

© Е. В. Шипицына¹, А. А. Максимова²,
А. Е. Гуцин³, З. М. Мартикайнен¹,
П. Г. Рыжих³, А. М. Савичева¹,
Е. В. Соколовский², Г. А. Шипулин³,
М. Домейка⁴, М. Унемо⁵

КАЧЕСТВО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ГОНОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

¹ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта РАМН, Санкт-
Петербург, Россия;

² Санкт-Петербургский Государственный
медицинский университет
им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора,
Москва, Россия;

⁴ Отделение медицинской науки,
Уппсальский университет, Швеция;

⁵ Отделение клинической микробиологии,
Университетский госпиталь Оребро, Швеция

УДК 616.973-07

■ Целью данного исследования явилась оценка качества лабораторной диагностики инфекции, вызванной *Neisseria gonorrhoeae*. В исследовании приняли участие 334 пациента, обратившиеся в КВД с жалобами на зуд, выделения из половых органов, дизурию. Образцы из цервикального канала и уретры у женщин (n = 286) и из уретры у мужчин (n = 48) исследованы микроскопическими, бактериологическими (культуральными) и двумя молекулярно-биологическими методами. Используются коммерческие тест-системы отечественного производства, которые основаны на методах полимеразной цепной реакции (ПЦР) и реакции транскрипционной амплификации NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification). Положительные результаты подтверждены секвенированием специфического для рода *Neisseria* фрагмента гена 16S рРНК. Специфичность всех методов исследования оказалась 100 %. По сравнению с наиболее чувствительным методом данного исследования (методом ПЦР) у женщин чувствительность микроскопического и культурального методов равнялась 31,8 %, а чувствительность метода NASBA составила 90,9 %. У мужчин микроскопический, культуральный методы и метод NASBA показали чувствительность 75, 50 и 100 % соответственно. На основании результатов ПЦР, распространенность *N. gonorrhoeae* составила 4,5 % среди женщин и 8,3 % среди мужчин. В итоге разработанные и произведенные в России молекулярно-биологические тесты показали высокую чувствительность и специфичность. Тем не менее, диагностика гонореи в нашей стране является не оптимальной и требует оценки, усовершенствования и контроля качества.

■ **Ключевые слова:** *Neisseria gonorrhoeae*; микроскопическая и культуральная диагностика; ПЦР; NASBA

Введение

Во всем мире гонорея относится к числу наиболее значимых инфекций, передаваемых половым путем (ИППП). Для контроля и профилактики распространения заболевания необходимы эффективная диагностика, лечение и эпидемиологический надзор (мониторинг резистентности к противомикробным препаратам, выявление фенотипов и генотипов *Neisseria gonorrhoeae*).

В большинстве стран «золотым стандартом» остается культуральная диагностика инфекции, вызванной *N. gonorrhoeae*. При оптимальных условиях данный вид исследования имеет высокую диагностическую чувствительность и специфичность и дает возможность проводить исследование чувствительности гонококка к антибактериальным препаратам. Микроскопическое исследование клинических материалов, окрашен-

ных по Граму, за рубежом используется для установления предварительного диагноза гонококковой инфекции. Однако этот метод имеет низкую чувствительность и специфичность (30–40 %) при исследовании клинических материалов, полученных от женщин. Экстрагенитальные образцы вообще не рекомендовано исследовать микроскопическим методом [4, 6, 8, 9, 16, 19].

В 2006 году в Санкт-Петербурге (население около 4 560 000 человек) уровень заболеваемости гонореей составил, по оценкам специалистов, 38 случаев на 100 000 населения [7]. Однако реальный уровень заболеваемости остается неизвестным из-за самолечения, недостаточной диагностики и проблем при сборе эпидемиологических данных [3, 10, 12]. Лабораторная диагностика гонококковой инфекции в Санкт-Петербурге не соответствует международным стандартам, основанным на при-

нциях доказательной медицины, что отражает ситуацию в целом по стране [4, 6, 8, 9, 16, 19]. В пользу этого говорят также данные исследования, проведенного ранее в Архангельске [3, 12]. Выявление *N. gonorrhoeae* в большинстве случаев основано на данных микроскопического метода, являющегося более дешевым, чем культуральный. Те немногие лаборатории, которые используют для выделения *N. gonorrhoeae* культуральный метод, работают с российскими неселективными средами (например, «Комплегон»), часто не проводят видовую идентификацию и тестирование на антибиотикочувствительность *N. gonorrhoeae* [10].

