

**ANÁLISE DE ANTÍGENOS DE SUPERFÍCIE
E CLASSIFICAÇÃO SOROLÓGICA DE *Neisseria gonorrhoeae***

Elza de Fátima Albino Smânia

Artur Smânia Junior

Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Microbiologia e Parasitologia
Campus Universitário
(88.040-900) - Florianópolis - SC

RESUMO

A *Neisseria gonorrhoeae* apresenta na superfície vários antígenos relacionados com a sua virulência. O pili é uma estrutura de constituição proteica e sua presença dificulta a fagocitose. As proteínas PI, PII e PIII são os antígenos mais importantes da membrana externa e a PII interage com receptores presentes nas mucosas. O lipooligossacarídeo é constituído por lipídeo A e core oligossacarídico e medeia o principal dano tóxico na célula hospedeira. Além da importância das estruturas de superfície na virulência do gonococo, a proteína I ainda está relacionada com a classificação sorológica desses

microrganismos. Baseado na composição dessa proteína, os gonococos são distribuídos nos sorogrupos WI, WII e WIII e nos sorotipos de 1 a 9. Os sorotipos de 1 a 3, de 4 a 8 e o 9 pertencem aos sorogrupos WI, WII e WIII, respectivamente.

UNITERMOS: *Neisseria gonorrhoeae*, antígeno de superfície, grupagem sorológica e tipagem sorológica.

ABSTRACT

Surface structures of *Neisseria gonorrhoeae* which are related to virulence are the pilin, the outer membrane proteins (PI, PII, PIII) and the lipooligosaccharide (LOS). These structures have different roles in the pathogenic process. Pilin presents antiphagocytic activity. PII interacts with the surface mucous and LOS mediates the major toxic damage to the host cell. Serological classification of *N. gonorrhoeae* is based on PI protein and allows classification of gonococci in groups WI, WII, WIII and types 1 a 9. Serotypes 1-3, 4-8, and 9 belong to WI, WII and WIII groups, respectively.

Key Words: *Neisseria gonorrhoeae*, surface antigen, serogrouping and serotyping.

Introdução

A *Neisseria gonorrhoeae* é o agente etiológico da gonorréia, uma infecção bastante comum, transmitida quase que exclusivamente por contato sexual ou perinatal. Após a penetração no hospedeiro, o microrganismo se instala nas membranas das mucosas constituídas por epitélio colunar. Essa bactéria é a causa mais freqüente das uretrites, entretanto, também pode determinar infecção no reto, faringe, articulações e conjuntiva. Em mulheres com infecção gonocócica, a ascensão desse organismo conduz a complicações como salpingite, a qual está comumente associada a esterilidade feminina (Handsfield, 1990).

A gonorréia continua sendo uma das principais doenças sexualmente transmissíveis no mundo e constitui um grave problema de saúde pública que preocupa as autoridades sanitárias. Em decorrência da importância desta infecção, muitas investigações tem sido realizadas com a finalidade de estudar os fatores de virulência e desenvolver um esquema de classificação para este microrganismo. Entre os antígenos estudados, a pilina, as proteínas da membrana externa e o lipooligossacarídeo, parecem ser os principais e estão associados, respectivamente com função antifagocitária, aderência no hospedeiro e endotoxidade celular. Além desses antígenos estarem implicados na patogênese da gonorréia, também estão relacionados com a classificação sorológica dos gonococos. Sendo assim, este artigo tem o objetivo de estudar os antígenos superficiais desta bactéria através de revisão dos dados disponíveis na literatura, tendo em vista que este é um tema atual e de grande importância para a elucidação da patogênese da gonorréia.

Estruturas de superfície

O envelope da *N. gonorrhoeae* apresenta uma estrutura básica similar ao de outras bactérias gram negativas e entre os seus constituintes, o pili, as proteínas da membrana externa e o lipooligossacarídeo, são os principais.

