

Es realmente difusa la barrera entre la revisión de la investigación reciente sobre un tema y una contribución para la actualización docente. Esta sección recoge artículos de revisión apropiados para la enseñanza de temas de frontera.

La gonorrea: aspectos bioquímicos inherentes al agente causal y algunos otros factores que sustentan la actual pandemia mundial

Raúl Garza-Velasco, * Irais Gómez-Pérez*

Abstract

Gonorrhea is a frequent infectious disease that persists in the individuals and within the community, since its etiological agent causes numerous cases of asymptomatic colonization of the genital tract and it is well equipped to neutralize the defenses of human beings. The survival mechanisms utilized by the gonococcus involve a great diversity of molecules with biochemical activity that promote the gonococcal adhesion and invasion, and they also can inhibit or avoid the relevant function of the human immune system.

The present article describes the major virulence molecules of *Neisseria gonorrhoeae* and it mentions other factors that have contributed to the spread and prevalence of gonorrhea within the world community.

Introducción

La especie *Neisseria gonorrhoeae* es el agente causal de la gonorrea, padecimiento que afecta anualmente a 78 millones de personas, cifra que lo coloca —de acuerdo con su frecuencia— como la segunda enfermedad de transmisión sexual entre las de origen bacteriano.¹ Por ejemplo, las clínicas especializadas reportan índices anuales de 327 casos de gonorrea/100,000 varones y de 229 casos/100,000 mujeres y, durante toda la década pasada, ocurrieron numerosos casos de transmisión endémica en Londres, Cleveland, Seattle, Sydney y Ontario, así como diversas epidemias en Grecia² y en los países del sureste asiático (Carrol, 1998; Bhuiyan, 1999; Mavroidi, 2000; Thompson, 1999).

En México, la tasa de morbilidad por cada 100,000 habitantes disminuyó de 21.27 en 1987 a 13.57 en 1996; sin embargo, estas estadísticas suelen

asumir una importante subestimación, debido en gran parte a que el médico privado suele no comunicar los casos de enfermedades de transmisión sexual a las autoridades sanitarias (Kumate, 1998).

La enfermedad incide principalmente en las personas de 15 a 20 años, aunque afecta a cualquier edad, incluidas las niñas prepúberes sometidas a abuso sexual, en quienes se manifiesta como una vulvovaginitis (Centers for Disease Control and Prevention, 1998).

El presente trabajo describe los principales aspectos bioquímicos del proceso de infección asociado a la gonorrea, subrayando las funciones que desempeñan ciertas moléculas consideradas como los más destacados factores de virulencia de *N. gonorrhoeae*, tanto en la evolución del padecimiento como en la persistente propagación del microorganismo entre los miembros de la población mundial.

Patología asociada a la gonorrea

Los gonococos son parásitos exclusivos del ser humano, por lo que no infectan en forma espontánea a los animales ni se les detecta en el medio ambiente. Previo contacto directo entre los individuos infectado y receptor, el gonococo se une a las células epiteliales columnares del cérvix, o bien, de la uretra, merced a diversas adhesinas bacterianas; el proceso de adhesión resulta decisivo en la patogenia, ya que impide el arrastre mecánico de los microorganismos por efecto de la micción. Posteriormente, la bacteria ingresa a las células epiteliales y, después de permanecer y crecer intracelularmente dentro del fagosoma correspondiente, es exocitada hacia el estroma subepitelial, en donde se establece, continúa su crecimiento y da origen a una severa respuesta inflamatoria, la cual conduce a la destrucción de la mucosa uretral, a la balanitis erosiva (inflamación del prepucio y el glande) o a la cervicitis (Grove, 1999).

La diseminación del microorganismo a partir del tejido “blanco” primario ocurre mediante dos vías: a) la linfática, que canaliza las bacterias hacia la próstata, el epidídimo, las glándulas de Skene, de

* Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM.

Enviado: 16 de julio de 2002; aceptado: 2 de enero de 2003.

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

² La mayor epidemia griega tuvo lugar en 1999.

Bartholin y de Cowper, las trompas de Falopio, el peritoneo y el espacio perihepático, y b) la sanguínea, que puede traducirse en artritis o dermatitis séptica y, más ocasionalmente, en endocarditis o meningitis.

