células epiteliales de la boca y del tracto genital.
4. Debido a su forma y a la distribución de carga electrostática que poseen, las fimbrias pueden unirse a cationes inorgánicos que sirven como puentes de unión entre ellas y los receptores de la célula huésped, actuando posteriormente como puentes de tracción, por lo cual, los individuos fimbriados tienen más éxito en la citoadherencia que aquéllos que carecen de fimbrias.
5. La obtención y el análisis de especímenes para el diagnóstico y el posterior tratamiento de las enfermedades producidas por *Neisseria gonorrhoeae* deben hacerse a la mayor brevedad, dado que el microorganismo es muy sensible a cambios de pH, de temperatura y de humedad.

6. Siempre que sea posible, debe evitarse el transporte de muestras y las siembras correspondientes deben hacerse en el sitio de obtención del espécimen, cuidando escrupulosamente las condiciones en que se desarrollan los cultivos.
7. Sería deseable que en el futuro se desarrollaran métodos confiables para estudios de sensibilidad a antibióticos, a fin de combatir la proliferación de cepas resistentes.
8. En la prevención y el control de las enfermedades producidas por *Neisseria gonorrhoeae* se requiere el concurso de toda la sociedad y no únicamente el de aquellos sectores dedicados al cuidado de la salud, cuyo trabajo se dificulta al no contar con el apoyo general y en particular con el que deben brindar las familias y las instituciones educativas.

Referencias Bibliográficas

1. Beachey, E. H. (editor)
BACTERIAL ADHERENCE
1a. Edición
Chapman and Hall Co.
Londres (1980)
2. Bell, T.A.
"Gonorrhoea in female adolescents: potencial analogies to toxic shock syndrome." Ann. Intern. Med. 96/6/924-925 (1982)
3. Benenson, A. S.
EL CONTROL DE LAS ENFERMEDADES TRANSMISIBLES EN EL HOMBRE
13a. Edición
Organización Panamericana de la Salud
Publicación Científica No. 442. 221-225
Washington (1983)
4. Bergey, D. H.
BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY
8a. Edición. 1-296
Williams & Wilkins Co.
Baltimore (1975)
5. Bernal, J.; Montoya, D.; García Moreno, J.
"Frecuencia de *Neisseria gonorrhoeae* en pacientes ginecológicas.
Hospital Clínico Universitario José J. Aguirre."
Rev. Chil. Obstet. 49/2/92-98 (1984)
6. Beveridge, T. J.
"Bacterial structure and its implications in the mechanism of
infection: a short review." Can. J. Microbiol. 26/6/643-652 (1980)
7. Blake, M. S.; Gotschlich, E. C.; Swanson, J.
"Purification and partial characterization of the major outer
membrane proteins of *Neisseria gonorrhoeae*." Infect. Immun.
33/1/212-222 (1981)
8. Blake, M. S.; Gotschlich, E. C.
"Effects of proteolytic enzymes on the outer membrane proteins
of *Neisseria gonorrhoeae*." Infect. Immun. 36/1/277-283 (1982)
9. Blundell, J. K.; Perkins, H. R.
"Effects of beta-lactam antibiotics on peptidoglycan synthesis
in growing *Neisseria gonorrhoeae*, including changes in the degree
of O-acetylation." J. Bacteriol. 147/2/933-941 (1981)

10. Bold, H. C.
MORPHOLOGY OF PLANTS AND FUNGI
4a. Edición
Harper & Row
Nueva York (1960)
11. Braude, A. I.
MICROBIOLOGIA CLINICA
1a. Edición
Editorial Médica Panamericana
Madrid (1964)
12. Brooks, G. F.; Lamme, C. J.; Petersen, B. H.; Stites, D. P.
"Human seminal plasma inhibition of antibody-complement-mediated killing and opsonization of *Neisseria gonorrhoeae* and other Gram-negative organisms." J. Clin. Invest. **57**/1523-1531 (1961)
13. Buck, P.; Rest, R. F.
"Effects of human neutrophil granule extracts on macromolecular synthesis in *Neisseria gonorrhoeae*." Infect. Immun. **33**/2/426-433 (1981)
14. Calderón, E. J.; De la Cruz, R.
"Avances en el conocimiento de la gonorrea." Infectología **46**/41-49 (1983)
15. "Casos notificados de enfermedades transmisibles. Estados Unidos Mexicanos 1975-1979." S.S.A. Unidad de Información. México (1981)
16. "Casos notificados de enfermedades transmisibles. Estados Unidos Mexicanos 1980." S.S.A. Unidad de Información. México (1982)
17. Castellan, G. W.
FISICOQUIMICA
2a. Edición
Fondo Educativo Interamericano, S. A.
México (1976)
18. Cervera, E.
TRATADO DE MICROBIOLOGIA
3a. Edición
Editorial Porrúa
México (1954)
19. Collins, M. L.; Salton, M. R.
"Preparation and crossed immunoelectrophoretic analysis of cytoplasmic and outer membrane fractions from *Neisseria gonorrhoeae*." Infect. Immun. **30**/1/281-286 (1980)

