

GUÍA PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE *Neisseria gonorrhoeae*

DIRECCION REDES EN SALUD PÚBLICA

SUBDIRECCIÓN LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

GRUPO DE MICROBIOLOGÍA

2019

1 de 22

Dirección

Martha Lucia Ospina Martínez
Directora General Instituto Nacional de Salud

Coordinación

Astrid Carolina Flórez
Director Técnico Redes en Salud Pública

Clara del Pilar Zambrano
Subdirector Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Carolina Duarte Valderrama
Coordinadora Grupo de Microbiología
Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Elaborado por

Olga Marina Sanabria Cruz
Grupo de Microbiología
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Revisado por

Efraín Andrés Montilla Escudero
Grupo de Microbiología
Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Adriana Marcela Bautista Chaves
Grupo de Microbiología
Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

CONTENIDO

OBJETIVOS DE LA GUÍA	5
ALCANCE	5
DEFINICIONES, SIGLAS ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	5
1. GENERALIDADES.....	6
1.1 Agente etiológico.....	6
1.2 Modo de transmisión.....	7
1.3 Prevención.....	8
2. DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO:.....	8
2.1 Bioseguridad.....	8
2.2. Para el embalaje de las muestras o aislamientos deben etiquetarse como sustancia biológica Categoría B UN 3373.Toma de muestras.....	9
2.3. Transporte de la muestra.....	11
2.3.1. Equipos, materiales, reactivos y medios de cultivo	12
2.4 Procedimiento.....	12
2.4.1 Coloración de Gram	12
2.4.2 Cultivo	13
2.5. Envío, embalaje y transporte de aislamientos bacterianos procedentes de muestras de secreción uretral, flujo vaginal y líquido sinovial.....	13
2.5.1. Aislamientos bacterianos	13
2.5.2. Documentación requerida	14
3. CONTROL DE CALIDAD	17
4. VIGILANCIA POR LABORATORIO DE <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	17
5. ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS (RNL) PARA EL EVENTO.....	17
5.1. Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR).....	17
5.2. Funciones del laboratorio de Salud Pública Departamentales y Distritales	18
5.3. Funciones de los laboratorios públicos y privados o referentes para el evento a nivel municipal y/o local según corresponda.....	18
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20

Índice de Figuras

Figura 1 Toma de muestra de secreción vaginal en mujeres:.....	10
Figura 2 Toma de muestras de secreción uretral en hombres.....	11
Figura 3 Métodos de laboratorio empleados para el diagnóstico de N. gonorrhoeae	15
Figura 4 Identificación de Neisseria gonorrhoeae	16
Figura 5 Flujo de información de la Red Nacional de Laboratorios	19

OBJETIVOS DE LA GUÍA

Describir los lineamientos y el proceso de vigilancia por laboratorio de *Neisseria gonorrhoeae*.

Establecer los procesos de obtención, conservación y transporte de las muestras para la detección de *Neisseria gonorrhoeae*.

Describir los fundamentos técnico-científicos de los métodos de ensayos empleados para el diagnóstico por laboratorio de *Neisseria gonorrhoeae*.

ALCANCE

El presente documento es una guía para la vigilancia por laboratorio de *Neisseria gonorrhoeae* de los métodos utilizados para la identificación y caracterización fenotípica en el laboratorio nacional de referencia del Instituto Nacional de Salud.

DEFINICIONES, SIGLAS ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

Definiciones

Infección gonocócica diseminada: La infección gonocócica diseminada (IGD), también conocida como síndrome artritis-dermatitis, se produce por diseminación de la bacteria *Neisseria gonorrhoeae* al torrente sanguíneo a partir de una membrana mucosa. Ocurre en el 0,5-3% de los casos. La menstruación, el embarazo, la cirugía pélvica y el uso de dispositivos intrauterinos son factores predisponentes para el desarrollo de IGD, así como también el déficit congénito o adquirido de componentes del complemento sérico.

Proteína Opa. Proteína de membrana externa que actúa en la adhesión e invasión gonocócica confiere opacidad 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

Multirresistencia: se define como la no susceptibilidad adquirida por lo menos a un agente antimicrobiano en tres o más categorías antimicrobianas

Vigilancia por laboratorio: Es un sistema basado en la notificación periódica y sistemática de la información generada por los laboratorios clínicos, salud pública y por los laboratorios de referencia, los cuales constituyen una red de la declaración obligatoria o voluntaria.

Siglas, abreviaturas y acrónimos

TM: Agar Thayer Martin

A. Ch: Agar Chocolate

CIM: Concentración Inhibitoria Mínima

LSP: Laboratorio de Salud pública

LSPD: Laboratorio de Salud pública Departamental y del Distrito

PCR: Sigla en inglés de Reacción en Cadena de la Polimerasa

1. GENERALIDADES

1.1 Agente etiológico

Neisseria gonorrhoeae es uno de los principales agentes etiológicos causantes de infecciones de transmisión sexual. Es un diplococo Gram negativo, intracelular, inmóvil, catalasa y oxidasa positivos, aeróbicos y/o anaerobios facultativos; generalmente se disponen en pares, dando la apariencia de riñón o de grano de café y carece de cápsula. La óptima temperatura de crecimiento oscila entre 35- 37 °C a una atmósfera de CO₂ entre 5 - 10% (concentraciones menores inhiben el crecimiento del microorganismo), el pH adecuado para el crecimiento se encuentra entre 7,2- 7,6. Cuando *N. gonorrhoeae* se expone al aire del ambiente, a condiciones de desecación, luz ultravioleta, sales de plata, fenol y calor húmedo a 55 °C tienden a la autólisis. Estos microorganismos son reconocidos como fastidiosos y en algunos casos, requieren de la adición a los medio de cultivo, de

6 de 22

sangre, suero, colesterol o ácido oleico para contrarrestar la presencia de sustancias inhibitoras como los ácidos grasos.