En el varón, la principal entidad clínica es la uretritis anterior, que aparece 1 a 8 días después de la exposición (con un periodo de incubación promedio de 3 a 4 días); los síntomas incluyen molestias uretrales, disuria (dificultad para orinar) y una secreción purulenta blanco-amarillenta conformada por leucocitos polimorfonucleares, células epiteliales descamadas y líquido intersticial (Cohen, 1999).

Evidentemente, cuando no se modifica terapéuticamente el curso de la enfermedad, se corre el riesgo de que el proceso patológico se extienda hasta la uretra posterior, a la próstata y, finalmente, al epidídimo, lo que puede provocar la infertilidad del individuo.

Por lo que respecta a la mujer, la infección involucra predominantemente al canal endocervical, ocurriendo un aumento de descarga vaginal, disuria, fiebre, sangrado uterino anormal y menorragia; el cuello uterino puede mostrar descarga purulenta y algunas áreas de sangrado inducible. Las infecciones asintomáticas llegan a alcanzar cifras cercanas al 90%, aunque el 20 a 50% presenta lesiones en el recto, debido al escurrimiento de las secreciones cérvicas (Cohen, 1999).

Evidentemente, a falta de la terapéutica adecuada, es factible que aparezcan diversas complicaciones de la gonorrea, destacando la salpingitis (infección de las trompas de Falopio) y la EIP (enfermedad inflamatoria pélvica); ésta abarca a la entidad clínica antes mencionada y, adicionalmente, a la perihepatitis y/o la peritonitis. La salpingitis puede cursar en forma aguda, subaguda o crónica,³ desencadenando la obstrucción (estenosis) de las trompas —vía la cicatrización del tejido—, lo que a su vez provoca la infertilidad de la paciente o los embarazos ectópicos. Obviamente, las mujeres embarazadas que padecen gonorrea pueden contagiar al producto durante el nacimiento, ocasionándole una conjuntivitis purulenta o hasta la ulceración de la córnea (Cohen, 1999).

En ambos sexos, el cuadro combinado de septicemia con alguna otra patología asociada (artritis,

meningitis, etcétera) se denomina infección gonocócica diseminada (IGD) y sólo afecta de 1 a 3% de los pacientes (Nowicki, 1999).

Las reinfecciones por *N. gonorrhoeae* son muy comunes, debido a que el microorganismo produce hidrolasa de IgA y a que la respuesta inmune suele ser pobre, con escasas células de memoria y bajos títulos de anticuerpos séricos (Hedges, 1999; Hopper, 2000).

Resistencia del gonococo a los antimicrobianos

La terapéutica de la gonorrea, hasta hace algunos años sencilla y barata, en los tres últimos lustros se ha complicado, debido a que *N. gonorrhoeae* ha venido desarrollando resistencia a diversos agentes antimicrobianos (Klausner, 1999; Tanaka, 2000).

La resistencia de este microorganismo a la penicilina reside fundamentalmente en un plásmido de 3.2 MDa que codifica para la síntesis de β -lactamasas (Bhuiyan, 1999) y, en cuanto a las tetraciclinas, destacan diversos plásmidos que contienen al determinante *tetM*. Debido a esta clase de situaciones, el CDC (Centro para el Control y Prevención de Enfermedades) estadounidense, ubicado en Atlanta, recomienda actualmente a las cefalosporinas o a algunas fluoroquinolonas (ciprofloxacina y ofloxacina), para sustituir a la penicilina y tetraciclina como los fármacos de primera elección para el tratamiento de las gonococcias; cuando la persona es alérgica o manifiesta intolerancia o reacciones adversas a estos medicamentos, el antibiótico recomendado es la espectinomicina (Bhuiyan, 1999). Es importante señalar que, en los últimos años, se han reportado casos de resistencia a las fluoroquinolonas en EUA, Inglaterra, Bangladesh, Grecia y Japón (Centers for Disease Control and Prevention, 1998).

