

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені М.І. ПИРОГОВА
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

БОЙКО ІРИНА БОРИСІВНА

УДК 616.98:576.851.232:615.33.015.8]-078(477)

ДИСЕРТАЦІЯ
МІКРОБІОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ГОНОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ,
АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ТА ГЕНОМНА ЕПІДЕМІОЛОГІЯ
***NEISSERIA GONORRHOEAE* В УКРАЇНІ**

03.00.07 – мікробіологія

22 – охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ І.Б. Бойко

Науковий керівник – **Магнус Унемо**, доктор філософії, професор

Тернопіль – 2021

АНОТАЦІЯ

Бойко І.Б. Мікробіологічна діагностика гонококової інфекції, антибіотикорезистентність та геномна епідеміологія *Neisseria gonorrhoeae* в Україні. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.07 «Мікробіологія» (22 – охорона здоров'я). – Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2021 р.; Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2021 р.

Дисертаційна робота присвячена детальній оцінці та оптимізації мікробіологічної діагностики гонококової інфекції на базі обласних шкірно-венерологічних диспансерів в Україні, дослідженню епідеміологічних особливостей гонококової інфекції, антибіотикорезистентності та геномної епідеміології ізолятів *N. gonorrhoeae*, які циркулювали в Україні у період 2013 – 2018 рр.

Метою дослідження була оптимізація мікробіологічної діагностики гонококової інфекції для дослідження антибіотикорезистентності й геномної епідеміології *N. gonorrhoeae* в Україні.

На підставі анкетного дослідження на базі обласних шкірно-венерологічних диспансерів України за період 2013 – 2014 рр. ($n = 14$) та опитування національних експертів ($n = 2$), обраних у 2018 – 2019 рр. Європейською спільною клінічною групою Міжнародної спілки проти інфекцій, які передаються статевим шляхом, з'ясовано, що мікробіологічна діагностика гонококової інфекції не відповідала рекомендаціям ВООЗ. Зокрема, лабораторії диспансерів не застосовували методу ампліфікації нуклеїнових кислот у період 2013 – 2014 рр. та лише 50 % ($1/2$) респондентів мали доступ до молекулярних тестів у 2018 – 2019 рр. Зовнішній контроль якості мікробіологічних методів діагностики гонококової інфекції

здійснювали у 50 % (6/12) опитаних. У більшості (85,7 %, 12/14) респондентів не визначали чутливості / антибіотикорезистентності *N. gonorrhoeae*.

За вивчення ростових властивостей поживних середовищ, встановлено, селективний шоколадний агар забезпечував високу частоту одержання клінічних ізолятів *N. gonorrhoeae* (91,5 %, [межі довірчого інтервалу 95 % (95 % ДІ): 79,6 – 97,6], $p < 0,0001$).

Частота одержання *N. gonorrhoeae* із застосуванням непоживного транспортного середовища агарового гелю Amies з вугіллям була вищою, ніж прямого способу посіву: 82,6 % [95 % ДІ: 68,6 – 92,2] проти 47,8 % [95 % ДІ: 32,9 – 63,1], $p < 0,0005$.

Оптимальні показники життєздатності гонококів були отримані за температури 2 – 8 °C та максимальній тривалості зберігання 24 год (93,5 % [95 % ДІ: 82,1 – 98,6]) та 48 год (73,9 % [95 % ДІ: 58,9 – 85,7]). За кімнатної температури (18 – 25 °C), прийнятна тривалість зберігання ізолятів *N. gonorrhoeae* була до 24 год (87 % [95 % ДІ: 73,8 – 95,1]).

Вивчення аналітичних характеристик мікроскопічного ($n = 455$) та культурального ($n = 43$) методів діагностики ГІ у порівнянні з міжнародними референтними молекулярними тестами Aptima Combo 2 (Hologic Inc., Сан- Дієго, США) встановило високу специфічність культурального (100 % [95 % ДІ: 91,8 – 100]) та мікроскопічного методів дослідження урогенітальних виділень (99,8 % [95 % ДІ: 98,8 – 100]). Проте, чутливість обох стандартних методів діагностики гонококової інфекції була субоптимальною та становила 71,4 % [95 % ДІ: 67,0 – 75,5] у випадку застосування мікроскопічного та 57,1 % [95 % ДІ: 41,1 – 72,1] – культурального методів. Діагностична чутливість мікроскопічного методу була вищою при дослідженні уретральних виділень у чоловіків (80,0 %, [95 % ДІ: 73,0 – 85,9], $p < 0,0001$) у порівнянні з цервікальними зразками у жінок (50 % [95 % ДІ: 44,2 – 55,8]).

Поширеність гонококової інфекції, визначена за допомогою молекулярних тестів Aptima Combo 2 у Тернопільській області серед дорослих осіб із симптомами урогенітальних інфекцій ($n = 455$), становила 1,5 %

[95 % ДІ: 0,60 – 3,09] та була вищою серед чоловіків (3,8 % [95 % ДІ: 1,41 – 8,07], $p = 0,004$), ніж серед жінок (0,3 % [95 % ДІ: 0,01 – 1,80]).

Дослідження клініко-епідеміологічних характеристик пацієнтів із підтвердженим діагнозом гонококової інфекції ($n = 136$) дозволило охарактеризувати епідеміологічні особливості гонококової інфекції у Тернопільській області у період 2013 – 2018 рр. Зокрема, інфікування пацієнтів відбувалося переважно в межах України (93,4 %) та регіону їх проживання (86,8 %), за межами України були інфіковані 1,5 % пацієнтів. Частка чоловіків, які мають сексуальні стосунки з чоловіками, становила 3,7 %; безсимптомні випадки гонококової інфекції реєстрували частіше у жінок (38,9 %, $p < 0,0001$), ніж у чоловіків (5,9 %); екстрагенітальні зразки були досліджені у 0,7 % пацієнтів; охоплення обстеженням статевих партнерів було низьким (11,0 %); візит контролю виліковності проходили 58,1 % пацієнтів.

Монотерапію цефтріаксоном (1 г) внутрішньом'язово отримували 16,79 % пацієнтів; монотерапію іншим антибіотиком (кларитроміцин, доксициклін, бензилпеніцилін, азитроміцин) – 16,03 %; комбіновану терапію цефтріаксоном, у поєднанні з іншим антибіотиком (доксициклін, кларитроміцин, азитроміцин, офлоксацин) – 67,18 %.

При визначенні чутливості 150 ізолятів *N. gonorrhoeae* до восьми антибіотиків встановлено, що 11,3 % ізолятів були резистентні до ципрофлоксацину, 6 % – до тетрацикліну та 0,7 % – до бензилпеніциліну. Жоден ізолят не був фенотипово резистентним до цефтріаксону, цефіксиму, азитроміцину, спектиноміцину та гентаміцину. Однак один ізолят мав межовий рівень резистентності до обох цефалоспоринів широкого спектра дії (цефтріаксону та цефіксиму) (мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) = 0,125 мг/л).

Повне секвенування геному 150 ізолятів *N. gonorrhoeae* встановило гетерогенність ізолятів гонококів, які циркулювали в Україні у період 2013 – 2018 рр. Було визначено 25 різних MLST (multi-locus sequence typing,

мультилокусне типування послідовностей) секвенс-типів, 50 NG-MAST (*N. gonorrhoeae* multi-antigen sequence typing, мультиантигенне типування послідовностей *N. gonorrhoeae*) секвенс-типів та 34 NG-STAR (*N. gonorrhoeae* sequence typing for antimicrobial resistance, типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae* щодо резистентності до антибіотиків) секвенс-типів.

Завдяки філогеномному аналізу визначено шість основних кластерів (C1 – C6) української популяції гонококів. Кластери C2, C3, C4 та C6 були генетично споріднені з міжнародно описаним мультичутливим родоводом гонококів та містили більшість ізолятів (83,3 % [95 % ДІ: 76,4 – 88,9]). Кластери C1 та C5 включали 16,7 % [95 % ДІ: 11,1 – 23,7] ізолятів та асоціювалися з резистентністю до ципрофлоксацину, тетрацикліну, бензилпеніциліну, а також з межевою чутливістю до цефалоспоринів широкого спектра дії.

Резистентність до ципрофлоксацину була зумовлена мутаціями *gyrA* гену (11,3 %) із наступними амінокислотними замінами GyrA у позиціях S91 та D95 (S91F+D95A (1,3 %) або S91F+D95G (10,0 %)) та мутаціями *parC* гену (8,7 %), спричиняючи амінокислотні заміни ParC S87R (6,0 %), E91G (1,3 %), D86N (0,7 %), або S87N (0,7 %). Резистентність до тетрацикліну була закріплена *rpsJ* V57M мутацією (16,7 %) і / або *tetM* (4,7 %). Резистентність та знижена чутливість до пеніцилінів була пов'язана із мозаїчною *penA*- 34,001 алеллю (2,7 %); продукцією β -лактамази (0,7 %); *mtrR* (11,3 %); несинонімічними замінами амінокислот G101 та A102 у білку порині PorB1b (12,7 %) та мутацією *ponA1*, що викликає амінокислотну зміну L421P у PBP1 (16,7 %). Виявлено один (0,7 %) ізолят міжнародно поширеного мультирезистентного NG-MAST ST1407, MLST ST1901 клону із фенотиповими ознаками межевої резистентності до цефтріаксону й цефіксиму.

Ключові слова: *Neisseria gonorrhoeae*, гонококова інфекція, антибіотикорезистентність, повне секвенування геному, мікробіологічна діагностика, епідеміологія.

ANNOTATION

Boiko I. B. Microbiologic diagnosis of gonococcal infection, antimicrobial resistance and genomic epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* in Ukraine. – Qualifying scientific work as a manuscript.

Dissertation for the scientific degree of the Candidate of Medical Sciences (Doctor of Philosophy) in speciality 03.00.07 «Microbiology» (22 – health protection). – I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ministry of Public Health of Ukraine, Ternopil, 2021; National Pirogov Memorial Medical University Ministry of Public Health of Ukraine, Vinnytsya, 2021.

The dissertation is devoted to the detailed evaluation and optimization of microbiologic diagnosis of gonococcal infection in Regional Dermato-Venereological Dispensaries in Ukraine, examination of the epidemiological features of gonococcal infection, antimicrobial resistance, and genomic epidemiology of *N. gonorrhoeae* isolates that circulated in Ukraine in 2013 – 2018.

The study aimed to optimize the microbiologic diagnosis of gonococcal infection for the antimicrobial resistance investigation and genomic epidemiology of *N. gonorrhoeae* in Ukraine.

Based on questionnaire study among Regional Dermato-Venereological Dispensaries of Ukraine in 2013 – 2014 (n = 14) and the survey of national experts (n = 2), selected in 2018 – 2019 by the European Collaborative Clinical Group of the International Union against Sexually Transmitted Infections, the microbiologic diagnosis of gonococcal infection did not comply with WHO recommendations. In particular, the dispensaries' laboratories did not use diagnostic nucleic acid amplification tests (NAATs) in 2013 – 2014, and only 50.0 % (1/2) of respondents had access to NAATs in 2018 – 2019. External quality control of microbiological methods for the diagnosis of gonococcal infection was carried out by 50.0 % (6/12) of respondents. Most (85.7 %, 12/14) of the respondents did not determine the antimicrobial susceptibility / resistance of *N. gonorrhoeae* isolates.

It was established that gonococcal culture using selective chocolate agar demonstrated high growth characteristics for gonococci isolation (91.5 % [95 % confidence limits (CI 95 %): 79.6 – 97.6], $p < 0.0001$) for isolation of *N. gonorrhoeae*.

The isolation rate of *N. gonorrhoeae* using non-nutritive transporting medium Amies Agar Gel Medium with charcoal was higher than the bedside method: 82.6 % [95 % CI: 68.6 – 92.2] versus 47.8 % [95 % CI: 32.9 – 63.1], $p < 0.0005$.

Optimal viability indices of gonococci were obtained at a temperature of 2 – 8 °C and a storage time of maximum 24 hours (93.5 % [95 % CI: 82.1 – 98.6]) followed by 48 hours (73.9 % [95 % CI: 58.9 – 85.7]). At room temperature (18 – 25 °C), sufficient storage time of *N. gonorrhoeae* isolates was up to 24 hours (87.0 % [95 % CI: 73.8 – 95.1]).

An analytical study of the diagnostic characteristics of microscopy (n = 455) and culture (n = 43) compared to the international Aptima Combo 2 (Hologic Inc., San Diego, USA) reference NAAT established a high specificity of culture (100 % [95 % CI: 91.8 – 100 %]) and microscopy of urogenital specimens (99.8 % [95 % CI: 98.8 – 100 %]). However, the sensitivity of both these standard diagnostic methods for gonococcal infection was suboptimal, i.e. 71.4 % [95 % CI: 67.0 – 75.5] using microscopy and 57.1 % [95 % CI: 41.1 – 72.1] culture. Diagnostic sensitivity was higher with microscopy of urethral discharges in men (80.0 % [95 % CI: 73.0 – 85.9], $p < 0.0001$) compared to cervical specimens in women (50.0 % [95 % CI: 44.2 – 55.8]).

The prevalence of gonococcal infection, determined by Aptima Combo 2 NAAT, among adult patients with symptoms of urogenital infections in Ternopil region (n = 455) was 1.5 % [95 % CI: 0.60 – 3.09] and was higher among men (3.8 % [95 % CI: 1.41 – 8.07], $p = 0.004$) than among women (0.3 % [95 % CI: 0.01 – 1.8]).

The clinical and epidemiological characteristics of patients with a confirmed diagnosis of gonococcal infection (n = 136) made it possible to characterize the epidemiological features of gonococcal infection in Ternopil region from 2013 to

2018. Thus, patients were mainly infected within Ukraine (93.4 %) and in their area of residence (86.8 %), some patients (1.5 %) were infected abroad. The proportion of men who have sex with men was 3.7 %; asymptomatic gonococcal infections were recorded more often in women (38.9 %, $p < 0.0001$) than in men (5.9 %); extra-genital samples were examined in 0.7 % of patients; the rate of examined sexual partners was low (11.0 %); and 58.1 % of patients underwent a test of cure.

Ceftriaxone monotherapy (1 g intramuscularly) was received by 16.79 % of patients; monotherapy with another antibiotic (clarithromycin, doxycycline, benzylpenicillin, azithromycin) by 16.03 %; combination therapy with ceftriaxone in combination with another antibiotic (doxycycline, clarithromycin, azithromycin, ofloxacin) by 67.18 %.

Determination of the antimicrobial susceptibility of 150 *N. gonorrhoeae* isolates to eight antibiotics showed that 11.3 % isolates were resistant to ciprofloxacin, 6.0 % – to tetracycline and 0.7 % – to benzylpenicillin. None of the isolates was phenotypically resistant to ceftriaxone, cefixime, azithromycin, spectinomycin, or gentamicin. However, one isolate had a borderline resistance to both the extended-spectrum cephalosporins (ceftriaxone and cefixime) (minimal inhibitory concentration (MIC) = 0.125 mg/L).

Whole genome sequencing of 150 *N. gonorrhoeae* isolates established the heterogeneity of gonococcus isolates circulated in Ukraine from 2013 to 2018. Twenty-five different MLST (multi-locus sequence typing) sequence types, 50 NG-MAST (*N. gonorrhoeae* multi-antigen sequence typing) sequence types and 34 NG-STAR (*N. gonorrhoeae* sequence typing for antimicrobial resistance) sequence types were detected.

According to the phylogenomic analysis, six main clusters (C1 – C6) of the Ukrainian gonococcal population were identified. Clusters C2, C3, C4 and C6 were genomically associated with the internationally described multidrug-susceptible gonococcal lineage and contained the majority of isolates (83.3 % [95 % CI: 76.4 – 88.9]). Clusters C1 and C5 included 16.7 % [95 % CI: 11.1 – 23.7] of isolates and were associated with resistance to ciprofloxacin, tetracycline,

benzylpenicillin, as well as with borderline resistance to extended-spectrum cephalosporins.

Resistance to ciprofloxacin was due to *gyrA* gene mutations (11.3 %) resulting in amino acid substitutions in GyrA at positions S91 and D95 (S91F+D95A (1.3 %) or S91F+D95G (10.0 %)) and *parC* gene mutations (8.7 %) causing the amino acid substitutions ParC S87R (6.0 %), E91G (1.3 %), D86N (0.7 %), or S87N (0.7 %). Tetracycline resistance was caused by the *rpsJ* V57M mutation (16.7 %) and / or presence of *tetM* (4.7 %). Resistance and decreased susceptibility to penicillins was associated with the mosaic *penA*-34.001 allele (2.7 %), β -lactamase production (0.7 %), *mtrR* (11.3 %), non-synonymous substitutions of amino acids G101 and A102 in porin PorB1b (12.7 %) and the *ponA1* mutation, which causes the L421P amino acid change in PBP1 (16.7 %). One (0.7 %) isolate of the internationally spreading multidrug-resistant NG-MAST ST1407, MLST ST1901 clone, with borderline resistance to ceftriaxone and cefixime, was detected.

Keywords: *Neisseria gonorrhoeae*, gonococcal infection, antimicrobial resistance, whole genome sequencing, microbiologic diagnosis, epidemiology.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Jacobsson S, Boiko I, Golparian D, Blondeel K, Kiarie J, Toskin I, Peeling RW, Unemo M. WHO laboratory validation of Xpert®CT/NG and Xpert®TV on the GeneXpert system verifies high performances. *APMIS*. 2018;126(12):907 – 12. (Особистий внесок* – брала участь в аналізі літератури, узагальненні результатів проведених досліджень та підготовці статті).

2. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, Jacobsson S, Unemo M. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates and treatment of gonorrhoea patients in Ternopil and Dnipropetrovsk regions of Ukraine, 2013 – 2018. *APMIS*. 2019;127(7):503 – 9.

(* – брала участь в плануванні експерименту, аналізі літератури, проведенні

експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці статті до друку).

3. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Unemo M. High prevalence of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and particularly *Trichomonas vaginalis* diagnosed using US FDA-approved Aptima Combo 2 molecular tests and evaluation of conventional routine diagnostic tests in Ternopil, Ukraine. *APMIS*. 2019;127(9):627 – 34. (* – брала участь в плануванні експерименту, аналізі літератури, проведенні експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці статті).

4. Unemo M, Clarke E, Boiko I, Patel C, Patel R. Adherence to the 2012 European gonorrhoea guideline in the WHO European Region according to the 2018 – 19 International Union against Sexually Transmitted Infections European Collaborative Clinical Group gonorrhoea survey. *Int J STD AIDS*. 2020;31(1):69 – 76. (* – брала участь в аналізі літератури, статистичній обробці результатів експериментальних досліджень, підготовці статті).

5. Boiko I, Golparian D, Jacobsson S, Krynytska I, Frankenberg A, Shevchenko T, Unemo M. Genomic epidemiology and antimicrobial resistance determinants of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Ukraine, 2013 – 2018. *APMIS*. 2020;128(7):465 – 475. (* – брала участь в плануванні експерименту, аналізі літератури, проведенні експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці статті).