Pili

O pili é uma estrutura oca que se exterioriza na superfície do gonococo e é constituído por uma proteína principal, a pilina. São muitos os genes que podem codificar esta proteína, no entanto, apenas um é empregado na sua expressão. Em virtude disso, o gonococo pode variar a especificidade de seu pili na frequência de 10^{-4} a 10^{-3} por geração. Esta variação ocorre principalmente na sequência de aminoácidos da carboxila terminal, enquanto que geralmente os 50 resíduos do amino terminal permanecem inalterados (Jawetz *et al.*, 1989; Gotschlich, 1990).

Taha e colaboradores (1988) demonstraram que o locus pil E do cromossomo do gonococo controla a expressão do pili e que uma alteração na sequência deste locus, afeta o estado de pilição. Bergstrom e colaboradores (1986) e Haas e colaboradores (1987), observaram que deleção no gene estrutural pil E para pilina pode originar células não piliadas (P-). Além disso, constataram que algumas variantes P- são decorrentes de mutações "nonsense" e "missense" no gene e embora apresentassem o sítio de expressão intacto e o mRNA, não expressaram a proteína pilina.

Em um outro estudo, foi observado que as variações que podem ocorrer no pili estão associadas a diferenças na morfologia colonial do gonococo (Mayer, 1987). Assim, foram descritos quatro fenotipos básicos de colônias, T₁, T₂, T₃ e T₄. As colônias T₁ e T₂ são pequenas e piliadas e a T₂ difere da T₁ na granulação interna que é mais forte e nos bordos que são mais delimitados. As colônias T₃ e T₄ são grandes e não piliadas e a T₃ apresenta um círculo interno grande e granular, enquanto que a T₄ possui uma área de granulação pequena e irregular (Kellogg *et al.*, 1968).

O pili apresenta função antifagocitária que é perdida após o tratamento com tripsina, resultando na fagocitose do gonococo e, conseqüentemente, na sua destruição (Volk *et al.*, 1991).

A correlação entre a virulência dos gonococos e a presença do pili e da PII foi estudada em modelo animal. Foi verificado que as amostras P+O- tanto para cobaia quanto para ovo embrionado, foram mais virulentas do que as amostras P+O+ (Salit e Gotschlich, 1978; Veale *et al.*, 1975).

Heckels (1984), considera o pili uma estrutura importante na interação entre a bactéria e a superfície da mucosa. No entanto, Stromberg e colaboradores (1988), acreditam que a ligação do gonococo esteja relacionada com uma proteína distinta da pilina e da Proteína II.

Proteínas da membrana externa

As proteínas PI, PII e PIII são consideradas os antígenos mais importantes da membrana externa da *N.gonorrhoeae*. A Proteína I (PI) funciona como uma porina formando um canal por onde passam moléculas hidrofílicas através da membrana externa hidrofóbica (Handsfield, 1990). Esta proteína apresenta variabilidade antigênica moderada, permitindo a classificação em 2 principais formas PI A e PI B, que são estruturalmente semelhantes mas com áreas antigênicas e funcionais diferentes, podendo ainda serem subtipadas. São conhecidos 18 subtipos de PI A e 28 subtipos de PI B (Jawetz *et al.*, 1989).

Barrera e Swanson (1984) sugerem diferenças entre PI A e PI B quanto a exposição na superfície da membrana externa do gonococo. A PI A apresenta um dos terminais da molécula exposta na superfície do gonococo, enquanto que os terminais da PI B provavelmente estão inseridos na membrana externa.

Swanson (1979) subdividiu a PI em 3 tipos distintos baseado no peso molecular, PI de 34.000 (34 K), PI de 33.000 (33 K) e PI de 32.000 (32 K). Blake e colaboradores (1981) observaram comportamentos diferentes dessas proteínas à ação de enzimas proteolíticas. A PI de 34 K foi mais susceptível a proteólise do que a PI 33 K, enquanto que a PI 32 K foi resistente.

Segundo Wetzler e colaboradores (1988), a PI é uma promissora candidata à vacina gonocócica. Esse constituinte é a principal proteína da membrana externa dos gonococos e está exposto na superfície bacteriana (Blake *et al.*, 1981), tem sua estrutura bem definida (Gotschlich, 1987; Carbonetti e Sparling, 1987), exibe moderada variabilidade antigênica (Sandstrom *et al.*, 1982) e anticorpos contra a PI apresentam atividade bactericida e opsonica contra gonococos (Sarafian *et al.*, 1983; Virji *et al.*, 1986).