1.2 Modo de transmisión

Neisseria gonorrhoeae es el agente etiológico de la gonorrea o blenorragia considerada como una de las infecciones desde el punto de vista de salud pública y es la más común de las enfermedades bacterianas transmitidas por contacto sexual. También puede ser transmitida desde el tracto genital al recién nacido, durante el parto, produciendo oftalmia neonatal y enfermedad sistémica en el recién nacido. El periodo de incubación es generalmente de 2-8 días. En las mujeres, el sitio más común de la infección es el cuello uterino que se manifiesta como una endocervicitis y uretritis, que puede llegar a complicarse en enfermedad pélvica inflamatoria; en hombres causa uretritis anterior. Muchos factores influyen la manera por la cual el gonococo expresa la virulencia y la patogenicidad, siendo uno de ellos las fimbrias que componen la superficie externa; la bacteria se adhiere a las membranas mucosas por medio de la pilina, que interviene en la adhesión inicial a las células humanas no ciliadas como el epitelio vaginal, trompa de Falopio, cavidad oral y es uno de los factores de virulencia principal, que contribuye a la resistencia, pues previene la fagocitosis de la bacteria por los neutrófilos. *N. gonorrhoeae* tiene 3 a 4 genes para las proteínas de opacidad (OPA), localizadas en la membrana exterior de la bacteria y llamadas así porque, le dan una apariencia opaca a las colonias bacterianas y estas proteínas aumentan la adherencia entre el gonococo y los fagocitos promoviendo la invasión hacia las células del huésped disminuyendo la respuesta inmune.

En hombres y mujeres la infección diseminada puede producir el síndrome artritis–dermatitis con dolor articular y que progresa a una artritis séptica que compromete principalmente la rodilla como sitio de la artritis gonocócica purulenta.

Neisseria gonorrhoeae ha adquirido resistencia a penicilina y tetraciclina y la recomendación es usar cefalosporinas de amplio espectro o azitromicina para su tratamiento.

1.3 Prevención

La prevención de la infección se lleva a cabo teniendo relaciones sexuales seguras y la utilización de preservativos.

2. DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO:

2.1 Bioseguridad

- Realizar todo el procedimiento en cabina de bioseguridad clase II, garantizando los procesos de verificación y certificación de las mismas. Usar los elementos de protección personal o bioseguridad (batas desechables, gafas de protección y mascarillas o tapabocas). Se debe tener en cuenta que las muestras clínicas y los fluidos corporales pueden ser positivos para el virus de la hepatitis B, VIH, u otros agentes patógenos de transmisión sanguínea, e inclusive como *Mycobacterium tuberculosis*.
- En el interior de la cabina de bioseguridad se debe contar con esferos y marcadores de uso exclusivo en la cabina. Verificar el guardián para descartar material corto punzante como recipientes adecuados para el descarte de puntas plásticas y asas desechables.
- Usar guantes de látex o nitrilo durante todo el procesamiento de la muestra. El personal de laboratorio se debe quitar los guantes cuando estos se contaminan por derrames, salpicaduras o cuando se ha terminado el trabajo con material infeccioso. No se deben utilizar guantes fuera del laboratorio. No se debe utilizar el teléfono ni abrir las puertas con guantes utilizados en pruebas de laboratorio. El personal de laboratorio se debe lavar las manos inmediatamente después de haberse quitado los guantes.
- Al iniciar y terminar el proceso se deben limpiar las superficies y los equipos con hipoclorito de sodio diluido en agua al 1% (1:100), luego con alcohol isopropílico al 70%, para inactivar el cloro y evitar la corrosión de la superficie; cuando se presenten derrames limpiar con hipoclorito de sodio al 10% (1:10).

2.2. Para el embalaje de las muestras o aislamientos deben etiquetarse como sustancia biológica Categoría B UN 3373. Toma de muestras

Ante un caso sospechoso de infección por *Neisseria gonorrhoeae* y conociendo que este microorganismo puede causar infección en otros sitios del cuerpo, la toma de muestra depende del sexo y de la práctica sexual de los pacientes, así como de la presentación clínica (ej: orofaringe, recto). En todos los casos, muestras del área genital, (uretra en los hombres y cuello uterino o endocervix en las mujeres), deben ser recolectadas. En casos sospechosos de infección gonocócica diseminada, cultivos de sangre y muestras del área genital como extra genital, deben ser tomadas.

Las muestras deben ser recolectadas con escobillones de dacrón o de rayón, (algunos lotes de escobillones de alginato de calcio pueden ser tóxicos para ciertas cepas de gonococos). Igualmente sucede con los escobillones de algodón, que, por su contenido de ácidos grasos, puede inhibir el crecimiento del gonococo.