20. Conn, E. E.
BIOQUÍMICA FUNDAMENTAL
3a. Edición
Editorial Limusa
México (1980)
21. Connelly, M. C.; Allen, P. Z.
"Antigenic specificity and heterogeneity of lipopolysaccharides from pyocin-sensitive and resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*." Infect. Immun. 41/3/1046-1055 (1983)
22. Cooper, M. D.; Floyd, S. A.
"In vitro kinetics of phagocytosis and intracellular killing of gonococci by peritoneal macrophages of mice deficient in complement component 5." Infect. Immun. 36/1/363-370 (1982)
23. Costerton, J. W.; Cheng, K. J.
"Colonization of tissue surfaces by autochthonous bacteria." En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co. Londres (1980)
24. Craven, D. E., et al.
"Adherence of isolates of *Neisseria gonorrhoeae* from patients and carriers to human buccal epithelial cells." J. Infect. Dis. 142/4/556-569 (1980)
25. Chen, K. C.; Buchanan, T. M.
"Hidrolases of *Neisseria gonorrhoeae*. The study of gonococsin, an aminopeptidase P, a proline iminopeptidase and an asparaginase." J. Biol. Chem. 255/4/1704-1710 (1980)
26. Daly, J. A.; Lee, T. J.; Spitznagel, J. K.; Spurling, F.
"Gonococci with mutations to low-level penicillin-resistance exhibit increased sensitivity to the oxygen-independent bactericidal activity of human polymorphonuclear leukocyte granule extracts." Infect. Immun. 35/3/826-833 (1982)
27. Davis, M.
TRATADO DE MICROBIOLOGIA
3a. Edición
Editorial Salvat
Barcelona (1981)
28. Densen, P.; MacKeen, L. A.; Clark, R. A.
"Dissemination of gonococcal infection is associated with delayed stimulation of complement-dependent neutrophil chemotaxis in vitro." Infect. Immun. 38/2/563-572 (1982)
29. Dickerson, R. E.
"La evolución química y el origen de la vida." Investigación y Ciencia 26 (1978)

30. Dougherty, T. J.
"Peptidoglycan biosynthesis in *Neisseria gonorrhoeae* strains sensitive and intrinsically resistant to beta-lactam antibiotics." J. Bacteriol. 153/1/429-435 (1983)
31. Draper, D. L., *et al.*
"Scanning electron microscopy of attachment of *Neisseria gonorrhoeae* colony phenotypes to surfaces of human genital epithelia." Am. Jour. Obstet. Gynecol. 138/7/818-826 (1980)
32. Easmon, C. S. F., *et al.*
"Spectinomycin as initial treatment for gonorrhoea." Br. Med. J. Clin. Res. 289/6451/1032-1034 (1984)
33. "Enfermedades venéreas. Discusiones técnicas de la XVIII Conferencia Sanitaria Panamericana." Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana. Oficina Regional de la OMS. Publicación Científica No. 220. 1-95 Washington (1971)
34. Forslin, L.; Danielsson, D.; Falk V.
"Adherence *in vitro* of *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli* and group B streptococci to vaginal epithelial cells." Gynecol. Obstet. Invest. 11/6/341-349 (1980)
35. Forslin, L.; Danielsson, D.
"*In vitro* studies of the adherence of *Neisseria gonorrhoeae* and other urogenital bacteria to vaginal and uroepithelial cells, with special regard to the menstrual cycle." Gynecol. Obstet. Invest. 11/6/327-340 (1980)
36. Francioli, P.; Shio, H.; Roberts, R. B.; Müller, M.
"Phagocytosis and killing of *Neisseria gonorrhoeae* by *Trichomonas vaginalis*." J. Infect. Dis. 147/1/87-94 (1983)
37. Freter, R.
"Bacterial association with the mucus gel system of the gut." En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co. Londres (1980)
38. Fudenberg, H. H.
MANUAL DE INMUNOLOGIA CLINICA
2a. Edición
El Manual Moderno, S. A.
México (1980)
39. Galask, R. P., *et al.*
"Bacterial attachment to the chorioamniotic membranes." Am. J. Obstet. Gynecol. 148/7/915-926 (1984)

