

Susceptibilidad antimicrobiana y producción de b-lactamasa en cepas de *Neisseria gonorrhoeae* aisladas en pacientes del Hospital Universitario “Dr. Manuel Núñez Tovar”, estado Monagas, Venezuela

Antimicrobial Susceptibility and b-Lactamase Production in Strains of Neisseria gonorrhoeae Isolated in Patients from the University Hospital “Dr. Manuel Núñez Tovar”, Monagas State-Venezuela

Lanz, J.²; De Freitas, H.³; Betancourt, J.¹; Núñez, N.² y Velásquez, W.³

¹Cátedra de Bacteriología Clínica, Escuela de Ciencias, Dpto. de Bioanálisis, UDO. E-mail: jbetanvi@hotmail.com.

²Licenciados en Bioanálisis. ³Cátedra de Fisiopatología de la UDO, Núcleo de Sucre.

Resumen

Con el propósito de determinar los patrones de susceptibilidad antimicrobiana y producción de beta-lactamasa, se estudiaron 60 pacientes procedentes del área de

enfermedades de transmisión sexual del Hospital Universitario “Dr. Manuel Nuñez Tovar”, estado Monagas. Se aislaron 35 cepas (58,30%) de *N. gonorrhoeae*, las cuales se agruparon de acuerdo a la susceptibilidad antimicrobiana y producción de beta-lactamasa, observándose una elevada tasa de resistencia a la penicilina (94,29%) y a la tetraciclina (97,14%). De las 33 cepas de *N. gonorrhoeae* resistentes a la penicilina, 15 (45,45%) fueron no productoras de beta-lactamasa. La sensibilidad *in vitro* de *N. gonorrhoeae* frente al cefepime, cefoxitin y ceftriaxone fue de 97,14%, 94,29% y 80,50%, respectivamente. Con relación a la susceptibilidad a la ofloxacina, se encontró que el 97,14% de las cepas de *N. gonorrhoeae* mostraron sensibilidad a este antimicrobiano.

Palabras clave:

Neisseria gonorrhoeae, susceptibilidad, beta lactamasa, antimicrobianos, resistencia, gonorrea.

Abstract

In order to determine the patterns of antimicrobial susceptibility and beta-lactamase production, 60 patients with sexually transmitted diseases were studied from the University Hospital “Dr. Manuel Nuñez Tovar” jurisdiction in Monagas State. Thirty-five *N. gonorrhoeae* strains (58,30%) were isolated, and they were grouped according to antimicrobial susceptibility and beta-lactamase production. A high resistance rate to penicillin (94.24%) and to tetracycline (97.14%) was detected. Out of the 33 *N. gonorrhoeae* strains resistant to penicillin, 15 (45.45%) did not produce beta-lactamase. On the other hand, *in vitro* sensitivity of *N. gonorrhoeae* to cefepime, cefoxitin and ceftriaxone was 97.14%, 94.29%, and 80.50%, respectively. In relation to the susceptibility to ofloxacin, it was found that 97,14% of the strains of *N. gonorrhoeae* showed sensitivity a this antimicrobial. treatment.

Key words:

Neisseria gonorrhoeae, susceptibility, beta-lactamase, antimicrobial, resistance, gonorrhoea.

Recibido: 25-03-04 / Aceptado: 06-05-04

Introducción

Neisseria gonorrhoeae es una bacteria perteneciente a la familia Neisseriaceae. Los miembros típicos del grupo de *Neisseria* son diplococos en forma de riñón, Gram negativos, inmóviles, con un diámetro aproximado de 0,8 μm (1). Son aerobios y anaerobios facultativos, oxidan solo la glucosa, característica bioquímica que permite distinguirlas de las especies saprofitas, son oxidasa positiva y producen la enzima catalasa (5, 14).

En cuanto a las características de crecimiento, este microorganismo tiene requerimientos complejos para desarrollarse, necesita medios selectivos (Thayer-Martin, Martin-Lewis y New-York City); es importante señalar que a estos medios se les debe adicionar un suplemento antibiótico (vancomicina, colistina y nistatina) para inhibir microorganismos pertenecientes a la flora normal del individuo. Además, requiere de un pH igual a 7,4, temperatura de incubación de 37°C y una atmósfera de 5-10% de CO₂ (1, 3).