A Proteína II (PII) apresenta um segmento invariável próximo ao amino terminal e duas regiões curtas hipervariáveis designadas HV₁ e HV₂ (Connell *et al.*, 1988; Stern *et al.*, 1986). Essa porção da superfície gonocócica permite a um único organismo expressar tipos antigênicos diferentes de PII simultaneamente (Robinson *et al.*, 1988).

As PIIs são codificadas por uma família de genes estruturais diferentes cuja sequência no DNA de amostras de gonococos distintos são bastante similares (Stern *et al.*, 1986; Connell *et al.*, 1988; Van der Ley, 1988). Foi encontrado por Connell e colaboradores (1990) 11 locus no gene para PII e 5 expressões diferentes para HV₁ e 6 diferentes para HV₂. Embora cada uma das versões de HV₁ apresentasse uma sequência específica no DNA, houve similaridade entre as cinco HV₁, assim como para as seis HV₂, porém, quando HV₁ e HV₂ foram comparadas entre si, não houve homologia nos genes da PII.

Black e colaboradores (1984) identificaram por eletroforese 6 tipos de PII designados PIIa-b-c-d-e-f. A PIIa é encontrada em gonococos aderentes aos polimorfonucleares e a PIIb em amostras não aderentes (Rest e Shafer, 1989). Estudos demonstraram que a adesão dos gonococos às células hospedeiras parece contar com a presença de PII, pois anticorpos monoclonais anti PII inibem o ataque destas bactérias à célula HeLa (Sugasawara *et al.*, 1983).

Estudos preliminares relacionaram a presença da PII da membrana externa com a opacidade das colônias de gonococos (Swanson, 1978) e descreveram que esta proteína (O+) estava presente em colônias opacas, enquanto que colônias transparentes não a apresentavam (O-) (James e Swanson, 1978). Porém estudos posteriores (Swanson, 1982) demonstraram que a PII também pode estar presente em colônias transparentes.

As proteínas III são estáveis ao calor (MacDave e Johnston, 1980) e não apresentam modificações na motilidade em gel SDS-Page após tratamento com 2 mercapto etanol. Além disso, não são afetados quando tratados com enzimas proteolíticas (Blake *et al.*, 1981).

Ao contrário do que se tem observado para a PI e PII, a PIII não possui variabilidade antigênica e está presente na membrana externa de todos os gonococos (Blake *et al.*, 1981). Embora a PIII seja invariável, não é utilizada em imunização, porque induz a formação de anticorpos que protegem o gonococo da ação bactericida do soro humano normal (Wetzler *et al.*, 1989).

Lipooligossacarídeo

O lipooligossacarídeo (LOS) da membrana externa dos gonococos é constituído por lípideo A, um core oligossacarídico e não apresenta cadeia de antígeno O, diferindo, assim das demais bactérias gram negativas (Handsfield, 1990; Jawetz *et al.*, 1989).

O LOS gonocócico pode ser classificado antigenicamente em 6 subgrupos. Os antígenos polissacarídeos que conferem esta classificação são designados de Gc e são de natureza ácida com ponto isoelétrico entre pH 4,1 e 4,3. A constituição do GC₂ do gonococo é 3-Keto-2 dioxyoctanoato, glucosamina, glucosamina-6-fosfato, galactosamina, heptose, etanolamina, etanolamina fosfato, glicose e galactose e é semelhante ao açúcar do LPS de enterobactérias (Apicella, 1974). Segundo Dudas e Apicella (1988) a maioria dos resíduos do Keto-dioxyoctanoato do LOS gonocócico pode ser substituído no C₄ ou C₅ e dessa forma as amostras de *N. gonorrhoeae* podem elaborar múltiplos LOS que expressam epitopos antigenicamente distintos e complexos (Mandrell *et al.*, 1986). Estudos prévios indicaram que a variação na expressão do LOS era influenciada pelo meio nutricional (Morse *et al.*, 1983), porém Schneider e colaboradores (1988), demonstraram que a heterogenicidade nessa estrutura independe do meio de cultivo.