6. Бойко І. Б., Криницька І. Я., Когут І. Й. Діагностика гонореї в Україні відповідно до рекомендацій ВООЗ. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2020;1(76):7 – 14. (* – брала участь в плануванні експерименту, аналізі літератури, проведенні експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці статті).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, Jacobsson S, Unemo M. High antimicrobial susceptibility in *Neisseria*

gonorrhoeae isolates in Ternopil and Dnipropetrovsk regions of Ukraine during 2013 – 2017. International Union against Sexually Transmitted Infections (IUSTI) World + European Congress 2018, 18 June, *Dublin, Ireland*. – Electronic Poster and oral presentation. (*Best Poster award, IUSTI World Congress*). (* – автором розроблено план експерименту, виконано аналіз літератури, експериментальні дослідження та їх статистичну обробку, підготовлено, поданого до друку тези, представлено доповідь).

8. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Unemo M. P – 18. Genomic epidemiology and antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates: first data from Ukraine, 2013 – 2018. 33d IUSTI-Europe Congress on Sexually Transmitted Infections (05 – 07.09.2019, Tallinn, Estonia). 2019;91. (* – брала участь в плануванні експерименту, аналізі літератури, проведенні експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці та проведенні презентації).

9. Бойко І., Безкоровайна Г. Практика виділення чистих культур *Neisseria gonorrhoeae* у Тернопільській області з метою вивчення антибіотикорезистентності. *Дерматологія та венерологія*. 2015;3(69):96. (* – автором виконано планування експерименту, аналіз літератури, проведено експеримент, їх статистичний аналіз, підготовці тез до публікації).

10. Бойко І.Б., Безкоровайна Г.О. Поліпшення якості мікробіологічної діагностики гонококової інфекції з метою систематичного моніторингу антибіотикорезистентності. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2016;4(63):124 – 5. (* – брала участь в аналізі літератури, проведенні експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці тез до публікації).

11. Бойко І.Б. Локальний моніторинг антибіотикорезистентності *Neisseria gonorrhoeae* у Тернопільській області. *Журнал дерматовенерології та косметології імені М. О. Торсуєва*. 2017;1(37):70 – 1.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	16
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1 МІКРОБІОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ГОНОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ, АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ТА ГЕНОМНА ЕПІДЕМІОЛОГІЯ <i>NEISSERIA GONORRHOEAE</i> (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	29
1.1. Історія мікробіологічної діагностики <i>N. gonorrhoeae</i>	29
1.2. Біологія та клітинна структура <i>N. gonorrhoeae</i>	30
1.3. Клінічні аспекти гонококової інфекції.....	34
1.4. Лікування гонококової інфекції.....	35
1.5. Феномен антибіотикорезистентності <i>N. gonorrhoeae</i>	36
1.6. Механізми резистентності <i>N. gonorrhoeae</i> до визначених класів антибіотиків	38
1.6.1. β -лактамні антибіотики.....	39
1.6.2. Азитроміцин.....	40
1.6.3. Фторхінолони.....	40
1.6.4. Тетрацикліни.....	41
1.6.5. Гентаміцин	41
1.6.6. Спектиноміцин.....	41
1.7. Мікробіологічні методи діагностики гонококової інфекції.....	42
1.7.1. Мікроскопічний метод.....	42
1.7.2. Культуральний метод.....	43
1.7.3. Молекулярні методи діагностики.....	45
1.7.4. Швидкі тести.....	46

	13
1.8. Мікробіологічні, молекулярні та геномні методи визначення антибіотикорезистентності <i>N. gonorrhoeae</i>	46
1.8.1. Визначення фенотипу антибіотикорезистентності <i>N. gonorrhoeae</i> .	46
1.8.2. Молекулярне типування <i>N. gonorrhoeae</i>	47
1.8.3. Принципи повного секвенування геному <i>N. gonorrhoeae</i>	49
1.9. Епідеміологія <i>N. gonorrhoeae</i> в Україні та інших країнах Європи	50
1.10. Спостереження за розвитком антибіотикорезистентності <i>N. gonorrhoeae</i>	52
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	54
2.1. Основні етапи та методи дослідження	54
2.2. Оцінювання мікробіологічної діагностики гонококової інфекції в Україні	57
2.3. Етапи дослідження аналітичних характеристик культурального методу діагностики гонококової інфекції	58
2.4. Порівняння ростових властивостей поживних середовищ відносно виділення <i>N. gonorrhoeae</i> культуральним методом	58
2.5. Порівняння прямого і непрямого способів посіву біологічного матеріалу для виділення <i>N. gonorrhoeae</i> культуральним методом	62
2.6. Дослідження умов життєздатності <i>N. gonorrhoeae</i> за зберігання у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям	63
2.7. Валідаційне дослідження стандартної операційної процедури виділення <i>N. gonorrhoeae</i> культуральним методом	64
2.8. Визначення поширеності гонококової інфекції та аналітичних характеристик стандартних методів діагностики	67
2.8.1. Забір біологічних зразків для референс-тестування	68
2.8.2. Стандартні методи діагностики гонококової інфекції	69

	14
2.9. Клініко-епідеміологічна характеристика пацієнтів із гонококовою інфекцією.....	69
2.10. Визначення чутливості ізолятів <i>N. gonorrhoeae</i> до антибіотиків.....	71
2.11. Повне секвенування геному ізолятів <i>N. gonorrhoeae</i>	72
2.12. Методи статистичної обробки отриманих результатів	74
РОЗДІЛ 3 ВИВЧЕННЯ СТАНУ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ГОНОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ В УКРАЇНІ.....	78
3.1. Оцінювання мікробіологічної діагностики гонококової інфекції в Україні за допомогою анкетування	78
3.1.1. Анкетування щодо можливостей діагностики гонококової інфекції в обласних шкірно-венерологічних диспансерах України	78
3.1.2. Анкетування «ECCG 2018 Questionnaire (Gonorrhoea)» серед країн Європейського регіону ВООЗ, включаючи Україну	85
3.2. Дослідження аналітичних характеристик культурального методу залежно від виділення <i>N. gonorrhoeae</i> на різних поживних середовищах...	88
3.3. Дослідження аналітичних характеристик культурального методу залежно від способів посіву уrogenітального матеріалу для виділення <i>N. gonorrhoeae</i>	91
3.4. Дослідження умов життєздатності <i>N. gonorrhoeae</i> за зберігання у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям	94
3.5. Валідаційне дослідження стандартної операційної процедури виділення <i>N. gonorrhoeae</i> культуральним методом.....	96
3.6. Визначення поширеності гонококової інфекції та аналітичних характеристик стандартних методів діагностики	98
РОЗДІЛ 4 КЛІНІКО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦІЄНТІВ ІЗ ГОНОКОКОВОЮ ІНФЕКЦІЄЮ	104

РОЗДІЛ 5 ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ІЗОЛЯТІВ <i>N. GONORRHOEAE</i> ДО АНТИБІОТИКІВ	115
РОЗДІЛ 6 ПОВНЕ СЕКВЕНУВАННЯ ГЕНОМУ ІЗОЛЯТІВ <i>N. GONORRHOEAE</i>	127
6.1. Генетичні детермінанти резистентності <i>N. gonorrhoeae</i> до антибіотиків	127
6.2. Молекулярна епідеміологія та філогенетичний аналіз <i>N. gonorrhoeae</i>	133
РОЗДІЛ 7 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	148
ВИСНОВКИ.....	170
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	173
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	175
ДОДАТКИ.....	204

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АБР	– антибіотикорезистентність
ГНК-агар	– поживне середовище для одержання та культивування гонококів суше (ГНК-агар) (Федеральний бюджетний заклад науки державного центру прикладної мікробіології та біотехнології м. Оболенськ, Російська Федерація)
ГІ	– гонококова інфекція
95 % ДІ	– межі довірчого інтервалу 95 %
ДНР	– дійсно негативні результати
ДПР	– дійсно позитивні результати
ЖПС	– жовткове поживне середовище
ЗУ	– загальна узгодженість
ІПСШ	– інфекції, які передаються статевим шляхом
КДЛ	– клініко-діагностична лабораторія
МАНК	– метод ампліфікації нуклеїнових кислот
МІК	– мінімальна інгібуюча концентрація
МІК₅₀	– мінімальна інгібуюча концентрація до антибіотиків із пригніченням 50 % ізолятів
МІК₉₀	– мінімальна інгібуюча концентрація до антибіотиків із пригніченням 90 % ізолятів
ОШВД	– обласний шкірно-венерологічний диспансер
ПНЗ	– прогнозоване негативне значення
ППЗ	– прогнозоване позитивне значення
ПС	– поживне середовище
ПСГ	– повне секвенування геному
СВГ	– селективний набір для одержання гонококів культуральним методом (Федеральний бюджетний

заклад науки НДІ епідеміології та мікробіології ім. Пастера, Санкт-Петербург, Російська Федерація)

- СМД** – стандартні методи діагностики
- СОП** – стандартна операційна процедура
- ТМ** – селективний агар Тайера-Мартіна (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Мумбаї, Індія)
- ТОКШВД** – Комунальна установа Тернопільської обласної ради «Тернопільський обласний клінічний шкірно-венерологічний диспансер»
- ТС** – непоживне транспортне середовище агарового гелю Amies з вугіллям (Coran Diagnostics Inc., Брешиа, Італія)
- ЧСЧ** – чоловіки, які мають статеві стосунки із чоловіками
- ХНР** – хибно негативні результати
- ХПР** – хибно позитивні результати
- ЦШСД** – цефалоспорини широкого спектра дії
- центр співробітництва ВООЗ** – центр співробітництва ВООЗ з питань гонореї та інших інфекцій, які передаються статевим шляхом, відділення лабораторної медицини та клінічної мікробіології Університетської лікарні м. Оребро (Швеція)
- ША** – селективний шоколадний агар (bioMérieux, Марсу- l'Étoile, Франція)
- тест(и) Aptima** – референтні молекулярні тести Aptima Combo 2 (Hologic Inc., Сан-Дієго, Каліфорнія, США)
- С** – кластер (cluster)
- EUCAST** – Європейський комітет з визначення чутливості до антимікробних препаратів (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)

FDA	- Управління із санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів (США) (Food and Drug Administration (USA))
I	- помірно стійкий або чутливий у разі підвищеного дозування (intermediate)
IQR	- міжквартильний діапазон (interquartile range)
MALDI-TOF MS	- час-пролітний мас-спектрометричний аналіз за типом матрикс-асоційованої спектрометрії часу прольоту десорбованих лазером іонізованих мас (Matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry)
MLST	- мультилокусне типування послідовностей (Multi-locus sequence typing)
NG-MAST	- мультиантигенне типування послідовностей <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (Neisseria gonorrhoeae multi- antigen sequence typing)
NG-STAR	- типування послідовностей <i>Neisseria gonorrhoeae</i> щодо резистентності до антибіотиків (Neisseria gonorrhoeae sequence typing for antimicrobial resistance)
PBP1	- пеніцилін-зв'язувальний білок першого типу (penicillin- binding protein type 1)
PBP2	- пеніцилін-зв'язувальний білок другого типу (penicillin- binding protein type 2)
PorB	- білок порин зовнішньої мембрани клітинної стінки <i>N. gonorrhoeae</i>
R	- резистентний (resistant)
S	- чутливий у разі стандартного режиму дозування (susceptible)
SNP(s)	- однонуклеотидний(і) поліморфізм(и) (single nucleotide polymorphism(s))

ST(s)

– секвенс-тип(и) (sequence-type(s))

WT

– «дикий тип» (wild type), до якого належать ізоляти, позбавлені мутаційних або інших набутих механізмів стійкості до конкретного антибіотика

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Бактеріальні інфекції, які передаються статевим шляхом (ПСШ), є глобальною проблемою системи охорони здоров'я [229]. Гонококова інфекція (ГІ), спричинена грамнегативними диплококами виду *Neisseria gonorrhoeae*, залишається другою найпоширенішою бактеріальною ПСШ у світі [132, 160, 177]. Нелікована ГІ зумовлює важкі ускладнення у чоловіків і жінок репродуктивного й працездатного віку, в тому числі непліддя [39]. Існує високий ризик інфікування новонародженої дитини від хворої на ГІ матері в процесі пологів із розвитком гонококового кон'юнктивіту та, за відсутності лікування, сліпоти [12]. Крім того, *N. gonorrhoeae* є вагомим фактором ризику щодо інфікування й подальшого передавання ВІЛ- інфекції [49, 139, 214].

ВООЗ повідомила про 86,9 млн випадків ГІ серед дорослого населення планети у 2016 році [177]. Захворюваність на ГІ зросла у 1,5 раза (з 17,1 до 26,4 на 100 тис. населення) у країнах Європейського союзу та Європейської економічної зони впродовж 2000 – 2018 рр. [60, 88]. Водночас в Україні даний показник знизився у 5,5 раза (з 52,9 до 9,7 на 100 тис. населення) [13, 14]. Високий рівень виявлення ГІ у країнах Європейського союзу та Європейської економічної зони пов'язаний, зокрема, зі збільшенням захворюваності та із широким застосуванням високочутливих і специфічних методів ампліфікації нуклеїнових кислот (МАНК) [39, 68, 122, 183, 194, 226]. Імовірними причинами заниженої статистики захворюваності на ГІ в Україні є неповна офіційна реєстрація пацієнтів, використання низькочутливих і низькоспецифічних методів для скринінгу і діагностики, а також самолікування інфікованих осіб через широку безрецептурну доступність антибактеріальних препаратів [9, 10, 16, 18].

Специфічною особливістю сучасного перебігу ГІ є малосимптомність або безсимптомність, а також розвиток антибіотикорезистентності (АБР) гонококів до майже всіх груп антибіотиків, в тому числі й до цефалоспоринів

широкого спектра дії (ЦШСД) та азитроміцину – сучасної та, на даний час, єдиної комбінації антибіотиків для емпіричного лікування ГІ, яку більшість країн використовують як спосіб подвійної терапії [23, 33, 39, 48, 176, 226, 228]. Це вкрай ускладнює менеджмент ГІ та значно сприяє подальшому поширенню й персистенції інфекції в популяції [49].

За відсутності вакцини та на тлі поширення АБР гонококів, контроль за ГІ суттєво залежить від раннього виявлення інфікованих осіб та їхніх статевих партнерів за допомогою високочутливих і високоспецифічних із гарантованою якістю методів мікробіологічної діагностики, а також вчасного та ефективного лікування [39, 214]. У відповідь на розвиток АБР гонококів багато країн у світі впровадили національні програми спостереження, в тому числі із залученням методів молекулярної та геномної епідеміології [64, 71, 89, 90, 112, 115], спрямовані на визначення молекулярних та генетичних детермінант АБР та геномної епідеміології, включаючи вивчення популяційної структури гонококів [164].

Дотепер в Україні не затверджено національної програми щодо спостереження за АБР гонококів, для емпіричного лікування ГІ використовують низку антибіотиків [21, 22], але ізоляти гонококів не досліджують ні фенотипово, ні генотипово. Все вищевикладене зумовило актуальність даного дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом наукових досліджень комплексної науково-дослідної програми кафедри мікробіології, вірусології та імунології Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України «Моніторинг антибіотикорезистентних штамів при соматичній та інфекційній патології в осіб різного віку» (№ державної реєстрації 0119U000168). Дослідження було підтримане грантами Комітету з досліджень ради округу Оребро та Фонду медичних досліджень при Університетській лікарні м. Оребро (Швеція).

Мета дослідження: оптимізація мікробіологічної діагностики гонококової інфекції для дослідження антибіотикорезистентності й геномної епідеміології *N. gonorrhoeae* в Україні.

Завдання дослідження:

1. Провести аналіз мікробіологічних методів діагностики гонококової інфекції в обласних шкірно-венерологічних диспансерах відповідно до рекомендацій ВООЗ.

2. Визначити аналітичні характеристики стандартних методів діагностики гонококової інфекції в Україні.

3. З'ясувати епідеміологічний профіль пацієнтів з гонококовою інфекцією та застосовану антибіотикотерапію.

4. Дослідити антибіотикорезистентність ізолятів *N. gonorrhoeae*, виділених в Україні.

5. Охарактеризувати генетичні механізми антибіотикорезистентності *N. gonorrhoeae*.

6. Описати геномну епідеміологію ізолятів *N. gonorrhoeae* в Україні.

Об'єкт дослідження: гонококова інфекція.

Предмет дослідження: мікробіологічна діагностика ГІ, аналітичні характеристики мікробіологічних методів діагностики ГІ, епідеміологія ГІ, мінімальна інгібуюча концентрація (МІК, мг/л) антибіотиків до ізолятів *N. gonorrhoeae*, продукція β-лактамази ізолятами *N. gonorrhoeae*, геноми ізолятів *N. gonorrhoeae*.

Методи дослідження: бібліосемантичний (вивчення фахової сучасної міжнародної літератури з досліджуваної проблеми), соціологічний (проведення анкетувань), мікробіологічні (мікроскопічний метод із забарвленням урогенітального матеріалу метиленовим синім і за Грамом; виділення гонококів у культурах, швидкий тест на продукцію ізолятами *N. gonorrhoeae* цитохром С-оксидази; швидкий тест утилізації цукрів; час-пролітний мас-спектрометричний аналіз за типом матрикс-асоційованої спектрометрії часу прольоту десорбованих лазером іонізованих мас; Е-тест

для визначення МІК антибіотиків; нітроцефіновий тест на визначення продукції β -лактамази), молекулярно-біологічні (МАНК), геномні (повне секвенування геному (ПСГ) ізолятів *N. gonorrhoeae*), математично-статистично-біоінформативні.

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертаційна робота містить нові дані для розв'язання наукової проблеми, що стосується АБР та геномної епідеміології гонококів в Україні.

Уперше, за допомогою міжнародних стандартизованих методів ВООЗ, визначено антибіотикочутливість ізолятів гонококів, які циркулювали у 2013 – 2018 рр. у Тернопільській та Дніпропетровській областях, та встановлено значущі рівні АБР *N. gonorrhoeae* до ципрофлоксацину (11,3 %), тетрацикліну (6,0 %) та бензилпеніциліну (0,7 %). Отримані результати дали змогу вперше включити дані про АБР гонококів з України до Глобальної програми ВООЗ щодо спостереження за АБР гонококів (WHO Global Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme).

Уперше досліджено геномну епідеміологію гонококів в Україні з використанням повного секвенування геному, визначення молекулярно-епідеміологічних секвенс-типів та вивчення генетичних детермінант антибіотикорезистентності. Було охарактеризовано 30 нових NG-MAST секвенс-типів, 17 нових NG-STAR секвенс-типів та 7 нових MLST секвенс-типів. Усі зчитування послідовностей повного секвенування геному ізолятів гонококів з України доступні у Європейському нуклеотидному архіві (European Nucleotide Archive, ENA; PRJEB36606).