La infección producida por *N. gonorrhoeae* se denomina gonorrea o blenorragia, la cual es una enfermedad de transmisión sexual (31). La gonorrea puede acarrear ciertas complicaciones locales o sistémicas; la complicación más frecuente en el hombre está dada por estenosis uretral y epididimitis, mientras que en la mujer, se puede presentar salpingitis y esterilidad, y en ciertos casos se puede desarrollar artritis gonocócica e infección gonocócica diseminada (9).

Desde 1977 a 1993, la incidencia de infección por *N. gonorrhoeae* a nivel mundial fue del 56,00% (11). En Venezuela, para el año de 1988, el promedio de casos de gonorrea fue de 20000 casos por año, sin incluir el subregistro existente, por consiguiente, la verdadera incidencia sea probablemente tres o cuatro veces mayor (23).

Dentro de los factores de riesgo de la infección gonocócica se encuentran, la falta de protección en las relaciones sexuales, la promiscuidad, la edad (entre 15 y 24 años) y un nivel socioeconómico bajo (14, 31, 32).

Anteriormente, la recomendación terapéutica para la enfermedad gonocócica era el uso de penicilina; sin embargo, la resistencia de los gonococos a este antibiótico se ha elevado en forma gradual, debido a la selección natural de mutantes cromosómicos, de modo que, en la actualidad, numerosas cepas requieren concentraciones mínimas inhibitoria (CMI) elevadas de penicilina G para inhibirse (CMI ³¹ $\mu\text{g}/\text{mL}$). También ha aumentado la prevalencia de *N. gonorrhoeae* productora de b-lactamasa. Además de la resistencia a la penicilina, también se ha observado resistencia a otros antimicrobianos, como la espectinomina y la tetraciclina, esta última producida principalmente por plásmidos (7, 10).

Con el objetivo de determinar los patrones de susceptibilidad antimicrobiana y la producción de b-lactamasa en pacientes con *N. gonorrhoeae* provenientes del Hospital Universitario “Dr. Manuel Niñez Tovar, de Maturín, estado Monagas, se realizó el presente estudio.

Materiales y Métodos

Población

Durante el período en estudio comprendido desde Noviembre del año 2002 hasta febrero de 2003, se aislaron 35 cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, las cuales fueron obtenidas de 4 secreciones endocervicales y 56 secreciones uretrales, de pacientes de ambos sexos, quienes acudieron a la consulta del área de Enfermedades de Transmisión Sexual del Hospital Universitario “Dr Manuel Núñez Tovar”, Maturín, estado Monagas.

Recolección y procesamiento de la muestra

Las muestras estudiadas, fueron obtenidas de mujeres y hombres por el personal médico que labora en el área de Enfermedades de Transmisión sexual del Hospital Universitario “Dr. Manuel Núñez Tovar” Maturín, estado Monagas. Previa colocación de un espéculo, las muestras endocervicales fueron obtenidas mediante un hisopo de dacrón, el cual se introdujo 2 centímetros en el canal cervical realizando ligeros movimientos de rotación durante 15 segundos (26). Se le indicó al paciente exprimirse el pene en dirección al orificio uretral, con el objeto de recoger el exudado (12, 15).

Cabe señalar que todas las muestras se tomaron por duplicado, una para realizar el cultivo y otra para la coloración de Gram, donde se observaron la presencia de diplococos Gram negativos intra y extracelulares (4).

Aislamiento e identificación de las cepas de *N. gonorrhoeae*

Las muestras de secreciones uretrales y endocervicales fueron sembradas en forma inmediata (en el lugar de la toma de muestra), en los medios de cultivo agar base GC con 1% de isovitalax y suplemento, vancomicina, colistina y nistatina (VCN), éstos se incubaron en atmósfera microaerofílica (5-10% de CO₂) a 37°C durante 24 a 48 horas. Transcurrido el período de incubación se observó la morfología de las colonias y se procedió a la realización de frotis coloreado por la técnica de Gram. De acuerdo con las características macroscópicas y microscópicas, se realizó la identificación

bioquímica a través de la prueba de la oxidasa y oxidación de carbohidratos, utilizando como medio el CTA (agar semisólido cisteína triptico) el cual se le adiciona 1% de los carbohidratos glucosa, maltosa y sacarosa (17).