A citidina monosfosfato ácido-n-acetilmurâmico é encontrado no sangue humano e pode induzir o soro resistência do LOS. Os meios de cultura usuais para estudo do LOS gonocócico não apresentam essa substância (e os gonococos são incapazes de sintetizá-la), assim o LOS gonocócico "in vitro" pode apresentar porções distintas daquelas que ocorrem "in vivo" (Nairn *et al.*, 1988; Parson *et al.*, 1988).

O LOS é um antígeno importante na virulência da *N. gonorrhoeae*, pois medeia o principal dano tóxico que ocorre em modelo experimental de trompa de falópio (Gregg *et al.*, 1981). Estudos tem demonstrado a importância do LOS no ataque à célula hospedeira tanto para gonococos piliados, quanto para não piliados (Watt *et al.*, 1978).

Essa estrutura também é responsável pelo controle da imunidade humana, uma vez que seus determinantes antigênicos induzem formação de anticorpos bactericidas, quimiotaxia celular e a ativação do complemento (Schneider *et al.*, 1982).

Classificação sorológica

A classificação sorológica de *N. gonorrhoeae* é um assunto recente e tem tido grande aplicabilidade em estudos epidemiológicos para determinar a introdução de uma nova cepa numa comunidade, na identificação de amostras com resistência plasmidial a antimicrobianos e até mesmo em estudo forense nos casos de abuso sexual (Ansink-Schipper *et al.*, 1988; Knapp *et al.*, 1985; Knapp *et al.*, 1987).

Os gonococos podem ser caracterizados em sorogrupos pela técnica de coaglutinação e em sorotipos por microimunofluorescência e ELISA com base na proteína I da membrana externa (Kohl *et al.*, 1989). Além desse sistema de classificação, existe o baseado no LOS que subdivide os gonococos em 6 grupos sorológicos, porém esta classificação não tem sido empregada em estudos epidemiológicos da gonorréia, porque o LOS pode sofrer variações antigênica e comprometer a utilidade da técnica (Handsfield, 1990). Outras formas de classificar esse microrganismo é através de auxotipagem, sensibilidade a antimicrobianos e por análise plasmidial (Kohl *et al.*, 1989).

Sandstron e Danilson (1980) classificaram os gonococos em 2 sorogrupos maiores WI e WII e um menor o WIII, baseados na proteína I que é antigenicamente subdividida em PI A e PI B. A molécula de PI A caracteriza o sorogrupo WI, enquanto que a PI B é reconhecida nos sorogrupos WII e WIII. Além disso, Sandstron e colaboradores (1982) e Odum e colaboradores (1987), realizaram o mapeamento peptídico da PI e determinaram 9 sorotipos dessa proteína onde os sorotipos de 1 a 3 pertencem ao sorogrupo WI, os sorotipos de 4 a 8 ao WII e o sorotipo 9 ao WIII.

Falk e colaboradores (1988) submeteram amostras de *N. gonorrhoeae* a testes sorológicos, auxotipagem, enzimas de restrição (ER) e susceptibilidade à doxiciclina. Quando esses métodos foram comparados, a auxotipagem e a ER apresentaram a maior correlação e as amostras pertencentes ao sorogrupo WII e WIII foram menos sensíveis a doxiciclina do que o WI.

Young (1989) sorogrupoou amostras de gonococos isolados de sítio genital, retal e faringiano de pacientes femininos e homossexuais masculinos. Foi observado que as amostras procedentes de genital feminino pertenciam ao sorogrupo WI, enquanto que as de origem retal dessas mesmas pacientes foram positivas para sorogrupo WII e WIII. Para os pacientes masculinos com infecção faringiana o sorogrupo implicado foi o WI e na infecção retal o sorogrupo WII e WIII.