40. Gubish, E. R.; Chen, K. C.; Buchanan, T. M.
"Attachment of gonococcal pili to lectin-resistant clones of chinese hamster ovary cells." Infect. Immun. 37/1/189-194 (1982)
41. Ham, A. W.
TRATADO DE HISTIOLOGIA
6a. Edición 176-187
Nueva Editorial Interamericana
México (1970)
42. Harriman, G. R., *et al.*
"The role of C₃ in complement-mediated killing of *Neisseria*." J. Immunol. 127/6/2386-2390 (1981)
43. Heckels, J. E.
"Role of surface proteins in the adhesion of *Neisseria gonorrhoeae*." En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co. Londres (1980)
44. Heckels, J. E.
"Structural comparison of *Neisseria gonorrhoeae* outer membrane proteins." J. Bacteriol. 145/2/736-742 (1981)
45. Hendley, J. O., *et al.*
"Electron microscopy of gonococcal capsule." J. Infect. Dis. 143/6/796-802 (1981)
46. Holt, S. C.
"Bacterial adhesion in pathogenesis: an introductory statement." En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co. Londres (1980)
47. "Información estadística. Sector Salud y Seguridad Social. Cuaderno No. 3." Instituto Nacional de Geografía, Estadística e Informática. México (1984)
48. Jamil, J. J.; Hafiz, S.
"The effect of benzyl penicillin on the ultrastructure of *Neisseria gonorrhoeae*." J. Gen. Microbiol. 128/303-306 (1982)
49. Jawetz, E.
MANUAL DE MICROBIOLOGIA MEDICA
6a. Edición
El Manual Moderno, S. A.
México (1979)
50. Joiner, K. A., *et al.*
"Studies on the mechanism of bacterial resistance to complement-mediated killing." J. Immunol. 131/3/1443-1451 (1983)

51. Keren, D. F.
"Mucosal (Immunoglobulin A) Immune response to non invasive bacteria in the gut."
En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co. Londres (1980)
52. Khan, M. Y.; Gruninger, R. P.; Nelson, S. M.; Simpson, M. L.
"Comparative *in vitro* activity of Sch 29, 482, a new oral penem against *Neisseria gonorrhoeae*." Antimicrob. Agents Chemother. 23/3/481-482 (1983)
53. Khan, M. Y.; Gruninger, R. P.; Nelson, S. M.; Obaid, S. R.
"Comparative *in vitro* activity of cefodizime, ceftazidime, aztreonam and other selected antimicrobial agents against *Neisseria gonorrhoeae*." Antimicrob. Agents Chemother. 23/3/477-478 (1983)
54. Korting, H. C.
"*In vitro* susceptibility of recent isolates of *Neisseria gonorrhoeae* to cephalosporins of different generations and penicillin G: a comparative evaluation." Dermatologica 158/2/57-72 (1984)
55. Lambden, P. R.; Robertson, J. N.; Watt, P. J.
"Biological properties of two distinct pilus types produced by isogenic variants of *Neisseria gonorrhoeae* P9." J. Bacteriol. 141/1/393-396 (1980)
56. Lambden, P. R.; Robertson, J. N.; Watt, P. J.
"The preparation and properties of alpha and beta pili from variants of *Neisseria gonorrhoeae* P9." J. Gen. Microbiol. 124/1/109-117 (1981)
57. Lambden, P. R.
"Biochemical comparison of pili from variants of *Neisseria gonorrhoeae* P9." J. Gen. Microbiol. 128/9/2105-2111 (1982)
58. Lawton, W. D.; Battaglioli, G. J.
"Gono gen coagglutination test for confirmation of *Neisseria gonorrhoeae*." J. Clin. Microbiol. 18/5/1264-1265 (1983)
59. Lehninger, A. L.
BIOQUIMICA
2a. Edición
Ediciones Omega
Barcelona (1981)
60. Leith, D.; Morse, S. A.
"Cross linking analysis of *Neisseria gonorrhoeae* outer membrane proteins." J. Bacteriol. 143/1/162-167 (1980)