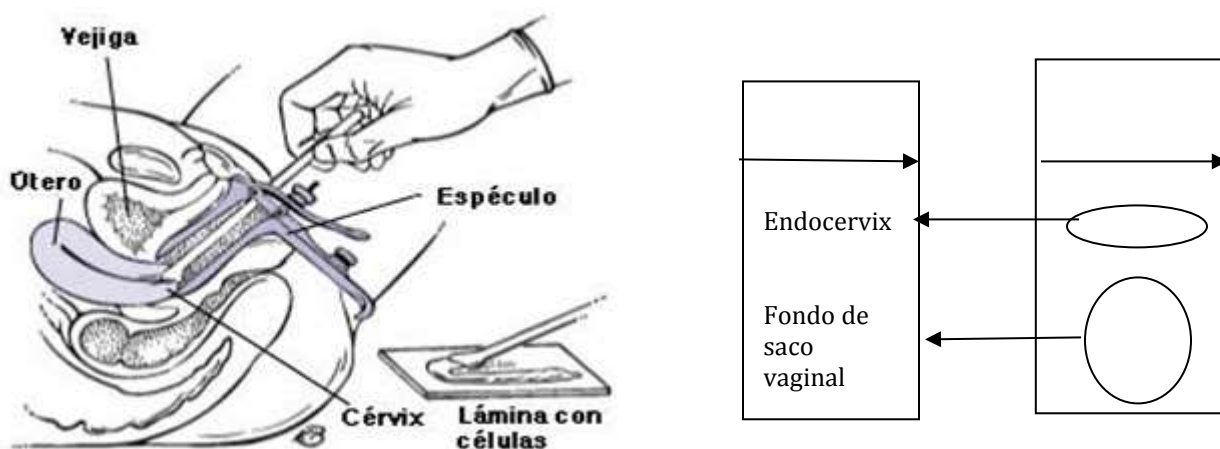
En las mujeres siempre y cuando no estén embarazadas, se debe utilizar espéculo, con el fin de tomar exámenes directos para Gram, tanto del cuello uterino (endocervix), como del tracto vaginal (fondo de saco), recolectados con diferentes escobillones.

La muestra para cultivo se tomará con el escobillón que viene en el empaque del medio de transporte con carbón activado o en el medio E-swab que hace parte de los insumos del equipo automatizado para la siembra de muestras. Una vez tomada la muestra, debe enviarse la lámina portaobjetos con ambos extendidos (endocervix y fondo de saco), así como el medio de transporte para cultivar en el laboratorio de microbiología. Ver figura 1.

En el caso de los hombres la muestra se debe tomar con un escobillón delgado, plástico, como el utilizado para la toma de muestras de nasofaringe, directamente de la uretra, introduciendo el escobillón entre 1 a 2 centímetros de profundidad y rotándolo suavemente en el momento de retirarlo; colocarlo en el medio de transporte con carbón activado o si se cuenta con el equipo automatizado para siembra de muestras, en el tubo del medio de transporte correspondiente. Sin embargo, la máxima recuperación del gonococo se obtiene sembrando las muestras directamente en el medio de cultivo. Repetir el procedimiento con otro escobillón de

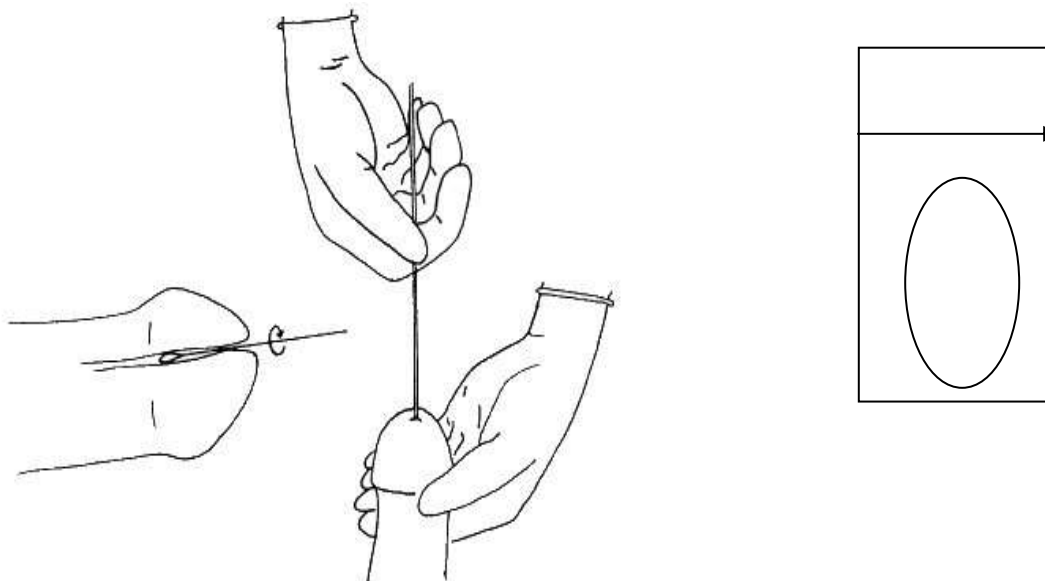
las mismas características, con el fin de realizar el extendido en lámina portaobjetos para la coloración de Gram, herramienta única con que se cuenta para realizar el diagnóstico de infección por gonococo, en el caso de que el paciente hubiera tomado antibiótico antes de la toma de la muestra, lo que incide directamente, en la inhibición del crecimiento bacteriano en cultivo. Ver figura 2

Figura 1. Toma de muestra de secreción vaginal en mujeres:



Observe como la primera muestra se toma del endocervix y la segunda del fondo del saco vaginal.