Уперше в Україні за допомогою високочутливих та високоспецифічних референтних молекулярних тестів Aptima Combo 2, затверджених FDA (Управління із санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів, США), було встановлено надійний, якісно контрольований та епідеміологічно значущий (1,5 %) рівень поширеності ГІ серед дорослих осіб із симптомами уrogenітальних інфекцій у Тернопільській області.

Набуло подальшого розвитку дослідження аналітичних характеристик стандартних методів діагностики ГІ в Україні шляхом визначення субоптимальної чутливості мікроскопічного методу із забарвленням урогенітального матеріалу метиленовим синім і за Грамом (71,4 %) та культурального методу виділення *N. gonorrhoeae* (57,1 %).

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати суттєво впливають на розвиток рутинної та молекулярної епідеміології ГІ в Україні, а також поглиблюють знання про механізми розповсюдження гонококів у межах України та їхні зв'язки з популяцією гонококів, поширених в інших країнах. Разом із цим отримані дані про фенотипові й геномні характеристики ізолятів гонококів, які циркулювали у Тернопільській та Дніпропетровській областях, дали змогу запропонувати антибіотики для першої лінії емпіричного лікування ГІ (цефтріаксон, азитроміцин, спектиноміцин), а також й ті, що слід взагалі вилучити зі схем лікування (ципрофлоксацин, тетрациклін, бензилпеніцилін). Представлені у роботі дані субоптимальних аналітичних характеристик стандартних методів діагностики ГІ є підґрунтям для невідкладного широкого впровадження валідованих та якісно гарантованих молекулярних аналізів ДНК гонококів в Україні. Оптимізована, валідована та якісно контрольована стандартна операційна процедура (СОП) культурального методу діагностики ГІ із використанням непоживного транспортного середовища агарового гелю Amies з вугіллям і селективного шоколадного агару була впроваджена у практичну діяльність лабораторії Комунальної установи Тернопільської обласної ради «Тернопільський обласний клінічний шкірно-венерологічний диспансер» та може також використовуватись у практиці інших бактеріологічних лабораторій в Україні та світі. Запровадила в практику ТОКШВД методологію забору клінічного матеріалу для молекулярно-біологічного методу дослідження ГІ та методологію одержання ізолятів *N. gonorrhoeae* для їх наступної молекулярно-генетичної ідентифікації, дослідження АБР

відповідно до міжнародних стандартів ВООЗ щодо мікробіологічної діагностики ГІ.

Результати дослідження впроваджено у науковий та навчальний процес таких установ:

- кафедри функціональної й лабораторної діагностики та кафедри мікробіології, вірусології та імунології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України;
- кафедри мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету;
- кафедри шкірних та венеричних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України.

Результати дослідження також впроваджено у клініко-діагностичний процес:

- лабораторії мікробіології та відділу інфекцій, які передаються статевим шляхом Державної установи «Інститут дерматології та венерології національної медичної академії наук України»;
- поліклінічного відділу комунального підприємства «Обласний шкірно-венерологічний диспансер» Дніпропетровської обласної ради;
- комунального підприємства «Рівненський обласний шкірно-венерологічний диспансер» Рівненської обласної ради;
- бактеріологічного відділу клініко-діагностичної лабораторії Комунального некомерційного підприємства «Херсонський обласний шкірно-венерологічний диспансер» Херсонської обласної ради.

Особистий внесок здобувача:

- провела інформаційно-патентний пошук та аналіз літературних джерел щодо мікробіологічних аспектів ГІ та методів її діагностики;
- розробила анкету для оцінювання можливостей мікробіологічної діагностики ГІ в ОШВД України;

- виконала валідаційні аналітичні дослідження культурального методу діагностики ГІ, оптимізувала СОП культурального методу діагностики ГІ й впровадила її в практику ТОКШВД;
- виконала забір клінічного матеріалу від хворих для молекулярно-біологічного методу дослідження ГІ відповідно до міжнародних стандартів ВООЗ;
- виділила ізоляти *N. gonorrhoeae* для їх наступної молекулярно-генетичної ідентифікації та дослідження АБР відповідно до міжнародних стандартів ВООЗ;
- провела мікробіологічні дослідження біологічних властивостей ізолятів *N. gonorrhoeae*, нітроцефіновий тест, Е-тест, MALDI-TOF MS;
- здійснила статистичний і науковий аналіз отриманих даних, написала всі розділи дисертації.

Окреслення завдань, інтерпретацію результатів, формування висновків і практичних рекомендацій дисертації здійснено разом із науковим керівником. Визначення концепції дослідження, теоретичне обґрунтування роботи, методичне консультування, курацію виконання роботи здійснив науковий керівник.

Мікробіологічні, молекулярні та геномні дослідження на базі центру співробітництва ВООЗ з питань гонореї та інших інфекцій, які передаються статевим шляхом, відділення лабораторної медицини та клінічної мікробіології Університетської лікарні м. Оребро (Швеція) здійснено за безпосередньої участі здобувача. Публікації за темою дисертації оригінальні. З наукових праць, опублікованих у співавторстві, у дисертації використано лише ті ідеї, положення й висновки, які є результатом особистої роботи здобувача та становлять її індивідуальний внесок. Персональний внесок дисертанта наводиться в дисертації, авторефераті в списку опублікованих праць. Конфлікту інтересів немає.

Автор висловлює глибоку вдячність в організації та проведенні досліджень: Магнусу Унемо, доктору філософії, професору; О. І. Хара,

кандидату медичних наук, головному лікарю ТОКШВД; І. Я. Криницькій, доктору медичних наук, професору, професору кафедри функціональної і лабораторної діагностики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України; колективу центру співробітництва ВООЗ з питань гонореї та інших інфекцій, які передаються статевим шляхом, відділення лабораторної медицини та клінічної мікробіології Університетської лікарні м. Оребро (Швеція); колективу клініко-діагностичної лабораторії та диспансерного відділення ТОКШВД.

Апробація матеріалів дисертації. Основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації дисертаційної роботи оприлюднено на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Дерматовенерологія в розробках молодих учених» (м. Київ, 19 – 20 листопада 2015 р.); науково-практичній конференції «Менеджмент надання спеціалізованої медичної допомоги при інфекціях, які передаються статевим шляхом» (м. Тернопіль, 26 – 27 листопада 2015 р.); всеукраїнській науково-практичній конференції Української асоціації лікарів-дерматовенерологів і косметологів із міжнародною участю «Сучасні підходи до формування клінічних настанов із діагностики та лікування шкірних захворювань й інфекцій, що передаються статевим шляхом: європейський досвід і всеукраїнські реалії» (м. Тернопіль, 19 – 20 жовтня 2016 р.); світовому та європейському конгресі Міжнародної спілки проти інфекцій, які передаються статевим шляхом (м. Дублін, Ірландія, 27 – 30 червня 2018 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Питання профілактики, сучасна діагностика та інноваційні методи терапії в дерматовенерології» (м. Харків, 15 – 16 листопада 2018 р.); 33-му європейському конгресі Міжнародної спілки проти інфекцій, які передаються статевим шляхом (м. Таллінн, Естонія, 5 – 7 вересня 2019 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 11 наукових праць, у тому числі 6 статей оригінальних досліджень, з яких 1 – у міжнародному виданні першого квартилю та 4 – у міжнародних виданнях другого квартилю відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank та

проіндексованих у базах даних Web of Science Collection та Scopus, 1 – у фаховому державному виданні, рекомендованому МОН України, 5 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій та конгресів (2 – у міжнародних (світових та європейських) конгресах).

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 222 сторінках друкованого тексту (основна текстова частина – на 137 сторінках) та містить вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів досліджень, 4 розділи власних досліджень, розділ аналізу й узагальнення результатів, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, що налічує 231 найменування (24 кирилицею, 207 латиницею), додатки. Робота ілюстрована 23 рисунками та 36 таблицями.

РОЗДІЛ 1

МІКРОБІОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ГОНОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ, АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ТА ГЕНОМНА ЕПІДЕМІОЛОГІЯ *NEISSERIA GONORRHOEAE* (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Історія мікробіологічної діагностики *N. gonorrhoeae*

Гонококова інфекція є другою з найпоширеніших у світі [160], а також відомою з найдавніших часів бактеріальною інфекцією, яка передається статевим шляхом (ПСС) [139, 217]. ГІ виникає за умови зараження грамнегативними диплококами *Neisseria gonorrhoeae* (гонококами), які належать до родини *Neisseriaceae*, роду *Neisseria* [15, 200]. У 1879 році Альберт Нейсер відкрив збудник ГІ – *N. gonorrhoeae* [11, 139]. Leistikow та Löffler виявили гонококи *in vitro* в посіві в 1882 році [15, 139]. Візуалізація бактерій як грамнегативних диплококів стала можливою завдяки методу фарбування за Грамом, впровадженим Гансом Грамом у 1884 році [139].

Незважаючи на те, що протягом століть ГІ розпізнавали за клінічними симптомами, одержання гонококів у культурах залишалося складним завданням. Особливі труднощі виникали при посіві на неселективні ПС клінічного матеріалу з таких місць як жіноча уrogenітальна ділянка, пряма кишка та ротоглотка. Рясний і швидкий ріст чисельної супутньої мікрофлори з цих мікробіомів пригнічував розвиток гонококів [121]. Селективне ПС Тайєра-Мартіна було запропоноване у 1960-х роках, що істотно покращило діагностику ГІ, особливо серед жінок [36, 139]. Широке впровадження селективних ПС у культуральний метод стало важливим інструментом у визначенні високої поширеності ГІ та створило основу для покращення надання служб охорони здоров'я у багатьох країнах. Так, національний моніторинг за антибіотикочутливістю з використанням селективного ПС Тайєра-Мартіна був запроваджений у США у 1972 році. В результаті проведених епідеміологічних та мікробіологічних досліджень, у тому ж

1972 році, у США були видані перші національні керівництва з лікування ГІ, засновані на даних спостереження за чутливістю гонококів до антибактеріальних препаратів [121].

За цим відбувся ряд важливих мікробіологічних відкриттів, таких, як з'ясування вірулентності гонококів, ультраструктурних та імунологічних особливостей *N. gonorrhoeae* [139]. Починаючи з 1990-х років, впроваджуються молекулярні методи для діагностики ГІ [115, 121] та дослідження молекулярної епідеміології *N. gonorrhoeae* [38, 80]. Володіючи рядом переваг, молекулярний метод починає поступово витіснити культуральний метод діагностики ГІ у багатьох розвинених країнах. Це призвело до того, що на даний час у багатьох лабораторіях ряду переважно високорозвинених країн не проводять посів клінічного матеріалу для одержання культур гонококів, що безсумнівно ускладнює налагодження спостереження за розвитком АБР [121].

Вивчення геномної епідеміології гонококів із використанням ПСГ було запроваджене з 2014 р. у США [110, 111], з 2015 р. – у Канаді [78, 79], з 2016 р. – у Європі [126, 115] та Сполученому королівстві [76].

Оскільки *N. gonorrhoeae* є специфічним патогеном людини, біологічний метод використовуються обмежено та лише з науково-дослідницькою метою. Раніше застосовували експериментальну модель ГІ на шимпанзе. На даний час єдиною доступною біологічною моделлю для вивчення взаємодії між гонококами та клітинами господаря є дослідження із включенням мишей-самок, яким додатково вводять естрадіол [204, 215].

1.2. Біологія та клітинна структура *N. gonorrhoeae*

Знання про окремі компоненти клітинної структури гонококів пояснюють механізми АБР, а також є важливими у розробці діагностичних тестів, нових антибактеріальних препаратів та у дослідженнях вакцини [86, 87, 109, 167, 230]. Клітинна структура *N. gonorrhoeae* детально вивчена (рис. 1.1).

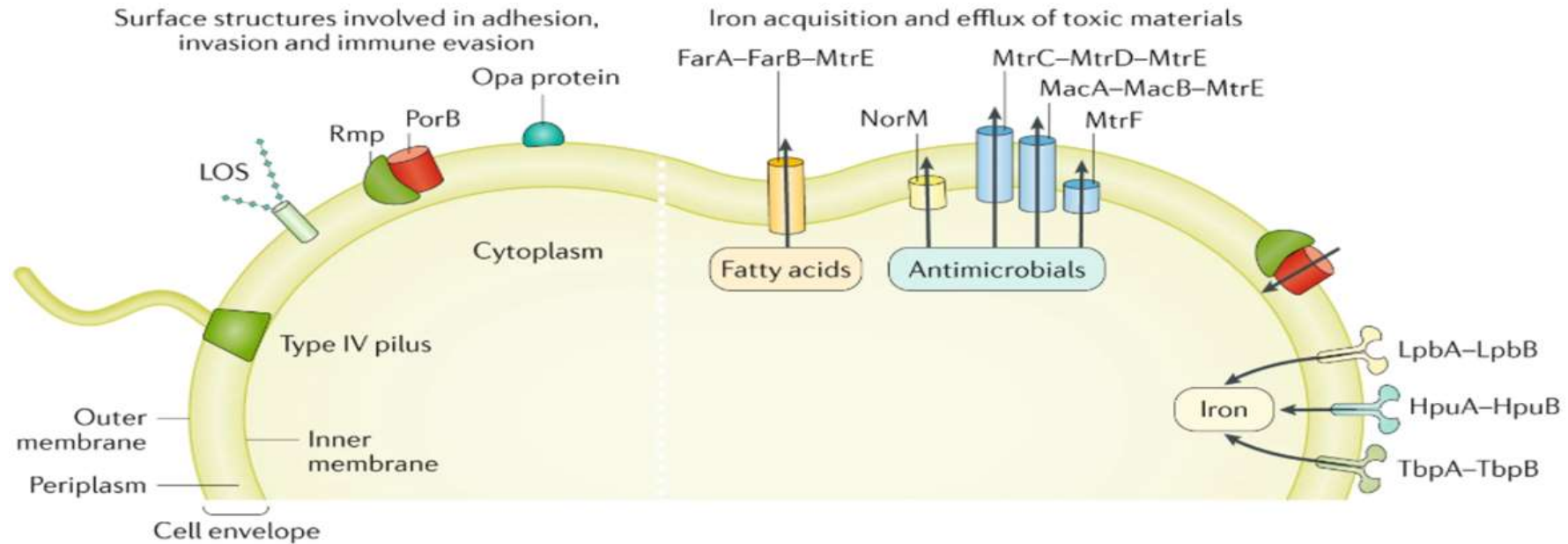


Рис. 1.1. Основні структурні компоненти клітинної стінки *N. gonorrhoeae* (surface structures involved in adhesion, invasion and immune evasion – поверхневі структури, що беруть участь в адгезії, інвазії та ухиленні від імунітету; iron acquisition and efflux of toxic materials – захоплення заліза й витік токсичних матеріалів; cell envelope – клітинна стінка; outer membrane – зовнішня мембрана; inner membrane – внутрішня мембрана; periplasm – периплазма; cytoplasm – цитоплазма; type IV pilus – пілі IV типу; fatty acids – жирні кислоти; antimicrobials – антимікробні препарати; iron – залізо; LOS – ліпополісахариди; Rmp – редуційно змінений білок; PorB – білок порин зовнішньої мембрани; Opa protein – Опа білок; FarA-FarB-MtrE, NorM, MtrC-MtrD-MtrE, MacA-MacB-MtrE, MtrF – п'ять типів помпових систем виведення; LpbA-LpbB, HpuA-HpuB, TbpA-TbpB – три типи залізо-очисних комплексів; перекладено та використано з дозволу професора М. Унемо [214]).

Периплазматичний простір, розміщений між зовнішньою та внутрішніми мембранами, містить пептидоглікан клітинної стінки. Зовнішня стінка має ліпоолігосахариди, які за структурою подібні до ліпополісахаридів грамнегативних бактерій, проте відрізняються відсутністю O-антиген характеристик [200]. Ліпоолігосахариди залучені в процеси адгезії, інвазії та токсичності щодо клітин господаря, а також є мішенями для бактерицидних антитіл. Проте, процеси сіалування ліпоолігосахаридів збільшують антигенну варіацію та пригнічують бактерицидну активність антитіл, фагоцитоз нейтрофілів та систему активації комплементу [139].

Пілі IV типу є довгими волосоподібними утвореннями, які розміщені поза клітинною стінкою та складаються з численних копій одного типу білка – піліну. Роль пілі IV типу полягає в ініціації адгезії гонококів до епітеліальних клітин людини, сприянні вірулентності шляхом перешкодження нейтрофільного фагоцитозу та в участі у процесах трансформації зовнішньої ДНК [139, 172].

Ора-білки представляють родину інтегральних білків зовнішньої мембрани, зумовлюють непрозорість колоній *N. gonorrhoeae* при культивуванні на визначених середовищах. Ора-білки сприяють тісним зв'язкам між гонококами в колоніях культури та приєднанні й інвазії в епітеліальні клітини та нейтрофіли господаря. Кожен ізолят *N. gonorrhoeae* є носієм приблизно 11 *Ora* генів, проте експресію кожного з них контролюють незалежні молекулярні події. Окрема бактеріальна клітина може не містити жодного Ора-білка, одиничний Ора-білок або декілька Ора-білків. Експресія Ора-білків зазнає високого рівня антигенних варіацій, що сприяє ухиленню гонококів від імунної системи господаря [139, 172].

Білок порин зовнішньої мембрани клітинної стінки *N. gonorrhoeae* (PorB) дає змогу невеликим гідрофільним молекулам та аніонам потрапляти в периплазму. Також PorB бере участь в апоптозі клітин господаря, процесах інвазії в епітеліальні клітини слизових, опосередковує випадання комплемент-залежної бактерицидної активності та перешкоджає дегрануляції та

фагоцитозу нейтрофілів. PorB є мішенню для бактерицидних антитіл. Проте, редуційно змінений білок (Rmp), асоційований із PorB, продукує антитіла, які блокують зв'язування анти-PorB антитіл [139, 172].

П'ять типів помпових систем виведення (FarA-FarB-MtrE, NorM, MtrC- MtrD-MtrE, MacA-MacB-MtrE, MtrF) мають різне значення в патогенезі, зокрема виведення токсичних молекул із бактеріальної клітини, в тому числі й антимікробних препаратів [139, 214]. Тому помпові системи виведення є важливими механізмами, які задіюються до розвитку резистентності до антибіотиків. Три залізо залежні очисні комплекси гонококової клітини (LpbA- LpbB, HruA-HruB, TbpA-TbpB) потребують отримання заліза від організму господаря та, захоплюючи його, забезпечують гомеостаз у бактерійній клітині [214].

Структурні компоненти зовнішньої мембрани *N. gonorrhoeae* (пілі, ліпоолігосахариди, PorB та Ора-білки) мають ключове значення в адгезії гонококів до поверхні епітеліальних клітин, інвазії через стінки епітеліальних клітин і взаємодії з лейкоцитами [139, 172, 200].