Si bien en cualquier enfermedad resulta más conveniente prevenir que tratar, desde el punto de vista epidemiológico la prevención de la gonorrea resulta realmente complicada; ello se debe principalmente a las siguientes razones (Kumate, 1998):

- La existencia de un muy amplio reservorio de portadores asintomáticos potencialmente infectantes.
- La carencia de pruebas serológicas útiles para llevar a cabo encuestas epidemiológicas confiables.
- La falta de inmunidad posterior al padecimiento.
- Se trata de una enfermedad con un muy corto periodo de incubación.

³ Dependiendo de lo acertado del diagnóstico, de la calidad del régimen terapéutico y de la virulencia de la cepa implicada.

Consecuentemente, las principales acciones preventivas de carácter médico están destinadas a evitar la oftalmía del recién nacido y consisten en lavados oculares con agua jabonosa, o bien, en la instilación de solución acuosa de nitrato de plata al 1%, eritromicina al 0.5% o tetraciclina al 1%; lógicamente, esta medida sólo se aplica a los infantes cuyas madres padecen de gonorrea (Centers for Disease Control and Prevention, 1998).

Moléculas de virulencia del gonococo

El proceso de colonización de la mucosa genital por *N. gonorrhoeae* inicia en la superficie apical, en la que tienen lugar varios eventos que desembocan en la adherencia bacteriana; ésta es sucedida por el ingreso de los gonococos a la célula hospedera, los cuales sobreviven intracelularmente hasta ser depositados en la submucosa. Dichos procesos están sustentados en la participación de una serie de moléculas gonocócicas y de sus respectivos receptores en las células epiteliales; la interacción entre las adhesinas y sus receptores induce la transducción de señales que fluyen desde el patógeno hasta el hospedero —y viceversa— (Merz, 2000).

Por otro lado, buena parte de las moléculas gonocócicas que interactúan con las células hospederas experimentan dos tipos de cambios: variación de fase, cuando el componente correspondiente deja de sintetizarse temporalmente, y variación antigénica, referente a la modificación química de dicho elemento. Lógicamente, ambos tipos de cambios promueven que el microorganismo evada la respuesta inmune del hospedero, aunque los fenómenos polimórficos también afectan otros aspectos biológicos tales como la inmunogenicidad, hidrofobicidad, densidad de carga, aglutinación, resistencia a microbicidas, requerimientos nutricionales y especificidad en la adhesión e invasión de las células humanas (Merz, 2000).

Adicionalmente, se ha observado que los leucocitos polimorfonucleares presentes en la descarga purulenta (leucorrea) del enfermo usualmente contienen numerosos gonococos intracelulares. El análisis microscópico indica que muchos de éstos son destruidos, mientras otros permanecen intactos en el interior de los fagosomas, e inclusive, cada vez aparecen más evidencias acerca de que la bacteria es capaz de escapar de la vacuola y reproducirse en el citoplasma de la célula fagocitaria.

i. Adherencia e invasión

Sin lugar a dudas, la adherencia del gonococo a los epitelios representa un paso crucial. A la fecha se han comprobado cuatro mecanismos generales que conducen a la invasión gonocócica de las células hospederas: endocitosis mediada por receptores, endocitosis dependiente de microtúbulos, englobamiento en forma de cierre (*zipper*) y penetración vía el rearrreglo del citoesqueleto hospedero (Edwards, 2000; Jerse, 2000).

A continuación se describen brevemente los aspectos asociados a las principales moléculas de membrana externa del gonococo, involucradas en la adhesión e invasión.

Pili. Estos organelos permiten que *N. gonorrhoeae* se adhiera fuertemente a la superficie de las células endoteliales y epiteliales. Los gonococos producen *pili* tipo IV, conformados por al menos dos proteínas diferentes: la subunidad principal y altamente variable Pile (pilina) y la adhesina PilC: la primera constituye la mayor parte de la fibrilla y participa en el reconocimiento del receptor; por su parte, la PilC sólo se localiza en la punta del *pilus* y es crítica en la unión de la bacteria a las células epiteliales (Scheuerpflug, 1999).

