

Resistência de *Neisseria gonorrhoeae* a antimicrobianos na prática clínica: como está o Brasil?

Antimicrobials resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in clinical practice: where Brazil stands?

Thaiz Fernandes¹, Fernando Bortolozzi¹, Keite Nogueira¹, Camila Marconi¹, Cristina Leise Bastos Monteiro¹

Resumo

Estima-se que um milhão de infecções sexualmente transmissíveis (IST) sejam adquiridas por dia no mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde. Elas podem ser causadas por diversos micro-organismos pelo contato sexual. Embora tratáveis, as infecções, como a clamídiana, sífilis, tricomoníase e gonorreia, são responsáveis por 350 milhões de novos casos de IST anualmente no mundo. A gonorreia é a segunda IST bacteriana mais prevalente no planeta e tem chamado atenção nos últimos anos em decorrência da baixa eficácia em seu tratamento. O agente etiológico é a *Neisseria gonorrhoeae*. Na maioria das mulheres, a infecção por esse micro-organismo é assintomática, dificultando ainda mais seu diagnóstico e tratamento e, portanto, aumentando o risco de desenvolvimento de suas complicações associadas. Mesmo quando diagnosticada, essa infecção está sujeita a um alto índice de insucesso terapêutico que se deve, principalmente, à grande plasticidade genética da *N. gonorrhoeae* para aquisição de genes cromossômicos ou plasmidiais de resistência. O aumento da resistência desse micro-organismo a antimicrobianos comumente utilizados no tratamento, como penicilina, tetraciclina e ciprofloxacina, tem sido relatado em diversos países. No Brasil, poucos estudos estão disponíveis, mas em alguns estados já foram relatadas linhagens resistentes à ciprofloxacina. Dessa forma, deve-se ressaltar a importância de

novos estudos que visem descrever o perfil da resistência da *N. gonorrhoeae* a antimicrobianos. Tais achados certamente nortearão a implementação de sistemas de vigilância epidemiológica no país visto que, até o momento, as infecções por *N. gonorrhoeae* sequer estão incluídas na lista nacional de doenças e agravos de notificação compulsória.

Descritores: *Neisseria gonorrhoeae*; Gonorreia; Resistência; Antimicrobianos; IST

Abstract

According to the World Health Organization, approximately one million sexually transmitted infections (STI) are acquired daily in the world. These infections can be caused by several microorganisms via sexual contact. The treatable STI, such as chlamydia, syphilis, trichomoniasis and gonorrhea, account for 350 million new cases of STI each year worldwide. Gonorrhoea is caused by *Neisseria gonorrhoeae* and is the second most common bacterial STI in the world. It has drawn more attention in the last years due to the low efficacy in its treatment. Most women with this infection are asymptomatic, which makes its diagnosis and treatment troublesome increasing the risk for its associated complications. Even when diagnosed, this infection is subject to a high rate of therapeutic failure mainly due to the great genetic plasticity of *N. gonorrhoeae* for the

1. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil. **Autor correspondente:** Thaiz Fernandes. Rua XV de Novembro, 1299, 80060-000, Centro, Curitiba, PR, Brasil. thaizf7@gmail.com. **Data de Submissão:** 29/09/2017. **Data de Aprovação:** 24/11/2017.

acquisition of chromosomal or resistance plasmid genes. Increased resistance of this microorganism to antimicrobials commonly used in treatment such as penicillin, tetracycline and ciprofloxacin has been reported in several countries. In Brazil, few studies are available, but in some states strains resistant to ciprofloxacin were already reported. Therefore, it is important to highlight the importance of new studies aimed at describing the resistance profile of *N. gonorrhoeae* to antimicrobials in Brazil context. These findings will certainly guide the implementation of epidemiological surveillance systems in the country, since until now *N. gonorrhoeae* infections do not figure into the national list of compulsorily notifiable diseases.

Keywords: *Neisseria gonorrhoeae*; Gonorrhea; Resistance; Antimicrobials; STI

Infecções Sexualmente Transmissíveis

As infecções sexualmente transmissíveis (IST) podem ser causadas por diversas espécies de bactérias, vírus e protozoários adquiridas pelo contato sexual. Tais infecções acarretam o aumento de gas-

tos com assistência à saúde, tanto de forma direta para o diagnóstico e tratamento, mas também para o manejo das diversas consequências oriundas dessas infecções como a infertilidade, mau desfecho gestacional, infecções perinatais e morte. O impacto social é inquestionável, visto que os portadores de IST podem se sentirem estereotipados, envergonhados e vulneráveis, o que prejudica a saúde psicológica dos mesmos, além dessas infecções estarem associadas à violência de gênero e doméstica.⁽¹⁻⁴⁾

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente um milhão de IST são adquiridas por dia em todo o mundo. Destas, estima-se que, por ano, 357 milhões sejam novos casos de IST tratáveis, como sífilis, infecção clamidiana, tricomoníase e gonorreia.⁽⁵⁾ As primeiras linhas de tratamento preconizadas para a maioria dessas infecções são efetivas, com exceção da gonorreia, cujo agente etiológico é a *Neisseria gonorrhoeae*. Nas últimas décadas, muitos autores têm apontado para a emergência de linhagens resistentes aos antimicrobianos mais utilizados para seu tratamento; por este fato, a gonorreia vem se tornando um problema de saúde pública em muitos países.⁽⁶⁻⁸⁾

IST: 350 milhões
de novos casos/
ano pelo mundo



Embora as evidências do aumento da resistência da *N. gonorrhoeae* sejam achados relativamente novos, a infecção causada por esse agente é uma das doenças mais antigas da Humanidade. São relatados sinais clínicos e sintomas compatíveis com processos infecciosos associados a essa bactéria desde o Antigo Testamento da Bíblia. Tal infecção acompanhou a história da Humanidade e atualmente ocupa, segundo a OMS (2008),⁽³⁾ a segunda posição dentre as IST bacterianas mais prevalentes no planeta.

Epidemiologia

A prevalência das infecções por *N. gonorrhoeae* é a segunda mais alta dentre as IST bacterianas, sendo o primeiro lugar ocupado pelas infecções por *Chlamydia trachomatis*. Durante 2005 a 2008, o número mundial de casos reportados de infecções gonocócicas aumentou em 21% em adultos entre 15 e 49 anos. Além disso, estimou-se que ocorreram 106,1 milhões de casos novos de infecção por *N. gonorrhoeae* em 2008 no mundo. Tal incidência varia de acordo com as diferentes regiões geográficas, sendo que a região do Pacífico Ocidental, que abriga países como Camboja, Vietnã, Filipinas, República da Coreia, os quais possuem um baixo índice de desenvolvimento econômico, possui a maior incidência com 42 milhões de novos casos em 2008.⁽³⁾

Com relação à prevalência mundial da infecção por *N. gonorrhoeae*, ela é estimada em 0,8%.⁽⁹⁾ A comparação dessa prevalência com aquela encontrada no Brasil é dificultada pelos poucos estudos disponíveis, bem como seus resultados conflitantes, variando entre 0,7% e 18% de infecções por *N. gonorrhoeae* em homens e mulheres em diversos estudos realizados no país.⁽¹⁰⁻¹²⁾ A escassez de informação acerca da epidemiologia das infecções por *N. gonorrhoeae* também se deve ao fato de tais infecções não serem compreendidas na lista nacional de doenças e agravos de notificação com-

pulsória. Dessa forma, as informações disponíveis atualmente são baseadas em estudos envolvendo determinadas parcelas da população, o que certamente não reflete o cenário do território brasileiro.