Figura 2. Toma de muestras de secreción uretral en hombres



2.3. Transporte de la muestra.

- Medio de transporte AMIES con carbón activado o medio E-swab (equipo automatizado para siembra de muestras)
- La muestra (si es por recolección de la secreción en escobillón), una vez recolectada en el medio de transporte, debe ser trasladada a temperatura ambiente al laboratorio de Microbiología.
- Remitir la muestra al laboratorio, una vez sea recolectada, preferiblemente en medio de transporte. En caso de tratarse de un líquido sinovial sembrar de inmediato.
- No refrigerar
- Rotular la muestra (secreción vaginal, uretral, orofaríngea, recto, líquido sinovial o sangre) con información demográfica (nombre, edad, documento, sexo) fecha, hora y especificar sitio de recolección.
- Procesar la muestra en el menor tiempo posible para evitar pérdida de viabilidad de la cepa.

- Una vez llega la muestra en medio de transporte, sembrarla en medio selectivo de agar Thayer Martin Modificado.

En el laboratorio del hospital realizará coloración de Gram y cultivo de las muestras; informando al médico sobre los resultados presuntivos del examen directo y de los cultivos para que lo orienten a una atención temprana dirigida hacia un tratamiento antimicrobiano adecuado, tomando las medidas profilácticas necesarias. Ver figura 3.

Nota: el uso de la cabina de bioseguridad evitará la contaminación de la muestra y protegerá al profesional que manipuló las muestras.

A partir del crecimiento bacteriano recuperado en agar Thayer Martin o en agar chocolate suplementado en una atmósfera de 5% - 10% de CO₂ a 36 ± 2°C y incubando de 18 a 24 horas. Realizar las pruebas bioquímicas correspondientes para la identificación del agente etiológico. Ver figura 4.

2.3.1. Equipos, materiales, reactivos y medios de cultivo

- Cabina de bioseguridad
- Microscopio con lente de magnificación 100X.
- Incubadora 35 – 37°C con atmósfera de 5 - 10% de CO₂.
- Colorantes para Gram
- Aceite de inmersión
- Asas bacteriológicas desechables plásticas o asa de metal.
- Guardián para descartar asas plásticas desechables
- Agar Thayer Martin Modificado
- Agar Chocolate

2.4 Procedimiento

2.4.1 Coloración de Gram

- Fijar muestra en lámina con mechero (2 a 3 pases por la llama).
- Colorear extendido en lámina con técnica de Gram.

- La observación de cualquier número de diplococos Gram negativos, ya sea intracelulares o extracelulares, debe ser informado inmediatamente al médico tratante con el fin de dar inicio al tratamiento antimicrobiano.

2.4.2 Cultivo

Día 1

- Sembrar la muestra a partir del medio de transporte en agar Thayer Martin modificado y/o agar chocolate dependiendo del sitio de toma de muestra.

Día 2

- Examinar la placa a las 24 horas para detectar evidencia macroscópica de desarrollo bacteriano. En caso negativo incubar nuevamente la placa por 24 horas más.
- Realizar coloración de Gram, prueba de catalasa en lámina portaobjetos y prueba de oxidasa de las colonias sospechosas en placa de agar chocolate.
- La observación microscópica de diplococos Gram negativos intracelulares y la presencia de colonias pequeñas sospechosas de *Neisseria gonorrhoeae*., debe ser informada vía telefónica al médico tratante.
- A partir del subcultivo en estría, seguir la identificación confirmatoria por medio de la producción de ácido a partir de la fermentación de azúcares como son: glucosa, maltosa, lactosa, fructuosa y sacarosa, (*Neisseria gonorrhoeae* solamente producirá ácido a partir de glucosa), o identificar por medio de métodos automatizados para identificación de microorganismos sospechosos de ser *Neisseria gonorrhoeae*. Ver figura 3.

En caso de un examen directo positivo (coloración de Gram), con cultivo negativo a las 24 horas, incubar nuevamente la placa por lo menos 2 días más y observar diariamente.

2.5. Envío, embalaje y transporte de aislamientos bacterianos procedentes de muestras de secreción uretral, flujo vaginal y líquido sinovial.

2.5.1. Aislamientos bacterianos

Los aislamientos bacterianos de *N. gonorrhoeae* recuperados de fluidos corporales estériles (líquido sinovial, sangre, etc.), así como de secreción uretral o flujo vaginal,

13 de 22

deben ser enviados en medio de transporte Amies con carbón activado, útil especialmente para el envío de patógenos de difícil crecimiento o lábiles, cumpliendo las indicaciones de la figura 3.