Гонококи є облігатними патогенами, а інфіковані люди є єдиним природним резервуаром для цих бактерій. Передавання збудника від однієї людини до іншої відбувається шляхом прямих контактів їх слизових оболонок уrogenітального тракту, анального каналу, або глотки переважно в процесі різних видів статевих контактів (генітальних, анальних, оральних). Первинними місцями інфікування є слизові оболонки уретри, ендocerвіксу, прямої кишки, глотки й кон'юнктиви [139]. Ефективність передавання збудника залежить від виду інфікованих анатомічних ділянок і кількості статевих контактів з інфікованою особою [39, 139].

Факторами ризику ГІ в дорослих є: наявність в анамнезі перенесеної ГІ або інших ІПСШ, незахищені статеві контакти, наявність нових або декількох статевих партнерів, зловживання алкоголем або наркотиками, бідність, безробіття, неграмотність, міграція населення. До груп ризику ГІ відносяться працівниці комерційного сексу та чоловіки, які мають статеві контакти із

чоловіками. ГІ є більш поширеною серед молодих людей віком 25 – 35 років [39, 139, 169, 185].

1.3. Клінічні аспекти гонококової інфекції

Інкубаційний період ГІ коливається від 1 до 14 днів і в загальному становить 2 – 7 днів, проте можливі випадки його подовження [11, 139].

Клінічними симптомами ГІ в чоловіків є уретральні виділення (> 80 %) і / або дизурія (> 50 %) [2]. Безсимптомний перебіг інфекції у чоловіків становить до 10 %. Нелікована ГІ може призвести до низки ускладнень у чоловіків: орхіт, епідидиміт, орхоепідидиміт, простатит, непліддя [11, 147].

Клінічними симптомами ГІ в жінок є збільшення кількості вагінальних виділень або зміна їх якісних характеристик (до 50 %), біль унизу живота (до 25 %), дизурія (12 %), зрідка – міжменструальні кровотечі або менорагія. Гонококова уrogenітальна інфекція може бути безсимптомною в 50 % жінок. Нелікована ГІ може викликати серйозні ускладнення в жінок: запалення органів малого таза, позаматкову вагітність, викидні першого триместру вагітності, хронічний тазовий біль, а також непліддя [2, 3, 11, 147]. Існує високий ризик інфікування новонародженої дитини від хворої на ГІ породіллі в процесі пологів із розвитком гонококового кон'юнктивіту та сліпоти [12, 39].

Ректальна інфекція зазвичай має безсимптомний перебіг, але може призвести до анальних виділень (12 %), або періанального / анального болю, або дискомфорту (7 %). Фарингальна інфекція також зазвичай має безсимптомний перебіг (>90 %) [12, 39]. Дисемінована ГІ трапляється зрідка, уражаючи від 0,4 – 3 % пацієнтів. ГІ збільшує ризик передавання ВІЛ-інфекції [9, 39].

Показаннями для лікування ГІ є: виявлення внутрішньоклітинних диплококів мікроскопічним методом із забарвленням уретральних виділень у чоловіків за Грамом або метиленовим синім; одержання гонококів культуральним методом; позитивні результати тестів ампліфікації

нуклеїнових кислот; контактні особи, статеві партнери яких мають підтверджену ГІ; новонароджені діти, у матерів яких виявили ГІ; за епідеміологічними показаннями у випадку сексуального насильства [21, 22, 33, 39, 228].

1.4. Лікування гонококової інфекції

Рекомендовані схеми лікування ГІ мають ґрунтуватися на фармакодинамічних дослідженнях, даних щодо спостереження за чутливістю до антибіотиків та обґрунтованих тенденціях резистентності гонококів до протимікробних препаратів [152, 216]. Так, глобальна настанова ВООЗ із лікування ГІ, настанови Європи, Австралії, США й Канади рекомендують подвійну антибіотикотерапію, здебільшого пропонуючи цефтріаксон (250 – 500 мг×1) внутрішньом'язово (ВМ) та азитроміцин (1 – 2 г×1) перорально (ПО) [33, 39, 176, 226, 228].

Лікування ГІ в Україні регулювали два накази Міністерства охорони здоров'я України, видані у 2004 та 2009 рр. [21, 22]. Зокрема, для лікування неускладненої ГІ рекомендували цефтріаксон (1 г ×1) ВМ, але також допускали використання цефотаксиму (1 г×1) ВМ, спектиноміцину (2 – 4 г×1) ВМ та декількох різних макролідів (азитроміцин, еритроміцин, кларитроміцин, джозаміцин, рокситроміцин, спіраміцин), фторхінолонів, тетрациклінів, пеніцилінів й аміноглікозидів [12, 21, 22]. Проєкт першої національної адаптованої клінічної настанови, заснованої на доказах, був опублікований в Україні у 2017 році [1]. Починаючи з 2017 року, в Україні дозволено до використання у медичній практиці міжнародні медичні протоколи або настанови [20, 23, 39]. Так, рекомендовано призначати пацієнтам із діагностованою ГІ монотерапію цефтріаксоном у дозі (500 мг) ВМ, якщо тести на антибіотикочутливість підтверджують чутливість до цефтріаксону; у разі відсутності можливості проводити тестування на антибіотикочутливість, рекомендується застосовувати подвійну терапію

(цефтріаксон (500 мг) ВМ та азитроміцин (2 г) ПО)); спектиноміцин (2 г) ВМ повинен використовуватись у пацієнтів з алергією на ЦШСД; для пацієнтів з ускладненою ГІ рекомендується застосовувати розширений режим терапії цефтріаксоном (1 г) ВМ, упродовж 3 – 5 днів [23].

1.5. Феномен антибіотикорезистентності *N. gonorrhoeae*

Гонокок має унікальну здатність відносно швидко набувати АБР майже до всіх антибіотиків, які запровадили в схемах лікування ГІ [105, 164, 166, 215]. Історію винайдення й впровадження антибіотиків, а також розвитку АБР із позначенням генетичних детермінант резистентності гонококів до першої лінії емпіричного лікування ГІ подано на рис. 1.2 [215].

Слід наголосити, що гонококи зберігають фенотипову та генотипову резистентність до антибіотиків, які раніше використовували для лікування ГІ, навіть якщо схеми антибіотикотерапії змінили [85, 105, 131, 192, 199]. У середньому гонококи формують стійкість до певного антибіотика за період 10 – 30 років [105]. За останні 90 років гонококи набули та закріпили генетичні детермінанти резистентності до 7 класів антибактеріальних препаратів й отримали статус мультирезистентних мікроорганізмів [121, 166].

Мультирезистентними вважають штами гонококів зі зниженою чутливістю або резистентністю до одного з рекомендованих на сьогодні антибіотиків (цефтріаксон чи азитроміцин) та резистентністю до двох та більше інших антибіотиків (пеніцилін, тетрациклін, еритроміцин, ципрофлоксацин) [192]. Розширено стійкими вважають ізоляти гонококів зі зниженою чутливістю або резистентністю одразу до двох із рекомендованих на даний час антибіотиків (цефтріаксон чи азитроміцин) і резистентністю до двох та більше інших антибіотиків (пеніцилін, тетрациклін, еритроміцин, ципрофлоксацин) [192].

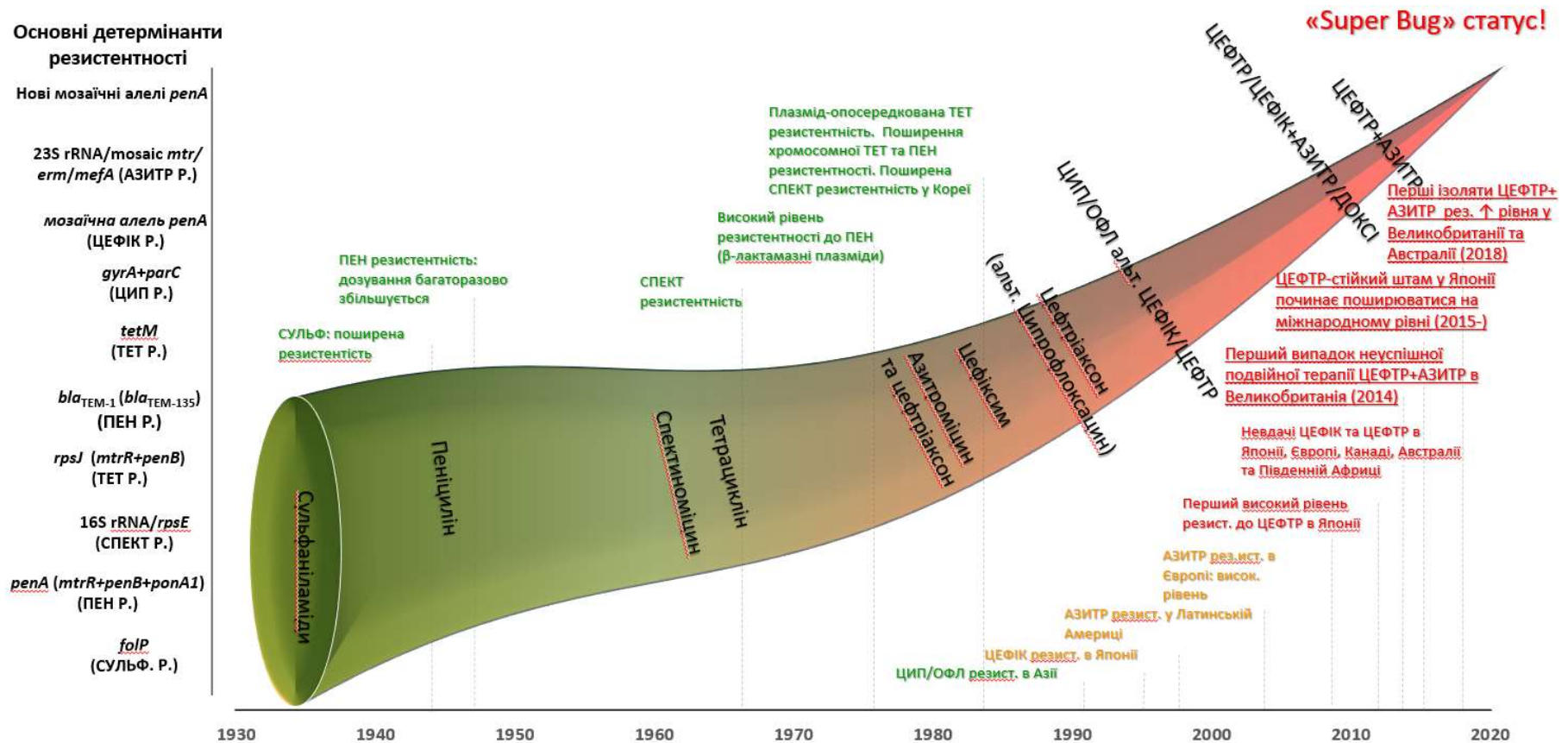


Рис. 1.2. Розвиток антибіотикорезистентності гонококів у відповідь на впровадження антибіотиків у практику лікування гонококової інфекції (Р. – резистентність; АЗИТР – азитроміцин; ЦЕФІК – цефіксим; ЦЕФТР – цефтріаксон; ЦИП – ципрофлоксацин; ОФЛ – офлоксацин; ТЕТ – тетрациклін; ПЕН – пеніцилін; СПЕКТ – спектиноміцин; СУЛЬФ – сульфаніламід; “Super Bug” статус – статус розширено стійких мікроорганізмів; альт. – альтернативно; перекладено та використано з дозволу професора М. Унемо [215]).

ЦШСД залишаються єдиними препаратами вибору першої лінії для емпіричної монотерапії у більшості країн світу. Проте знижена чутливість або навіть резистентність збудника вже виникла в багатьох країнах у світі [48, 75, 77, 100, 140, 215]. Міжнародне поширення цефтріаксон-резистентного штаму верифікували у 2015 – 2018 рр. [61, 107, 133, 145, 158, 170, 193]. Випадки неефективного лікування фарингальної ГІ під час застосування монотерапії цефтріаксоном також підтвердили в декількох країнах [62, 96, 106, 162, 174, 190, 208, 210].

Для стримування розвитку АБР запропонували подвійну терапію (цефтріаксоном та азитроміцином), проте вже у 2018 році зареєстрували перші ізоляти гонококів із резистентністю до цефтріаксону в поєднанні з високою резистентністю до азитроміцину у Великобританії [48, 94] та Австралії [222]. Таким чином, за відсутності вакцини та при певних обставинах ГІ може стати невиліковною. Сучасна тенденція розвитку та поширення АБР гонококів актуалізує невтішну перспективу повернення до ери «без антибіотиків» [121, 217]. Посилення спостереження за АБР гонококів є надзвичайно важливим для визначення загрози АБР, моніторингу загальних тенденцій та забезпечення ефективного менеджменту ГІ через вчасний перегляд і корекцію настанов із лікування ГІ [39, 215].

1.6. Механізми резистентності *N. gonorrhoeae* до визначених класів антибіотиків

N. gonorrhoeae має одиничну кільцеву хромосому розміром 2,1 – 2,3 Мб, зокрема 2200 – 2500 послідовностей нуклеотидів, що кодують білки. До того ж приблизно 80 % ізолятів *N. gonorrhoeae* мають хромосомні включення (генетичні островці), які містять генетичний матеріал, подібний до кон'югаційних плазмід [116, 139, 214]. Гонококи мають здатність ефективно набувати додатковий зовнішній генетичний матеріал від інших бактерій

шляхом горизонтального генетичного перенесення, яке реалізується за допомогою ДНК трансформації через пілі клітинної стінки IV типу [139].

Гонококи набувають резистентність до антибіотиків шляхом спонтанних мутацій та/або горизонтального генетичного перенесення з реалізацією всіх відомих механізмів, зокрема й інактивації антибіотиків, змін мішеней для антибіотиків, підвищення виведення та зниження поглинання антибіотиків [166, 199, 214, 219].

1.6.1. β -лактамні антибіотики

Пеніцилін та ЦШСД належать до β -лактамних антибіотиків, які пригнічують біосинтез пептидоглікану клітинної стінки бактерій.

Пеніцилін був виділений із *Penicillium notatum* шотландським науковцем А. Флемінгом у 1929 році, а у 1943 році почав застосовуватись в лікуванні ГІ [139]. З'єднуючись із пеніцилін-зв'язувальним білком, пеніцилін пригнічує транспептидазу, яка бере участь у структуруванні пептидоглікану, що приводить до цитолізу або смерті мікробної клітини внаслідок зміни осмотичного тиску.

Хромосомний механізм резистентності реалізується внаслідок мутацій генів *penA* та *ponA* й відповідно змінених специфічних ділянок пеніцилін-зв'язувального білка другого (PBP2) та першого типів (PBP1) [26, 166]. Інші хромосомні механізми резистентності охоплюють підвищення виведення антибіотика внаслідок *mtrR* мутації, що змінює експресію MtrCDE (мультипереносної помпи виведення резистентності, multiple-transferable resistance efflux pump) або зниження притоку антибіотика (мутації гена *porB1b* (*penB*), які спричиняють зміни білка порину PorB) [26, 53, 166, 214]. Плазмід-опосередкована резистентність зумовлена TEM-1 або TEM-135 β -лактамазами. Ці ферменти гідролізують циклічний амідний зв'язок β -лактамних антибіотиків, відкриваючи β -лактамне кільце, тим самим інактивуючи ці антибіотики [139].

АБР до ЦШСД реалізується внаслідок зміни ділянки зв'язування (*penA*), збільшення виведення (*mtrR*) та зменшення введення (*porB*) [56, 214]. Мозаїчні алелі *penA* із численними амінокислотними замінами також асоційовані з резистентністю *N. gonorrhoeae* до β -лактамних антибіотиків [56, 81].

1.6.2. Азитроміцин

Азитроміцин, як макролідний антибіотик, пригнічує синтез білків бактерій шляхом зв'язування з 23s rRNA компонентом бактеріальної 50S рибосоми. Резистентність *N. gonorrhoeae* до макролідів зумовлена мутаціями в ділянці зв'язування 23s rRNA (C2611T and A2059G), змінами L4 та L22 рибосомальних білків і метилюванням 23s rRNA після транскрипції, підвищеною експресією помпи виведення MtrCDE [166, 214, 219]. Низький рівень резистентності до азитроміцину (МІК = 2 – 4 мг/л) асоційований з мутаціями гену *mtrR*, включаючи делецію аденіну (-35A делецію), помірний рівень резистентності (МІК = 8 – 32 мг/л) – з мутацією C2611T у гені *23S rRNA* [79], а високий (МІК > 256 мг/л) – спостерігають при мутації A2059G у гені *23S rRNA* [78, 79, 215].

1.6.3. Фторхінолони

Фторхінолони синтезували та широко впровадили в практику протягом 1980-х років [166]. Активність фторхінолонів пов'язана зі здатністю з'єднуватися й пригнічувати два ключових ферменти реплікації бактерійної ДНК: ДНК-гіразу та топоізомераза IV. Так, топоізомераза IV бере участь у згортанні й формуванні подвійної спіралеподібної форми ДНК. Зв'язуючись із топоізомеразою, фторхінолони пригнічують реплікацію ДНК, що веде до гибелі мікробної клітини [166, 215]. Резистентність до фторхінолонів у гонококів передусім зумовлена однонуклеотидними поліморфізмами (SNPs) у визначених ділянках гена *gyrA* (зменшення зв'язування фторхінолонів до GyrA підкомпонента ДНК-гірази) та *parC* генів (зменшення зв'язування фторхінолонів із ParC підкомпонентом топоізомерази IV) [166]. Високий

рівень резистентності гонококів до фторхінолонів пов'язують із поєднаною мутацією одразу двох генів – *gyrA* та *parC* [26]. Отож резистентність до фторхінолонів реалізується за принципом модифікації мішені, що унеможливорює активність антибіотиків цієї групи [114, 214, 215].

1.6.4. Тетрацикліни

Тетрацикліни пригнічують процес трансляції (синтезу білків) бактерій шляхом зв'язування з 30S бактерійною рибосомою та запобігаючи прикріпленню аміноацил – tRNA до рибосоми, у такий спосіб блокуючи прикріплення нових амінокислот [139, 166, 214]. Механізми АБР гонококів до тетрациклінів реалізуються завдяки плазмід-опосередкованій резистентності *tetM*. Білок *tetM* блокує ділянку мішені тетрациклінів – рибосомальну субодиницю 30S [139]. Мутації V57M у *rpsJ* гені, який кодує рибосомальний білок S10, призводять до зниження спорідненості тетрациклінів із їх мішенню – 30S бактерійною рибосомою. Проте згадані хромосомні механізми із залученням *rogB1b* та *mtrR* також мають важливе значення в резистентності гонококів до тетрациклінів [215].

1.6.5. Гентаміцин

Аміноглікозидний антибіотик гентаміцин виділили з актиноміцетів *Micromonospora purpurea* в 1960 році [166]. Гентаміцин чинить бактерицидну дію, незворотно зв'язується з рибосомальною субодиницею 30S і пригнічує процес трансляції – синтезу білка в гонококів. АБР до гентаміцину пов'язана зі зміною мішені до цього антибіотика [215].