O uso corrente da classificação sorológica de *N. gonorrhoeae* requer instrumentos tecnicamente estáveis, mas nenhum método isolado apresenta esse requisito, portanto essa metodologia é empregada basicamente como instrumento de pesquisa na epidemiologia da gonorréia (Falk *et al.*, 1988).

Relação entre a sorologia e a sensibilidade aos antimicrobianos

Fenall e colaboradores (1987) submeteram 576 amostras de *N. gonorrhoeae* ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos, análise plasmidial, auxotipagem e sorogrupagem. Foi observado que 61 amostras apresentaram resistência plasmidial à penicilina, e que a maioria das amostras prototróficas pertenciam ao sorogrupo WII e WIII e esses sorogrupos foram menos sensíveis a tetraciclina e cefoxitina do que o sorogrupo WI. Nos estudos realizados por Glez e colaboradores (1988) 87 amostras de gonococos foram avaliadas contra agentes antimicrobianos e mostraram resistência de 14,9% à espectomicina, 33,3% à ampicilina, 34,4% à penicilina, 39% à eritromicina, 40,2% ao cloranfenicol e 41,3% à tetraciclina. Das 87 amostras testadas, 29,8% foram produtoras de β -lactamase com 4,5% de resistência cromossômica. O sorogrupo envolvido na resistência às drogas foi o I-B, exceto para a eritromicina. Odum e colaboradores (1987), observaram que os sorogrupos 1 e 3 de 128 amostras de *N. gonorrhoeae* apresentaram sensibilidade à penicilina e estavam associados ao auxotipo AHV (requerentes de arginina, hipoxantina e uracil). Dentre as amostras não AHV, o sorotipo 9 foi significativamente mais sensível à penicilina do que outros sorotipos.

Conclusão

A gonorréia continua sendo a principal doença sexualmente transmissível em nossos dias. Isto é devido a heterogenicidade antigênica da *N. gonorrhoeae* que assim pode modificar suas estruturas de superfície evitando desse modo as defesas do hospedeiro e também dificultando a viabilização de uma vacina eficaz. Além disso, essa bactéria pode apresentar uma variedade de plasmídeos que conferem resistência a diversos antimicrobianos, como à penicilina e à tetraciclina, resultando no insucesso dos esquemas terapêuticos tradicionais. Sendo assim, sugerimos que os estudos dessa natureza com os gonococos sejam incrementados a fim de possibilitar um conhecimento mais amplo dos antígenos implicados na sua virulência e dessa forma proporcionar a obtenção de medidas capazes de controlar esta infecção.

Agradecimentos

Este trabalho foi parcialmente financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pelo Fundo Rotativo de Fomento à Pesquisa Científica e Tecnológica (FUNCITEC), a quem agradecemos.

Referências bibliográficas

- Ansink-Schipper, M.C., Bygdeman, S.M., Van Klengeren, B. e Sandstrom, S.G. (1988). Serovars auxotypes, and plasmid profiles of PPNG strains with asian type plasmide isolated in Amsterdam. *Genitourin. Med.* 64:152-155.
- Apicella, M.A. (1974). Antigenically distinct populations of *Neisseria gonorrhoeae*: Isolation and characterization of the responsible determinants. *J. Infect. Dis.* 130:619-625.
- Barrera, O. e Swanson, J. (1984). Protein I A and I B exhibit different surface exposures and orientations in the outer membrana of *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect. Immun.* 44:565-568.
- Bergstrom, S., Robbins, K., Koomey, J.M. e Swanson, J. (1986). Piliation control mechanisms in *Neisseria gonorrhoeae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:3890-3904.
- Black, J., Schwalbe, R.S., Nochamkin, I. e Cannon, J.G. (1984). Characterization of *Neisseria gonorrhoeae* protein II phase variation by use of monoclonal antibodies. *Infect. Immun.* 45:453- 457.
- Blake, M.S., Gotschlich, E.C. e Swanson, J. (1981). Effects of proteolytic enzymes on the outer membrana protein of *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect. Immun.* 33:212-222.
- Carbonetti, N.H. e Sparling, P.F. (1987). Molecular cloning and characterization of the structural gene for protein I, the major outer membrane protein of *Neisseria gonorrhoeae*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 84:9084.
- Connel, T.D., Black, W.J., Kawula, T.H., Barrit, D.S., Dempsey, J.A., Kverneland, K. Jr., Stephenson, A., Schepart, B.S., Murphy, G.L. e Cannon, J.G. (1988). Recombination among Protein II genes of *Neisseria gonorrhoeae* generates new coding sequences and increases structural variability in the Protein II family. *Mol. Microbiol.* 2:227-236.
- Connell, T.D., Shaffer, D. e Cannon, J.G. (1990). Characterization of the repertoire of hypervariable regions in the Protein II (Opa) gene family of *Neisseria gonorrhoeae*. *Mol. Microbiol.* 4:439-449.
- Dudas, K.C. e Appicella, M.A. (1988). Selection and immunochemical analysis of lipooligosaccharide mutans of *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect. Immun.* 56:499-504.
- Falk, E.S., Egglestone, S.I., Digranes, A., Valden, G. e Bjarvaton, B. (1988). Genotypic and phenotypic markers in the differentiation of *Neisseria gonorrhoeae* strain. *APMIS*, 96:109- 116.
- Fenall, A., Berron, S. e Vazquez, J.A. (1987). Analysis of penicillinase - producing *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Madrid (Spain) from 1983-85. *Epidem. Inf.* 99:455-462.