В последнее время в некоторых муниципальных, федеральных и частных лабораториях нашей страны стали использовать методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), наиболее известным из которых является метод на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР). Помимо ПЦР была разработана первая тест-система на основе реакции транскрипционной амплификации NASBA в реальном времени (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification). МАНК обладают высокой чувствительностью и специфичностью [9, 14, 15, 18], однако тест-системы, разработанные отечественными производителями для данных методов диагностики, до настоящего времени не прошли оценку и сравнение с международно признанными тест-системами. По нашим сведениям, работы по детальной оценке фенотипических и генетических методов диагностики гонококковой инфекции в России не публиковались.

Цель исследования

Целью данного исследования явилась сравнительная оценка микроскопического, культурального методов и двух методов амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР и NASBA), разработанных и произведенных в России для диагностики инфекции, вызванной *N. gonorrhoeae*.

Материал и методы

Пациенты и клинические образцы

В исследовании участвовали 334 пациента (286 женщин и 48 мужчин), обратившихся в кожно-венерологические диспансеры (КВД) Санкт-Петербурга с апреля по июль 2006 года с жалобами на зуд, выделения из половых органов, дизурию. Исследовались клинические образцы из цервикального канала и уретры женщин (n = 286) и уретры мужчин (n = 48). Образцы взяты в случайном порядке из каждой анатомической области для микроскопического, культурального исследования и МАНК. Пробы транспортировались в сахарозо-фосфатном буфере в лабораторию микробиологии НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН в течение 4 часов

после получения, где проводилось молекулярно-биологическое исследование.

Микроскопическое и культуральное исследование

Микроскопическая и культуральная диагностика проводились непосредственно в КВД сразу после взятия клинического образца согласно общепринятым протоколам. Для микроскопического исследования препараты окрашивались по Граму и оценивались с помощью светового микроскопа на наличие грамотрицательных диплококков, расположенных вне и внутри полиморфно ядерных лейкоцитов. Для культуральной диагностики использовались неселективная среда российского производства «Комплегон» (Институт вакцин и сывороток, Санкт-Петербург, Россия) и селективная среда VCA3 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Франция). В КВД в соответствии со стандартной процедурой проводилась лишь предварительная идентификация *N. gonorrhoeae*, то есть обнаружение в культуре типичных грамотрицательных оксидазоположительных диплококков. Для окончательной видовой идентификации образцы культур в сахарозо-фосфатном буфере транспортировались в лабораторию микробиологии НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН в течение 4 часов, где устанавливалась принадлежность к виду *N. gonorrhoeae* с помощью амплификации, секвенирования и последующего филогенетического анализа фрагмента гена 16S рРНК.

Методы амплификации и видовой идентификации нуклеиновых кислот

Для исследования образцов методом ПЦР использовали зарегистрированную коммерческую тест-систему «Амплисенс *Neisseria gonorrhoeae*» производства ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Регистрационное удостоверение №ФС 01262006/5192-06). Процедуру ПЦР проводили согласно инструкции производителя тест-системы.

Для видовой идентификации образцов культур *N. gonorrhoeae* применялся метод определения нуклеотидной последовательности фрагмента гена 16S рРНК, продуктов амплификации с использованием BigDye Terminator v1.1 Sequencing kit (производитель Applied Biosystem, Foster City, США) и анализатора генетического ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (производитель Applied Biosystem, Foster City, США). Нуклеотидные последовательности анализировались с помощью программного обеспечения и международной базы данных генетической информации GeneBank. Кроме того, алиquotы указанных клинических образцов независимо исследовались в Национальной референс-лаборатории патогенных нейссерий госпиталя университета г. Орбредо

Таблица 1

Частота выявления *Neisseria gonorrhoeae* в клинических материалах, полученных у женщин и мужчин, при использовании разных методов диагностики

Обследованный контингент и клинический материал	Культуральный метод (питательные среды)		Микроскопический метод ^в	ПЦР ^г	NASBA ^г
	«Комплегон» ^а	VCA3 ^б			
Женщины (n = 286)					
Цервикальный канал	4 (1,4 %)	4 (1,4 %)	4 (1,4 %)	13 (4,5 %)	12 (4,2 %)
Уретра	3 (1,0 %)	2 (0,7 %)	3 (1,0 %)	9 (3,1 %)	8 (2,8 %)
Мужчины (n = 48)					
Уретра	1 (2,1 %)	2 (4,2 %)	3 (6,2 %)	4 (8,3 %)	4 (8,3 %)