1.6.6. Спектиноміцин

Спектиноміцин належить до групи аміноциклітолів і має бактериостатичну дію внаслідок пригнічення синтезу білків бактерій [139], був синтезований на початку 1960-х років і впроваджений для лікування ПІ. Гонококи набувають стійкості до спектиноміцину завдяки точковій мутації

гена *16S rRNA*, що знижує спорідненість препарату до рибосомальної мішені. Мутації T24P та делеції V25 і K26E в *rpsE* гені, що кодує 30S рибосомальний білок S5, призводять до порушення зв'язування спектиноміцину з рибосомальною мішенню [215].

1.7. Мікробіологічні методи діагностики гонококової інфекції

Діагноз ГІ встановлюється за позитивних результатів специфічних досліджень [13], тому вкрай важливою є роль вчасної та якісної мікробіологічної діагностики в керуванні ГІ.

1.7.1. Мікроскопічний метод

Для мікроскопічного методу дослідження використовують препарати біологічного матеріалу, забарвлені метиленовим синім і за Грамом [15, 139, 153]. Метод має високу чутливість і специфічність у дослідженні уретральних виділень у чоловіків із маніфестними проявами ГІ [200]. Виявлення внутрішньоклітинних диплококів за допомогою мікроскопічного методу із забарвленням уретральних виділень метиленовим синім може бути єдиним діагностичним методом у чоловіків за наявності супутнього лейкоцитозу та клінічних симптомів (специфічність > 99 % та чутливість > 95 %) [139]. Мікроскопічний метод із забарвленням уrogenітального матеріалу за Грамом є обов'язковим для жінок і дітей та в разі дослідження екстрагенітального матеріалу [17], метод має низьку чутливість у випадку дослідження цервікальних (30 – 50 %), фарингальних і ректальних проб (40 – 60 %), а також безсимптомної інфекції (30 – 50 %) [139, 153]. У цілому аналітичні показники мікроскопічного методу (специфічність та чутливість) значною мірою залежать від досвіду лабораторного персоналу. Метод не рекомендовано використовувати як самостійний діагностичний тест у жінок, дітей, безсимптомних пацієнтів і в разі підозри на екстрагенітальні форми ГІ [200].

1.7.2. Культуральний метод

Впродовж 1970-х років у всьому світі культуральний метод вважався першим «золотим стандартом» діагностики ГП [36]. Слід зауважити, що одержання гонококів у культурах залишається і на даний час єдиним мікробіологічним методом, у результаті якого можна отримати живі ізоляти гонококів для наступних досліджень на їх АБР. Культуральний метод діагностики ГП має високу специфічність (100 % при використанні рекомендованих ідентифікаційних тестів), проте чутливість широко коливається (> 80 – > 95 %) та, головним чином, залежить від фаховості лабораторних спеціалістів, а також від належного дотримання вимог операційних процедур, настанов та інструкцій виробників поживних середовищ (ПС) та реагентів протягом усього циклу мікробіологічного дослідження [4, 5, 6, 36, 139]. Гонококи є надзвичайно вибагливими мікроорганізмами щодо виживання поза організмом людини [12, 15, 186]. Утрата життєздатності гонококів можлива на будь-якому етапі мікробіологічного дослідження: забору біологічного матеріалу, тимчасового зберігання та транспортування, інкубації, етапах субкультивування. Після забору біологічного матеріалу його негайно переносять на поверхню агару (прямий спосіб посіву) ПС та інкубують у термостаті за температури $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ в ексикаторі за умов підвищеної вологості (70 – 80 %) та атмосфери, збагаченій 5 % CO_2 [200]. Якщо немає змоги одразу забезпечити такі умови, рекомендовано застосовувати транспортні непоживні середовища, наприклад Аміес (Amies) або Стюарт (Stuart) із вугіллям [4]. Використання транспортних ПС подовжує зберігання матеріалу на тривалий період [59, 139, 153, 163, 186]. Рекомендовано проводити посів на селективні ПС із гарантованою якістю за результатами регулярних внутрішнього та / або зовнішнього лабораторних контролів якості [200]. За наявності належного забезпечення доцільно робити паралельний посів біологічного матеріалу як на селективне, так і на неселективне ПС [139, 186, 200]. Чашки Петрі з посівами візуально оцінюють через 18 – 24 години інкубації. За відсутності типових

колоній, інкубацію продовжують із повторним оцінюванням кожні 24 години. Максимальний строк інкубації становить 72 години [200] або 7 діб [19].

Попередньо культури ідентифікують за допомогою вивчення морфологічних і тинкторіальних характеристик збудників й експрес-тесту на їхню оксидазну активність. Морфологічно типовими колоніями для гонококів вважають круглі, опуклі, малого розміру, прозорі або дещо сіруваті колонії [15, 19, 200]. Одержані культури попередньо ідентифікують на належність до роду *Neisseria* шляхом мікроскопії мазка культури за Грамом та швидкого тесту на продукцію збудником ферменту цитохром С- оксидази [19, 200].

Остаточна ідентифікація потрібна для уточнення виду збудника роду *Neisseria* і є обов'язковою в разі дослідження екстрагенітальних біологічних зразків [200]. Завершальна ідентифікація ґрунтується на визначенні біохімічної активності отриманих культур [15, 19, 200]. Імунологічні, спектрометричні й молекулярні методи з використанням МАНК також використовують в практиці з метою остаточної ідентифікації [153, 200].

Час-пролітний мас-спектрометричний аналіз за типом матрикс-асоційованої спектрометрії часу прольоту іонізованих мас, десорбованих лазером (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS) є одним із сучасних методів ідентифікації *Neisseria spp.* [52], який має високу точність, чутливість та швидкість отримання результату [52, 58, 157]. Принцип методу MALDI-TOF MS базується на реєстрації спектра мас іонів, утворених внаслідок іонізації молекул зразка культури. У разі ідентифікації методом MALDI-TOF MS ізольовані колонії молодих культур наносять безпосередньо на лунки металеві пластини планшети MALDI. Один мікролітр насиченого розчину α -ціано-4-гідроксималової кислоти, комерційної матриці (Bruker Daltonik, Бремен, Німеччина), наносять на досліджувані зразки для подальшої спільної кристалізації за кімнатної температури. Суміш матриці та досліджуваної культури на сталевій пластині поміщають до аналізатора й діють на неї

лазерним випромінюванням в імпульсному режимі. Спеціальне програмне забезпечення аналізує і видає результати операторові [52, 58, 157].

1.7.3. Молекулярні методи діагностики

Починаючи з 1990-х років і дотепер, молекулярні методи використовують для діагностики ІПСШ, в тому числі – для ГІ [115]. МАНК є тестами з найвищою специфічністю та чутливістю для виявлення *N. gonorrhoeae* [59, 68]. Специфічність і чутливість становлять у цілому > 95 % та > 99 % для біологічного матеріалу із чоловічої уретри й першої порції сечі під час сечовипускання [189]. МАНК є автоматизованою та порівняно швидкою у виконанні методикою, за якої усунуто суб'єктивність. МАНК дозволені для тестування як уrogenітальних, так й екстрагенітальних зразків [200]. До того ж багато мультиплексних МАНК дають змогу одночасно в одному тесті виявляти декілька додаткових патогенів: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* та *Trichomonas vaginalis* [178, 200]. Проте часті генетичні варіації і геномна пластичність *N. gonorrhoeae* можуть компрометувати чутливість та специфічність МАНК. Тому потрібно регулярно контролювати аналітичні характеристики МАНК, а позитивні результати слід підтверджувати іншим за механізмом дії тестом МАНК [200]. Тести на підтвердження доцільно проводити в популяції з низьким поширенням ГІ в разі прогнозованого позитивного значення (ППЗ) нижче ніж 90 % [153]. Іншим недоліком МАНК є неможливість на даний час, одночасно визначати АБР *N. gonorrhoeae* [148]. Проте запропонований метод комбінації забору біологічного матеріалу для МАНК та культурального методу зі збереженням біологічного матеріалу у транспортних середовищах за температури 4°C дає змогу найточніше діагностувати ГІ та визначити АБР ізолятів *N. gonorrhoeae*, одержаних у культурах [225].

1.7.4. Швидкі тести

Швидкі тести надають можливість отримати результат тестування вже протягом першого візиту пацієнта та є цінним інструментом у ранньому виявленні інфікованих осіб [200]. Швидкі тести повинні відповідати критеріям BOOZ ASSURED, тобто бути доступними (affordable), чутливими (sensitive), специфічними (specific), зручними для використання (user-friendly), швидкими (rapid), точними (robust), такими, що не потребують обладнання (equipment-free) та доставленими кінцевому користувачеві (deliverable to end-user) [165, 195]. Тести зручні для застосування в клінічних центрах, які не мають доступу до інших лабораторних технологій [165, 195, 218, 224]. Проте, на даний час, більшість імунохроматографічних швидких тестів мають низьку чутливість та специфічність і не можуть бути рекомендовані як єдиний метод для діагностики ГІ [119]. Водночас швидкі тести на основі молекулярних технологій полімеразної ланцюгової реакції, як GeneXpert CT/NG, показали високу специфічність і чутливість [99, 231]. Однак ці тести дорогі, потребують доступу до електропостачання й відносно тривалі у виконанні (90 хв) [125].

1.8. Мікробіологічні, молекулярні та геномні методи визначення антибіотикорезистентності *N. gonorrhoeae*

Для визначення антибіотикочутливості штамів гонокока потрібно отримати чисту культуру (ізолят) збудника. Якісна культуральна діагностика ГІ пріоритетна в разі систематичного спостереження за АБР, оскільки забезпечує одержання ізолятів *N. gonorrhoeae* для їх подальшого дослідження і порівняння [139, 186, 198, 200].

1.8.1. Визначення фенотипу антибіотикорезистентності *N. gonorrhoeae*

Метод розведення в агарі є «золотим стандартом» для визначення чутливості гонококів або МІК до різних антибіотиків. Проте, цей метод є

трудомістким, особливо при тестуванні невеликих партій бактерійних ізолятів. Метод дисків також деколи використовують, однак йому властива низька відтворюваність, що обмежує його використання у визначенні чутливості гонококів до антибіотиків [139]. Тому, відповідно до міжнародних протоколів, визначення МІК проводять за допомогою стандартизованого та якісно гарантованого Е-тесту. Результати оцінюють на основі МІК із визначенням чутливих (S) і резистентних (R) ізолятів відповідно до критеріїв Європейського комітету тестів з антибіотикочутливості (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) [91], або інституту клінічних та лабораторних стандартів (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) [66]. EUCAST критерії мають перевагу у дослідницькому та практичному використанні, оскільки розміщені на сайті з вільним електронним доступом [91]. Для оцінювання антибіотикочутливості до гентаміцину використовують опубліковані критерії у дослідницьких роботах [35, 50, 149].

Хромогенний цефалоспориновий (нітроцефіновий) тест використовують для визначення продукції гонококами β -лактамази [139]. З метою забезпечення контролю якості використовують референтні штами 2016 ВООЗ *N. gonorrhoeae* [87, 206, 211].

1.8.2. Молекулярне типкування *N. gonorrhoeae*

Молекулярні епідеміологічні дослідження використовують у багатьох країнах для виявлення ізолятів *N. gonorrhoeae* зі зниженою чутливістю та резистентністю до ЦШСД [207]. Здебільшого такі дослідження передбачають мультиантигенне типкування послідовностей *N. gonorrhoeae* (*Neisseria gonorrhoeae* multiantigen sequence typing, NG-MAST) та ідентифікацію клонів гонокока за допомогою мультилокусного типкування послідовностей *N. gonorrhoeae* (multi-locus sequence typing, MLST), значущих у поширенні мультирезистентних штамів *N. gonorrhoeae* [95, 115, 156, 198, 205]. Молекулярне епідеміологічне спостереження за *N. gonorrhoeae* визначає поширеність, сталість та домінування клонів гонокока, які циркулюють, що

допомагає запроваджувати належні заходи із запобігання, лікування й контролю за ГІ.

NG-MAST дає змогу диференціювати штами на основі зміни послідовностей у двох гіперваріабельних локусах, *porB* (ген, який кодує білок порин зовнішньої мембрани клітинної стінки *N. gonorrhoeae*) та *tbpB* (ген, який кодує трансферин-зв'язувальний білок). Аналіз послідовностей гіперваріабельних генів забезпечує високу диференціацію ізолятів. Його використовують у мікроепідеміології з метою визначення типів гонококів на певній географічній території, дослідження статевих зв'язків між пацієнтами, аналізу випадків неуспішного лікування. Інформацію про типи NG-MAST зберігають у відкритій базі даних (<http://www.ng-mast.net/>) та постійно доповнюють даними з країн усього світу [95, 115, 156, 166, 198, 205].

Для макроепідеміологічних досліджень еволюції популяції гонококів використовують аналіз послідовностей серії висококонсервативних генів. MLST визначає зміну послідовностей семи або більше відносно стійких до мутацій генів «домашнього господарства», які розподілені по всьому геному й кодують ферменти «домашнього господарства» [166]. Зазвичай у MLST типуванні використовують ті самі локуси, що й для типування *N. meningitidis* (*abcZ*, *adk*, *aroE*, *fumC*, *gdh*, *pdhC* та *pgm*) [80]. Більшої дискримінаційної здатності MLST досягають додатковим включенням до схеми типування більшої кількості локусів (*abcZ*, *adk*, *aroE*, *fumC*, *gdh*, *glnA*, *gnd*, *pdhC*, *pgm*, *pilA*, *ppk*, *pyrD* та *serC*) [38, 205]. Різним алелям у кожному локусі присвоюють певне число. Числа всіх генів поєднують і так визначають тип MLST. Кожен визначений тип MLST унікальний та зберігається в загальнодоступній базі даних (<https://pubmlst.org/neisseria/>). MLST дані відповідають потребам макроепідеміологічного аналізу в аспектах тривалого спостереження, глобальної епідеміології та популяційної динаміки структури гонококів [95, 115, 156, 198].

NG-STAR – стандартизований метод класифікації семи генів (*penA*, *mtrR*, *porB*, *ponA*, *gyrA*, *parC* та *23S rRNA*), асоційованих з АБР

(<https://ngstar.canada.ca>) до трьох класів антибіотиків (цефалоспорини, макроліди й фторхінолони). Унікальній послідовності ДНК кожного гена АБР надають номер алелі, а комбінація алелей семи генів дає змогу генерувати в електронній системі унікальний NG-STAR тип досліджуваного ізоляту *N. gonorrhoeae* [80].

Головна мета молекулярного типування ізолятів *N. gonorrhoeae* з використанням баз даних NG-MAST, MLST та NG-STAR – дати змогу фахівцям зі всього світу спілкуватися єдиною «молекулярною» мовою, швидше реагувати та краще відстежувати нові резистентні штами гонококів [80]. Вищезгадані дві молекулярні платформи (NG-MAST і MLST) продемонстрували, що інфекційний процес може виникати в кластерах та резистентні клони можуть поширюватися між континентами. Так, NG-MAST ST1407 і MLST ST1901 штами поширені у світі та асоційовані з мультирезистентністю *in vitro* й клінічною резистентністю до ЦШСД, а також демонструють здатність до розвитку високого рівня резистентності до цефтріаксону [56, 95, 115, 156, 198].

1.8.3. Принципи повного секвенування геному *N. gonorrhoeae*

Повне секвенування геному (ПСГ) – процес визначення послідовності всіх нуклеотидів досліджуваного генетичного матеріалу. Визначену послідовність геному порівнюють із послідовністю референтного геному для визначення мутацій. Для ПСГ на сьогодні використовують низку платформ так званого майбутнього (другого покоління), оскільки вони прогресивно відрізняються від першого покоління технологій визначення послідовностей геному (методу Сенгера). ДНК, екстраговану з досліджуваного мікроорганізму, опрацьовують у кілька етапів, які охоплюють приготування бібліотеки, генерування кластерів, визначення послідовностей та аналіз даних. Аналізувати дані можна за допомогою референтного картування, або шляхом реконструкції *de novo*. Після завершення етапу складання геному, проводять детальний аналіз ПСГ [76, 93].

ПСТ у порівнянні з NG-MAST та MLST демонструє значно вищий рівень точності й необхідну діагностичну роздільну здатність [34, 117], дає змогу визначати детермінанти АБР та відповідно прогнозувати АБР *in vivo* [53, 92, 93, 104, 180]. До того ж ПСТ забезпечує здатність визначати випадки трансмісії генетичного матеріалу серед штамів гонококів, а також з'ясовувати часове й географічне поширення *N. gonorrhoeae* [76, 168]. ПСТ показало, що сучасну глобальну популяцію гонококів представляють два основні геномні родоводи – мультирезистентний та мультичутливий [214]. Слід зазначити, що ПСТ гонококів раніше ніколи не використовували для вивчення популяції гонококів, яка циркулює в Україні.

1.9. Епідеміологія *N. gonorrhoeae* в Україні та інших країнах Європи

ГІ є другою найпоширенішою бактеріальною ІПСШ у світі [132, 160, 177]. Протягом останніх десятиліть повідомляють про дедалі більшу кількість ГІ в багатьох країнах Європи та світу [55, 60, 88, 229]. ВООЗ повідомила про 86,9 млн випадків ГІ серед дорослого населення планети у 2016 році [177].

На відміну від європейських даних в Україні реєструють постійне зниження кількості зафіксованих випадків ГІ [9, 10, 16]. На рис. 1.3 подано показники захворюваності на ГІ в Україні та країнах Європейського союзу та Європейської економічної зони у 2000 – 2018 рр.

В Україні захворюваність на ГІ знизилася в 5,5 раза (з 52,9 до 9,7 на 100 тис. населення відповідно) за період 2000 – 2018 рр. [13, 14, 16], тимчасом як у країнах Європи – зросла в 1,5 раза (з 17,1 до 26,4 на 100 тис. населення відповідно). Різниця показників захворюваності на ГІ в Україні та Європі становила 2,7 раза у 2018 році (26,4 – в Європі й 9,7 на 100 000 населення – в Україні, відповідно). Одним із головних факторів високого рівня виявлення ГІ є широке застосування високочутливих і специфічних методів ампліфікації нуклеїнових кислот (МАНК) у країнах світу та Європи зокрема [39, 122, 183, 194, 214, 226].