Cabe señalar que este tipo de *pili* no es meramente un conjunto de fibras pasivas involucradas en la adhesión, sino que también desempeña un papel muy dinámico en la dispersión de dichos agregados, en la transferencia génica y en la inducción de respuestas por parte de la célula hospedera (por ejemplo: el flujo del calcio citosólico, excitotoxicidad y rearrreglos del citoesqueleto y de la membrana plasmática) (Merz, 2000).

Aunque las bases moleculares de la adhesión se han estudiado extensamente, hasta recientemente se logró identificar al primer receptor de los *pili* de *Neisseria*: la glicoproteína de superficie CD46, de la cual se ha encontrado que está presente en casi todas las células humanas y que regula la cascada del complemento (Jerse, 1997).

La proteína pile experimenta una variación antigénica originada por la recombinación genética entre el locus *pilE* y algunas regiones homólogas situadas en varios loci clasificados como “silenciosos” (*pilS*). Dicha recombinación es unidireccional y puede ocurrir de forma intragénica o con ADN exógeno proveniente de algún gonococo destruido (Jerse, 2000).

Proteína Opa. La segunda etapa de la adhesión e invasión gonocócica parece estar regulada, en

buena parte, por una familia de proteínas bacterianas de membrana externa denominadas Opa,⁴ debido a la opacidad que confieren a las colonias que las producen. Estas moléculas proteicas, también conocidas como P.II, fueron las primeras en identificarse como invasinas gonocócicas y como ligandos capaces de unirse a los azúcares de los lipooligosacáridos pertenecientes a otras células de *N. gonorrhoeae*, lo que resulta esencial en la formación de microcolonias (Jerse, 1997).

Las Opa promueven la invasión de las células hospederas interactuando con distintos receptores de superficie: la unión de las variantes de esta proteína a su respectivo receptor desencadena diversas cascadas de señalización, lo que permite el ingreso de los gonococos y, posiblemente, la selección de diferentes destinos intracelulares. Los receptores de las Opa incluyen a varios miembros de la familia CD66 y a ciertos proteoglicanos cuya porción polisacárida está constituida por sulfato de heparán (HSPG) (Van Putten, 1998).

Adicionalmente, las Opa se unen a la piruvato cinasa (PK) subtipo M2 humana, exoenzima soluble sintetizada por numerosas células (incluidas las epiteliales), que cataliza la conversión irreversible de fosfoenol-piruvato en piruvato, con la producción de ATP. Es posible que, de esta manera, los gonococos intracelulares unidos a la PK obtengan el piruvato que requieren,⁵ lo cual contribuiría a su supervivencia intracelular (Jerse, 1997).

Porinas. Las proteínas más abundantes en la membrana externa gonocócica son las porinas denominadas Por o P.I, cuya función primaria es la de permitir la difusión de nutrientes de bajo peso molecular a través de la membrana externa; sin embargo, dichas proteínas también desempeñan un papel significativo en la invasión de las células epiteliales: una vez concretada la adhesión, se translocan desde la superficie bacteriana hasta la de la célula hospedera, lo cual se traduce en el colapso del potencial de membrana en esta última, debido probablemente a la incontrolada formación de poros; posteriormente, ello permite el flujo de Ca⁺⁺, lo que al parecer promueve la invasión gonocócica y la inducción de apoptosis (Jerse, 2000; Lorenzen, 2000; Merz, 2000).

Adicionalmente, las Por o P.I afectan a los neutrófilos: previa inserción en la membrana de estos últimos, inhiben la fagocitosis, la polimerización de la actina, la secreción de enzimas microbicidas, la expresión de los receptores para las opsoninas, la maduración del fagosoma y la fusión fagolisosomal; además, provocan la modificación de las reacciones del metabolismo oxidativo dependientes de la mieloperoxidasa, las cuales resultan fundamentales para convertir al peróxido en diversas especies reactivas de oxígeno: O₂, O₂⁼ y OH⁻, destinadas a ocasionar la destrucción de los microorganismos (Lorenzen, 2000).