Patogênese

A *N. gonorrhoeae* infecta tanto homens como mulheres e tem uma afinidade às células da uretra e colunares da endocérnix, respectivamente. Para que a adesão a tais células seja realizada com sucesso, o micro-organismo deve resistir à remoção mecânica pelo fluxo urinário e da secreção cervical. Diversas estruturas presentes na superfície da célula bacteriana conferem essa grande capacidade de adesão da *N. gonorrhoeae*. Dentre elas, devem ser mencionadas as *pili* tipo VI, as proteínas da família Opa e as porinas.⁽¹³⁾

— — — — —
*Estima-se em 8% a
 prevalência mundial
 da doença. No Brasil,
 varia entre 0,7% e 18%.*
 — — — — —

Após essa etapa inicial de adesão às células do hospedeiro, o micro-organismo inicia seu processo de invasão tecidual pelo processo de transcitose mediada pelas proteínas Opa.⁽¹⁴⁾ Dessa forma, a infecção, ora restrita às células epiteliais da superfície, atinge

a lâmina própria e o espaço intraepitelial. Nesse local, será reconhecido pelas células inflamatórias, ativando a liberação do fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa). A liberação desse mediador acarretará o processo de apoptose das células epiteliais levando, portanto, à lesão tecidual local. Além disso, o TNF-alfa deflagra a liberação de citocinas no local, dentre as quais se deve destacar o papel da interleucina-8, que é responsável pela quimiotaxia neutrofílica para o local.

Dessa forma, instala-se um processo infeccioso piogênico no local. O principal mecanismo de resistência à fagocitose se dá pela sinalização da molécula de lipoligossacarídeo (LOS) presente na membrana externa do micro-organismo, dificultando, portanto, seu reconhecimento pelas células do sistema imune.⁽¹³⁾



A sintomatologia da gonorreia é principalmente decorrente da inflamação dos epitélios uretrais e endocervicais. No homem, os sintomas de disúria e secreção purulenta estão presentes em 90% dos casos.⁽¹⁵⁾ Entretanto, as mulheres são majoritariamente assintomáticas, visto que o principal achado é a presença de uma secreção purulenta endocervical, que é frequentemente interpretada como um corrimento vaginal inespecífico. A porcentagem de mulheres assintomática varia entre 50 e 80% dos casos.⁽¹⁶⁾ Como consequência, o não reconhecimento e tratamento adequado dessa condição pode permitir sua evolução na infecção do trato genital para quadros de maior severidade como: doença inflamatória pélvica, gravidez ectópica, aborto, oftalmia neonatal, infertilidade e infecção gonocócica disseminada.^(2,6,8,17)

Microbiologia

Neisseria gonorrhoeae é um diplococo Gram-negativo levemente achatado em uma das extremidades, conferindo um aspecto reniforme típico, que infecta principalmente as células do trato genital inferior e, em casos mais raros, o epitélio do reto, orofaringe e conjuntiva.⁽¹⁸⁾ A observação de esfregaços confeccionados diretamente de materiais

clínicos evidencia a presença de tais diplococos tanto no ambiente extracelular quanto no interior de neutrófilos, sendo que sua presença sempre é considerada patogênica, independentemente do local de isolamento.

São micro-organismos aeróbios podendo crescer em condições anaeróbias se houver baixas concentrações de um aceptor alternativo de elétrons, não formam esporos, não possuem cápsula diferenciando-a da espécie de *N. meningitides* e têm, como principais fatores de virulência, estruturas envolvidas na adesão ao epitélio do hospedeiro.⁽¹⁹⁾

Os *pili* e fímbrias apresentam um papel fundamental na adesão gonocócica ao epitélio do trato genital inferior dos hospedeiros. Além disso, a presença e a movimentação dos *pili* conferem uma capacidade de invasão ao epitélio e vantagens na aquisição de material genético exógeno.

Os *pili* tipo IV são um dos fatores de virulência mais importantes da *N. gonorrhoeae*, constituídos principalmente por subunidades de proteína, a pilina, arquitetada em uma fibra helicoidal polimérica que possui aproximadamente 6 a 8 nm de largura e alguns micrometros de comprimento.⁽¹⁹⁻²¹⁾ Essa estru-

tura extracelular está relacionada com a motilidade, transformação, formação de biofilmes, aderência e sinalização celular.⁽²²⁾

Para a realização dessas ações, é necessário a retração física dos *pili*, a qual é promovida por meio de seis subunidades de ATP-ases associadas à proteína PilT. A hidrólise de ATP pelas subunidades ocasiona alterações conformacionais do hexâmero que libera energia mecânica.^(23,24) Muitas pesquisas mostram que a *N. gonorrhoeae* mutante com ausência de PilT é incapaz de se movimentar, de sofrer a transformação de DNA e formar biofilmes.^(25,26)

Somado a isso, a ausência dos *pili* impede a formação de colônias gonocócicas, pois o principal mecanismo de agregação das mesmas é por meio da comunicação *pili-pili*, o que prejudica as primeiras etapas da formação de biofilmes.⁽²⁷⁾ A influência dos *pili* tipo IV na adesão e sinalização celular foi comprovada pelo estudo de Plant e Jonsson (2006),⁽²⁸⁾ no qual confirmaram que linhagens gonocócicas pilli-positivas possuem uma maior interação, ativação e proliferação dos leucócitos T CD4⁺, estimulando a produção de interleucina-10. Em suma, o *pili* são estruturas extracelulares multifuncionais na qual sua ausência influencia diretamente na perda da infectividade da *N. gonorrhoeae* sobre as células do hospedeiro.^(29,30)

Em relação ao seu metabolismo energético, a respiração celular é realizada com a participação da enzima citocromo oxidase que, juntamente com a capacidade de produção da enzima catalase, é útil para a rápida identificação dessa espécie na rotina dos laboratórios de microbiologia clínica, visto que tais características as diferenciam de outros cocos Gram-negativos.^(31,32) Provas bioquímicas também auxiliam na identificação da *N. gonorrhoeae* por diferenciá-la de outras espécies de *Neisseria* em de-

corrência da capacidade da bactéria em fermentar diversos carboidratos, produzindo ácido com ausência de gás.^(19,32)

Quanto à sua sobrevivência no ambiente, tal espécie é extremamente lábil, pois torna-se suscetível ao ressecamento, temperatura, incidência de luz ultravioleta, desinfetantes, quimioterápicos, dentre outros agentes estressantes.⁽¹⁹⁾ Tal labilidade deve ser levada em conta durante a fase de coleta e transporte de materiais clínicos, visto que, se não observados os devidos cuidados, a análise microbiológica resultará em casos falso-negativos.

A vigilância ineficaz da bactéria *in vitro* e falhas terapêuticas clínicas ocasionam a seleção inadequada de antimicrobianos

Além disso, a *N. gonorrhoeae* é exigente nutricionalmente e, portanto, apresenta melhor crescimento em meios de culturas ricas em substâncias complexas, como sangue ou proteínas de animais.⁽¹⁹⁾ Dessa forma, tal espécie apresenta desvantagens competitivas com outros micro-organismos presentes na microbiota do hospedeiro. Sendo assim, meios de cultura seletivos

são utilizados para sua recuperação a partir de materiais clínicos polimicrobianos. Os principais meios utilizados são Thayer-Martin ou Martin-Lewi, que, suplementados com os antimicrobianos vancomicina, colistina e nistatina, suprimem o crescimento das espécies encontradas na microbiota do indivíduo, favorecendo a recuperação da *N. gonorrhoeae*.⁽³³⁾

Em contrapartida, os produtos tóxicos derivados do meio de cultivo, como ácido graxo ou sais, podem inibir a *N. gonorrhoeae* facilmente, dificultando o processo de identificação da mesma. As culturas gonocócicas devem ser incubadas entre 35°C e 37°C em uma atmosfera constituída de 10% de CO₂ durante 18 a 24 horas; se o tempo de incubação exceder 48 horas, poderá ocorrer o processo de autólise da *N. gonorrhoeae*, pois a mesma não consegue sobreviver em cultura por períodos prolongados.^(19,32)

Resistência a antimicrobianos

Os isolados de *Neisseria gonorrhoeae* foram originalmente descritos com alta susceptibilidade para muitas classes de antimicrobianos, e vários compostos já foram utilizados para tratar a gonorreia de forma eficaz. No entanto, desde que os primeiros agentes antimicrobianos, as sulfonamidas, foram adotados como estratégia de tratamento, a *N. gonorrhoeae* demonstrou uma grande capacidade de desenvolver resistência a tais antimicrobianos, bem como aos posteriormente introduzidos na rotina clínica.⁽³⁴⁾

Isso se deve principalmente à habilidade da *N. gonorrhoeae* em alterar o seu material genético, uma vez que é naturalmente competente para a transformação de todo o seu ciclo de vida. Além disso, pode efetivamente ter seu genoma alterado por mutações e, inclusive, adquirir plasmídeos por conjugação.⁽⁶⁾