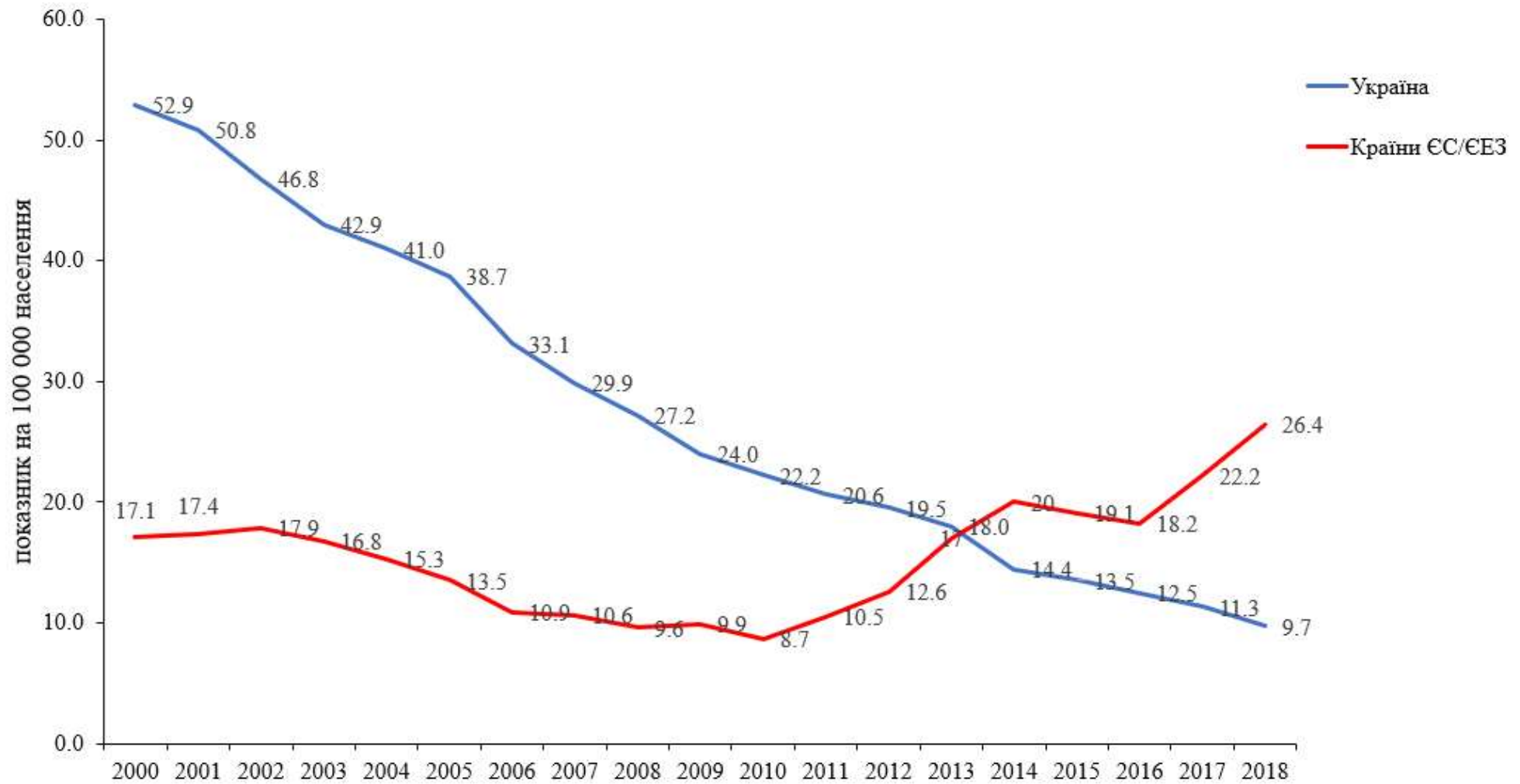


Рис. 1.3. Захворюваність на гонококову інфекцію в Україні та країнах Європейського союзу та Європейської економічної зони (країни ЄС / ЄЕЗ) у 2000 – 2018 рр.

Дані офіційної статистики в Україні значно занижені внаслідок субоптимального скринінгу безсимптомних осіб, тестування переважно генітальних зразків, низької доступності високочутливих діагностичних методів, неповної реєстрації випадків інфекції, недосконалої програми епідеміологічного спостереження, практики самолікування інфікованих осіб через безрецептурну доступність антибіотиків в аптечній мережі [9, 10, 16, 151].

1.10. Спостереження за розвитком антибіотикорезистентності *N. gonorrhoeae*

За відсутності вакцини, раннє виявлення інфекції, вчасне та ефективне лікування, менеджмент статевих партнерів – заходи, що дають змогу контролювати інфекційний процес [214]. Настанови щодо лікування ГІ мають спиратися на науково обґрунтовані дані щодо чутливості *N. gonorrhoeae* [191]. Неконтрольоване використання для лікування ГІ широкого спектра схем антибіотикотерапії без актуальних національних даних щодо чутливості популяцій гонококів, які циркулюють, може призвести до селективного виникнення резистентності *N. gonorrhoeae* одразу до цілого ряду антибіотиків. Так виснажується «запасний» спектр антибіотиків [85, 105, 215].

У відповідь на розвиток АБР гонококів, багато країн у світі впровадили національні програми спостереження за антибіотикочутливістю гонококів [64, 82, 89, 90]. Програми моніторингу за АБР та заходи геномної епідеміології спрямовані на актуалізацію схем лікування ГІ й запобігання розвитку стійкості гонококів до антибіотиків. Антибіотики, які демонструють ефективність щонайменше щодо 95 % ізолятів гонококів, можуть бути рекомендовані для лікування ГІ у визначеній країні та / або регіоні спостереження. У разі виявлення рівня АБР понад 5 %, слід своєчасно вилучити такі антибіотики зі схем лікування [191, 192].

Європейська програма спостереження за АБР гонококів (European Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program, Euro-GASP) здійснює моніторинг у країнах Європейського Союзу та Європейської економічної зони [69, 71, 72, 75, 89, 90, 120, 150]. Проте країни Європейського регіону ВООЗ, які не належать до Європейського Союзу або Європейської економічної зони, вживають у край обмежених заходів зі спостереження за АБР [212], та в основному лише спорадичні повідомлення опубліковано в Росії і Білорусі [103, 135, 136, 137, 138, 144]. В Україні немає національної програми спостереження за АБР гонококів [4, 6, 8].

Аналіз даних наукової літератури дав змогу зробити такі висновки:

1. ГІ – поширена й соціально небезпечна інфекція, яка передається статевим шляхом.
2. Безсимптомні випадки уrogenітальної, ректальної та фарингальної ГІ мають важливе епідеміологічне значення у підтриманні й поширенні ГІ, а також у розвитку АБР гонококів.
3. Якісна діагностика з використанням культурального методу є єдиним мікробіологічним методом, який дає змогу отримати живу культуру *N. gonorrhoeae* як об'єкт для обов'язкового подальшого визначення АБР гонококів.
4. Невідкладне та широке впровадження валідованих та якісно гарантованих методів ампліфікації нуклеїнових кислот у поєднанні із культуральним методом є важливим для спостереження за антибіотикорезистентністю *N. gonorrhoeae* в Україні.
5. Системні дослідження антибіотикочутливості гонококів, що циркулюють у різних країнах світу та Україні зокрема, є важливим соціально-медичним заходом у відповідь на унікальну здатність гонококів набувати резистентність майже до всіх антибіотиків, упроваджених у практику лікування ГІ.
6. Актуальні дані про чутливість гонококів до антибіотиків є основою для систематичного перегляду національних настанов із лікування ГІ.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Основні етапи та методи дослідження

У дисертаційній роботі представлено результати анкетування 14 ОШВД в Україні стосовно можливостей мікробіологічної діагностики ГІ у 2013 – 2014 рр.; онлайн-анкетування Європейської спільної клінічної групи Міжнародної спілки проти ПСШ, проведеного у період 2018 – 2019 рр.; порівняння ростових властивостей ПС та способів посіву біологічного матеріалу для одержання *N. gonorrhoeae* культуральним методом із використанням із використанням 47 та 46 клінічних ізолятів *N. gonorrhoeae* відповідно; дослідження умов життєздатності *N. gonorrhoeae* за зберігання у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям із використанням 46 клінічних ізолятів *N. gonorrhoeae*; валідаційне дослідження оптимізованої СОП виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом із використанням 141 клінічного ізоляту *N. gonorrhoeae*; визначення поширеності ГІ та дослідження аналітичних характеристик стандартних методів діагностики (СМД) ГІ шляхом обстеження 455 пацієнтів; клініко-епідеміологічну характеристику ГІ та застосовану антибіотикотерапію ГІ з'ясовано за участі 136 та 131 пацієнтів відповідно; АБР та геномну епідеміологію 150 ізолятів *N. gonorrhoeae*, одержаних від інфікованих осіб у Тернопільській (n = 136) та Дніпропетровській (n = 14) областях за період 2013 – 2018 рр. (рис. 2.1).

Порівняльні дослідження ростових властивостей ПС і способів посіву біологічного матеріалу, дослідження умов життєздатності *N. gonorrhoeae* за зберігання у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям, валідаційне дослідження оптимізованої СОП виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом та вивчення клініко-епідеміологічної характеристики пацієнтів із діагностованою ГІ здійснено на базі клініко-

діагностичної лабораторії Комунальної установи Тернопільської обласної ради «Тернопільський обласний клінічний шкірно-венерологічний диспансер» (ТОКШВД) (свідоцтво про атестацію КДЛ № РХ – 1018 / 11 від 24.05.2011 р. та № 004247 від 16.07.2015 р.) та диспансерного відділення ТОКШВД. Збір ізолятів гонококів проводили в бактеріологічному підрозділі клініко-діагностичної лабораторії ТОКШВД за період 2013 – 2018 рр. та Дніпропетровському обласному клінічному шкірно-венерологічному диспансері у період 2013 – 2014 рр. Транспортування біологічного матеріалу до центру співробітництва ВООЗ з питань гонореї та інших інфекцій, які передаються статевим шляхом, відділення лабораторної медицини та клінічної мікробіології Університетської лікарні м. Оребро (Швеція) реалізовано відповідно до Закону України «Про зовнішню економічну діяльність», наказу Міністерства фінансів України від 30.05.2012 р. № 634 «Про встановлення порядку обліку осіб, які здійснюють операції з товарами», наказу головного лікаря ТОКШВД № 320 від 25.09.2014 р. «Про призначення особи, відповідальної за роботу із митницею» (обліковий номер UA10002004407, номер карти 403/2014/0000168).

Визначення поширеності ГІ та дослідження аналітичних характеристик стандартних методів діагностики ГІ, визначення АБР та дослідження геномної епідеміології гонококів проведено в центрі співробітництва ВООЗ з питань гонореї та інших інфекцій, які передаються статевим шляхом, відділенні лабораторної медицини та клінічної мікробіології Університетської лікарні м. Оребро (Швеція, SE – 701 85) (центр співробітництва ВООЗ) (сертифікат про акредитацію відповідно до ISO 15189:2007 №1351 від 15.06.2015, 22.03.2018 та 13.05.2019) у межах наказу головного лікаря ТОКШВД №437 від 02.10.2015 «Про організацію у ТОКШВД зовнішнього контролю якості діагностики ІПСШ» та угоди про міжнародну співпрацю між Тернопільським національним медичним університетом імені І. Я. Горбачевського МОЗ України і центром співробітництва ВООЗ від 10.12.2019 р.

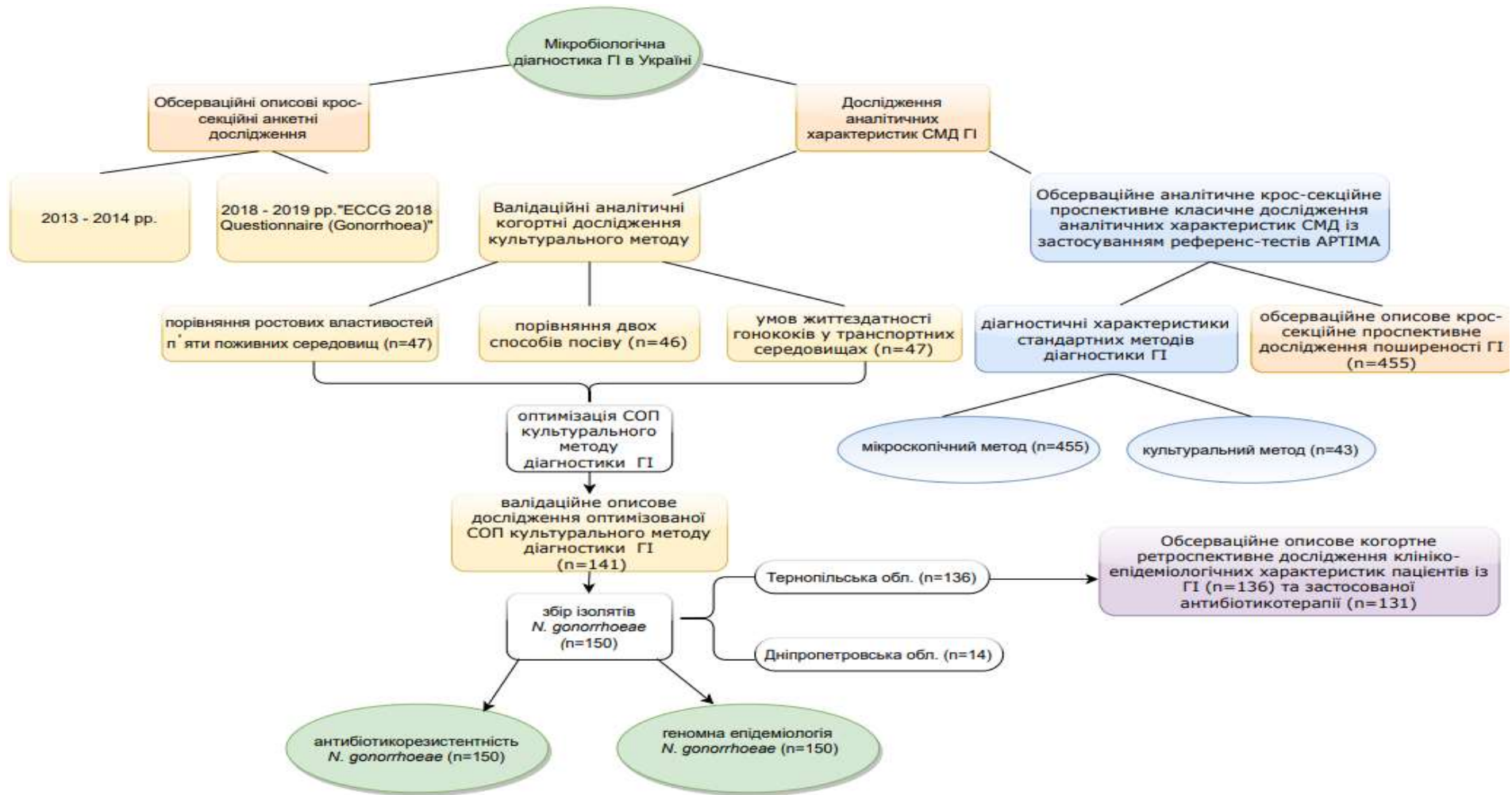


Рис. 2.1. Методологія та основні етапи оцінювання мікробіологічної діагностики гонококової інфекції (ГІ), дослідження антибіотикорезистентності (АБР) та геномної епідеміології *N. gonorrhoeae* в Україні (СМД – стандартні методи діагностики; СОП – стандартна операційна процедура).

2.2. Оцінювання мікробіологічної діагностики гонококової інфекції в Україні

Аналіз стану мікробіологічної діагностики ГІ здійснено за даними, отриманими від обласних шкірно-венерологічних диспансерів (ОШВД) України шляхом анкетування. Опитування охоплювало збір статистичних даних про кількість мікробіологічних досліджень і позитивних результатів на предмет ГІ, запитання щодо забору біологічних зразків і використання мікробіологічних методів виявлення *N. gonorrhoeae* за період із січня 2013 року до вересня 2014 року. Анкету запропонували всім 27 ОШВД в Україні. Зразок анкети оцінювання можливостей діагностики ГІ подано в додатку А.

У період із листопада 2018 року до березня 2019 року два експерти з України взяли участь у європейському анонімному онлайн-анкетуванні «ECCG 2018 Questionnaire (Gonorrhoea)» щодо клінічного менеджменту ГІ з акцентом на лабораторні тести, діагностику та спостереження за пацієнтами, організованому Європейською спільною клінічною групою Міжнародної спілки проти ІПСШ. Результати відповідей експертів з України (n = 2) разом із даними 76 експертів із 22 інших країн Європейського регіону ВООЗ (країни, які належать до Європейського Союзу або Європейської економічної зони (n = 15), інші країни Європейського регіону ВООЗ (n = 7)) проаналізовано у даній роботі. Зразок запитань анкети був доступний на платформі SurveyMonkey за посиланням: <https://www.surveymonkey.co.uk/r/NMLQZW9>. У роботі використано частину запитань анкети, стосовно діагностики ГІ. Запитання анкети «ECCG 2018 Questionnaire (Gonorrhoea)» подано в додатку Б.

Для оцінювання результатів анкетування здійснено описовий аналіз з описом відсоткового співвідношення різних відповідей респондентів.

2.3. Етапи дослідження аналітичних характеристик культурального методу діагностики гонококової інфекції

Валідаційні аналітичних когортні дослідження культурального методу діагностики ГІ здійснено в ТОКШВД протягом липня 2013 року – серпня 2018 року.

Валідація – це підтвердження шляхом дослідження та надання об'єктивних свідчень того, що конкретні вимоги для конкретного методу виконано. За своєю сутністю валідація є експериментальним доказом того, що методика придатна для вирішення поставлених завдань. Щобільше, валідація повинна продемонструвати, що методика дозволяє отримати коректні результати саме в тій лабораторії, де виконуватиметься рутинний аналіз [123].

ПС, яке застосовується у культуральному методі діагностики ГІ, має забезпечувати зростання щонайменше 85 % культур гонококів [200].

Дослідження охоплювало чотири послідовні етапи:

- а) валідація ПС;
- б) дослідження способів посіву біологічного матеріалу для одержання гонококів культуральним методом;
- в) вивчення умов життєздатності *N. gonorrhoeae* за зберігання у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям;
- г) оптимізація та валідація СОП виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом.

2.4. Порівняння ростових властивостей поживних середовищ відносно виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом

Для оцінювання аналітичних характеристик ПС використано клінічні ізоляти гонококів від 47 пацієнтів ТОКШВД із підтвердженим діагнозом ГІ. Усі ізоляти гонококів зберігали у замороженому стані за температури

(- 72 ± 2) °C в середовищі збереження (триптиказо-соевий бульйон із вмістом 20 % гліцеролу) [200].

Критеріями вибору ПС для дослідження їх ростових властивостей були:

а) ПС використовувалися для культуральної діагностики ПІ респондентами анкетування щодо можливостей діагностики гонококової інфекції в обласних шкірно-венерологічних диспансерах України за період 2013 – 2014 рр. [7];

б) ПС були доступні до придбання в Україні протягом періоду дослідження.

Були валідовані п'ять ПС:

а) селективний шоколадний агарTM+PolyViteX VCAT3 виробництва bioMérieux, Марсу-л'Étoile, Франція (ША);

б) селективний агар Тайєра-Мартіна виробництва HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Мумбаї, Індія (ТМ);

в) селективний набір для одержання гонококів культуральним методом (СВГ) виробництва Федерального бюджетного закладу науки НДІ епідеміології та мікробіології ім. Пастера, Санкт-Петербург, Російська Федерація;

г) поживне середовище для одержання та культивування гонококів сухе (ГНК-агар) виробництва Федерального бюджетного закладу науки державного центру прикладної мікробіології та біотехнології м. Оболенськ, Російська Федерація;

д) жовткове поживне середовище (ЖПС) [19].