- Glez, C.J.C., Calderon, E., Echaniz, E., Solorzano, F. e Beltran, M. (1988). Serogroup specificity and antimicrobial susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Mexico city. **J. Antimicrob. Chemoth.** 21:413-416.
- Gotschlich, E.C. (1990). *Neisseriae* - In: Davis, B.D., Dulbecco, R., Eisen, H.N. e Gunsberg, H.S., (Eds). Microbiology. J.B. Lippincott Company, Philadelphia. p.551-560.
- Gotschlich, E.C., Seiff, M. e Blake, M.S. (1987). The DNA sequence of the structural gene of gonococcal protein III and the flanking region containing a repetitive sequence. Homology of Protein III with enterobacterial Omp A proteins. **J. Exp. Med.** 165:471.
- Gregg, C.R., Melly, M.A., Hellerqvist, C.G., Coniglio, J.C. e McGree, Z.A. (1981). Toxic activity of purific lipopolysaccharide of *Neisseria gonorrhoeae* for human fallopian tube mucosa. **J. Infect. Dis.** 143:432-439.
- Haas, R., Schwarz, H. e Meyer, T.F. (1987). Release of soluble pilin antigen coupled with gene conversion in *Neisseria gonorrhoeae*. **Proc. Natl. Sci. USA.**, 84:9079-9083.
- Handsfield, H.H. (1990). *Neisseria gonorrhoeae*. In: Mandell, G.L., Douglas, R.G. Jr. Bennett, J.E. (Eds). Principles and practice of infections diseases. Churchill Livingstone, New York p.1613-1631.
- Heckels, J.E. (1984). Molecular studies on the pathogenesis of gonorrhoeae. **J. Med. Microbiol.** 18:293-307.
- James, J.F. e Swanson, J. (1978). Studies on Gonococcus Infection. XIII. Ocorrence of color / opacity colonial variants in clinical cultures. **Infect. Immun.** 19:332-340.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., Brooks, G.F., Butel, J.S., e Ornstan, L.N. (1989). (Eds). Medical Microbiology. Prentice Hall, New Jersey. p.238-244.
- Kellogg, D.S. Jr., Cohen, I.R., Norins, L.C., Schroeter, A.L. e Reising, G. (1968). *N. gonorrhoeae*. II. Colonial variation and pathogenicity during 35 months in vitro. **Infect Immun.** 96:596-605.
- Knapp, J.S., Holmes, K.K., Bonin, P. e Hook, E.W. (1987). Epidemiology of *N. gonorrhoeae*: distribution and temporal changes in auxotype serovar classes of *Neisseria gonorrhoeae*. **Sex. Transm. Dis.** 14:26:32.
- Knapp, J.S., Sandstrom, E.G. e Holmes, K.K. (1985). Overview of epidemiological and clinical applications of auxotype serovar classification of *Neisseria gonorrhoeae*. In: Schoolnik, G.K., Brooks, G.F., Falkow, S. Frasch, C.E., Knapp, J.S., Mc Cutchan, J.A. and Morse, S.A. (Eds) The Pathogenic *Neisseriae*. American Society for Microbiology, Washington, p.6-12.
- Kohl, P.K., Olsen, D.A. e Buchanan, T.M. (1989). Monoclonal antibodies to protein I for serotyping of *Neisseria gonorrhoeae*: correlation of serotype with bactericidal activity. **Zbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg. A** 270:517-526.