A grande plasticidade genética desse micro-organismo contribui para aquisição de genes determinantes da resistência a antimicrobianos. Tais genes podem estar localizados em cromossomos ou plasmídeos. As alterações cromossômicas afetam frequentemente os “sítios-alvos” dos antimicrobianos ou o funcionamento das porinas e bombas de efluxo, enquanto que os plasmídeos podem conter genes que codificam enzimas modificadoras de antimicrobianos, entre outros.⁽³⁵⁾

Assim, verifica-se que a *N. gonorrhoeae* evoluiu, adquirindo ou desenvolvendo quase todos os mecanismos fisiológicos conhecidos de resistência aos antimicrobianos recomendados e/ou utilizados para tratamento, por exemplo, (i) destruição ou modificação antimicrobiana por meios enzimáticos, (ii) modificação ou proteção do alvo com redução da afinidade pelos antimicrobianos, (iii) redução da permeabilidade e (iv) aumento do efluxo de antimicrobianos.⁽³⁴⁾

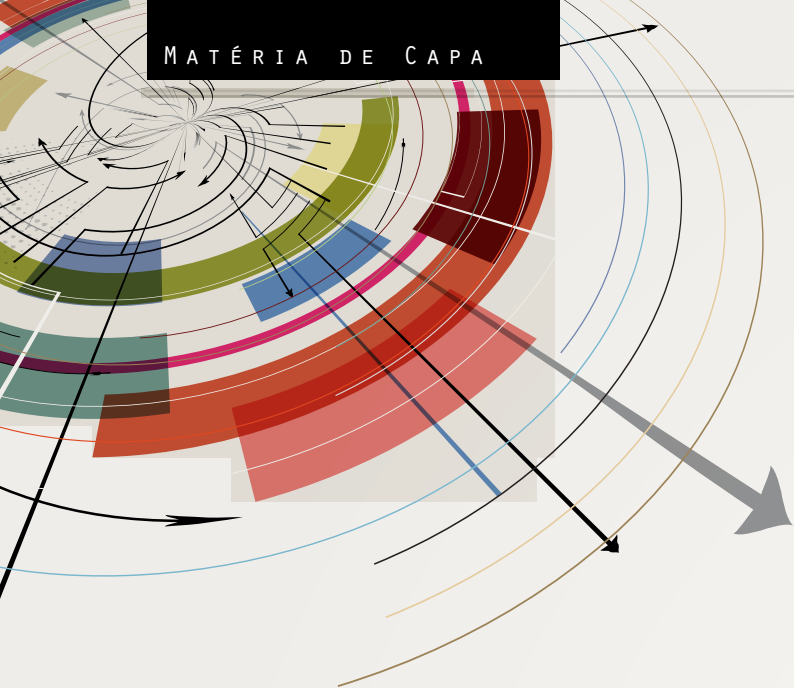
Atualmente, a prevalência internacional de resistência em *N. gonorrhoeae* é ele-

vada para todos os antimicrobianos previamente utilizados para o tratamento, incluindo sulfonamidas, penicilinas, tetraciclina, fluoroquinolonas, bem como cefalosporinas e macrolídeos. Além disso, a prevalência de linhagens gonocócicas multirresistentes (MDR) aumentou substancialmente durante a última década.⁽⁶⁾

Além da capacidade intrínseca de evolução do micro-organismo, podem ter contribuído para a emergência da resistência antimicrobiana na *N. gonorrhoeae* o uso excessivo e indevido de antimicrobianos. As espécies comensais de *Neisseria spp.*, frequentemente, habitam o corpo humano e, consequentemente, são expostas, com maior incidência, aos antimicrobianos do que a *N. gonorrhoeae*. Assim, a resistência pode emergir inicialmente nas espécies comensais de *Neisseria*, que atuam como um reservatório de genes de resistência, podendo ser facilmente transferidas para *N. gonorrhoeae* através de transformação, particularmente na gonorreia faríngea.^(34,36) Além disso, a vigilância ineficaz de *N. gonorrhoeae in vitro* e de falhas terapêuticas clínicas são, provavelmente, uma causa de seleção e de uso inadequado de antimicrobianos.^(6,34)

A persistência também pode ser favorecida pelo fato de determinantes de resistência não afetarem significativamente a aptidão biológica, podendo, em alguns casos, tornarem os clones resistentes mais bem sucedidos na transmissão e virulência que os sensíveis.^(37,38) Por exemplo, estudos em murinos mostraram que a *N. gonorrhoeae* possui aumento da expressão da bomba de efluxo de resistência a múltiplos fármacos MtrC-MtrD-MtrE devido à maior atividade do promotor da transcrição





(MtrA), ou que a deleção do repressor (MtrR) apresentaram aumento de aptidão em comparação com *N. gonorrhoeae* de tipo selvagem.⁽³⁸⁾ De forma semelhante, as mutações em *gyrA91/95*, que codificam uma subunidade GyrA alterada de DNA-girase e causam susceptibilidade diminuída à ciprofloxacina, aumentaram a aptidão em comparação com *N. gonorrhoeae* de tipo selvagem no mesmo modelo murino.⁽³⁷⁾

Estes exemplos sugerem porque os mecanismos são mantidos apesar da descontinuação de antimicrobianos específicos nos regimes de tratamento. Assim, os clones gonocócicos resistentes, altamente bem sucedidos, possuem determinantes adicionais de virulência ou aptidão biológica melhorada, o que lhes permitem evadir ou tornar ineficazes as defesas do hospedeiro mucoso e se espalharem amplamente para predominar nas populações locais, com subsequentes emergências em populações nacionais e mesmo internacionais.^(37,38)

A *N. gonorrhoeae* pode desenvolver mecanismos de resistência aos diferentes antimicrobianos, como, por exemplo, as sulfonamidas, aos beta-lactâmicos, tetraciclina, quinolonas e macrolídeos.

Resistência às sulfonamidas: As sulfonamidas agem nas enzimas dihidropteroato sintase (DHPS) bacterianas, inibindo assim a síntese de ácido fólico na bactéria. A resistência à sulfonamida pode ser mediada pelo aumento na síntese do ácido p-aminobenzoico, que compete com o agente antimicrobiano, ou

por alterações no gene *folP*. As alterações podem ser devidas a mutações pontuais ou a presença de um gene mosaico contendo sequências de DNA de *Neisseria* spp. saprófitas, modificando o alvo do fármaco, ou seja, DHPS, o que resulta numa afinidade significativamente diminuída para com a sulfonamida.⁽³⁹⁾

Resistência aos beta-lactâmicos: Os antimicrobianos beta-lactâmicos, tais como penicilinas e cefalosporinas, inibem a formação de ligações cruzadas de peptidoglicano na parede celular bacteriana através da ligação do anel-lactâmico a enzimas transpeptidases, às proteínas de ligação à penicilina (PBPs). A resistência pode ser mediada por genes localizados em cromossomos ou plasmídeos. O mecanismo mediado por plasmídeos mais frequente são genes *blaTEM-1*, codificando uma beta-lactamase do tipo TEM-1. Esta enzima hidrolisa a ligação amida cíclica de penicilinas susceptíveis a essa beta-lactamase, abrindo o anel beta-lactâmico e tornando a penicilina inativa. Ainda não foram relatadas beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs) em *N. gonorrhoeae*. No entanto, o gene *blaTEM-135*, que difere por um único polimorfismo de nucleótidos (SNP) de *blaTEM-1*, foi encontrado em linhagens circulantes.⁽³⁹⁾

A resistência à penicilina mediada por cromossomo na *N. gonorrhoeae* é devida a mutações que modificam as proteínas alvo (PBPs), em interações complexas com determinantes de resistência que aumentam o efluxo e diminuem a permeabilidade da bactéria à penicilina. As mutações mais frequentes ocorrem no gene *penA*, que codifica PBP2, o principal alvo para os antimicrobianos beta-lactâmicos. Em geral, encontram-se entre 5 e 9 mutações no que, em conjunto, diminuem as taxas de acilação de PBP2 e, conseqüentemente, diminuem a susceptibilidade à penicilina de 6 a 8 vezes.⁽⁴⁰⁾