Producción de beta lactamasa

Se determinó utilizando el método de la cefalosporina cromógena. Esta prueba se fundamenta en la producción de un compuesto coloreado (rosado) al poner el substrato nitrocefina en contacto con un cultivo productor de betalactamasa, siendo éste un procedimiento cualitativo para determinar la producción de betalactamasa de cepas de *N. gonorrhoeae* (3, 20, 25).

Susceptibilidad antimicrobiana

La prueba de susceptibilidad antimicrobiana se realizó mediante el método de difusión en disco en agar base GC suplementado con isovitalex, siguiendo las normas, procedimientos y criterios establecidos por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (22). Se tomaron con hisopos de algodón estériles varias colonias de *N. gonorrhoeae* de los medios de cultivo agar chocolate base GC con 1% de isovitalex y se suspendieron en 5 mL de solución salina fisiológica (0,85%), se incubaron a 37°C hasta observar la turbidez visible comparada con un estándar de 0,5 de McFarland equivalente a 10^8 microorganismos/mL (29). La suspensión bacteriana se inoculó en placas de agar chocolate con base GC más 1% de isovitalex, posteriormente se dejó secar la placa inoculada (3 a 5 minutos) antes de colocar los discos de antibióticos (cefotaxime 30 µg, cefoxitin 30 µg, ofloxacina 5 µg, tetraciclina 30 µg, penicilina 10 µg, cefepime 30 µg), luego se incubó a 37°C en microaerofilia (5-10% de CO₂) durante 24 horas (17). Como cepa control se utilizó *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se empleó una regla milimétrica para medir los halos de inhibición. Los resultados obtenidos se compararon con los diámetros establecidos para cada antibiótico por el NCCLS, el cual permite expresar los resultados en los términos sensibles y resistentes (22).

Análisis de datos

Los resultados obtenidos se expresaron en forma porcentual a través de tablas. Para comparar la sensibilidad de *N. gonorrhoeae* a los antibióticos, se utilizó la prueba de Chi-cuadrado a un nivel mínimo de confiabilidad del 95% (18).

Resultados

La Tabla 1, indica la frecuencia de casos de gonorrea en pacientes del área de Enfermedades de Transmisión sexual del Hospital “Dr. Manuel Nuñez Tovar”, estado Monagas, donde del total de 60 muestras, 35 resultaron positivas (58,30%) y 25 fueron negativas (41,70%) para *N. gonorrhoeae*.

La Tabla 2, señala las tasas de resistencia de penicilina y tetraciclina en cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en pacientes del área de Enfermedades de Transmisión Sexual, y además se observa la no asociación significativa ($\chi^2 = 0,04$; $p > 0,05$) entre ambos parámetros evaluados.

Los resultados mostrados en la Tabla 3 indican una asociación no significativa ($\chi^2 = 0,27$; $p > 0,05$) entre las cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de beta-lactamasa y las no productoras de beta-lactamasa aisladas de pacientes del área de Enfermedades de Transmisión Sexual.

Tabla 1.

Frecuencia de casos de gonorrea del área de Enfermedades de Transmisión Sexual del Hospital “ Dr. Manuel Nuñez Tovar”, de Maturín, estado Monagas, Venezuela. 2003.

	N° de Casos (total) de <i>N. gonorrhoeae</i>	Frecuencia (%)
Positivos	35	58,30
Negativos	25	41,70

F. de I.: Resultados obtenidos del área de Enfermedades de Transmisión Sexual.

En la Tabla 4, se muestran los porcentajes de sensibilidad *in vitro* de *N. gonorrhoeae* frente a las cefalosporinas (Cefepime, Cefoxitin y Ceftriaxone), observándose una mayor sensibilidad de las cepas al cefepime. Al aplicar la prueba de Chi-cuadrado, se observa una asociación no significativa ($\chi^2 = 2,15$; $p > 0,05$) entre la sensibilidad de los tres antibióticos estudiados.