- A partir de un cultivo puro de 24 horas de incubación a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ en atmósfera de 5% CO_2 , recoger todo el crecimiento con el escobillón que trae el medio de transporte, introduzca el escobillón dentro del medio de transporte ajustándolo muy bien e identifique el aislamiento con los siguientes datos: nombre del paciente, historia clínica y fecha de recogida del aislamiento.
- Temperatura de envío: temperatura ambiente entre 18 y 25°C .
- El tiempo máximo para ser recibido en el INS después de recogido el aislamiento es de 24 hasta máximo 48 horas.
- El transporte debe cumplir con las condiciones mínimas de bioseguridad para reducir los posibles riesgos de contaminación. Las cepas deben estar en triple embalaje marcadas como categoría B, cumpliendo la normativa IATA y rotuladas con etiquetas que identifiquen la presencia de sustancias infecciosas.
- Estos aislamientos bacterianos de *N. gonorrhoeae*, deben ser enviados al Laboratorio de Referencia Nacional (Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud) a través del Laboratorio de Salud Pública departamental o distrital correspondiente, siguiendo el flujo de información de la Red Nacional de Laboratorios, (ver figura 5 Flujo de información de la Red Nacional de Laboratorios).
- El Laboratorio Nacional de Referencia (Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud) realizará la confirmación y pruebas de sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos bacterianos de *N. gonorrhoeae*, enviados a través de la red nacional de laboratorios de acuerdo con los parámetros establecidos en el manual de procedimientos.

2.5.2. Documentación requerida

- Oficio remitario con la solicitud.
- Formato de envío de aislamientos de *N. gonorrhoeae*, según corresponda.

Figura 3. Métodos de laboratorio empleados para el diagnóstico de *N. gonorrhoeae*

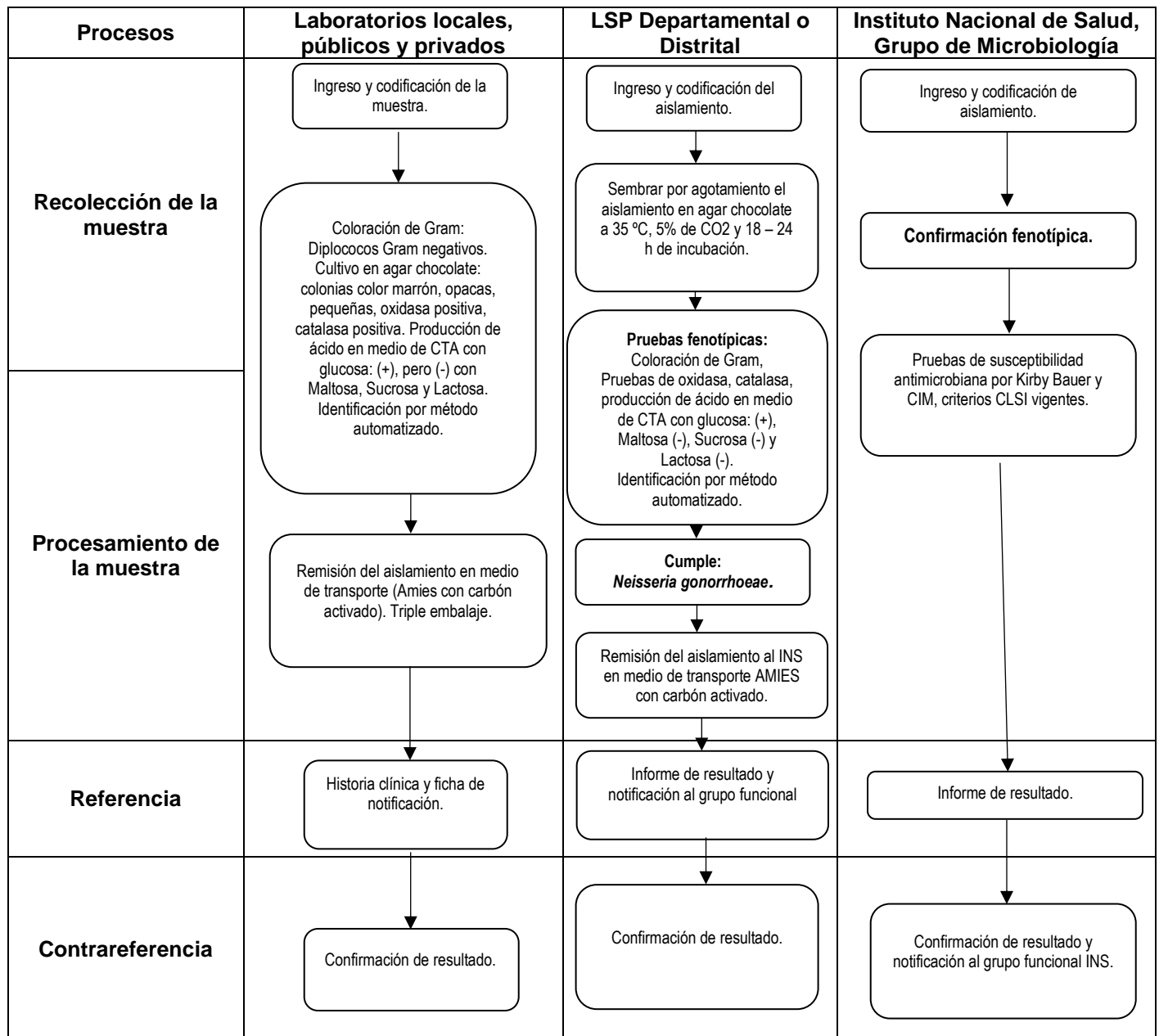
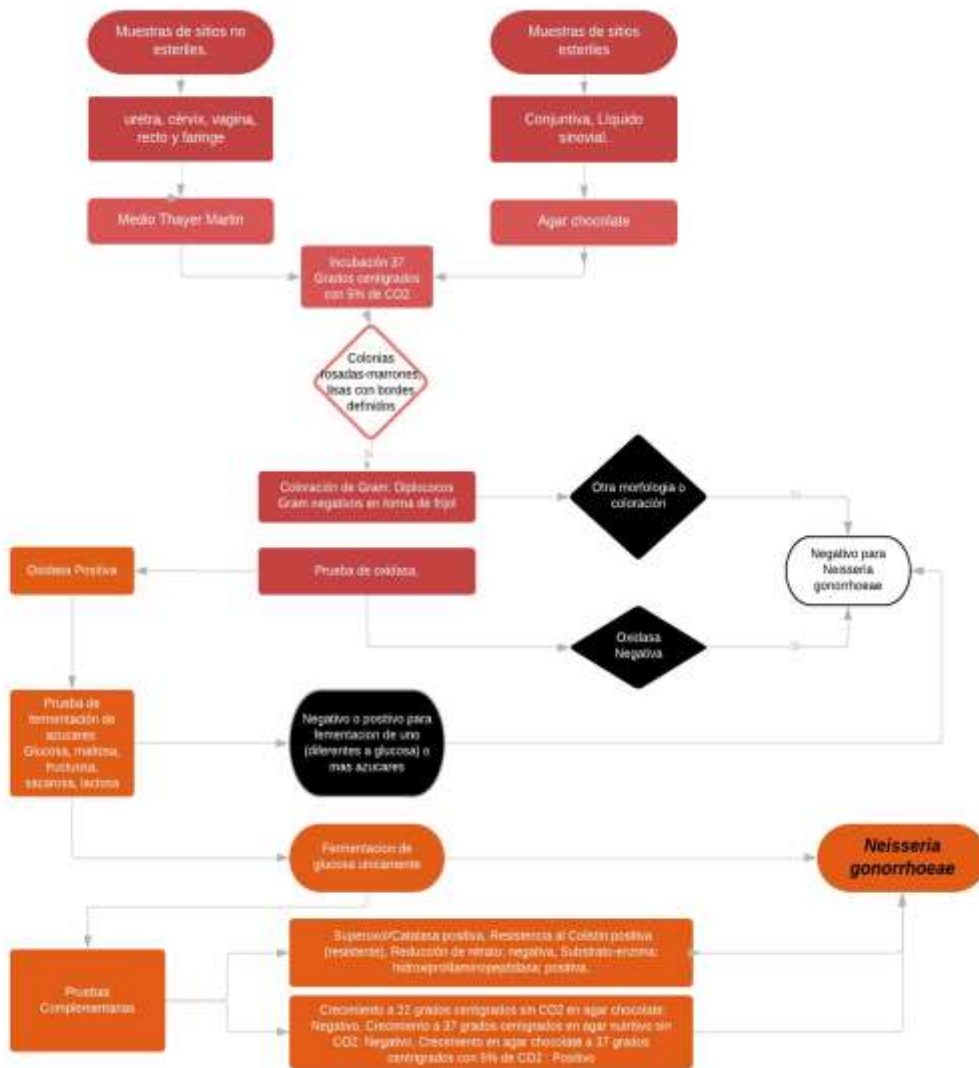