Existen dos subtipos de Por: P.IA y P.IB. Las cepas productoras de la primera se asocian a la gonorrea diseminada, son más resistentes al suero e invaden a las células en ausencia de las Opa. Por su parte, las clonas P.IB se relacionan con las infecciones localizadas y requieren de las proteínas Opa para concretar su internalización (Van Putten, 1998).

ii. Neutralización de los anticuerpos

Rmp. La proteína de membrana externa Rmp (proteína modificable por reducción o P.III) se encuentra formando un complejo con las Por, a las que se encuentra unida no covalentemente. Al parecer aquella está involucrada en la invasión gonocócica de las células epiteliales humanas⁶ y en el bloqueo de los anticuerpos bactericidas dirigidos contra la porina y el lipooligosacárido (LOS) (Jerse, 1997; Van Putten, 1998).

Proteasa de IgA1. Tal como se ha detectado en algunos otros patógenos que colonizan mucosas, *N. gonorrhoeae* secreta esta enzima, la cual resulta trascendental en los siguientes aspectos (Hopper, 2000):

- Promueve la colonización bacteriana: escinde a nivel de la región de la bisagra a la IgA1s humana, correspondiente a una de las dos subclases de IgA localizadas en las mucosas (la otra subclase: IgA2, sólo representa el 10 al 20% del total).
- Contribuye a la evasión gonocócica de la fagocitosis, vía la remoción del extremo Fc de las moléculas de IgA unidas al microorganismo (dicha fracción Fc es la región reconocida por los fagocitos).
- Incrementa la sobrevivencia intracelular, ya que también escinde a la LAMP1 (proteína 1 asociada

⁴ *N. gonorrhoeae* puede expresar entre 9 y 11 proteínas Opa, de 25 a 30 kDa.

⁵ El piruvato representa una de las tres únicas fuentes de carbono utilizables por *N. gonorrhoeae*.

⁶ De hecho, las cepas de *N. gonorrhoeae* que carecen de Rmp invaden con menor eficacia.

a la membrana lisosomal); ésta es una glicoproteína que integra la membrana lisosomal, se encuentra involucrada en la maduración vacuolar o endosomal y presenta un segmento parecido a la región de la bisagra de la IgA1. La proteólisis provocada conduce a importantes alteraciones en los lisosomas de las células infectadas.

iii. Resistencia a la acción bactericida del suero

El lipooligosacárido (LOS) situado en la superficie de *N. gonorrhoeae* difiere de los clásicos lipopolisacáridos de las bacterias entéricas Gram negativas en el hecho de que los primeros carecen de la cadena lateral larga de antígeno O; lógicamente, el LOS también contiene un lípido A unido a las cadenas de carbohidratos (Jerse, 2000).

El LOS también exhibe las siguientes propiedades (Merz, 2000):

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

Este proceso origina la resistencia del microorganismo a la acción bactericida del suero, ya que impide la interacción de los componentes del complemento con la superficie bacteriana: el ácido siálico capta factor H, proteína del hospedero que bloquea el ensamble de la C3 convertasa participante en la vía alterna y, además, funge como cofactor en la reacción en la cual el factor plasmático I efectúa la proteólisis del péptido C3b:⁷



Cabe agregar que, como consecuencia de su

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

Evidentemente, el LOS también es responsable de los eventos endotóxicos que ocurren durante las infecciones gonocócicas: estimula la producción de mediadores inflamatorios por parte de macrófagos y neutrófilos, destacando el TNF- α (factor de necrosis tumoral alfa), IL-8 (interleucina 8), IL-6, IL-1 y GM-CSF (factor estimulante de colonias de macrófago-granulocito) (Jerse, 1997).

El TNF- α está involucrado en el proceso inflamatorio, en la fibrosis y en el daño a las trompas de Falopio; la IL-8 interviene en la inflamación y en la migración celular, ya que constituye un potente inductor de la quimiotaxis de neutrófilos y de células T; la IL-6 induce la diferenciación de las células formadoras de anticuerpos; la IL-1 genera fiebre, estimula a las células B y T e induce respuestas pro-inflamatorias tales como la producción de prostaglandinas y de enzimas degradativas tales como la colagenasa; finalmente, el GM-CSF actúa como factor de activación sobre células maduras (Cohen, 1999).