- MacDave, R.L. Jr. e Johnston, K.H. (1980). Characterization of serologically dominant outer membrane protein of *Neisseria gonorrhoeae*. **J. Bacteriol.** 141:1183-1191.
- Mandrell, R., Schneider, H., Apicella, M., Zollinger, W., Rice, P. e Griffiss, M. (1986). Antigenic and physical diversity of *Neisseria gonorrhoeae* lipooligosaccharides. **Infect. Immun.** 54:63-69.
- Mayer, T.F. (1987). Molecular basis of surface antigen variation in *Neisseria*. **TIG.** 3:319-324.
- Morse, S.A., Montz, C.S., Sarafian, S.K., Bartenstein, L., Bertran, M. e Apicella, M.A. (1983). The effect of dilution rate on lipopolysaccharide and serum resistance of *Neisseria gonorrhoeae* grown in continuous culture. **Infect. Immun.** 41:74-83.
- Nairn, C.A., Cole, J.A., Patel, P.V., Parsons, N.J., Fox, J.E. e Smith, H. (1988). Cytidine 5'-monophospho-N-acetyl neuraminic acid or a related compound is the low Mr factor from human red blood cells which induces gonococcal resistance to killing by human serum. **J. Gen. Microbiol.** 134:3295.
- Odum, L., Buchanan, M. e Knapp, J.S. (1987). Protein I serotype of serum resistant versus serum-sensitive *Neisseria gonorrhoeae* strains. **Acta Path Microbiol.** 95:1-4.
- Parsons, N.J., Patil, P.V., Tan, E.L., Andrade, R.C., Nairn, C.A., Goldner, M., Cole, J.A. e Smith, H. (1988). Cytidine 5'- monophospho-N-acetyl neuraminic alteration in gonococci when conferring serum resistance to killing by human serum. **Microb. Pathog.** 5:303.
- Rest, R.F. e Shafer, W.M. (1989). Interactions of *Neisseria gonorrhoeae* with human neutrophils. **Clin. Microbiol. Rev.** 2:583- 591.
- Robinson, E.N., Clemens, C.M. Jr., McGee, Z.A. e Cannon, J.G. (1988). Immunoelectron microscopic localization of outer membrane protein II on the surface of *Neisseria gonorrhoeae*. **Infect. Immun.** 56:1003-1006.
- Salit, I.E. e Gotschlich, E.C. (1978). Gonococcal color and opacity variants: virulence for chick embryos. **Infect. Immun.** 23:359-367.
- Sandstrom, E.G., Chen, K.C.S. e Buchanan, T.M. (1982). Serology of *Neisseria gonorrhoeae*: coagglutination serogroup WI e WII/WIII correspond to different outer membrane Protein I molecules. **Infect. Immun.** 38:462-470.
- Sandstrom, E.G. e Danilsson, D. (1980). Serology of *Neisseria gonorrhoeae*. Classification with co-agglutination. **Acta. pathol. Microbiol. Scand. Sect. B** 88:27-38
- Sandstrom, E.G., Knapp, J.S. e Buchanan, T.M. (1982). Serology of *Neisseria gonorrhoeae*: W-antigen serogrouping by coagglutination and protein I serotyping by ELISA both detect protein I antigens. **Infect. Immun.** 35:229.
- Sarafian, S.K., Tam, M.R. e Morse, S.A. (1983). Gonococcal protein I specific opsonic IgG in normal human sera. **J. Infect. Dis.** 148:1025.