Figura 4. Identificación de *Neisseria gonorrhoeae*



3. CONTROL DE CALIDAD

El Grupo de Microbiología realiza la Evaluación Externa del Desempeño en Bacteriología y Resistencia a los Antimicrobianos EED-B-RA como control de calidad directo y de forma indirecta con el envío de los aislamientos de las muestras positivas y sospechosas que se procesen en los Laboratorios de Salud Pública Departamental y del Distrito.

4. VIGILANCIA POR LABORATORIO DE *Neisseria gonorrhoeae*

La vigilancia por laboratorio de aislamientos de *N. gonorrhoeae*, permite realizar seguimiento de la circulación de microorganismos, su perfil de sensibilidad antimicrobiana y el conocimiento del impacto del uso de los antibióticos, a través de la adquisición paulatina de resistencia a varias familias de antibióticos, para este microorganismo, propendiendo de esta manera en el adecuado abordaje terapéutico, para la protección de la salud individual y colectiva. A pesar de que trata de una vigilancia pasiva voluntaria es la metodología actual para ampliar el conocimiento de la circulación de este patógeno, su impacto en la salud pública y el fortalecimiento en la capacidad de detección en los laboratorios de microbiología a nivel nacional.

5. ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS (RNL) PARA EL EVENTO

5.1. Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR)

Dentro de las funciones enmarcadas en la vigilancia por laboratorio del evento se encuentran:

- El Grupo de Microbiología realizará la confirmación a nivel de género y especie y sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *N. gonorrhoeae* obtenidos de muestras, que sean enviadas por los LSPD del país.
- Apoyar a los LSPD con asesoría técnica, medios de transporte y medios de cultivo enriquecidos y selectivos, cuando se presenten casos sospechosos, si es necesario.
- Realización de la Evaluación Externa del Desempeño en Bacteriología y Resistencia a los Antimicrobianos EED-B-RA.