Estas mutações são adquiridas de *Neisseria* spp. comensais por transformação. A mais comum em PBP2 é a inserção de um aspartato (denominado Asp345a), sendo que as outras mutações são mais frequentemente encontradas na região carboxilo-terminal. A mutação Asp345a está localizada próximo ao sítio-alvo, assim como as mutações na região C-terminal.⁽⁴¹⁾

Durante a última década, muitos mosaicos de genes *penA* também foram descritos. Esses genes mosaicos contêm entre 60 e 70 alterações de aminoácidos em comparação com um gene *penA* de tipo selvagem, e podem resultar em resistência tanto às penicilinas como às cefalosporinas de amplo espectro.⁽⁴²⁾

Embora a alteração de PBP2 seja o principal mecanismo para a resistência à penicilina mediada por cromossomos em *N. gonorrhoeae*, a resistência de alto nível à penicilina também pode ser causada por uma única mutação no gene *ponA* (denominado alelo de *ponA1*) que codifica PBP1, que tem uma taxa de acilação de penicilina aproximadamente 16 vezes inferior à da PBP2 de tipo selvagem. O alelo *ponA1* codifica uma alteração de Leu421Pro em PBP1, o que reduz a taxa de acilação de penicilina de PBP1 entre 3 e 4 vezes.⁽⁴³⁾

Além disso, as CIM de penicilina podem ser aumentadas ainda mais por mutações específicas, resultando num aumento do efluxo por superexpressão do sistema de bomba de efluxo MtrCDE (*mtrR*), que exporta a penicilina para fora da célula, e por mutações que resultam numa diminuição da permeabilidade do poro de canal da membrana externa PorB1b (*penB*).⁽⁴³⁾

Finalmente, permanece pelo menos uma determinante de resistência à penicilina desconhecida e não transformável, o "fator X", que pode aumentar as CIM da penicilina aproximadamente 3-6 vezes.⁽³⁴⁾

As alterações genéticas (*penA*, *porB1b*, *mtrR* e *ponA*) associadas à resistência cromossômica à penicilina em *N. gonorrhoeae* ou à produção de penicilinase não afetam sozinhas a susceptibilidade das linhagens de *N. gonorrhoeae* às cefalosporinas, a ponto de ameaçar a eficácia dos regimes de cefalosporina atualmente recomendados para o tratamento da gonorreia. O principal mecanismo são

os mosaicos dos alelos de *penA*, particularmente aqueles de espécies comensais de *Neisseria* comumente residentes na orofaringe, tais como *Neisseria perflava*, *Neisseria sicca*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria cinerea* e ou *Neisseria flavescens*.⁽⁴¹⁾

Esta transferência horizontal intragenérica *in vivo* de genes *penA* inteiros ou parciais ocorre muito provavelmente durante infecções gonocócicas faríngeas. A aquisição de um alelo de mosaico *penA* parece aumentar as CIM de cefixima mais do que as de ceftriaxona, o que pode ser causado por relações estrutura-função devido à cadeia lateral C-3 mais longa do esqueleto cefem da ceftriaxona. Várias mutações frequentemente observadas nos mosaicos foram estudadas para distinguir os pontos críticos de mutações que alteram a CIM de cefalosporinas de amplo espectro de forma mais eficaz, porém

a maioria dos estudos chega à conclusão de que o conjunto de mutações deve ser responsável pela resistência.⁽⁴⁴⁾

Muitos mosaicos de genes *penA* apresentam alterações de aminoácidos, resultando resistência às penicilinas e às cefalosporinas

Resistência às tetraciclina: As tetraciclina inibem a ligação do tRNA ao complexo mRNA-ribossomo, principalmente por ligação à subunidade ribossomal 30S e, consequentemente, inibem a síntese de proteínas, o que resulta num efeito bacteriostático. A resistência de alto nível à tetraciclina (CIMs de > 16 µg/ml) mediada por plasmídeos na *N. gonorrhoeae* é devida

ao gene *tetM*, inicialmente descrito para o gênero *Streptococcus*. *TetM* confere resistência de alto nível à tetraciclina devido sua semelhança com o fator de alongamento G (EF-G), envolvido na síntese de proteínas, e também sua atividade de GTPase dependente de ribossomos. Sua ligação aos ribossomos causa a liberação da molécula de tetraciclina e a continuação da síntese de proteínas. O plasmídeo contendo o gene *TetM* pode conter genes de beta-lactamase e ser transferido por conjugação para diferentes linhagens gonocócicas, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Escherichia coli*.⁽⁴⁵⁾

A resistência à tetraciclina mediada por cromossomo é devida a mutações que modificam a estrutura da proteína ribossomal (alvo), associadas ao aumento do efluxo e redução da permeabilidade à tetraciclina. Linhagens gonocócicas resistentes à tetraciclina possuem a mutação tet-2, além das mutações mtrR e penB. Tet-2 é um alelo rpsJ mutado que codifica uma forma alterada de proteína ribossômica S10. O alelo mutado de rpsJ contém um SNP que altera Val57 a Met57 em S10 e as substituições de Leu57 e Gln57 conferiam níveis idênticos de resistência.

Val57 em S10 está localizado no vértice de um pequeno ciclo perto da região, que forma o sítio de ligação à tetraciclina no aminoacil-tRNA, e tem sido sugerido que a substituição do Val57 nativo por aminoácidos grandes não carregados altera a estrutura de rRNA, reduzindo assim a afinidade de tetraciclina pelo ribossoma. Além destas modificações alvo, assim como para a penicilina, um aumento do efluxo e a diminuição da entrada de tetraciclina na célula devido aos genes mtrR e penB, respectivamente, resultam numa resistência maior à tetraciclina.^(34,45)

Resistência às quinolonas: A enzima bacteriana DNA girase e topoisomerase IV são topoisomerases altamente conservadas do tipo II, essenciais para o metabolismo do DNA. Eles agem quebrando e ligando a fita de DNA de cadeia dupla em uma reação, que é acoplada com hidrólise de ATP durante a replicação do DNA. As quinolonas atuam por inibição da DNA girase e topoisomerase IV, resultando em atividade bactericida. As bactérias desenvolvem resistência às quinolonas através de mutações que alteram enzimas com redução da afinidade por quinolonas. DNA girase consiste num heterodímero de duas subunidades de GyrA e duas subunidades de GyrB.^(34,46)

Na *N. gonorrhoeae*, as mutações iniciais no gene alvo primário (gyrA) estão associadas com resistência. A topoisomerase IV é um tetrâmero de duas subunidades ParC e duas ParE, codificadas pelos genes parC e parE, respectivamente. A atividade enzimática da topoisomerase IV pode também ser inibida por quinolonas, embora sejam necessárias concentrações mais elevadas do que as necessárias

para inibir a DNA girase *in vitro*. SNPs específicos em gyrA sozinhos fornecem resistência de nível baixo a intermediário, mas a resistência de alto nível requer uma ou várias mutações concomitantes específicas em parC. Estas mutações podem ser facilmente selecionadas por exposição a concentrações subinibitórias de ciprofloxacina e também transferidas para outras *N. gonorrhoeae* por transformação.⁽⁴⁵⁾

Resistência aos macrolídeos: Os macrolídeos inibem a síntese de proteínas, ligando-se à subunidade ribossomal 50S (rRNA 23S), impedindo a translocação do peptidil-tRNA e fazendo com que os ribossomas libertem polipeptídeos incompletos, o que resulta num efeito bacteriostático. A resistência bacteriana aos macrolídeos pode resultar da modificação do alvo ribossômico por mutações específicas no rRNA 23S ou por metilação devido à produção de uma rRNA metilase.⁽⁴⁷⁾ Pode ainda ser devida a um sistema de bomba de efluxo superexpresso.⁽⁴⁸⁾

As rRNA metilases podem causar resistência ao macrolídeo por meio do bloqueio da ligação do macrolídeo ao rRNA 23S por metilação de um resíduo de adenosina na posição 2058 (sistema de numeração de *E. coli*), que está localizado no domínio da peptidil transferase V. Os genes que codificam a rRNA metilase (ermB, ermC e ermF), referida como genes de resistência macrolídeos-lincosamida-estreptogramina B, podem ser transportados por transposons conjugativos.⁽⁴⁹⁾ Na *N. gonorrhoeae*, os genes erm podem conferir resistência elevada à eritromicina (CIMs de 4 a 16 µg/LI) e redução da suscetibilidade ou resistência à azitromicina (CIMs de 1 a 4 µg/mL) na ausência de outros determinantes de resistência, tais como mutações mtrR ou uma bomba de efluxo codificada por mef.⁽⁵⁰⁾

Mutações específicas do alvo macrolídeo, 23S rRNA, podem resultar tanto em resistência de baixo nível (mutação C2611T) como em resistência de alto nível (mutação A2059G) à eritromicina e à azitromicina. As CIMs de macrolídeos nestes isolados dependem de quantos dos quatro alelos do gene rRNA 23S contêm a mutação específica. Por exemplo, as mutações de A2059G em três ou todos os quatro alelos do gene rRNA 23S resultam em resistência ao alto nível de azitromicina (CIMs > 256/µg/ml), enquanto que as linhagens com apenas

um alelo mutante A2059G podem ter uma CIM de azitromicina semelhante àquela para linhagens de tipo selvagem.