61. Lindberg, A. A.
"Specificity of fimbriae and fimbrial receptors."
En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co.
Londres (1980)
62. Lynch, M. J.
METODOS DE LABORATORIO
2a. Edición
Nueva Editorial Interamericana
México (1972)
63. Lysko, P. G.; Morse, S. A.
"Neisseria gonorrhoeae cell envelope: permeability to hydrophobic
molecules." J. Bacteriol. 145/2/946-952 (1981)
64. Magnusson, K. E., *et al.*
"Effect of iron on surface charge and hidrophobicity of *Neisseria
gonorrhoeae*." Infect. Immun. 26/2/402-407 (1979)
65. Magnusson, K. E., *et al.*
"Effect of colony type and pH on surface charge and
hidrophobicity of *Neisseria gonorrhoeae*." Infect. Immun. 26/2/
397-401 (1979)
66. Magnusson, K. E., *et al.*
"Surface charge and hidrophobicity of *Salmonella*, *Escherichia
coli* and gonococci in relation to their tendency to associate
with animal cells." Scand. J. Infect. Dis. 24/135-140 (1980)
67. Martin, P. M.; Patel, P. V.; Parsons, N. J.; Smith, H.
"Induction of serum resistance in recent isolates of *Neisseria
gonorrhoeae* by a low-molecular-weight fraction in Guinea pig
serum." J. Infect. Dis. 148/2/334 (1983)
68. McChesney, D., *et al.*
"Genital antibody response to a parenteral gonococcal pilus
vaccine." Infect. Immun. 36/3/1006-1012 (1982)
69. Mc Dade, R. L.; Johnson, A. P.
"Characterization of serologically dominant outer membrane
proteins of *Neisseria gonorrhoeae*." J. Bacteriol. 141/2/1183-
1191 (1980)
70. McGee, Z. A., *et al.*
"Role of attachment in the pathogenesis of disease caused by
Neisseria gonorrhoeae and *Neisseria meningitidis*."
En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co.
Londres (1980)

71. McGee, Z. A., *et al.*
 "Pathogenic mechanisms of *Neisseria gonorrhoeae*: observations on damage to human fallopian tubes in organ culture by gonococci of colony type 1 or type 4." J. Infect. Dis. 143/3/413-422 (1981)
72. McNicol, P. J.; Albritton, W. L.; Ronald, A. R.
 "Characterization of ampicillin resistance plasmids of *Haemophilus ducreyi* and *Neisseria gonorrhoeae* with regard to location of origin of transfer and mobilization by a conjugative plasmid of *Haemophilus ducreyi*." J. Bacteriol. 156/1/437-440 (1983)
73. Mathieu, L. G.; De Repentigny, J.; Turgeon, P. L.
 "Use of rabbit mesentery in the evaluation of adherence of, prototrophic and auxotrophic gonococcal strains." Can. J. Microbiol. 29/4/421-424 (1983)
74. Melly, M. A.; McGee, Z. A.; Rosenthal, R. S.
 "Ability of monomeric peptidoglycan fragments from *Neisseria gonorrhoeae* to damage human fallopian tube mucosa." J. Infect. Dis. 149/3/376-386 (1984)
75. Meyer, T. F.; Mlawer, N.; So, M.
 "Pilus expression in *Neisseria gonorrhoeae* involves chromosomal rearrangement." Cell 30/45-52 (1982)
76. Morse, S. A., *et al.*
 "Effect of dilution rate on lipopolysaccharide and serum resistance on *Neisseria gonorrhoeae* grown in continuous culture." Infect. Immun. 41/1/74-82 (1983)
77. Newhall, W. J.; Sawyer, W. B.; Haak, R. A.
 "Cross linking analysis of the outer membrane proteins of *Neisseria gonorrhoeae*." Infect. Immun. 28/3/785-791 (1980)
78. Noegel, A.; Gotschlich, E. C.
 "Isolation of a high molecular weight polyphosphate from *Neisseria gonorrhoeae*." J. Exp. Med. 157/6/2049-2060 (1983)
79. Norlander, L., *et al.*
 "Genetic and physiological basis for diversity in the structure of the cell surface of *Neisseria gonorrhoeae*." Scand. J. Infect. Dis. 24/158-1612 (1980)
80. Norrod, E. P.; Burnham, J. S.; Williams, R. P.
 "Induced changes in the surface of *Neisseria gonorrhoeae*." Can. J. Microbiol. 29/5/584-592 (1983)
81. Dfek, I.; Silverblatt, F. J.
 "Bacterial surface structures involved in the adhesion to phagocytic and epithelial cells." In: Beacheu, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co. Londres (1980)