Cuando la producción de dichas citocinas resulta muy intensa, ocurre el denominado *shock* o choque endotóxico, caracterizado por fiebre, colapso circulatorio, coagulación intravascular diseminada y necrosis hemorrágica, conjunto de alteraciones que puede conducir al fallo orgánico múltiple (Cohen, 1999).

iv. Reclutamiento de proteínas del hospedero

En años recientes, se ha detectado una singular estrategia de ciertas bacterias, incluida *N. gonorrhoeae*, para evitar que el sistema inmune humano las reconozca y erradique. El mecanismo implicado consiste en que el microorganismo promueve su propio recubrimiento con diversas proteínas del hospedero, tales como algunas glicoproteínas adhesivas, factores de crecimiento y citocinas, sin que ello requiera de producir receptores para cada uno (Duensing, 1999).

En concreto, la adsorción primaria de heparina o de polisacáridos sulfatados a la superficie bacteriana no impide que éstos funjan como sitios de unión “secundarios” para las proteínas del hospedero; generalmente, dicha unión implica a grupos de 6 a 8 aminoácidos básicos e hidrofílicos alternados y, lógicamente, la deposición indirecta de todo un universo de proteínas del hospedero sobre la célula bacteriana repercute notablemente en aspectos tales como mayor virulencia del agresor y evasión de la

⁷ Al margen de su relevante papel como opsonina, la molécula C3b es la iniciadora de la activación del complemento por la vía alterna.

defensa del organismo invadido. En este último caso, se reduce la quimiotaxis y la eficacia de la respuesta inmune (Duensing, 1999).

Comentarios finales

La gran duración de la actual pandemia de gonorrea ha conducido a la búsqueda de una vacuna efectiva, segura, barata y fácil de transportar y almacenar, lo que ofrecería una solución más eficaz y de largo plazo en el campo de la prevención. Sin embargo, el diseño de los inmunógenos debe tomar en cuenta: a) la variación antigénica del gonococo; b) la capacidad del organismo humano para desarrollar inmunidad; c) la posibilidad de crear modelos experimentales que reproduzcan los procesos infectivo e inmunitario; y d) la posibilidad de evitar que las infecciones subclínicas evadan al sistema inmune.

En *N. gonorrhoeae*, por lo menos tres moléculas de la membrana externa experimentan variación de fase, antigénica o ambas: los *pili*, las proteínas Opa y el LOS. Por su parte, las porinas podrían representar una buena alternativa, ya que están presentes en forma abundante sobre la superficie bacteriana, su estructura es relativamente conservada hasta por los subtipos P.IA y P.IB, y los estudios de epidemiología molecular sugieren que los anticuerpos anti-Por que aparecen durante las infecciones naturales podrían aportar protección contra los gonococos del mismo biotipo. ▣