As linhagens com uma única mutação A2059G, embora susceptíveis à azitromicina, desenvolvem rapidamente uma resistência de alto nível à azitromicina (CIM > 256 µg/mL) após a passagem em série com concentrações subinibitórias de macrolídeos.⁽⁴⁷⁾ A resistência gonocócica aos macrolídeos devido aos sistemas de efluxo superexpressos, particularmente a bomba de efluxo MtrCDE, mas também MacAB e codificadas por *mef*, podem afetar as CIMs de macrolídeos.^(48,50)

Distribuição geográfica das linhagens resistentes a antimicrobianos

Embora pouco numerosas, algumas pesquisas realizadas em diferentes países já confirmaram a resis-

tência das linhagens de *N. gonorrhoeae* aos agentes antimicrobianos recomendados para prática terapêutica.^(7,8,51) O quadro 1 mostra os dados atuais disponíveis na literatura sobre a resistência aos antimicrobianos da *N. gonorrhoeae*.

No Brasil, a primeira linhagem de *N. gonorrhoeae* resistente à penicilina foi isolada em 1985 em São Paulo.⁽⁶⁴⁾ Com o passar dos anos, a resistência da *N. gonorrhoeae* se estendeu para outros antimicrobianos, como tetraciclina, cloranfenicol, azitromicina, ofloxacina e ciprofloxacina.⁽⁶⁵⁻⁶⁹⁾

Em São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, foram detectadas linhagens de *N. gonorrhoeae* com resistência superior a 5% à ciprofloxacina, ultrapassando o limite internacional aceitável para uso de um antimicrobiano.^(65,70-73) Para esses estados, o Ministério da Saúde (2015)⁽⁷⁴⁾ não recomenda a utilização de ciprofloxacina e sugere a utilização de ceftriaxona como opção terapêutica.

Quadro 1. Panorama atual da resistência da *Neisseria gonorrhoeae* aos antimicrobianos utilizados na prática terapêutica.

País	Período	n. linhagens	Resistência (%)					Referência
			CIPRO	CEFT	AZITRO	PENICILINA	TETRA	
Argentina	1995 – 1996	81	0	0	0	10	58,5	Famiglietti <i>et al.</i> (2001) ⁽⁵²⁾
Cuba	1995 – 1996	50	0	0	NA	52	34	Llanes Caballero <i>et al.</i> (1999) ⁽⁵³⁾
França	2001 – 2012	8649	37	NA	NA	14	56	La Ruche <i>et al.</i> (2014) ⁽⁵⁴⁾
Alemanha	2004 – 2015	434	70,3	0	5,5	25,6	48,4	Regnath <i>et al.</i> (2016) ⁽⁵⁵⁾
Taiwan	2006 – 2013	1090	83,89	2,39	NA	61,01	NA	Cheng <i>et al.</i> (2014) ⁽⁵⁶⁾
China	2007 – 2011	107	100	NA	NA	NA	NA	Zhao e Zhao (2013) ⁽⁵⁷⁾
Venezuela	2008 – 2009	20	25	0	NA	95	90	Flores Fernández <i>et al.</i> (2012) ⁽⁵⁸⁾
Canadá	2009 – 2013	1183	29,3	NA	NA	18,9	33	Martin <i>et al.</i> (2015) ⁽⁵⁹⁾
Líbano	2010 – 2016	47	38,3	NA	40,4	NA	23,4	Hamze <i>et al.</i> (2016) ⁽⁶¹⁾
Espanha	2013	329	49,2	0,6	4,3	28	NA	Serra-Pladevall <i>et al.</i> (2016) ⁽⁶⁰⁾
Austrália	2014	4804	36	0	2,5	29	NA	Lahra (2015) ⁽⁶¹⁾
Estados Unidos	2014	5093	19,2	NA	NA	16,2	25,3	Kirkcaldy <i>et al.</i> (2016) ⁽⁶²⁾
Etiópia	2015	21	28,6	0	NA	100	100	Ali <i>et al.</i> (2016) ⁽⁶³⁾

CIPRO - Ciprofloxacina; CEFT - Ceftriaxona; AZITRO - Azitromicina; PENICILINA; TETRA - Tetraciclina; NA - Não Avaliado



Entretanto, nesse mesmo ano, a Portaria nº 58 do Ministério da Saúde (2015)⁽⁷⁴⁾ incorpora a ceftriaxona (500 mg) injetável como forma de tratamento para gonorreia resistente à ciprofloxacina no âmbito nacional do Sistema Único de Saúde (SUS). Além disso, no estado do Amazonas também já foram identificadas linhagens de *N. gonorrhoeae* isoladas de homens com uretrite resistentes à ciprofloxacina.⁽⁶⁶⁾

Dessa forma, mostra-se a necessidade de mais estudos relacionados a esse tema em outras regiões do Brasil, visto que pesquisas com essa finalidade são escassas no país.^(65,71,75) Somando a isso, o ideal seria a criação de sistemas de vigilância que visam estudar a epidemiologia da resistência da *N. gonorrhoeae* aos antimicrobianos em cada região, pois as características populacionais diferem em torno do território brasileiro, influenciando diretamente nos padrões de resistência da *N. gonorrhoeae*.^(71,73)

Tratamento

Atualmente, é indicada a terapia dupla para o tratamento da gonorreia utilizando dois antimicrobianos com mecanismos de ação distintos com objetivo de melhorar a eficácia do tratamento e retardar o desenvolvimento de resistência.

Para essa finalidade, recomenda-se uma única dose de 250 mg de ceftriaxona pela via intramuscular e 1 g de azitromicina pela via oral, os quais interrompem a infecção, porém não reparam qualquer lesão definitiva causada pela doença.⁽⁷⁶⁾

A utilização da azitromicina no tratamento de gonorreia também se deve ao fato de que pessoas infectadas com a *N. gonorrhoeae* possuem alta probabilidade de estarem infectadas com *C. trachomatis* concomitantemente. Dessa forma, a terapia dupla se torna eficaz tanto para o tratamento de gonorreia como também para o tratamento da coinfeção pela clamídia.^(76,77)

Conforme a *N. gonorrhoeae* adquiriu genes de resistência contra aos antimicrobianos, os protocolos clínicos e as diretrizes terapêuticas referentes à gonorreia sofreram alterações. Em 1999, o Ministério da Saúde brasileiro preconizou a utilização de uma ampla variedade de antimicrobianos para o tratamento da gonorreia, dentre os quais, a ofloxacina dose única (400 mg) pela via oral; dose única de cefixima (400 mg) via oral; dose única de ciprofloxacina (500 mg) por meio da via oral; dose única de ceftriaxona (250 mg) pela via intramuscular; ou uma única dose de tianfenicol (2,5 g) via oral.⁽⁷⁸⁾

No entanto, o Ministério da Saúde⁽⁷⁹⁾ publicou, em 2006, um novo manual que alterou tais opções terapêuticas para terapia dupla, recomendando duas possíveis opções para o tratamento da gonorreia e da clamídia concomitantemente.

A primeira opção consistia no uso de uma única dose de ciprofloxacina (500 mg) via oral ou dose única de ceftriaxona (250 mg) intramuscular juntamente com dose única de azitromicina (1 g) via oral ou doxicilina (100 mg) via oral por 7 dias.