- Fortalecer la red nacional de laboratorios para la identificación de *N. gonorrhoeae* a través de capacitaciones o supervisiones técnicas.

5.2. Funciones del laboratorio de Salud Pública Departamentales y Distritales

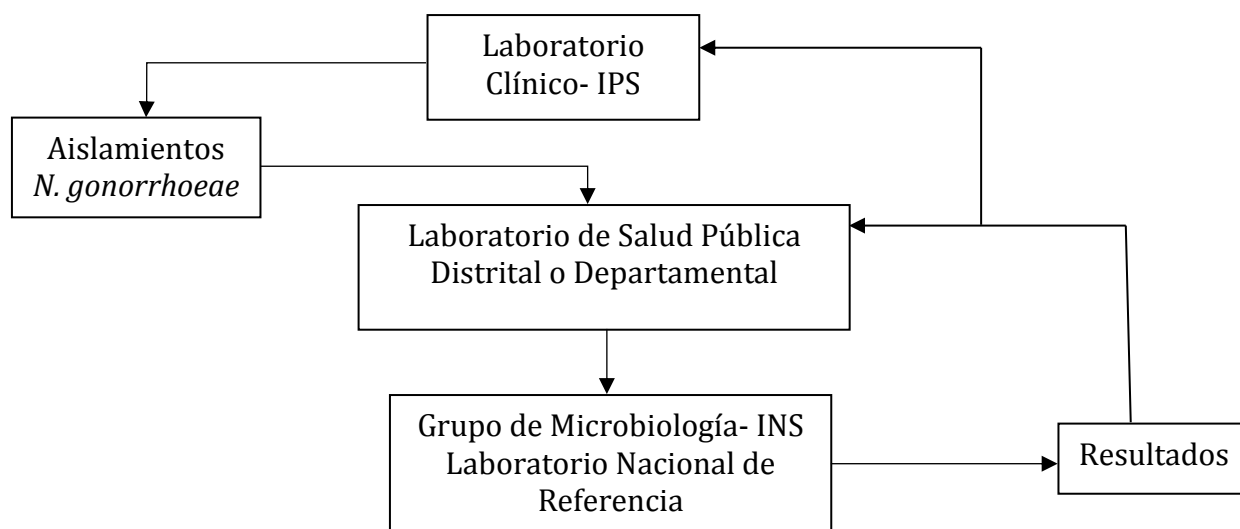
- Recibir, confirmar y remitir al Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud los aislamientos de *N. gonorrhoeae* obtenidos de muestras, junto con el formato totalmente diligenciado.
- Mantener los aislamientos recuperados hasta recibir el resultado por parte del INS de la viabilidad del microorganismo. Participar en la Evaluación Externa del Desempeño en Bacteriología y Resistencia a los Antimicrobianos EED-B-RA.
- Mantener una base de datos actualizada con los aislamientos recibidos y de los resultados, luego del procesamiento de los mismos.
- Retroalimentar los resultados de los casos a las IPS, direcciones locales y departamentales de salud, para realizar las acciones necesarias con el paciente y ajustar los casos en el sistema de vigilancia.

5.3. Funciones de los laboratorios públicos y privados o referentes para el evento a nivel municipal y/o local según corresponda

- El laboratorio clínico debe asegurar que la muestra haya sido tomada correctamente por personal idóneo y capacitado para tal fin; procesar la muestra de acuerdo con el protocolo establecido, asegurándose de guardar el excedente de muestra o de ser posible un duplicado para posibles eventualidades para tener la posibilidad de confirmar resultados o realizar pruebas adicionales.
- En el caso de obtener crecimiento del patógeno perteneciente a la vigilancia por laboratorio, debe identificarse mediante las pruebas diagnósticas establecidas, remitirlo en el medio de transporte de AMIES con carbón activado y acompañarlo del formato completamente diligenciado.
- De ser necesario, pueden solicitar apoyo técnico a las autoridades locales, departamentales o nacionales, prestando toda la colaboración y poniendo a disposición la información necesaria.

- Capacitar y actualizar permanentemente a los profesionales de la salud en el diagnóstico y vigilancia de casos de *N. gonorrhoeae*.
- En caso de que se necesite apoyo diagnóstico, el laboratorio debe enviar el aislamiento al LSPD con la información pertinente.