^а — неселективная питательная среда производства Санкт-Петербургского научно-исследовательского института вакцин и сывороток, Санкт-Петербург;
^б — VCA3 (шоколадный агар с добавлением PolyViteX VCAT3) селективная питательная среда производства bioMérieux, Марсу l'Etoile, Франция;
^в — микроскопическое исследование клинических материалов, окрашенных по Граму;
^г — ПЦР, полимеразная цепная реакция; NASBA, метод амплификации нуклеиновых кислот, основанный на транскрипции (nucleic acid sequence-based amplification)

(Швеция) на наличие нуклеотидной последовательности псевдогена *porA* высокоспецифичного в отношении *N. gonorrhoeae* [1].

Результаты

Результаты по выявлению *N. gonorrhoeae* разными диагностическими методами представлены в таблице 1.

При микроскопическом исследовании клинических материалов, окрашенных по Граму, грамтрицательные диплококки были обнаружены у 4 женщин. У 3-х из них диплококки были обнаружены одновременно в отделяемом уретры и цервикального канала, у одной женщины грамтрицательные диплококки были обнаружены только в отделяемом цервикального канала. У 3 из 4 женщин, у которых были обнаружены грамтрицательные диплококки при микроскопическом исследовании, были выделены *N. gonorrhoeae* при бактериологическом (культуральном) исследовании. В двух случаях получены дискордантные результаты. У одной женщины *N. gonorrhoeae* были выделены при культуральном исследовании, но не были обнаружены при использовании метода микроскопии. У второй женщины при микроскопическом исследовании были обнаружены грамтрицательные диплококки в отделяемом цервикального канала, но при бактериологическом исследовании *N. gonorrhoeae* выделить не удалось.

При микроскопическом исследовании клинических материалов, полученных из уретры мужчин, грамтрицательные диплококки были обнаружены в 3 случаях. Только в одном из них *N. gonorrhoeae* были выделены одновременно и при культуральном исследовании. В одном случае *N. gonorrhoeae* были выделены при бактериологическом (культуральном)

исследовании, но при проведении микроскопического исследования грамтрицательные диплококки не были обнаружены.

При сравнении результатов культивирования *N. gonorrhoeae* с использованием неселективной питательной среды российского производства «Комплегон» и селективной среды VCA3 было получено два дискордантных результата: в одном случае при исследовании клинического материала из уретры женщины *N. gonorrhoeae* были выделены только на среде «Комплегон» и не выделены на среде VCA3, в другом случае при исследовании клинического материала из уретры мужчины *N. gonorrhoeae* были выделены на среде VCA3 и не были выделены на среде «Комплегон».

Анализ результатов исследования с помощью МАНК показал, что ДНК *N. gonorrhoeae* была обнаружена в образцах отделяемого мочеполовых органов 13 женщин и 4 мужчин, в том числе у всех пациентов, у которых были обнаружены грамтрицательные диплококки микроскопическим методом и выделены *N. gonorrhoeae* при бактериологическом исследовании. У 9 женщин нуклеиновые кислоты *N. gonorrhoeae* были обнаружены в отделяемом цервикального канала и уретры и только у 4 в отделяемом цервикального канала. Сравнение между собой результатов двух амплификационных методов показало, что все положительные результаты по обнаружению *N. gonorrhoeae*, полученные методом NASBA, совпали с результатами, полученными методом ПЦР. Следует отметить, что в двух случаях ДНК *N. gonorrhoeae* были обнаружены только методом ПЦР, в то время как при использовании других методов выявления *N. gonorrhoeae*, включая NASBA, результаты были отрицательными.

Все пробы с клиническим материалом, в которых методом ПЦР была выявлена ДНК *N. gonorrhoeae*, были исследованы дополнительно с использованием молекулярно-генетического секвенирования ДНК *N. gonorrhoeae*. Это исследование направлено на прямое определение нуклеотидной последовательности фрагментов гена 16S рДНК и псевдогена *porA*, и позволяет максимально точно установить видовую принадлежность амплифицированных фрагментов генома. Проведенная видовая идентификация на основе филогенетического анализа показала наличие в образцах ДНК, имеющей 100%-ю гомологию с ДНК *N. gonorrhoeae*.