En la Tabla 5, se observa una elevada sensibilidad a la ofloxacina por parte de las cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en pacientes con secreciones uretrales y endocervicales.

Discusión

En este estudio se observó un porcentaje de individuos con gonorrea de 58,30%, hecho que pone en evidencia que dicha enfermedad no ha podido ser erradicada del todo, siendo considerada un problema de salud pública a nivel mundial. Al respecto Bhuiyan y col. (2) encontraron en 224 aislados de secreciones endocervicales un porcentaje de cultivos positivos para *N. gonorrhoeae* de 42,00%. Asimismo, Nuñez (24) en Venezuela, específicamente en Maturín, estado Monagas, encontró un 66,66% de casos de gonorrea en pacientes con secreciones uretrales.

Tabla 2.

Resistencia a la penicilina y tetraciclina en cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en pacientes del área de Enfermedades de Transmisión Sexual del Hospital Universitario Dr. "Manuel Nuñez Tovar", Maturín, estado Monagas, Venezuela. 2003.

Antimicrobiano	N° Total de Cepas	Resistencia	Porcentaje (%)
Penicilina	35	33	94,29
Tetraciclina	35	34	97,14

F. de I. Resultados obtenidos del área de Enfermedades de Transmisión Sexual.
 $\chi^2 = 0,04$; $p > 0,05$.

Tabla 3.

Determinación de betalactamasas en cepas de *N. gonorrhoeae* resistentes a la penicilina, aisladas de pacientes del área de Enfermedades de Transmisión Sexual, Maturín, estado Monagas, Venezuela. 2003.

N° de Cepas de <i>N. gonorrhoeae</i> resistentes a penicilina	Cepas (NGPBL) %	Cepas (NGNPBL)%
33	15 (45,45)	18 (55,55)

F. de I. Resultados obtenidos del área de Enfermedades de Transmisión Sexual.
 $\chi^2 = 0,27$; $p > 0,05$.

Tabla 4.

Estudio de la susceptibilidad a las cefalosporinas en cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en pacientes del área de Enfermedades de Transmisión Sexual del Hospital Universitario Dr. "Manuel Nuñez Tovar", Maturín, Estado Monagas, Venezuela.

2003.

Cefalosporinas	N° Total de Cepas	Sensibilidad	Porcentaje (%)
Cefepime	35	34	97,14
Cefoxitin	35	33	94,29
Ceftriaxone	35	31	88,57

F. de I.: Resultados obtenidos del área de Enfermedades de Transmisión Sexual.
 $\chi^2 = 2,15$; $p > 0,05$.

Dentro de los factores de riesgo para contraer la infección gonocócica se encuentran la promiscuidad, la falta de protección en las relaciones sexuales, un bajo nivel socioeconómico, así como el sexo y la edad (27).

Las tasas de resistencia de la penicilina y tetraciclina a *N. gonorrhoeae* fueron muy elevadas, lo que indica que ninguno de estos antibióticos fueron efectivos para inhibir el crecimiento *in vitro* de *N. gonorrhoeae*, por consiguiente, no deben ser considerados para el tratamiento de la infección gonocócica en esta región. Estos resultados concuerdan con (16) quienes encontraron en aislados clínicos de *N. gonorrhoeae* un porcentaje de resistencia elevado tanto para penicilina como para tetraciclina. Asimismo, Ye y col (34) en un estudio realizado en China en secreciones uretrales, encontraron un porcentaje de resistencia significativo en cepas de *N. gonorrhoeae* a ambos antimicrobianos.

Dentro de los mecanismos de resistencia de *N. gonorrhoeae* a la penicilina se encuentra la producción de beta lactamasas la cual es codificada por genes incluidos en un plásmido, y por alteración de proteínas fijadoras de penicilinas (6).