82. Oparin, A. I.
EL ORIGEN DE LA VIDA
Ediciones Océano
Barcelona (1982)
83. Orskov, F.; Orskov, I.
"Summary of a workshop on the clone concept in epidemiology, taxonomy and evolution of the *Enterobacteriaceae* and other bacteria." J. Infect. Dis. 148/2/346-357 (1983)
84. Paavonen, J., *et al.*
"Prevalence and manifestation of endometritis among women with cervicitis." Am. J. Obstet. Gynecol. 152/3/280-283 (1985)
85. Parsons, N. J., *et al.*
"Investigations of the determinants of the survival of *Neisseria gonorrhoeae* within human polymorphonuclear phagocytes." J. Gen. Microbiol. 127/103-112 (1981)
86. Pearce, W. A.; Buchanan, T. M.
"Structure and cell membrane-binding properties and bacterial fimbriae."
En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co. Londres (1980)
87. Pelczar, M. J.
MICROBIOLOGIA
2a. Edición
McGraw Hill de México, S. A.
México (1980)
88. Penn, C. W.; Parsons, N. J.; Veale, D. R.; Smith, H.
"Antigenic heterogeneity associated with pilus aggregation and autoagglutinability in *Neisseria gonorrhoeae*." J. Gen. Microbiol. 121/17/195-202 (1980)
89. Perera, V. Y.; Penn, C. W.; Smith, H.
"Purification of pill and outer membrane vesicles of *Neisseria gonorrhoeae* by wheat germ agglutinin affinity chromatography." J. Gen. Microbiol. 126/7/1613-1622 (1982)
90. Petersen, B. H.; Rosenthal, R. S.
"Complement consumption by gonococcal peptidoglycan." Infect. Immun. 35/2/442-448 (1982)
91. Rest, R. F.
"Killing of *Neisseria gonorrhoeae* by human polymorphonuclear neutrophil granule extracts." Infect. Immun. 25/2/574-579 (1979)