Таким образом, при оценке чувствительности методов, используемых для диагностики гонококковой инфекции, мы исходили из того, что все образцы, исследованные методом ПЦР и содержащие ДНК *N. gonorrhoeae*, принимали за истинно положительные результаты. В результате чувствительность микроскопического метода для выявления грамотрицательных диплококков составила 31,8 и 75 % у женщин и мужчин, соответственно. Чувствительность культурального метода выделения *N. gonorrhoeae* была равна 31,8 и 50 % у женщин и мужчин, соответственно. Чувствительность метода NASBA была 90,9 и 100 % у женщин и мужчин соответственно. Прогностическая значимость отрицательных результатов микроскопического, культурального методов и метода NASBA составила 97,3; 97,3 и 99,6 % у женщин и 97,8; 95,7 и 100 % у мужчин соответственно. Специфичность всех методов равнялась 100 %.

Обсуждение

Проведенное исследование однозначно показало, что лабораторная диагностика гонококковой инфекции в Санкт-Петербурге не оптимальна и требует значительных улучшений. Ситуация в Санкт-Петербурге может отражать общее состояние данной проблемы во всех регионах нашей страны. Выводы, полученные в ходе исследования, являются очевидными, хотя само исследование проводилось на небольшой группе пациентов, и интерпретация результатов требует некоторой осторожности. Микроскопический и культуральный методы, являющиеся регламентированными методами диагностики гонококковой инфекции в нашей стране, показали низкую чувствительность, особенно при диагностике гонококковой инфекции у женщин.

В данном исследовании чувствительность микроскопического метода выявления грамотрицательных диплококков составила 31,8 % у женщин и 75 % у мужчин. В обоих случаях специфичность микроскопического метода соста-

вила 100 %. Являясь недорогим, быстрым и высокоспецифичным методом, микроскопическое исследование клинических материалов, окрашенных по Граму, из уретры мужчин позволяет установить гонококковую инфекцию у большинства лиц с жалобами и клиническими симптомами заболевания [4, 6, 8, 9, 16, 19]. У женщин целесообразность микроскопического исследования вызывает сомнения, ибо в большинстве случаев гонококковой инфекции даже при наличии жалоб и клинических проявлений установить диагноз не удается. На ранних стадиях инфекции и в случае бессимптомного течения чувствительность микроскопического метода может еще более снижаться [4, 11, 16]. Кроме того, при проведении микроскопического исследования лаборатория выдает заключение о том, что в клиническом материале обнаружены (или не обнаружены) грамотрицательные диплококки, а не гонококки. Таким образом, только на основании микроскопического исследования диагноз гонококковой инфекции не правомочен. Для подтверждения диагноза необходимо провести дополнительно культуральное или молекулярно-биологическое исследование.

Культуральный метод диагностики гонококковой инфекции показал неожиданно низкую чувствительность (31,8 % у женщин и 50 % у мужчин). Известно, что гонококки являются довольно прихотливыми микроорганизмами. На эффективность культивирования *in vitro* могут оказывать влияние множество факторов, начиная от неправильного получения клинического материала и кончая условиями культивирования и качеством используемых питательных сред. В целом селективная среда VCA3 и неселективная среда российского производства «Комплегон» показали одинаковую чувствительность. Тем не менее, на среде «Комплегон» чаще выделяли другие микроорганизмы, наличие которых могло повлиять на рост и идентификацию гонококков. Ни одна из лабораторий КВД, участвовавших в исследовании, не использовала методы видовой идентификации *N. gonorrhoeae*, что в полной мере отражает ситуацию в большинстве диагностических лабораторий Российской Федерации. Результаты, полученные в ходе данного исследования, говорят о том, что регламентированные методы диагностики гонореи, такие как микроскопический метод с окрашиванием клинических материалов по Граму и культуральный (бактериологический) метод, не позволяют большинству инфицированных женщин поставить диагноз гонококковой инфекции [4, 6, 8, 9, 16, 19]. Из этого следует необходимость разработки и внедрения эффективной и качественной культуральной диагностики гонококковой инфекции на территории Санкт-Петербурга

и других регионов Российской Федерации, с использованием селективных питательных сред, видовой идентификации и исследования антибиотикорезистентности *N. gonorrhoeae*.