La penicilina y la tetraciclina que por largo tiempo, constituyeron opciones terapéuticas de primera elección, hoy día, no son efectivas porque el gonococo, en muchos casos, se ha hecho resistente a la acción de éstas (21). Las cepas resistentes a la penicilina y tetraciclina tienden a diseminarse rápidamente en áreas geográficas cuando encuentran condiciones favorables de transmisión y propagación y es por ello que si no son tratadas oportunamente con los medicamentos apropiados, las infecciones causadas por estas cepas, persistirán con un potencial contagioso y poder patógeno, prolongando las posibilidades de transmisión y aumentando el riesgo de complicaciones locales y sistémicas (8).

Al aplicar la prueba de chi cuadrado (χ^2) entre las cepas de *N. gonorrhoeae*

productoras de beta lactamasas y las no productoras de beta lactamasas, no se observó asociación estadísticamente significativa, esto indica que la elevada tasa de resistencia a la penicilina obtenida en este estudio, no estuvo determinada únicamente por los mecanismos de resistencias utilizados por las cepas productoras de beta lactamasas, sino que esta resistencia pudo ser ocasionada también por otro mecanismo, presente en las cepas no productoras de beta lactamasas; sin embargo, hay que destacar que aunque, desde el punto de vista estadístico no se observó asociación, desde el punto de vista epidemiológico, la tasa de cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de beta lactamasas tiene importancia clínica, debido a que estas cepas pueden diseminarse con facilidad, por medio de la transferencia de plásmidos a otras cepas que si son sensibles a la penicilina o a cepas resistentes a otros antimicrobianos y por ende, crear cepas multiresistentes que puedan distribuirse ampliamente en la región.

Tabla 5.

Sensibilidad a la ofloxacina de cepas de *N. gonorrhoeae* en pacientes del área de Enfermedades de Transmisión Sexual del Hospital Dr. "Manuel Nuñez Tovar", Maturín, estado Monagas, Venezuela. 2003.

Antimicrobiano	Nº Total de Cepas	Sensibilidad	Porcentaje (%)
Ofloxacina	35	34	97,14

F. de I.: Resultados obtenidos del área de Enfermedades de Transmisión Sexual.

Cabe destacar que los mecanismos de resistencia en las cepas de *N. gonorrhoeae* no productoras de beta-lactamasa pudieron estar determinados por la existencia de una combinación de mutaciones cromosómicas a nivel de distintos loci genéticos que pudieran contribuir a la resistencia a la penicilina.

La rápida propagación de cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de beta-lactamasas, se ha relacionado con varios factores de índole económico, social, cultural e institucional. La prostitución, la automedicación, la falta de control en la venta de antibióticos y el alto costo de éstos, se han señalado como factores influyentes en la diseminación de estas cepas (28).

Cuando se asociaron los porcentajes de sensibilidad *in vitro* de *N. gonorrhoeae* frente a los antimicrobianos (Cefepime, Cefoxitin y Ceftriaxone), no se observó dependencia entre las variables asociadas, lo que indica que la utilización de estos antimicrobianos es efectiva para el tratamiento de la infección gonocócica, debido a que todos mostraron una excelente actividad antimicrobiana frente a las cepas de *N. gonorrhoeae*. Al respecto Rice y Knapp (30) no obtuvieron un asociación significativa

al comparar la efectividad de los antimicrobianos cefoxitin, cefepime y ceftriaxone frente a aislados de *N. gonorrhoeae*.

Durante las últimas tres décadas, se han desarrollado nuevas cefalosporinas mediante la modificación estructural de su núcleo. Estas modificaciones han surgido para facilitar la producción de compuestos con mayor actividad antibacteriana y mejorar propiedades farmacológicas para vencer la resistencia bacteriana (19).

Los aislados de *N. gonorrhoeae* identificados en este estudio fueron altamente sensibles (97,14%) a la fluoroquinolona (ofloxacina). Estos resultados concuerdan con Rice y Knapp (30) quienes reportaron un porcentaje elevado de sensibilidad a ofloxacina. Asimismo, Tanaka y col (33) encontraron un porcentaje de sensibilidad del 90,00% en 79 cepas aisladas de *N. gonorrhoeae*.