Referencias bibliográficas

- Bhuiyan B.U., Rahman M., Miah M.R.A., Nahar S., Islam N., Ahmed M., Rahman K.M. and Albert M.J.: Antimicrobial susceptibilities and plasmid contents of *Neisseria gonorrhoeae*. Isolates from commercial sex workers in Dhaka, Bangladesh: emergence of high-level resistance to ciprofloxacin, *J Clin Microbiol*, 1999; **37**(4):1130-1136.
- Carroll K.C., Aldeen W.E., Morrison M., Anderson R., Lee D. and Mottice S.: Evaluation of the Abbott LCx Ligase Chain Reaction Assay for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in urine and genital swab specimens from sexually transmitted disease clinic population, *J Clin Microbiol*, 1998; **36**(6): 1630-1633.
- Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for treatment of sexually transmitted diseases, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1998; **47**(1): 2, 53-70.
- Cohen M.S. and Cannon J.G.: Human experimentation with *Neisseria gonorrhoeae*: progress and goals, *J Infect Dis*, 1999; **179**: S375-S379.
- Duensing T.D., Wing J.S. and Van Putten J.P.M.: Sulfated polysaccharide-directed recruitment of mammalian host proteins: a novel strategy in microbial pathogenesis, *Infect Immun*, 1999; **67**(9): 4463-4468.
- Edwards J.L., Shao J.Q., Ault K.A. and Apicella M.A.: *Neisseria gonorrhoeae* elicits membrane ruffling and cytoskeletal rearrangements upon infection of primary human endocervical and ectocervical cells, *Infect Immun*, 2000; **68**(9): 5354-5363.
- Grove C., Kirkpatrick R., Witkamp M.T., Larson J.A., Schipper C.A., Waldberser L.S., O'gaora P., Cooper M. and So M.: *Neisseria gonorrhoeae* mutants altered in toxicity to human fallopian tubes and molecular characterization of genetic locus involved, *Infect Immun*, 1999; **67**(2): 643-652.
- Hedges S.R., Mayo M.S., Mestecky J., Hook III E.W. and Russell M.W.: Limited local and systemic antibody responses to *Neisseria gonorrhoeae* during uncomplicated genital infections, 1999; **67**(8): 3937-3946.
- Hopper S., Vasquez B., Merz A., Clary S., Wilbur J.S. and So M.: Effects of the immunoglobulin A1 protease on *Neisseria gonorrhoeae* trafficking across polarized T84 epithelial monolayers, *Infect Immun*, 2000; **68**(2): 906-911.
- Jerse A.E. and Rest R.F.: Adhesion and invasion by the pathogenic neisseria, *Trends Microbiol*, 1997; **5**(6): 217-221.
- Jerse A.E.: *Neisseria gonorrhoeae: adaptation and survival in the urogenital tract "in" Persistent bacterial infections*, Nataro J.P., Blaser M.J. and Cunningham-Rundles S. Eds, ASM Press, Washington D.C., 2000: 201-261.
- Klausner J.D., Aplasca M.R., Mesola V.P., Bolan G., Whittington W.L. and Holmes K.K.: Correlates of gonococcal infection and of antimicrobial-resistant *Neisseria gonorrhoeae* among female sex workers, Republic of Philippines, 1996-1997, *J Infect Dis*, 1999; **179**(3): 729-733.
- Kumate J., Gutiérrez G., Muñoz O. y Santos J.I.: *Manual de infectología clínica*, Méndez Eds, 15ª edición, México, 1998: 257-264, 268-276, 278-280.
- Lorenzen D.R., Günther D., Pandit J., Rudel T., Brandt E. and Meyer T.F.: *Neisseria gonorrhoeae* porin modifies the oxidative burst of human professional phagocytes, *Infect Immun*, 2000; **68**(11): 6215-6222.
- Mavroidi A., Tzouveleki L.S., Tassios P.T., Fliemetakis A., Danilidou M. and Tzelepi E.: Characterization of *Neisseria gonorrhoeae* strains with decreased susceptibility to fluoroquinolones isolates in Greece from 1996 to 1999, *J Clin Microbiol*, 2000; **38**(9): 3489-3491.
- Merz A.J. and So M.: Interactions of pathogenic *Neisseriae* with epithelial cell membranes, *Ann Rev Cell Dev Biol*, 2000; **16**:423-457.
- Nowicki S., Selvaranga R. and Anderson G.: Experimental transmission of *Neisseria gonorrhoeae* from pregnant rat to fetus, *Infect Immun*, 1999; **67**(9): 4974-4976.
- Scheuerpflug I., Rudel T., Ryll R., Pandit J. and Meyer T.: Roles of pilC and pilE in pilus-mediated adherence of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis* to human erythrocytes and endothelial and epithelial cells, *Infect Immun*, 1999; **67**(2): 834-843.
- Tanaka M., Nakayama H., Haraoka M., Saika T., Kobayashi I. and Naito S.: Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* and high prevalence of ciprofloxacin-resistant isolates in Japan, 1993 to 1998, *J Clin Microbiol*, 2000; **38**(2): 521-525.
- Thompson D. and French S.A.: Comparison of commercial Amies transport system with in-house Amies medium for recovery of *Neisseria gonorrhoeae*, *J Clin Microbiol*, 1999; **37**(9): 3020-3021.
- Van Putten J.P.M., Duensing T.D. y Carlson J.: Gonococcal invasion of epithelial cells driven by P.IA, a bacterial ion channel with GTP binding properties, *J Exp Med*, 1998; **188**(5): 941-952.