ТМ, СВГ та ГНК-агар готували у бактеріологічному підрозділі клініко-діагностичної лабораторії ТОКШВД згідно з інструкціями виробників; ЖПС готували відповідно до уніфікованої рецептури [19]. Щоб уникнути можливих упереджень, ПС готували два лаборанти, яких змінювали щотижня. Селективний ША був приготований виробником і закуповувався вже готовим до посіву.

Протестували дві різні серії селективного ША та СВГ, а також по одній серії селективного агару ТМ і СВГ. Для приготування ЖПС використовували одну серію основи й дві серії сироватки великої рогатої худоби, курячі яйця купували щотижня в приватних фермерів.

Три з п'яти ПС (ША, ТМ, СВГ) є селективними ПС та містять антибіотики. Два інші ПС (ГНК-агар та ЖПС) є неселективними, до яких додали лише лінкоміцин.

ША містив основу з рН 7,3, комерційний поживний додаток PolyViteX та селективний додаток із комплексом антибіотиків VCAT3.

Агар Тайера-Мартіна містив основу з рН ($7,0 \pm 0,2$), вітамінно-ростовий додаток FD025, розчинний порошок гемоглобіну FD022 та селективний додаток V.C.N.T FD024, який має в складі ванкоміцин, колістин, триметоприм і ністатин.

СВГ з основою рН 7,15 містив комерційні комплекси коензимів, лізату еритроцитів та цукри, а також антибіотики й активні протигрибкові компоненти.

ГНК-агар містив основу з рН 7,15 із додаванням 10 % сироватки великої рогатої худоби як поживного компонента та лінкоміцин у концентрації 2 мкг/мл (Фармацевтична компанія «Дарниця», Київ, Україна).

ЖПС містило агар Мюллера-Хінтона (ТОВ «Фармактив», Київ, Україна) з рН 7,27 як основу, поживні добавки (20 % сироватку великої рогатої худоби та 10 % жовток свіжого курячого яйця) й лінкоміцин у концентрації 2 мкг/мл.

Ізоляти гонококів розморожували, відновлювали на неселективному шоколадному агарі з поживним додатком PolyViteX (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Франція) та переносили на 5 різних ПС за допомогою стерильної пластикової петлі об'ємом 10 мкл. Зразки наносили на поверхню агару чашки Петрі у вигляді літери «Z», а потім її заштриховували. Засіяні чашки Петрі негайно інкубували протягом 18 – 48 годин за температури (36 ± 1) °С в умовах підвищеної вологості та атмосфери, збагаченої 5 % вуглекислим газом (діоксидом вуглецю, CO₂) [19].

Усі чашки Петрі оцінювали на наявність типових колоній через 18 – 24 години, а в разі негативного результату – додатково через 48 та 72 години. Якщо зростання підозрілих колоній не було, чашки Петрі повторно перевіряли кожні 24 години впродовж 7 діб [19].

Морфологічно типовими вважали колонії білого й сірого кольору, прозорі або мутні, випуклі чи плоскі, діаметром 0,5 – 1 мм. Ізоляти *N. gonorrhoeae* ідентифікували за допомогою мікроскопії за Грамом, визначення ферменту цитохром С-оксидази та біохімічного методу [19, 200].

Тинкторіальні й морфологічні характеристики культур вивчали методом світлової імерсійної мікроскопії мазків підозрілих культур за Грамом зі збільшенням 1000 x відповідно до національних рекомендацій та настанов ВООЗ [19, 200]. Для внутрішнього контролю якості методики фарбування за Грамом використовували музейні штами *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) (як позитивний контроль) та *Escherichia coli* (ATCC 25922) (як негативний контроль). Виявлення грамнегативних диплококів у мазках культур вважали типовими характеристиками для роду *Neisseria spp.* [19, 200].

Визначення ферменту цитохром С-оксидази підозрілими культурами здійснювали за допомогою оксидазного тесту – швидкого тесту на продукцію цитохром С-оксидази OXItest (Mikrolatest, Erba Lachema s.r.o., Брно, Чеська Республіка) відповідно до інструкції виробника. Як негативний контроль використовували музейну культуру *Escherichia coli* (ATCC 25922), як позитивний контроль – *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Зміну кольору тест-смуги із сірого на синій після нанесення культури вважали позитивним результатом. Відсутність зміни кольору тестової смуги свідчила про нездатність культур продукувати цитохром С-оксидазу. Для роду *Neisseria spp.* характерною ознакою є продукція ферменту цитохром С-оксидази [19, 200].

Біохімічний метод ідентифікації застосовували за допомогою швидкого тесту утилізації цукрів Neisseria-test (PLIVA-Lachema Diagnostika s.r.o., Брно,

Чеська Республіка) відповідно до інструкції виробника. Культура *N. gonorrhoeae* здатна розщеплювати лише глюкозу [19, 200].

Позитивними результати вважали за наявності хоча б однієї типової колонії, підтвердженої як *N. gonorrhoeae*.

ПС порівняли за відносними показниками одержаних культур і часу, потрібного для одержання ізолятів *N. gonorrhoeae*. Розраховали дійсно позитивні, хибно негативні результати культурального методу діагностики ПІ залежно від одержання *N. gonorrhoeae* на різних ПС.

2.5. Порівняння прямого і непрямого способів посіву біологічного матеріалу для виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом

Для одержання *N. gonorrhoeae* у культурах проводили забір по два зразки матеріалу з уретри в чоловіків та цервікального каналу в жінок. Один зразок відбирали за допомогою стерильної уретральної пластикової петлі, другий – за допомогою зонда із системи непоживного транспортного середовища агарового гелю Amies з вугіллям (Copan Diagnostics Inc., Брешиа, Італія).

Перший зразок лікар-дерматовенеролог негайно інокулював безпосередньо на селективний ША в консультаційному кабінеті й одразу поміщав до термостата для інкубації (прямий спосіб посіву біологічного матеріалу).

Другий зразок поміщали в транспортне середовище, яке тимчасово зберігали в консультаційному кабінеті ($3,1 \pm 1,4$) год (діапазон: 0,5 – 6 год; $Me = 3$ год, $IQR = 2 - 4$ год) за кімнатної температури 18 – 25 °С, а потім транспортували протягом 10 – 15 хв у термоконтейнері до КДЛ ТОКШВД за температури навколишнього середовища (непрямий спосіб посіву біологічного матеріалу).

Одразу після доставлення до бактеріологічного підрозділу КДЛ зразки з транспортних середовищ (ТС) інокулювали на селективний ША, після чого

інкубували й ідентифікували одержані культури за вищезгаданими методиками.

Спосіб інокуляції біологічного матеріалу порівнювали за відносними показниками одержаних культур і часу, потрібного для одержання ізолятів *N. gonorrhoeae*. Розраховали дійсно позитивні, хибно негативні результати культурального методу діагностики ПІ залежно від способів посіву біологічного матеріалу.

2.6. Дослідження умов життєздатності *N. gonorrhoeae* за зберігання у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям

Субкультури 46 клінічних ізолятів *N. gonorrhoeae* відновлювали на неселективному шоколадному агарі з поживним додатком PolyViteX (bioMérieux, Marcy- l'Étoile, Франція) протягом 18 – 24 годин. Інкубацію та ідентифікацію культур проводили за вищезгаданими методиками.

Для отримання бактеріального інокулюму використовували прямий метод приготування робочого розчину суспензії мікроорганізмів із колоній у стерильному фізіологічному розчині щільністю 0,5 за стандартом мутності МакФарланд, що відповідав приблизно $1,5 \times 10^8$ КУО/мл.

Спочатку зонди із ТС занурили в робочий розчин бактерійної суспензії кожного тестового ізоляту. Зонди тримали в робочій суспензії протягом 0,5 – 1 хв, після чого залишки суспензії відтискали об внутрішні стінки стерильної пробірки. Зонди занурювали в стовпчик гелю з вугіллям ТС та щільно закривали систему. Перші п'ять ТС зберігали за кімнатної температури (18 – 25 °С), інші п'ять – у холодильнику за температури 2 – 8 °С. Через 5 – 15 хвилин (0 годин) та через 24, 48, 72 й 96 год тимчасового зберігання ТС проводили посів на селективний ША за вищезазначеною методикою.

Умови тимчасового зберігання ТС порівняли за відносними показниками кількості одержаних культур й часу підтримування життєздатності ізолятів *N. gonorrhoeae*.

2.7. Валідаційне дослідження стандартної операційної процедури виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом

Оптимізована СОП виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом, включала п'ять послідовних етапів: визначення цільової групи пацієнтів шляхом оцінювання епідеміологічних і клінічних показів для обстеження на ГІ (пацієнти з клінічними симптомами ІПСШ та / або поточною ІПСШ у статевих партнерів, та / або наявність чисельних (або нових) статевих партнерів, у яких були виявлені грамнегативні диплококи в урогенітальних мазках); мікроскопічний метод *in situ* на наявність диплококів у біологічному матеріалі; забір біологічного матеріалу з використанням непоживного транспортного середовища агарового гелю Amies з вугіллям; тимчасове зберігання біологічного матеріалу у транспортних середовищах за температури 2 – 8 °С; посів на селективний ША. Оптимізовану СОП виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом впровадили в практику КДЛ у липні 2013 року (рис. 2.2).

Попередня СОП культуральної діагностики ГІ застосовувалася для усіх пацієнтів ТОКШВД, які зверталися з метою обстеження на ІПСШ, без визначення цільової групи. Попередня СОП культуральної діагностики ГІ включала прямий спосіб посіву біологічного матеріалу на селективний агар ТМ.

СОП оцінили відповідно до таких критеріїв: відсоток життєздатних ізолятів; відсоток підтверджених ізолятів *N. gonorrhoeae*; частка одержаних ізолятів *N. gonorrhoeae* від загальної кількості офіційно зареєстрованих випадків ГІ у Тернопільській області (загальне покриття) протягом періоду дослідження (2013 – 2018 рр.) (рис. 2.2).

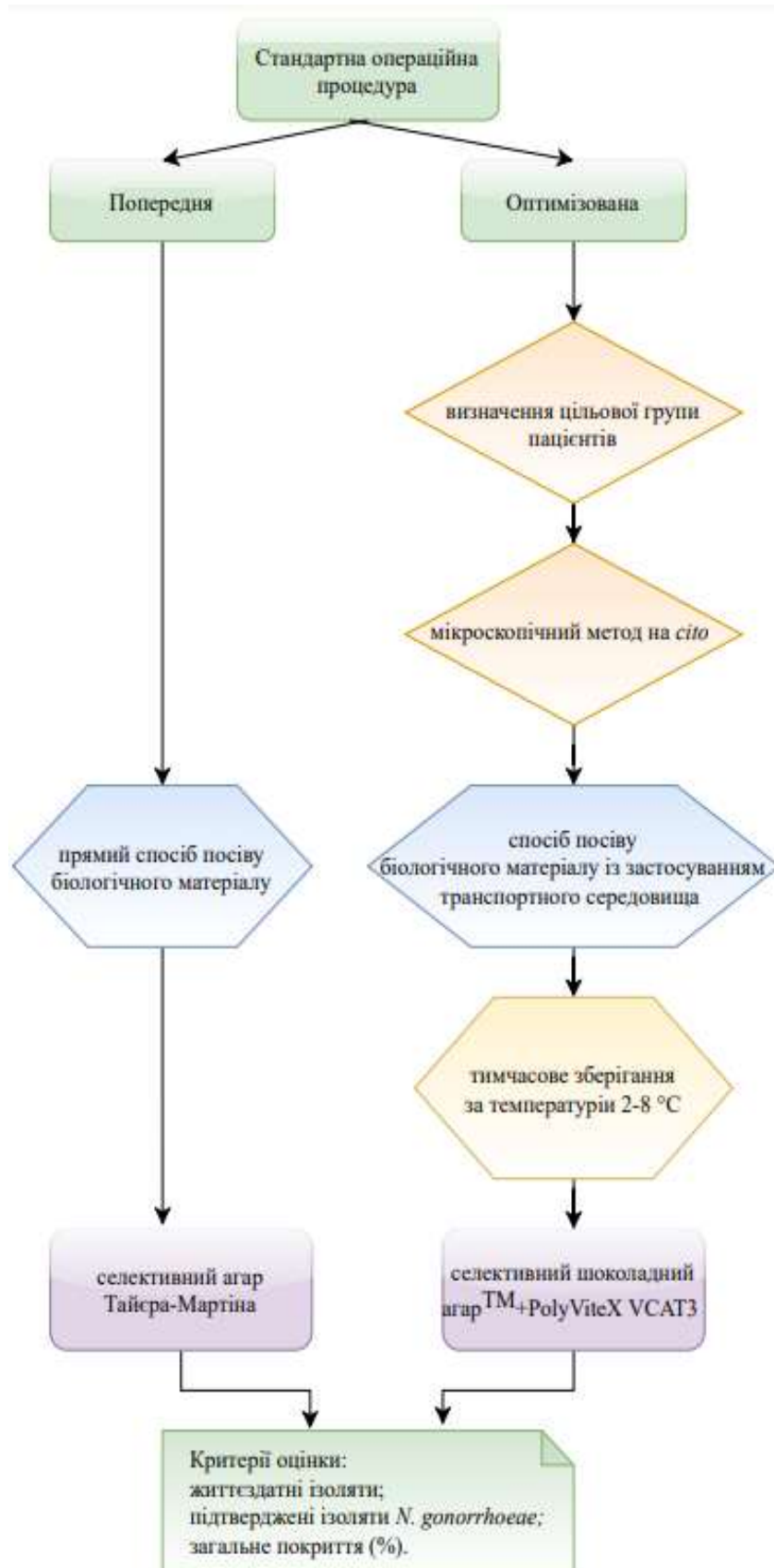


Рис. 2.2. Етапи валідаційного дослідження стандартної операційної процедури виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом

Залежно від повідомленої пацієнтами їхньої статевої поведінки та / або наявності клінічних симптомів два уретральні та / або ректальні зразки в чоловіків, два цервікальні й вагінальні зразки в жінок відбирали для мікроскопічного методу із забарвленням метиленовим синім і за Грамом, а також для одержання *N. gonorrhoeae* у культурах.

Забір зразків проводили лікарі-дерматовенерологи, інструктовані для виконання цього дослідження. Транспортування, посів, інкубацію та ідентифікацію здійснено за вищезазначеними методиками.

Максимально можливу кількість колоній з усієї чашки Петрі ізолятів гонококів, одержаних через 18 – 24 годин інкубації, переносили за допомогою стерильної бактеріологічної петлі до мікропробірки типу Microbank об'ємом 2 мл з триптиказо-соєвим бульйоном, який містив додатково 20 % гліцеролу [200]. Культури перемішували з бульйоном шляхом ручного прокручування в мікропробірці тієї самої стерильної бактеріологічної петлі. Пробірки підписували водостійким маркером, зазначаючи код й дату одержання культури гонокока.

Пробірки ізолятів у середовищі збереження негайно поміщали до камери низькотемпературного морозильника ХНТ-10 (ТОВ «НВТ «ДНІПРО-МТО», Київ, Україна) за температури $(-72 \pm 2)^\circ\text{C}$ з подальшим транспортуванням у технічному «сухому льоді» (твердий діоксид карбону) за температури $(-78 \pm 1)^\circ\text{C}$ до центру співробітництва ВООЗ для референтного тестування, визначення чутливості до антибіотиків і генетичних досліджень одержаних ізолятів гонококів.

У центрі співробітництва ВООЗ ізоляти розморожували та відновлювали на неселективному агарі, що містив Difco GC (Becton, Dickinson and Company, Спаркс, Меріленд, США), збагаченому 1 % IsoVitaleX (Becton, Dickinson and Company, Спаркс, Меріленд, США) та 1 % гемоглобіном (Becton, Dickinson and Company, Спаркс, Меріленд, США). Ізоляти інкубували протягом 18 – 24 год за температури $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ в атмосфері, з підвищеною вологістю і збагаченій 5 % вуглекислим газом (діоксидом вуглецю, CO_2).

Усі культури додатково ідентифікували в центрі співробітництва ВООЗ за допомогою MALDI-TOF MS, використовуючи комп'ютерну програму Bruker MALDI Biotyper (версія 4.1.70 (PYTH) 48 2016-10-26_15-05-35) для аналізу результатів MALDI-TOF MS (Microflex LT, Bruker Daltonik, Бремен, Німеччина).

У центрі співробітництва ВООЗ додатково проводили ідентифікацію ізолятів за допомогою Serheid Xpert CT/NG тесту на основі МАНК, заснованого на двох високо консервативних незалежних хромосомних мішенях *N. gonorrhoeae*, який використовують в інструментальних системах GeneXpert Instrument Systems Infinity відповідно до інструкцій виробника (Serheid Inc., Каліфорнія, Сонівейл, США) [99, 125].

Референтні штами 2008 ВООЗ *N. gonorrhoeae* та 2016 ВООЗ *N. gonorrhoeae* використали для контролю якості всіх фенотипових характеристик ізолятів *N. gonorrhoeae* [206, 211].

2.8. Визначення поширеності гонококової інфекції та аналітичних характеристик стандартних методів діагностики

Дослідження загалом охопило 455 пацієнтів, яких обстежили на ГІ у ТОКШВД у період із жовтня 2015 року до січня 2016 року.

Критеріями для залучення до дослідження були: особи віком від 18 років із симптомами ППСШ та / або наявністю незахищених статевих контактів чи повідомлення від статевого партнера про потребу обстеження на ППСШ.

Критеріями вилучення були: застосування антибіотиків останні 2 тижні перед дослідженням; місцеве лікування інтравагінальними препаратами останні 7 днів перед дослідженням; звернення під час менструації; вагітність.

Усі пацієнти разом із їхніми статевими партнерами отримали медичну допомогу відповідно до рекомендацій МОЗ України [21, 22], надавши

письмову інформовану згоду. Жодні ідентифікаційні дані пацієнтів не були використані в дослідженні.

2.8.1. Забір біологічних зразків для референс-тестування

Забір біологічних зразків (уретральних зразків у чоловіків і вагінальних зразків у жінок) для МАНК із використанням тестів Artima Combo 2 (тести Artima) й СМД (мікроскопічний і культуральний методи) проводили лікарі-дерматовенерологи, які пройшли додаткове інструктування. Забір біологічного матеріалу для референтного тестування здійснено за допомогою відповідних комплектів Artima згідно з інструкцією виробника (Hologic Inc., Сан-Дієго, Каліфорнія, США) [30, 31]. Для мікроскопічного методу із забарвленням уrogenітального матеріалу метиленовим синім і за Грамом було відібрано два додаткові уретральні зразки в чоловіків і по два вагінальних та цервікальних зразки в жінок [19].