В последние годы за рубежом в рамках протоколов диагностики гонококковой инфекции стали использовать МАНК, которые обладают высокой аналитической чувствительностью и специфичностью [16]. Преимуществами МАНК являются высокая чувствительность, специфичность, быстрота выполнения исследования и ряд других важных характеристик, позволяющих использовать их для скрининговых исследований. С другой стороны, МАНК не лишены недостатков, таких как риск ложноположительных результатов в результате контаминации либо продуктами амплификации, либо нуклеиновыми кислотами, в первую очередь, ДНК, при проведении молекулярно-биологического исследования. Поэтому использование только одного МАНК для диагностики гонококковой инфекции без проведения подтверждения другим методом вызывает опасения в плане достоверности результатов. Актуальным остается выбор подтверждающего метода. Наряду с обнаружением нуклеиновых кислот *N. gonorrhoeae* с помощью МАНК, наиболее бесспорным, с точки зрения достоверности, является получение чистой культуры возбудителя. Однако при использовании отечественных питательных сред часто не удается выделить и тем более идентифицировать *N. gonorrhoeae*, которые относятся к прихотливым микроорганизмам, требующим особых условий культивирования. Как показали зарубежные исследования, повышение качества культуральных исследований не решает полностью проблему диагностики гонококковой инфекции. Даже при соблюдении всех необходимых условий и требований в ряде случаев на искусственных питательных средах не удается выделить *N. gonorrhoeae* из клинического материала [5]. В этих условиях одним из путей подтверждения результатов, полученных молекулярно-биологическими методами, является использование другого независимого МАНК. Это, по мнению зарубежных специалистов, может являться альтернативой культуральному исследованию, за исключением случаев диагностики гонококковой инфекции у детей.

В последнее время в некоторых муниципальных, федеральных и частных лабораториях нашей страны для диагностики инфекции, вызванной *N. gonorrhoeae*, стали использоваться коммерческие тест-системы отечественного производства на основе метода ПЦР. Согласно действующей нормативно-правовой базе, обнаружение ДНК *N. gonorrhoeae* с использованием метода ПЦР не может являться основанием для установления диагноза гонококковой

инфекции. Разработка и внедрение альтернативных МАНК, на наш взгляд, создаст объективные условия для включения их в современные алгоритмы диагностики гонококковой инфекции.

Недавно в нашей стране была разработана новая тест-система на основе технологии NASBA с использованием базовых реагентов производства компании BioMerieux (Франция). В методе NASBA реализован принципиально иной по сравнению с ПЦР способ амплификации, в качестве мишени используется рибосомальная РНК (рРНК) возбудителя. Указанные различия методов при высокой чувствительности и специфичности позволяют рассматривать метод NASBA в качестве альтернативы методу ПЦР, в частности, при диагностике гонококковой инфекции.

Практическое использование метода NASBA хорошо продемонстрировано в проведенном исследовании. Во всех образцах, в которых *N. gonorrhoeae* были обнаружены культуральным или микроскопическим методами, а также в большинстве образцов, положительных с применением метода ПЦР, были обнаружены фрагменты рРНК *N. gonorrhoeae*. В двух образцах, в которых методом ПЦР была обнаружена ДНК *N. gonorrhoeae*, рРНК *N. gonorrhoeae* методом NASBA не определялась. Формально это можно расценивать как меньшую диагностическую чувствительность NASBA по сравнению с методом ПЦР, что и нашло отражение в таблице 2. Однако следует помнить, что РНК в отличие от ДНК являются нестабильными молекулами и быстро деградируют при разрушении клеток гонококка, что, возможно, и имело место в указанных образцах. В одном случае у пациентки несовпадающие результаты ПЦР и NASBA были получены при исследовании материала из уретры (методом NASBA *N. gonorrhoeae* не были обнаружены, а методом ПЦР обнаружена ДНК *N. gonorrhoeae*), в то время как при исследовании материала из цервикального канала у этой пациентки *N. gonorrhoeae* были обнаружены как методом NASBA, так и методом ПЦР. Известно, что *N. gonorrhoeae* чаще поражает эпителий цервикального канала, чем уретры. Полученные результаты по выявлению ДНК *N. gonorrhoeae* и отсутствию РНК возбудителя можно трактовать как отсутствие жизнеспособных микроорганизмов в уретре. В любом случае наличие как ДНК, так и РНК *N. gonorrhoeae* в цервикальном канале является убедительным основанием для установления диагноза гонококковой инфекции. У второй пациентки при исследовании клинического материала, полученного из цервикального канала, была обнаружена только ДНК *N. gonorrhoeae* методом ПЦР, в то время как при использовании микроскопического, культурального и метода NASBA гонококки