- Schneider, H., Griffiss, J.M., Willians, G.D. e Pier, G.B. (1982). Immunological basis of serum resistance of *Neisseria gonorrhoeae*. **J. Gen. Microbiol.** 128:13-22.
- Schneider, H., Hammack, C.A., Apicella, M.A. e Griffiss, M. (1988). Instability of expression of lipooligosaccharides and their epitopes in *Neisseria gonorrhoeae*. **Infect. Immun.** 56:942-946.
- Stern, A., Brawn, M., Nickel, P. e Meyer, T.F. (1986). Opacity genes in *Neisseria gonorrhoeae*: control of phase and antigenic variation. **Cell.** 47:61-72.
- Stromberg, N., Deal, C., Nyberg, G., Normark, S., So, M. e Karlsson, K.A. (1988). Identification of carbohydrate structures that are receptors for *Neisseria gonorrhoeae*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 85:4902-4906.
- Sugasawara, R.J., Cannon, J.C., Black, W., Nachamkin, I., Sweet, R.L. e Brooks, G.F. (1983). Inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* attachment to HeLa cells with monoclonal antibody directed against a protein II. **Infect. Immun.** 42:980-985.
- Swanson, J. (1978). Studies on gonococcus infection XII. Colony color and opacity variants of gonococci. **Infect Immun.** 19:320-331.
- Swanson, J. (1979). Studies on gonococcus infection. XVIII. I.labeled peptide mapping of the major protein of the gonococcal cell wall outer membrane. **Infect. Immun.** 23:799-810.
- Swanson, J. (1982). Colony opacity and protein II composition of gonococci. **Infect. Immun.** 37:359-368.
- Taha, M.K., So, M., Seifert, H.S., Billyard, E. e Marchal, C. (1988). Pilin expression in *Neisseria gonorrhoeae* in under both positive and negative transcriptional control. **EMBO J.** 7:4367-4378.
- Van Der Ley, P. (1988). Three copies of a single protein II - encoding sequence in the genome of *Neisseria gonorrhoeae* JS 3: evidence for gene conversion and gene duplication. **Mol. Microbiol.** 2:797-806.
- Veale, D.R., Smith, H. Witt, K. e Marshall, R.B. (1975). Differential ability of colonial types of *Neisseria gonorrhoeae* to produce infection and an inflammatory response in subcutaneous perforated plastic chambers in guinea pigs and rabbits. **J. Med. Microbiol.** 8:325-335.
- Virji, M., Zak, K. e Heckels, J.E. (1986). Monoclonal antibodies to gonococcal outer membrane protein. IB: Use investigations of the potencial protective effect of antibodies directed against conserved and type - specific epitopes. **J. Gen. Microbiol.** 132:1621.
- Volk, W.A., Benjamin, D.C., Kadner, R.J., e Parsons, J.T. (1991). Essentials of medical microbiology. Lippincott Company, Philadelphia. p.375-387.

- Watt, P.J., Ward, M.E., Heckels, E. e Trust, T.J. (1978). Surface properties of *Neisseria gonorrhoeae*: attachment to and invasion of mucosal surfaces. In: Brooks, G.F., Gotschlich, E.C., Holmes, K.K., Sawyer, W.D. and Young, F.E. (Eds). Immunobiology of *Neisseria gonorrhoeae*. American Society for Microbiology, Washington. p.253-257.
- Wetzler, L.M., Blake, M.S. e Gotschlich, E.C. (1988). Characterization and specificity of antibodies to protein I of *Neisseria gonorrhoeae* produced by injection with various protein I - Adjuvant preparations. *J. Exp. Med.* 168:1883-1897.
- Wetzler, L.M., Gotschlich, E.C., Balke, M.S. e Konney, J.M. (1989). The construction and characterization of *Neisseria gonorrhoeae* lacking protein III in its outer membrane. *J. Exp. Med.* 169:2199- 2209.
- Young, A.M. (1989). Utility of monoclonal antibody coagglutination to identify *Neisseria gonorrhoeae*. *Genitourin Med.* 65:8-13.