Figura 5 Flujo de información de la Red Nacional de Laboratorios



6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ryan KJ, Ray CG (editors) (2004). Sherris Medical Microbiology (4th edición). McGraw Hill. Microbiología - Zinsser (edición en español) (20 edición). Editorial Medica Panamericana. 1997.
2. Color atlas and textbook of diagnostic Microbiology. Fifth edition. Elmer W. Koneman, Stephen D. Allen, William M. Janda, Paul C. Schreckenberger, Washington C. Winn, Jr. 2005
3. Medicina del Laboratorio. Revisión y Actualización. Nhora Villegas de Merino. MD. Patología Clínica. 2015
4. Brenner, DJ. Krieg, NR, Staley JT: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed Vol. 2, Part B. Springer, New York, 2005.
5. Wong B, Ammar N, Cunha BA: Gonorrhoea. Medline Article MedScape CME. July 2013. [http:// www.medscape.com](http://www.medscape.com)
6. Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo.
7. Manual of Clinical Microbiology 8th edition. (Edition ASM 2003). Vol 2 pag 38 Patrick Murray, Ellen Jo Baron, James H. Jorgensen, Michael A. Pfuller, Robert H. Yolken.
8. Manual of Clinical Microbiology 10th edition – James Versalovic Karen C. Carroll, Guido Funke, James H. Jorgensen, Marie Louise Landry, David W. Warnock Vol 1 y 2 2011.
9. World Health Organization, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Manual para la identificación y Prueba de Susceptibilidad a los antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia en Salud Publica en el Mundo en Desarrollo. Capítulo VI. Disponible en: <https://www.cdc.gov/full-manual.pdf>
10. Centers for Disease Control and Prevention. Gonococcal Isolate Surveillance Project Annual Report-2000. Atlanta, Georgia: CDC; 2000.
11. Centers for Disease Control and Prevention. Fluoroquinolone-Resistance in *Neisseria gonorrhoeae*, Hawaii, 1999, and decreased susceptibility to azithromycin in *N. gonorrhoeae*, Missouri, 1999. MMWR 1999; 49 (37):833.
12. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control and Prevention. 5th edition, 2009. Pag: 149-151.

13. Manual of Clinical Microbiology de la Sociedad Americana de Microbiología o página del CDC en internet, para el diagnóstico clínico de la gonorrea (<http://www.cdc.gov/ncidod/dastlr/gcdir/gono.html>).
14. Ryan KJ, Ray CG (editors) (2004). Sherris Medical Microbiology (4th edición). McGraw Hill.
15. Microbiología - Zinsser (edición en español) (20 edición). Editorial Médica Panamericana. 1997.
16. Color atlas and textbook of diagnostic Microbiology. Fifth edition. Elmer W. Koneman, Stephen D. Allen, William M. Janda, Paul C. Schreckenberger, Washington C. Winn, Jr. 2005
17. Medicina del Laboratorio. Revisión y Actualización. Nhora Villegas de Merino. MD. Patóloga Clínica. 2015
18. Brenner, DJ. Krieg, NR, Staley JT: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed., Vol. 2, Part B. Springer, New York, 2005.
19. Wong B, Ammar N, Cunha BA: Gonorrhea. Medline Article MedScape CME. July 2013. <http://www.medscape.com>
20. Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo. Organización Mundial de la Salud (WHO/CDS/CSR/RMD/2003.6). Mindy J. Perilla, MHP, Joan S. Knapp, PhD *Neisseria gonorrhoeae*; Scott F. Dowell, MD MPH. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EUA.
21. Barbe G, Babolat M, Boeufgras JM et al: Evaluation of API NH, a new 2-hour system for identification of *Neisseria* and *Haemophilus* species and *Moraxella catarrhalis* in a routine clinical laboratory. J Clin Microbiol 32: 187-189, 1994.
22. Bonin P, Tanino TT, Handsfield HH: Isolation of *Neisseria gonorrhoeae* on selective and non-selective media in a sexually-transmitted diseases clinic. J Clin Microbiol 19: 218-220, 1984.
23. Brighton RW, Wilding K: Delayed diagnostic of gonococcal arthritis of the foot caused by beta-lactamase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. Med J Aust 156:368, 1992
24. Catlin BW: Nutritional profiles of *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, and *Neisseria lactamica* in chemically defined media and the use of growth requirements for gonococcal typing. J Infect Dis 128:178-194, 1975
25. Centers for Disease Control: Chromosomally-mediated resistant *Neisseria gonorrhoeae*- United States. MMWR 33:408-410, 1984

26. Chapin-Roberston K, Reece EA, Edberg SC: Evaluation of the Gen-Probe PACE II assay for the direct detection of *Neisseria gonorrhoeae* in endocervical specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 15:645-649, 1992
27. Connell TD, Shaffer D, Cannon JG: Characterization of the repertoire of hypervariable regions in the protein II (Opa) gene family of *Neisseria gonorrhoeae*. *Mol Microbiol* 4:439-449, 1990
28. Crawford G, Knapp JS, Half J: Asymptomatic gonorrhea in men: caused by gonococci with unique nutritional requirements. *Science* 196:1352-1353, 1977
29. Dolter J, Bryant L, Janda JM: Evaluation of five rapid systems for the identification of *Neisseria gonorrhoeae*, *Diagn Microbiol Infect Dis* 13: 265-267, 1990
30. Jones RN, Gavan TL, Thornsberry C et al: Standardization of disk diffusion and agar dilution susceptibility tests for *Neisseria gonorrhoeae*: interpretive criteria and quality control guidelines for Ceftriaxone, penicillin, spectinomycin, and tetracycline. *J Clin Microbiol* 27: 2758-2766, 1989
31. Seth A: Use of trimethoprim to prevent overgrowth by *Proteus* in the cultivation of *Neisseria gonorrhoeae*. *Br J Vener Dis* 46: 201-202, 1970
32. *Manual of Clinical Microbiology* 8th edition. (Edition ASM 2003). Vol 2 pag 38 Patrick Murray, Ellen Jo Baron, James H. Jorgensen, Michael A. Pfaller, Robert H. Tenover.
33. *Manual of Clinical Microbiology* 10th edition – James Versalovic Karen C. Carroll, Guido Funke, James H. Jorgensen, Marie Louise Landry, David W. Tenover Vol 1 y 2 2011.