92. Rest, R. F.; Pretzer, E.
"Degradation of gonococcal outer membrane proteins by human neutrophil lysosomal protease." Infect. Immun. 34/1/62-68 (1981)
93. Rest, R. F.; Fischer, S. H.; Ingham, Z. Z.; Jones, J. F.
"Interactions of *Neisseria gonorrhoeae* with neutrophils: effects of serum and gonococcal opacity on phagocyte killing and chemiluminescence." Infect. Immun. 36/2/737-744 (1982)
94. Rosenthal, R. S.; Write, P. M.; Sinha, R. K.
"Extent of peptide cross-linking in the peptidoglycan of *Neisseria gonorrhoeae*." Infect. Immun. 28/3/867-875 (1980)
95. Rosenthal, R. S.; Blundell, K. J.; Perkins, H. R.
"Strain-related differences in lysozyme sensitivity and extent of O-acetylation of gonococcal peptidoglycan." Infect. Immun. 37/2/626-629 (1982)
96. Rosenthal, R. S.; Folkening, W. J.; Miller, D. R.; Swim, S. C.
"Resistance of O-acetylated gonococcal peptidoglycan to human peptidoglycan-degrading enzymes." Infect. Immun. 40/3/903-911 (1983)
97. Schoolnik, G. K., *et al.*
"Receptor binding and antigenic domains of gonococcal pili." En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co. Londres (1980)
98. Schoolnik, G. K., *et al.*
"Gonococcal pili. Primary structure and receptor binding domain." J. Exp. Med. 159/5/1351-1370 (1984)
99. Schoof, W.
"La evolución de las células primitivas." Investigación y Ciencia 26 (1978)
100. Siegel, M.; Olsen, D.; Critchlow, C.; Buchanan, T. M.
"Gonococcal pili: safety and immunogenicity in humans and antibody function *in vitro*." J. Infect. Dis. 145/3/300-310 (1982)
101. Silverblatt, F. J.
"Ultraviolet irradiation disrupts somatic pili structure and function." Infect. Immun. 25/3/1060-1065 (1979)
102. Sobel, J. D.; Schneider, J.; Kaye, D.; Levison, M. E.
"Adherence of bacteria to vaginal epithelial cells at various times in the menstrual cycle." Infect. Immun. 32/1/194-197 (1981)
103. Söderström, T., *et al.*
"Analysis of pilus-mediated pathogenic mechanisms with monoclonal antibodies." En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co. Londres (1980)

104. Sparling, P. F.
"Bacterial virulence and pathogenesis: an overview." Rev. Infect. Dis. 5/4/5637-5646 (1983)
105. Strickberger, M. W.
GENETICS
2a. Edición
Mc. Millan Publishing Co.
Nueva York (1976)
106. Sugawara, R. J., *et al*
"Inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* attachment to HeLa cells with monoclonal antibody directed against a protein II." Infect. Immun. 42/3/980-985 (1983)
107. Svanborg, E. C., *et al*
"Adherence to uroepithelia *in vitro* and *in vivo*."
En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co.
Londres (1980)
108. Swanson, J.
"Surface exposed protein antigens of the gonococcal outer membrane." Infect. Immun. 34/3/804-816 (1981)
109. Swanson, J.
"Gonococcal adherence: selected topics." Rev. Infect. Dis. 5/4/5678-5684 (1983)
110. Swim, S. C.; Gfell, M. A.; Wilde, C. E.; Rosenthal, R. S.
"Strain distribution in extents of lysozyme resistance and O-acetylation of gonococcal peptidoglycan determined by high-performance liquid chromatography." Infect. Immun. 42/2/446-452 (1983)
111. Totten, P. A., *et al*
"DNA hybridization technique for the detection of *Neisseria gonorrhoeae* in men with urethritis." J. Infect. Dis. 148/3/462-471 (1983)
112. Tramont, E. C.
"Inhibition of adherence of *Neisseria gonorrhoeae* by human genital secretions." J. Clin. Invest. 59/1/117-124 (1977)
113. Trust, T. J.; Lambden, P. R.; Watt, P. J.
"The cohesive properties of variants of *Neisseria gonorrhoeae* strain P9: specific pilus-mediated and non-specific interactions." J. Gen. Microbiol. 112/1/179-187 (1980)
114. Veele, D. R., *et al*
"The intracellular survival and growth of gonococci in human phagocytes." J. Gen. Microbiol. 113/2/383-393 (1979)

115. Virjil, M.; Everson, J. S.; Lambden, P. R.
"Effect of anti-pilus antisera on virulence of variants of *Neisseria gonorrhoeae* for cultured epithelial cells." J. Gen. Microbiol.
128/5/1095-1100 (1982)
116. Watt, P. J.; Ward, M. E.
"Adherence of *Neisseria gonorrhoeae* and other *Neisseria* species to mammalian cells."
En: Beachey, E. H. (ed) BACTERIAL ADHERENCE. Chapman and Hall Co.
Londres (1980)
117. White, A.
PRINCIPIOS DE BIOQUIMICA
2a. Edición
Mc.Graw Hill
Madrid (1983)
118. Wiseman, G. M.; Mc.Nicol, P.
"The nature of human erythrocyte receptors for *Neisseria gonorrhoeae*." Can. J. Microbiol. 28/219-222 (1982)
119. Zinsler.
MICROBIOLOGIA
18a. Edición
Editorial Médica Panamericana
Buenos Aires (1986)