Таблица 2

Чувствительность, специфичность, прогностическая значимость положительных и отрицательных результатов микроскопического, культурального методов, ПЦР и NASBA при выявлении *Neisseria gonorrhoeae* у женщин (n = 286) и мужчин (n = 48), имеющих клинические симптомы

Метод		Чувствительность, %	Специфичность, %	Прогностическая значимость положительных результатов, %	Прогностическая значимость отрицательных результатов, %
Микроскопический метод	Женщины	31,8	100	100	97,3
	Мужчины	75,0	100	100	97,8
Культуральный метод	Женщины	31,8	100	100	97,3
	Мужчины	50,0	100	100	95,7
ПЦР	Женщины	100	100	100	100
	Мужчины	100	100	100	100
NASBA	Женщины	90,9	100	100	99,6
	Мужчины	100	100	100	100

не были обнаружены. В этом случае обнаружение ДНК *N. gonorrhoeae* при отрицательных результатах других методов, включая NASBA, не исключает ложноположительного результата метода ПЦР вследствие контаминации клинического материала. В связи с этим необходимо еще раз подчеркнуть, что отсутствие подтверждающего тестирования при выявлении ДНК *N. gonorrhoeae* при использовании метода ПЦР и отрицательных результатах культурального исследования служит основанием для сомнений в наличии возбудителя и обоснованности диагноза гонококковой инфекции.

В заключение надо отметить, что проведенное изучение методов диагностики гонококковой инфекции, используемых в нашей стране, показало необходимость повышения качества культуральной диагностики, являющейся незаменимой при оценке антибиотикочувствительности циркулирующих на данной территории штаммов *N. gonorrhoeae*. Кроме того, проведенная оценка ПЦР и NASBA на основе тест-систем российского производства, показывает их высокую чувствительность и специфичность. Тем не менее, необходима всесторонняя оценка всех отечественных тест-систем, разработанных на основе МАНК, в сравнении с международно признанными диагностическими тест-системами и постоянное проведение контроля качества лабораторных исследований.

Литература

1. A fast real-time polymerase chain reaction method for sensitive and specific detection of the *Neisseria gonorrhoeae* porA pseudogene / Hjelmevoll S. O., Olsen M. E., Sollid J. U. [et al.] // J. Mol. Diagn. — 2006. — Vol. 8, N 5. — P. 574–581.
2. A real-time PCR assay for the detection of *Neisseria gonorrhoeae* in genital and extragenital specimens / Whiley D. M., Buda P. P., Freeman K. [et al.] // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. — 2005. — Vol. 52. — P. 1–5.
3. Antibiotic susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* in Arkhangelsk, Russia / Vorobieva V., Firsova N., Ababkova T. [et al.] // Sex. Transm. Infect. — 2007. — Vol. 83. — P. 133–135.
4. Bignell, C. J. European Branch of the International Union against Sexually Transmitted Infection and the European Office of the World Health Organization. European guideline for the management of gonorrhoea / Bignell C. J. // Int. J. STD AIDS. — 2001. — Vol. 12, Suppl. 3. — P. 27–29.
5. Comparison of COBAS AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR including Confirmation with *N. gonorrhoeae*-Specific 16S rRNA PCR with Traditional Culture / Luijt D. S., Bos P. A., van Zwet A. A. [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2005. — Vol. 43. — P. 1445–1447.
6. Dyck Van E. Gonorrhoea / Van Dyck E. // Laboratory diagnosis of sexually transmitted diseases / ed. Van Dyck E., Meheus A. Z., Piot P. — Geneva: WHO, 1999. — P. 1–21.
7. EpiNorthData / Gonorrhoea. EpiNorth, A Co-operation Project for Communicable Disease Control in Northern Europe. Available at: <http://www.epinorth.org>.
8. Guidelines for laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* in East-European countries. Part 1: Gonorrhoea, sampling, and microscopy for diagnosis/ Savicheva A., Sokolovsky E., Frigo N. [et al.] // Acta Medica Lituonica. — 2007. — Vol. 14. — P. 65–74.
9. Guidelines for laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* in East-European countries. Part 2. Culture, non-culture methods, determination of antibiotic resistance, and quality assurance / Savicheva A., Sokolovsky E., Frigo N. [et al.] // Acta Medica Lituonica. — 2007. — Vol. 14. — P. 123–134.
10. Laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* in St. Petersburg, Russia: inventory, performance characteristics and recommended optimizations / Unemo M., Savicheva A., Budilovskaya O. [et al.] // Sex. Transm. Infect. — 2006. — Vol. 82. — P. 41–44.
11. Manavi, K. Sensitivity of microscopy for the rapid diagnosis of gonorrhoea in men and women and the role of gonorrhoea serovars / Manavi K., Young H., Clutterbuck D. // Int. J. STD AIDS. — 2003. — Vol. 14. — P. 390–394.
12. *Neisseria gonorrhoeae* population in Arkhangelsk, Russia: phenotypic and genotypic heterogeneity / Unemo M.,