Las fluoroquinolonas demuestran excelente actividad *in vitro* contra *N. gonorrhoeae*, y han sido efectivas en dosis única en el tratamiento de infecciones gonocócicas no complicadas (33). Estas quinolonas actúan sobre el ADN girasa, una enzima topoisomerasa tipo II involucrada en los procesos de replicación, transcripción y recombinación.

Conclusiones

- En el periodo estudiado se encontró una alta frecuencia de casos de gonorrea.
- Las tasas de resistencia a la penicilina y tetraciclina por parte de las cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas fueron elevadas en este estudio.
- Existe una alta proporción de infecciones gonocócicas causadas por cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de beta-lactamasas.
 - Las cefalosporinas (cefepime, cefoxitin y ceftriaxone) evaluadas en esta investigación presentaron una alta actividad antimicrobiana frente a cepas de *N. gonorrhoeae*.
- La ofloxacina puede ser una alternativa en la terapia para infecciones por *N. gonorrhoeae*.

Referencias Bibliográficas

1.

Baron, E.; Peterson, L.; and Finegold, S. Baley y Scott Diagnostic Microbiology. 9na Edition. Mosby-Year Book. Saint Louis. 1994: 1253.

2.

Bhuiyan, B.; Rahman, M.; Miah, M.; Nahar, S.; Islam, N.; Ahmed, M.; Rahman, K. and Albert, M.

Antimicrobial Susceptibilities and Plasmid Contents of *Neisseria gonorrhoeae* Isolated From Commercial Sex Workers in Dhaka, Bangladesh Emergence of High-Level Resistance to Ciprofloxacin. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37: 1132-1134.

3.

Brooks, G.; Butel, J. y Drastron, L. *Microbiología Médica de Jawetz*. México. Editorial “ El Manual Moderno”. *Journal Clinical Microbiology*. 1999; 12: 35-41.

4.

Castillo, M.; Saab, O.; Nader, O. and Ruiz, A. Evaluation of the Estandardised Disk Diffusion and Agar Dilution antibiotic Susceptibility Test Methods by Using Strains of *Neisseria gonorrhoeae* From Tucuman, Argentina. *Biological Pharmaceutical*. 1997; 20: 1010-1015.

5.

Delgado, A.; Polanco, A.; Amich, S.; Prieto, S. y Salve, M. *Manual de Laboratorio Clínico Básico (Microbiología)*. Colombia. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. 2001: 593.

6.

Dogherty, T.; Koller, A. and Tomaz, A. Penicillin-Binding Proteins of Penicillin-Susceptible and Intrinsically Resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 1980; 18: 730-737.

7.

Dillon, J. and Pagotto, F. Importance of Drug Resistance in Gonococci: From Mechanisms to monitoring. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 12: 35-41.

8.

Ellener, P.; Fink, D.; Neu, H. and Parry, M. Epidemiology Factors. Affecting Antimicrobial Resistance of Common Bacterial Isolates. *J. Clin. Microbiol.* 1987; 25: 1668-1670.

9.

Fitz, T.; Polano, M.; Suurnod, D. y Wolff. *Atlas de Dermatología Clínica*. México. Editorial Interamericana. 1994: 377.

10.

Henry, J. *Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio*. España. Editorial Salvat. 1993: 1509.

11.

Holmes, K.; Mardh, P.; and Sparling, P. Sexually Transmitted Diseases. New York. Editorial McGraw-Hill. 1990: 1346

12.

Iovine, E y Selva, A. El Laboratorio en la Clínica, Metodología Analítica, Fisiopatología e interpretación Semiológico. Argentina. Editorial Médica Panamericana. 1985: 957.

13.

Joesoef, M.; Knapp, J.; Idajadi, A.; Linnan, M.; Barakbah, Y.; Kamboji, A.; O'Hanley, P. and Moran, J. Antimicrobial Susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* Strains Isolated in Suravaya, Indonesia. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 1994; 38: 2530-2534.

14.