Já a segunda opção de tratamento compreendia o uso de uma única dose de cefixima (400 mg) via oral, dose única de ofloxacina (400 mg) via oral ou dose única de 2 g espectinomicina via intramuscular juntamente com eritromicina (500 mg) via oral, tetraciclina (500 mg) via oral ou ofloxacina (400 mg) via oral.⁽⁷⁹⁾

Quase dez anos depois, o Ministério da Saúde (2015)⁽⁷⁰⁾ modificou a terapia dupla, recomendando que a primeira opção para o tratamento fosse uma dose única de ciprofloxacina (500 mg), via oral, juntamente com uma dose única de 2 comprimidos de azitromicina (500 mg) via oral; ou uma única dose de ceftriaxona (500 mg) via intramuscular mais uma dose única de 2 comprimidos de azitromicina (500 mg) via oral. A segunda opção consistia na utilização de dose única de cefotaxima (1000 mg) intramuscular mais dose única de 2 comprimidos de azitromicina (500 mg) via oral.⁽⁷⁰⁾

Em todos os protocolos publicados pelo Ministério da Saúde (1999, 2006, 2015)^(70,78,79) ressaltavam que a ofloxacina e a ciprofloxacina não eram recomendadas para menores de 18 anos; no último manual publicado, há a sugestão da ceftriaxona como opção terapêutica para essa faixa etária e para gestantes, além de indicar apenas a azitromicina como forma de tratamento para os pacientes alérgicos às cefalosporinas.

A implementação de programas de monitoramento e vigilância é primordial para a obtenção de dados e informações sobre linhagens resistentes e sobre a gonorreia, assim como o controle de *N. gonorrhoeae* resistentes aos antimicrobianos e para a atualização dos protocolos de tratamento dessa infecção.^(7,8,51,56,80)

A importância do desenvolvimento de sistemas de vigilância para gonorreia foi comprovada nos Estados Unidos, onde houve uma diminuição de 80% nos casos de gonorreia entre as décadas de 70 e 90 após a criação de programas de controle para essa enfermidade.⁽⁸¹⁾ Com isso, a criação de programas nacionais que visam o controle da gonorreia contribuiria para a diminuição da prevalência da mesma no território brasileiro.

Conclusão

A existência de linhagens de *N. gonorrhoeae* resistente aos antimicrobianos utilizados no regime terapêutico foi comprovada em diferentes países nos últimos anos, sendo que a resistência à penicilina, tetraciclina e ciprofloxacina foram as mais prevalentes.

Essa tendência se estendeu para o Brasil, apesar dos poucos estudos, e a resistência à ciprofloxacina foi confirmada em determinados estados brasileiros.

Tendo em vista a extensa área territorial do país assim como os diferentes hábitos comportamentais e culturais, esses estudos não refletem o Brasil como um todo. Além disso, pelo fato da gonorreia não pertencer à lista nacional de doenças e agravos de notificação compulsória, há uma carência de informações sobre essa doença em relação à população brasileira.

Em decorrência da elevada capacidade de *N. gonorrhoeae* em adquirir resistência aos antimicrobianos pela maioria dos mecanismos existentes, faz com que se torne uma preocupação para as autoridades de saúde pública.