- Vorobieva V., Firsova N. [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. — 2007. — Vol. 13. — P. 873–878.
13. Palmer, H. M. Evaluation of the specificities of five DNA amplification methods for the detection of *Neisseria gonorrhoeae* / Palmer H. M., Mallinson H., Wood R. L., Herring A. J. // J. Clin. Microbiol. — 2003. — Vol. 41. — P. 835–837.
 14. Screening tests to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections / Johnson R. E., Newhall W. J., Papp J. R. [et al.] // MMWR Recomm. Rep. — 2002. — Vol. 18. — P. 1–38.
 15. Systematic review: noninvasive testing for *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* / Cook R. L., Hutchison S. L., Stergaard L. [et al.] // Ann. Intern. Med. — 2005. — Vol. 142. — P. 914–925.
 16. Tapsall, J. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* / Tapsall J. // World Health Organization: report. — Geneva: WHO, 2001. — (WHO/CDS/CSR/DSR/2001.3.0) (WHO/CDS/CSR/DSR/2001.3.0).
 17. Unemo, M. The *porA* pseudogene of *Neisseria gonorrhoeae* — low level of genetic polymorphism and a few, mainly identical, inactivating mutations / Unemo M., Norlén O., Fredlund H. // APMIS. — 2005. — Vol. 113. — P. 410–419.
 18. Whiley, D. M. Nucleic acid amplification testing for *Neisseria gonorrhoeae*: an ongoing challenge / Whiley D. M., Tapsall J. W., Sloots T. P. // J. Mol. Diagn. — 2006. — Vol. 8. — P. 3–15.
 19. Workowski, K. A. Sexually transmitted diseases treatment guidelines / Workowski K. A., Berman S. M. // Morbidity Mortality Weekly Report Recomm. Reports. — 2006. — Vol. 55(RR11). — P. 1–94.

Статья представлена Э. К. Айламазяном
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН,
Санкт-Петербург

QUALITY OF LABORATORY DIAGNOSTICS OF GONOCOCCAL INFECTION

Shipitsyna E. V., Maximova A. A., Guschin A. E., Martikainen Z. M., Ryzhih P. G., Savicheva A. M., Sokolovsky E. V., Shipulin G. A., Domeika M., Unemo M.

■ **Summary:** This study aimed to evaluate laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae*. In total, 334 consecutive symptomatic patients were enrolled. Cervical and urethral specimens from women (n = 286) and urethral specimens from men (n = 48) were analyzed by microscopy, culture and two in-house NAAT's, i. e., polymerase chain reaction (PCR) and nuclear acid based amplification (NASBA), developed in Russia. All *N. gonorrhoeae* positive samples were confirmed using *porA* pseudogene and 16S rRNA gene sequencing. All methods displayed 100 % specificity, i.e. positive predictive values of 100 %. Compared to most sensitive method (the PCR), in women the sensitivity of both microscopy and culture was 31,8 % and that of NASBA was 90,9 %. In men, microscopy culture and NASBA displayed a sensitivity of 75, 50 and 100 % respectively. The negative predicted values of microscopy, culture and NASBA were 97,3; 97,3 and 99,6 % in women and 97,8; 95,7 and 100 % in men, respectively. According to the PCR, the prevalence of *N. gonorrhoeae* was 4,5 and 8,3 % in women and men respectively. In conclusion, both the evaluated Russian NAATs displayed a high sensitivity and specificity. However, in general the diagnosis of gonorrhoea in Russia is suboptimal and crucially requires validation, improvements and quality assurance.

■ **Key words:** *Neisseria gonorrhoeae*; microscopy and culture diagnostics; PCR; NASBA