Joklik, W.; Willett, H.; Amos, D. y Wilfret, C. Zinsser Microbiología. México. Editorial Médica Panamericana. 1994: 611.

15.

Klusek, H. y Owen, M. Diagnóstico Clínico. México. Nueva Editorial Interamericana. 1985: 572.

16.

Knapp, J.; Fox, K.; Tress, D. and Whittington., W. Fluoroquinolone Resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. Emergency Infection Disease. 1997; 3: 33-39.

17.

Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P. and Winn, W. Color Atlas and Testbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott. 1997: 510.

18.

Lomotte, M. Estadística Biológica. Principios Fundamentales. España. Editorial Torymasson. 1976: 256.

19.

Moosdeen, F. La Evolución de la Resistencia a las Cefalosporinas. Clinical Infections Diseases. 1997; 24: 34-38.

20.

Mongomery, K.; Raymundo, L. and Drew, W. Chromogenic Cephalosporin Spot Test to Detect Beta-lactamase in Clinically Significant Bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 1979; 9: 205-210.

21.

Morles, C.; Feneiro, M.; León, L.; Flores, A. y Rodríguez, J. Susceptibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* aislada de pacientes con uretritis aguda atendidos durante el periodo 1991-1994. *Sociedad Venezolana de Microbiología.* 1997; 17: 28-34.

22.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Eleventh Informational Supplement. 2001; 21: 127.

23.

Núñez, M.; Gómez, M. y Carmona, O. *Microbiología Médica.* Venezuela. Ediciones del Consejo de Publicaciones de la Universidad Central de Venezuela. 1991: 460.

24.

Núñez, N. Evaluación del Método Phadebact Monoclonal GC Para la Identificación de *Neisseria gonorrhoeae*. Tesis de Grado. Cumaná. 2001: 47.

25.

O'Callaghan, C.; Morris, A.; Kirby, S. and Schingler, A. Novel Method for Detection of beta-lactamase by Using a Chromogenic Cephalosporin Substrate. *Antimicrobial Agents Chemotherapy.* 1972: 283-287.

26.

Olsen, C.; Sehwbwe, J.; Benjamin, W.; Beverly, A and Waites, K. Comparison of Direct Inoculation and Copan Transport Systems for Isolation of *Neisseria gonorrhoeae* from endocervical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37: 3583-3588.

27.

Orr, D.; Johnston, K.; Brizendine, E.; Katz, B. and Fortenbeny, J. Subsequent Sexually Transmitted Infection in Urban Adolescent and Young adults. *Pediatrics. Adolescents Medicine.* 2001; 155: 947-953.

28.

Osoba, A.; Jhonson, N.; Ogunbajo, B. and Ochri, J. Plasmid Profile of *Neisseria gonorrhoeae* in

Nigeria and Efficacy of Spectinomycin in Treating gonorrhoeae. *Genitourinary Medicine*. 1997; 63: 1-5.

29.

Pumarola, A. *Microbiología y Parasitología Médica*. España. Ediciones Científicas y Técnicas. 1987: 1568.

30.

Rice, R. and Knapp, J. Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* Associated With Pelvic Inflammatory Disease to Cefoxitin, Ceftriaxone, Clindamycin, Gentamicin, Doxycycline, Azithromycin, and other Antimicrobial Agents. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 1994; 38: 1688-1691.

31.

Spencer, M. *Clínicas Obstétricas y Ginecológicas*. España. Editorial Interamericana. 1984: 573.

32.

Stam, A. and Russell, A. Review of Diseases. *Biological Medical Journal*. 1983; 4: 713-719.

33.

Tanaka, J.; Matsumoto, T.; Kobayashi, I.; Uchino, U. and Kuwazawa, J. Emergence of in vitro Resistance to Fluoroquinolone in *Neisseria gonorrhoeae* Isolated in Japan. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 1995; 39: 2367-2370.

34.

Ye, S.; Wang, Q.; Su, X.; Ye, Y.; Dai, X.; and Sun, H. Epidemiological and Bacteriological Characteristic of *Neisseria gonorrhoeae* Isolated in China. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2003; 24: 119-122.