Referências

- Amin A, Garcia Moreno C. Addressing gender-based violence to reduce risk of STI and HIV. *Sex Transm Infect.* 2013;89(Suppl 1):A8. doi: 10.1136/sextrans-2013-051184.0022
- Gewirtzman A, Bobrick L, Conner K, Tying SK. Epidemiology of sexually transmitted infections. In Gross G, Tying SK, editors. *Sexually transmitted infections and sexually transmitted diseases*. Cham: Springer; 2011. p. 13-34.
- World Health Organization [Internet]. Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections; Geneva: WHO; 2008 [cited 2016 Sep 26]. Available from: <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/rts/stisestimates/en/>
- World Health Organization [Internet]. Global strategy for the prevention and control of sexually transmitted infections: 2006-2015: breaking the chain of transmission; Geneva: WHO; 2007 [cited 2017 May 04]. Available from: http://www.who.int/hiv/pub/toolkits/stis_strategy%5B1%5Den.pdf
- World Health Organization [Internet]. Sexually Transmitted Infections (STIs). 2016 [cited 2016 Sep 26]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/en/>
- Unemo M, Nicholas RA. Emergence of multidrug-resistant, extensively drug-resistant and untreatable gonorrhea. *Future Microbiol.* 2012;7(12):1401-22. doi: 10.2217/fmb.12.117
- Golparian D, Brileine TY, Laaring L, Viktorova E, Johansson E, Domeika M, et al. First antimicrobial resistance data and genetic characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Estonia, 2009–2013. *New Microbes New Infect.* 2014;2(5):150-3. doi: 10.1002/nmi2.57
- Cobo F, Cabezas-Fernández MT, Cabeza-Barrera MI. Antimicrobial susceptibility and typing of *Neisseria gonorrhoeae* strains from Southern Spain, 2012–2014. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2016;34(1):3-7. doi: 10.1016/j.eimc.2015.01.017
- Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, et al. Global estimates of the prevalence and incidence of four curable sexually transmitted infections in 2012 based on systematic review and global reporting. *PloS One.* 2015;10(12):e0143304. doi: 10.1371/journal.pone.0143304
- Lima YAR, Turchi MD, Fonseca ZC, Garcia FLB, Cardoso FAB, Reis MNG, et al. Sexually transmitted bacterial infections among young women in Central Western Brazil. *Int J Infect Dis.* 2014;25:16-21. doi: 10.1016/j.ijid.2014.03.1389
- Jalil EM, Pinto VM, Benzaken AS, Ribeiro D, Oliveira EC, Garcia EG, et al. Prevalência da infecção por clamídia e gonococo em gestantes de seis cidades brasileiras. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2008;30(12):614-9. doi: 10.1590/S0100-7202008001200005
- Barbosa MJ, Moherdaui F, Pinto VM, Ribeiro D, Cleuton M, Miranda AM. Prevalence of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection in men attending STD clinics in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(5):500-3. doi: 10.1590/S0037-86822010000500005
- Gross G, Tying SK. *Sexually transmitted infections and sexually transmitted disease*. New York: Springer; 2011.
- Naumann M, Rudel T, Meyer TF. Host cell interactions and signalling with *Neisseria gonorrhoeae*. *Curr Opin Microbiol.* 1999;2(1):62-70. doi: 10.1016/S1369-5274(99)80011-3
- Ison C, Martin D. Gonorrhea. In: Morse SA, Ballard RC, Holmes KK, editors. *Atlas of sexually transmitted diseases and AIDS*. Edinburgh: Mosby; 2003. p. 109-25.
- World Health Organization [Internet]. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections overview and estimates. Geneva: WHO; 2001 [cited 2016 Oct 08]. Available from: http://www.who.int/hiv/pub/sti/who_hiv_aids_2001.02.pdf
- Yusuf MA, Chowdhury M, Islam KS, Eva EO, Sharif A, Rahman M, et al. Common microbial etiology of abnormal vaginal discharge among sexually active women in Dhaka, Bangladesh. *South East Asia J Public Health.* 2011;1(1):35-9. doi: 10.3329/seajph.v1i1.13211
- Penna GO, Hajjar LA, Braz TM. Gonorrhea. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2000;33(5):451-464. doi: 10.1590/S0037-8682200000500007
- Oliveira AMF, Santos JEF, Oliveira LL, Souza LBS, Santana WJ, Coutinho HDM. Fatores de virulência de *Neisseria* spp. *Arq Ciênc Saúde Unipar.* 2004;8(1):39-44.
- Craig L, Volkman N, Arvai AS, Pique ME, Yeager M, Egelman EH, et al. Type IV pilus structure by cryo-electron microscopy and crystallography: implications for pilus assembly and functions. *Mol Cell.* 2006;23(5):651-62. doi: 10.1016/j.molcel.2006.07.004
- Anderson MT, Dewenter L, Maier B, Seifert HS. Seminal plasma initiates a *Neisseria gonorrhoeae* transmission state. *mBio.* 2014;5(2):e01004-13. doi: 10.1128/mBio.01004-13
- Stohl EA, Dale EM, Criss AK, Seifert HS. *Neisseria gonorrhoeae* metalloprotease NGO1686 is required for full piliation, and piliation is required for resistance to H2O2- and neutrophil-mediated killing. *mBio.* 2013;4(4):e00399-13. doi: 10.1128/mBio.00399-13
- Olivares AO, Baker TA, Sauer RT. Mechanistic insights into bacterial AAA+ proteases and protein-remodelling machines. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(1):33-44. doi: 10.1038/nrmicro.2015.4
- Hockenberry AM, Hutchens DM, Agellon A, So M. Attenuation of the type IV pilus retraction motor influences *Neisseria gonorrhoeae* social and infection behavior. *mBio.* 2016;7(6):e01994-16. doi: 10.1128/mBio.01994-16
- Wolfgang M, Lauer P, Park HS, Brossay L, Hébert J, Koomey M. PilT mutations lead to simultaneous defects in competence for natural transformation and twitching motility in piliated *Neisseria gonorrhoeae*. *Mol Microbiol.* 1998;29(1):321-30. doi: 10.1046/j.1365-2958.1998.00935.x
- Oldewurtel ER, Kouzel N, Dewenter L, Henseler K, Maier B. Differential interaction forces govern bacterial sorting in early biofilms. *eLife.* 2015;4:e10811. doi: 10.7554/eLife.10811
- Taktikos J, Lin YT, Stark H, Biais N, Zaboradev V. Pili-induced clustering of *N. gonorrhoeae* bacteria. *PloS One.* 2015;10(9):e0137661. doi: 10.1371/journal.pone.0137661
- Plant LJ, Jonsson AN. Type IV pili of *Neisseria gonorrhoeae* influence the activation of human CD4+ T cells. *Infect Immun.* 2006;74(1):442-8. doi: 10.1128/IAI.74.1.442-448.2006
- Swanson J, Krauss J, Gotschliche EC. Studies on gonococcus infection. I. Pili and zones of adhesion: their relation to gonococcal growth patterns. *J Exp Med.* 1971;134(4):886-906.
- Kellogg DS Jr, Peacock WL Jr, Deacon WE, Brown L, Pirkle DI. *Neisseria gonorrhoeae*. I. Virulence genetically linked to clonal variation. *J Bacteriol.* 1963;85(6):1274-9.
- Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária [Internet]. Detecção e identificação de bactérias de importância médica. Brasília, DF: ANVISA; 2004 [cited 2016 Dec 18]. Available from: www.anvisa.gov.br/servicos/auda/microbiologia/mod_5_2004.pdf
- Ng LK, Martin IE. The laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae*. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2005;16(1):15-25.
- Centers for Disease Control and Prevention [Internet]. Tests to detect *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae*. Atlanta: CDC; 2014 [cited 2017 Feb 02]. Available from: <https://www.cdc.gov/std/laboratory/2014labrec/recommendations.htm>
- Unemo M, Shafer WM. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st century: past, evolution, and future. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(3):587-613. doi: 10.1128/CMR.00010-14
- Blomquist PB, Miar V, Biddulph JP, Charalambous BM. Is gonorrhea becoming untreatable? *Future Microbiol.* 2014;9(2):189-201. doi: 10.2217/fmb.13.155
- Zapun A, Morlot C, Taha MK. Resistance to beta-lactams in *Neisseria* spp due to chromosomally encoded penicillin-binding proteins. *Antibiotics (Basel).* 2016;5(4):E35. doi: 10.3390/antibiotics5040035
- Warner DM, Folster JP, Shafer WM, Jerse AE. Regulation of the MtrC-MtrD-MtrE efflux-pump system modulates the in vivo fitness of *Neisseria gonorrhoeae*. *J Infect Dis.* 2007;196(12):1804-12. doi: 10.1086/522964
- Warner DM, Shafer WM, Jerse AE. Clinically relevant mutations that cause derepression of the *Neisseria gonorrhoeae* MtrC-MtrD-MtrE efflux pump system confer different levels of antimicrobial resistance and in vivo fitness. *Mol Microbiol.* 2008;70(2):462-78. doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06424.x
- Elwell LP, Roberts M, Mayer LW, Falkow S. Plasmid-mediated beta-lactamase production in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1977;11(3):528-33. doi: 10.1128/AAC.11.3.528
- Powell AJ, Tomberg J, Deacon AM, Nicholas RA, Davies C. Crystal structures of penicillin-binding protein 2 from penicillin-susceptible and -resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae* reveal an unexpectedly subtle mechanism for antibiotic resistance. *J Biol Chem.* 2009;284(2):1202-12. doi: 10.1074/jbc.M805761200
- Spratt BG. Hybrid penicillin-binding proteins in penicillin resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *Nature.* 1988;332(6160):173-6. doi: 10.1038/332173a0
- Bowler LD, Zhang QY, Riou JY, Spratt BG. Interspecies recombination between the penA genes of *Neisseria meningitidis* and commensal *Neisseria* species during the emergence of penicillin resistance in *Neisseria meningitidis*: natural events and laboratory stimulation. *J Bacteriol.* 1994;176(2):333-7.
- Ropp PA, Hu M, Olesky M, Nicholas RA. Mutations in *penA*, the gene encoding penicillin-binding protein 1, and a novel locus, *penC*, are required for high-level chromosomally mediated penicillin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(3):769-77. doi: 10.1128/AAC.46.3.769-777.2002

44. Zhao S, Duncan M, Tomberg J, Davies C, Unemo M, Nicholas RA. Genetics of chromosomally mediated intermediate resistance to ceftriaxone and cefixime in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(9):3744-51. doi: 10.1128/AAC.00304-09
45. Lindbäck E, Rahman M, Jalal S, Wretling B. Mutations in *gyrA*, *gyrB*, *parC*, and *parE* in quinolone-resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *APMIS*. 2002;110(9):651-7. doi: 10.1034/j.1600-0463.2002.1100909.x
46. Trees DL, Sandul AL, Peto-Mesola V, Aplasca MR, Leng HB, Whittington WL, et al. Alterations within the quinolone resistance-determining regions of *GyrA* and *ParC* of *Neisseria gonorrhoeae* isolated in the Far East and the United States. *Int J Antimicrob Agents*. 1999;12(4):325-32. doi: 10.1016/S0924-8579(99)00081-3
47. Roberts MC, Chung WO, Roe D, Xia M, Marquez C, Borthagaray G, et al. Erythromycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* and oral commensal *Neisseria* spp. carry known rRNA methylase genes. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43(6):1367-72.
48. Rouquette-Loughlin CE, Balthazar JT, Shafer WM. Characterization of the MacA-MacB efflux system in *Neisseria gonorrhoeae*. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56(5):856-60. doi: 10.1093/jac/dki333
49. Unemo M, Golparian D, Hellmark B. First three *Neisseria gonorrhoeae* isolates with high-level resistance to azithromycin in Sweden: a threat to currently available dual-antimicrobial regimens for treatment of gonorrhea? *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(1):624-5. doi: 10.1128/AAC.02093-13
50. Luna VA, Cousin S Jr, Whittington WL, Roberts MC. Identification of the conjugative *mef* gene in clinical *Acinetobacter junii* and *Neisseria gonorrhoeae* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(9):2503-6. doi: 10.1128/AAC.44.9.2503-2506.2000
51. Hamze M, Osman M, Achkar M, Mallat H, Dabbousi F. Alarming increase in prevalence of *Neisseria gonorrhoeae* infections associated with a high level of antibiotic resistance in Tripoli, Lebanon. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48(5):576-7. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.08.003
52. Famiglietti A, Garcia SD, Mier CA, Casco R, Belli L, Marcenac F, et al. Evolution of *Neisseria gonorrhoeae* drug susceptibility in Buenos Aires, Argentina, 1985-99. *Sex Transm Infect*. 2001;77(2):142. doi: 10.1136/sti.77.2.142
53. Llanes Caballero R, Acosta Giraldo JC, Sosa Puente J, Guzmán Hernández D, Gutiérrez González O, Llop Hernández A. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* por difusión con discos. *Rev Cubana Med Trop*. 1999;51(2):116-9.
54. La Ruche G, Goubard A, Berçot B, Cambau E, Semaille C, Sednaoui P. Gonococcal infections and emergence of gonococcal decreased susceptibility to cephalosporins in France, 2001 to 2012. *Euro Surveill*. 2014;19(34):e20885. doi: 10.2807/1560-7917.ES2014.19.34.20885
55. Regnath T, Mertes T, Ignatius R. Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in south-west Germany, 2004 to 2015: increasing minimal inhibitory concentrations of tetracycline but no resistance to third-generation cephalosporins. *Euro Surveill*. 2016;21(36):1-7. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.36.30335
56. Cheng CW, Li LH, Su CY, Li SY, Yen MY. Changes in the six most common sequence types of *Neisseria gonorrhoeae*, including ST4378, identified by surveillance of antimicrobial resistance in northern Taiwan from 2006 to 2013. *J Microbiol Immunol Infect*. 2014;49(5):708-16. doi: 10.1016/j.jmii.2014.08.016
57. Zhao LH, Zhao SP. Molecular basis of high-level ciprofloxacin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* strains from Shandong Province, China. *Braz J Microbiol*. 2013;44(1):273-6. doi: 10.1590/S1517-83822013005000020
58. Flores Fernández EM, Márquez Planché YC, Albarado Ysatis LS. Susceptibilidad antimicrobiana y producción de betalactamasa en aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae*, Cumaná, estado Sucre, Venezuela, 2008 - 2009. *Rev Soc Venez Microbiol*. 2012;32(1):18-21.
59. Martin I, Sawatzky P, Liu G, Mulvey MR. Antimicrobial resistance to *Neisseria gonorrhoeae* in Canada: 2009-2013. *CCDR*. 2015;41(2):35-41.
60. Serra-Pladevall J, Barberá MJ, Rodríguez S, Bartolomé-Comas R, Roig G, Juvé R, et al. *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial susceptibility in Barcelona: *penA*, *ponA*, *mtrR*, and *porB* mutations and NG-MAST sequence types associated with decreased susceptibility to cephalosporins. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016;35(9):1549-56. doi: 10.1007/s10096-016-2696-7
61. Lahra MM. Australian Gonococcal Surveillance Programme annual report, 2014. *Commun Dis Intell Q Rep*. 2015;39(3):E347-54.
62. Kirkcaldy RD, Harvey A, Papp JR, Del Rio C, Soge OO, Holmes KK, et al. *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial susceptibility surveillance - the gonococcal isolate surveillance project, 27 sites, United States, 2014. *MMWR Surveill Summ*. 2016;65(7):1-19. doi: 10.15585/mmwr.ss6507a1
63. Ali S, Sewunet T, Sahlemariam Z, Kibru G. *Neisseria gonorrhoeae* among suspects of sexually transmitted infection in Gambella hospital, Ethiopia: risk factors and drug resistance. *BMC Res Notes*. 2016;9(1):439. doi: 10.1186/s13104-016-2247-4
64. Lombardi C, Siqueira LFG, Santos Júnior MFQ, Francisco W, Belda W. *Neisseria gonorrhoeae* produtora de penicilinase. Primeira cepa isolada em São Paulo, SP (Brasil). *Rev Saúde Pública*. 1985;19(4):374-6. doi: 10.1590/S0034-89101985000400009
65. Costa LMB, Pedrosa ERP, Vieira Neto V, Souza VCP, Teixeira MJB. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from patients attending a public referral center for sexually transmitted diseases in Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2013;46(3):304-9. doi: 10.1590/0037-8682-0009-2013
66. Ferreira WA, Ferreira CM, Naveca FG, Almeida NCOS, Vasconcelos WS, Gomes JS, et al. Genotyping of two *Neisseria gonorrhoeae* fluoroquinolone-resistant strains in the Brazilian Amazon region. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2011;106(5):629-31. doi: 10.1590/S0074-02762011000500018
67. Belda Junior W, Fagundes LJ, Siqueira LFG. *Neisseria gonorrhoeae*: resistência cromossômica à tetraciclina em São Paulo, Brasil. *An Bras Dermatol*. 2005;80(1):37-40. doi: 10.1590/S0365-05962005000100005
68. Belda Junior W, Siqueira LFG, Nico MMS, Fagundes LJ. Atividade in vitro de cinco drogas antimicrobianas contra *Neisseria gonorrhoeae*. *An Bras Dermatol*. 2002;77(6):661-7. doi: 10.1590/S0365-05962002000600003
69. Belda Junior W, Velho PENF, Fagundes LJ, Amone M. Evaluation of the in vitro activity of six antimicrobial agents against *Neisseria gonorrhoeae*. *Rev Inst Med Trop*. 2007;49(1):55-8. doi: 10.1590/S0036-46652007000100010
70. Ministério da Saúde [Internet]. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas infecções sexualmente transmissíveis: relatório de recomendação. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2015 [cited 2016 Sep 28]. Available from: http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2015/Relatorio_PCOT IST_CP.pdf
71. Uehara AA, Amorim ELT, Ferreira MF, Andrade CF, Clementino MBM, Filippis I, et al. Molecular characterization of quinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Brazil. *J Clin Microbiol*. 2011;49(12):4208-12. doi: 10.1128/JCM.01175-11
72. Belda Junior W, Velho PENF, Amone M, Fagundes LJ. Emergence of fluoroquinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in São Paulo, Brazil. *Braz J Microbiol*. 2007;38(2):293-5. doi: 10.1590/S1517-83822007000200020
73. Organização Mundial da Saúde [Internet]. Orientações para o tratamento de doenças sexualmente transmissíveis. Genebra: OMS; 2005 [cited 2016 Sep 28]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42782/2/9248546269_por.pdf
74. Ministério da Saúde [Internet]. Portaria n. 58 de 1º de outubro de 2015. Torna pública a decisão de incorporar a ceftriaxona 500mg injetável para o tratamento de gonorreia resistente à ciprofloxacina, conforme normas técnicas definidas pelo Ministério da Saúde, no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF (2015 out 05);Sec.:1.693 [cited 2016 Sep 28]. Available from: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/651529004a59d2c596d6d6504e7bf539/Portaria+58+de+01+out+2015+Diretrizes+Ca+Mama+no+SUS.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=651529004a59d2c596d6d6504e7bf539>
75. Barreto NA, Sant'Anna RRP, Silva LBG, Uehara AA, Guimarães RC, Duarte IM, et al. Caracterização fenotípica e molecular de *Neisseria gonorrhoeae* isoladas no Rio de Janeiro, 2002-2003. *DST J Bras Doenças Sex Transm*. 2004;16(3):32-42.
76. Centers for Disease Control and Prevention [Internet]. Gonorrhea, Atlanta: CDC; 2015 [cited 2017 Jan 27]. Available from: <https://www.cdc.gov/std/gonorrhea/default.htm>
77. Lyss SB, Kamb ML, Peterman TA, Moran JS, Newman DR, Bolan G, et al. *Chlamydia trachomatis* among patients infected with and treated for *Neisseria gonorrhoeae* in sexually transmitted disease clinics in the United States. *Ann Intern Med*. 2003;139(3):178-85. doi: 10.7326/0003-4819-139-3-200308050-00007
78. Ministério da Saúde [Internet]. Manual de controle das doenças sexualmente transmissíveis DST. 3a ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 1999 [cited 2016 Sep 27]. Available from: http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/cd08_13.pdf
79. Ministério da Saúde [Internet]. Manual de bolso o controle das doenças sexualmente transmissíveis DST. 2a ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2006 [cited 2016 Sep 27]. Available from: http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/controle_doencas_sexualmente_transmissiveis.pdf
80. Ferreira WA, Ferreira CM, Schettini APM, Sardinha JCG, Benzaken AS, Garcia MA, et al. *Neisseria gonorrhoeae* produtoras de betalactamase resistentes a azitromicina em Manaus, Amazonas, Brasil. *DST J Bras Doenças Sex Transm*. 2004;16(2):28-32.
81. Barbee LA, Dombrowski JC. Control of *Neisseria gonorrhoeae* in the era of evolving antimicrobial resistance. *Infect Dis Clin North Am*. 2013;27(4):723-37. doi: 10.1016/j.idc.2013.08.001