Відповідно до стандартної практики у випадках надмірних уrogenітальних виділень відбирали один додатковий цервікальний зразок у жінок й уретральний – у чоловіків для культурального методу виділення *N. gonorrhoeae* [19].

Біологічний матеріал для виділення гонококів у культурах негайно поміщали в непоживне транспортне середовище агарового гелю Amies з вугіллям (Copan Diagnostics Inc., Брешиа, Італія). Тимчасово зберігали та транспортували ТС у КДЛ за вищезазначеними умовами.

Усі біологічні зразки для тестів Artima тимчасово зберігали за кімнатної температури (18 – 25°C) протягом 0,5 – 6 год, транспортували в КДЛ ТОКШВД за температури навколишнього середовища в транспортному термозахисному контейнері, а в КДЛ – зберігали за температури (-21 ± 1) °C. Зразки надсилали до центру співробітництва ВООЗ для референс-тестування, дотримуючись збереження холодого режиму за допомогою сухого льоду.

Усі тести Artima проводили з використанням платформи Panther System Gen-Probe (Hologic Inc., Сан-Дієго, США) відповідно до інструкції виробника

[29]. Зразки визнавали дійсно позитивними, якщо (а) тест Artima та СМД були одночасно позитивні або (б) лише тест Artima був позитивним. Зразки визнавали дійсно негативними, якщо (а) тест Artima й СМД були одночасно негативні або (б) лише тест Artima був негативним. Результати всіх СМД були засліплені для проведення референтного тестування.

2.8.2. Стандартні методи діагностики гонококової інфекції

Усі СМД виконували в КДЛ ТОКШВД відповідно до локальних СОП та уніфікованих методів діагностики ІПСШ [19]. СМД передбачали мікроскопічний метод дослідження урогенітальних мазків, зафарбованих метиленовим синім і за Грамом та культуральний метод із використанням непоживного транспортного середовища агарового гелю Amies з вугіллям (Coran Diagnostics Inc., Брешиа, Італія) і селективного ША. Використовуючи транспортний зонд, зразок наносили на ПС, інкубували та ідентифікували одержані культури, як це було зазначено вище.

2.9. Клініко-епідеміологічна характеристика пацієнтів із гонококовою інфекцією

Обсерваційне описове когортне ретроспективне дослідження охопило 136 дорослих, які зверталися до ТОКШВД у період із липня 2013 року до серпня 2018 року та у яких було діагностовано ГІ. Усі пацієнти надали письмову інформовану згоду, були обстежені на ІПСШ та отримали лікування відповідно до рекомендацій, затверджених МОЗ України [21, 22].

Забір біологічного матеріалу для мікробіологічного дослідження у жінок проводили із цервікального каналу, а в чоловіків – з уретри. Забір екстрагенітальних зразків проводили у чоловіків, які мали статеві стосунки із чоловіками (ЧСЧ), та в чоловіків і жінок, які мали оральні та / або анальні статеві стосунки. Забір усіх зразків робили до початку специфічного лікування.

Діагноз ГІ у всіх пацієнтів підтвердили відповідно до національних рекомендацій [19, 21, 22] та настанов ВООЗ [200]. Супутні ППСШ діагностували відповідно до національних діагностичних рекомендацій [19]: *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis* та *Candida spp.* виявляли за допомогою мікроскопічного методу із забарвленням уrogenітального матеріалу метиленовим синім і за Грамом; *Chlamydia trachomatis* – за допомогою мікроскопічного методу із забарвленням біологічного матеріалу за Романовським-Гімзою для визначення внутрішньоклітинних цитоплазматичних включень; герпетичну інфекцію другого типу – за допомогою імуноферментного аналізу з використанням Vitrotest HSV2-Ig G ELISA для визначення Ig G проти видоспецифічного рекомбінантного антигена *Herpes simplex* type 2 (ТОВ «Рамінтек ЛТД», Київ, Україна) та мікроскопічного методу із забарвленням біологічного матеріалу за Романовським-Гімзою. Серодіагностику сифілісу проводили за допомогою реакції мікропреципітації (кардіоліпіновий антиген для реакції мікропреципітації, ПАТ «Фармстандарт–Біолік», Харків, Україна) і реакції Вассермана (кардіоліпіновий антиген для реакції зв'язування комплекменту, сухий комплекмент, діагностична гемолітична сироватка для реакції зв'язування комплекменту, ПАТ «Фармстандарт–Біолік», Харків, Україна) [19]. ВІЛ-статус визначали за допомогою швидких тестів SD bioline HIV ½ - 3.0 (Standard diagnostics, inc., Suwon, провінція Kyonggi, Корея) та Alere Determine™ HIV-1/2 SET (Alere Medical Co., Ltd., Токіо, Японія).

До статистичного аналізу включали дані пацієнтів про стать, вік, місце проживання, сферу занять, сімейний стан, країну / область інфікування ГІ, наявність ППСШ в анамнезі, вік початку статевої активності, статево орієнтацію, зв'язки зі статевими партнерами, кількість статевих партнерів протягом останніх трьох місяців, обстеження статевих партнерів, інкубаційний період, кількість днів із симптомами перед першим звертанням за медичною допомогою, симптоми інфекції, клінічний діагноз, супутні ППСШ

із використанням СМД, ВІЛ-статус, анатомічні ділянки забору біологічного матеріалу, результати мікроскопічного методу, схеми й наслідки лікування.

2.10. Визначення чутливості ізолятів *N. gonorrhoeae* до антибіотиків

Критерії інтерпретації результатів мінімальної інгібуючої концентрації (МІК, мг/л) подано у табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Концентрації різних антибіотиків на градієнтних тестових смугах Е-тесту та інтерпретація МІК

Антибіотик	Діапазон концентрації, мг/л	Критерії інтерпретації EUCAST		
		межова МІК, мг/л		
		S ≤	I	R >
Цефтріаксон	0,016 – 256	0,125	–	0,125
Цефіксим	0,016 – 256	0,125	–	0,125
Азитроміцин	0,016 – 256	1,000	–	1,000
Ципрофлоксацин	0,002 – 32	0,030	> 0,03 – ≤ 0,06	0,060
Бензилпеніцилін	0,002 – 32	0,060	> 0,06 – ≤ 1,00	1,000
Тетрациклін	0,016 – 256	0,500	> 0,50 – ≤ 1,00	1,000
Спектиноміцин	0,064 – 1024	64,000	–	64,000
Гентаміцин	0,016 – 256	4,000	8,00 – 16,00	16,000

Примітка. EUCAST – Європейський комітет з визначення чутливості до антимікробних препаратів (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing); МІК – мінімальна інгібуюча концентрація; S – чутливий за стандартного режиму дозування; I – чутливий у разі підвищеного режиму дозування (помірно стійкий); R – резистентний.

МІК до восьми антибіотиків визначали за допомогою Е-тесту (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Франція) з використанням основи середовища Difco GC (Becton, Dickinson and Company, Спаркс, Меріленд, США),

збагаченої 1 % IsoVitaleX та 1 % гемоглобіном (Becton, Dickinson and Company, Спаркс, Меріленд, США). Чашки Петрі інкубували протягом 18 – 20 годин за температури $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в атмосфері підвищеної вологості та збагаченої 5 % вуглекислим газом (діоксидом вуглецю, CO_2).

Визначення чутливості до антибіотиків проводили для всіх ізолятів щодо таких антибіотиків: цефіксим, цефтріаксон, бензилпеніцилін, гентаміцин, тетрациклін, азитроміцин, спектиноміцин і ципрофлоксацин.

Результати МІК антибіотиків та, за доступності, критерії чутливості (S) і резистентності (R) інтерпретували відповідно до рекомендацій Європейського комітету з визначення чутливості до антимікробних препаратів (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing breakpoints, EUCAST). Починаючи з 2019 року, EUCAST не надає клінічних інтерпретацій щодо резистентності азитроміцину. Епідеміологічні точки відсікання (Epidemiological cut-off values) EUCAST використали для визначення резистентності азитроміцину за $\text{МІК} > 1$ мг/л [91]. Для інтерпретації чутливості до гентаміцину використовували раніше опубліковані критерії [35, 50, 149].

Для визначення ефективності антибіотиків проводили розрахунок МІК_{50} та МІК_{90} , обчислюючи МІК, які пригнічують ріст відповідно 50 % і 90 % досліджених ізолятів *N. gonorrhoeae* [98, 181].

Епідеміологічно значуща частка резистентних ізолятів гонококів до певного антибіотика була прийнята за 5 % відповідно до рекомендацій ВООЗ [71, 191, 223].

Продукцію β -лактамази визначали за допомогою нітроцефінового тесту Oxoid Limited, (Basingstoke, Гемпшир, Сполучене королівство).

Для контролю якості використовували референтні штами 2008 та 2016 років ВООЗ *N. gonorrhoeae* [87, 206, 211].

2.11. Повне секвенування геному ізолятів *N. gonorrhoeae*

ПСТ виконано на основі технології секвенування майбутнього покоління. Геномні ДНК виділяли з використанням QIAasympyphony DSP Virus/Pathogen MidiKit (Qiagen GmbH, Гільден, Німеччина). ПСТ виконали для всіх ізолятів за допомогою Nextera XT DNA library preparation kit та Illumina MiSeq Platform відповідно до інструкцій виробників (Illumina, Inc., Сан-Дієго, Каліфорнія, США).

Для низхідного аналізу використали індивідуальну версію програмного забезпечення CLC Genomic Workbench software v.9.5.5 (CLC bio, Qiagen). Детермінанти АБР, зокрема *penA*, *mtrR*, *penB* (*porB1b* мутації), *ponA*, *gyrA*, *parC* та *rpsJ*, визначали за допомогою реконструкції *de novo*, заснованій на *in silico*. Частоту мутацій, які визначають резистентність до макролідів (A2059G, C2611T) у ділянці пептидотрансферази домену V гена *23S rRNA*, та мутації генів, що відповідають за АБР до спектиноміцину (*16S rRNA* та *5S rRNA*), визначали з використанням інтегрованого картографування і якісно гарантованого варіанта детекції в межах персоналізованого CLC Genomic Workbench. Алелі MLST, NG - STAR і NG-MAST для всіх ізолятів визначали *in silico* з використанням CLC Genomic Workbench та NG-MASTER [190]. Дані баз MLST (<https://pubmlst.org/neisseria/>), NG-MAST (<http://www.ng-mast.net/>) і NG-STAR (<https://ngstar.canada.ca/pages/welcome?lang=en>) використовували для призначення номерів алелей та секвенс-типів (STs) [80].

Читання результатів для всіх ізолятів зіставляли з хромосоною *N. gonorrhoeae* референс-штаму BOO3 F [80, 211] із використанням SMALT (версія 0.7.6, Genome Research Ltd., Хінкстон, Кембриджшир, Сполучене королівство) та перестановкою індексу GATK. Запит на SNP виконували за допомогою bcftools (версія 0.1.19) на базі інструменту групування послідовностей та картографування SAMtools (версія 0.1.19, Genome Research Ltd., Хінкстон, Кембриджшир, Сполучене королівство). Дендрограму максимальної ймовірності відтворювали з групування всього геному за допомогою RAxML (версія 8, Scientific Computing Group, Гейдельберг, Німеччина) за узагальненою оборотною моделлю еволюції за часом із

корекцією Гамма для варіації швидкості між ділянками із чотирма категоріями швидкості [187]. Еволюційна відстань, як міра генетичної відмінності між геномами ізолятів, представлена як кількість SNP на одну пару основ. Філогеномічні клейди визначали на основі генетичних (патристичних) відстаней у філогенетичному дереві за допомогою інструменту RAxML [126]. Визначено шість кластерів, зокрема чотири великі кластери (> 6 ізолятів) з індексом інформаційного різноманіття Шеннона 1,224 та справжніми спільнотами 0,788 [97].

Платформу візуалізації та відстеження епідемій у реальному часі із загальним доступом Microreact (Центр спостереження за геномним патогеном, Кембриджшир, Сполучене Королівство, <https://microreact.org>) використали для візуалізації геномної епідеміології і філогеографії з демонстрацією спорідненості ізолятів [32]. Проєкт під назвою «190524_Ukraine» доступний за посиланням: <https://microreact.org/project/YaWFAnvnQ>.

2.12. Методи статистичної обробки отриманих результатів

Поширеність характеризує фактичне розповсюдження патогену у визначеній популяції. Поширеність ГІ вираховували як частку населення із позитивними результатами референтних тестів Artima у визначений період за формулою [27, 154]:

$$\text{Поширеність, \%} = I \times 100 / N, \quad (2.1)$$

де I – кількість осіб із позитивними результатами референтних тестів Artima;

N – загальна кількість обстежених осіб за допомогою референтних тестів Artima.

Чутливість – показник, який показує частку позитивних результатів за наявності цієї інфекції, тобто ймовірність, що метод (тест) дасть змогу точно

визначити всі позитивні зразки від інфікованих осіб. Для обчислення чутливості застосовували формулу [27]:

$$\text{Чутливість, \%} = \text{ДПР} \times 100 / (\text{ДПР} + \text{ХНР}), \quad (2.2.)$$

де ДПР – дійсно позитивні результати;

ХНР – хибно негативні результати.

Специфічність – показник, який показує частку негативних результатів за відсутності цієї інфекції, тобто ймовірність, що метод (тест) дасть змогу точно визначити всі негативні зразки. Для обчислення специфічності застосовували формулу [27]:

$$\text{Специфічність, \%} = \text{ДНР} \times 100 / (\text{ДНР} + \text{ХПР}), \quad (2.3.)$$

де ДНР – дійсно негативні результати;

ХПР – хибно позитивні результати.

Прогнозоване позитивне значення результатів тесту (ППЗ) – імовірність, що особи з позитивними результатами методу (тесту), який оцінюють, справді інфіковані. ППЗ розраховували за формулою [27]:

$$\text{ППЗ, \%} = \text{ДПР} \times 100 / (\text{ДПР} + \text{ХПР}), \quad (2.4)$$

де ППЗ – прогнозоване позитивне значення;

ДПР – дійсно позитивні результати;

ХПР – хибно позитивні результати.

Прогнозоване негативне значення (ПНЗ) – імовірність, що особи з негативними результатами методу (тесту), який оцінюють, справді здорові. ПНЗ обчислювали за формулою [27]:

$$\text{ПНЗ, \%} = \text{ДНР} \times 100 / (\text{ДНР} + \text{ХНР}), \quad (2.5)$$

де ПНЗ – прогнозоване негативне значення;

ДНР – дійсно негативні результати;

ХНР – хибно негативні результати.

Загальну узгодженість (ЗУ) тестів визначали за допомогою частки однакових результатів між референтними тестами Aptima та СМД від усіх зразків за формулою [27, 29, 66]:

$$\text{ЗУ, \%} = (\text{ДПР} + \text{ДНР}) \times 100 / (\text{ДПР} + \text{ДНР} + \text{ХПР} + \text{ХНР}), \quad (2.6)$$

де ДПР – дійсно позитивні результати;

ДНР – дійсно негативні результати;

ХПР – хибно позитивні результати;

ХНР – хибно негативні результати.

Загальне покриття – частка одержаних ізолятів *N. gonorrhoeae* від усіх офіційно зареєстрованих випадків ГІ на визначеній території [227]:

$$\text{Загальне покриття} = n \times 100 / N \quad (2.7)$$

де n – кількість одержаних ізолятів *N. gonorrhoeae*;

N – кількість офіційно зареєстрованих випадків ГІ на визначеній території.

Клінічно значущий показник загального покриття був прийнятий за 10 % відповідно до рекомендацій ВООЗ [227].

Накопичення, систематизацію вихідної інформації та візуалізацію отриманих результатів здійснювали в програмі Microsoft® Excel® 2016 MSO. Усі статистичні аналізи виконали з використанням програмного забезпечення MedCalc Statistical Software version 19.11.3 (MedCalc Software bvba, Остенде, Бельгія).

Для порівняння показників різних груп використовувалися стандартні статистичні критерії перевірки гіпотез. Для адекватного представлення числових даних попередньо проводилася перевірка розподілу на нормальність. Стандартні параметричні та непараметричні методи описової статистики були використані для представлення результатів дослідження.

При вивченні якісних ознак (наявність-відсутність мікроорганізму, морфологічної ознаки тощо), для опису використовували абсолютні значення досліджуваної вибірки (N), абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці (n); показник частоти виникнення певної ознаки в досліджуваній вибірці виражали у відносних величинах (%). Межі довірчого інтервалу із рівнем довіри 95 % (95 % ДІ) розраховували для відносних величин, використовуючи метод точного біноміального розподілу [27].

У разі, коли розподіл не відрізнявся від нормального, кількісні дані наукового дослідження були статистично оброблені за допомогою стандартних формул із визначенням середнього арифметичного (M) з його стандартним відхиленням ($\pm SD$). Якщо розподіл відрізнявся від нормального, для представлення даних обчислювалося значення медіани (Me) та міжквартильний діапазон (interquartile range, IQR), який представляли як ранг між значеннями першого і третього квартилей набору значень. Слід зауважити, що значення медіани MIK та MIK_{50} є однаковими.

Імовірність різниці значень між незалежними величинами визначали за допомогою критерію відповідності Пірсона χ^2 з корекцією $n-1$ (якщо обсяг вибірки був достатнім, $n > 30$), або двостороннього точного критерію Фішера (за малого обсягу вибірки, $n < 30$) [57, 175]. Вірогідними вважали відмінності за $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ВИВЧЕННЯ СТАНУ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ГОНОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ В УКРАЇНІ

3.1. Оцінювання мікробіологічної діагностики гонококової інфекції в Україні за допомогою анкетування

Оцінювання мікробіологічної діагностики гонококової інфекції в Україні проведено шляхом аналізу результатів двох анкетувань. Перше анкетування було проведене у 2013 – 2014 рр. серед чотирнадцяти обласних шкірно-венерологічних диспансерів України та включало збір даних стосовно методів діагностики ГІ в Україні. Друге анкетування було проведене Європейською спільною клінічною групою Міжнародної спілки проти інфекцій, які передаються статевим шляхом, у період 2018 – 2019 рр.; респондентами були експерти з України та двадцяти двох інших країн Європейського регіону ВООЗ.

3.1.1. Анкетування щодо можливостей діагностики гонококової інфекції в обласних шкірно-венерологічних диспансерах України

На анкету щодо оцінювання можливостей діагностики ГІ (додаток А) відповіли 51,9 % (14/27) ОШВД України. Усі 14 респондентів надали відповіді про кількісні та якісні показники обстеження пацієнтів на ГІ, застосовані методи мікробіологічної діагностики ГІ. Дванадцять ОШВД (85,7 %, 12/14) подали інформацію щодо забору біологічного матеріалу.

Кожен ОШВД забезпечував регіональну спеціалізовану медичну допомогу населенню в галузі ІПСШ та мав державне підпорядкування. Загальна кількість осіб, обстежених на ГІ у даних ОШВД за період 2013 – 2014 рр., становила 76378 пацієнтів (мікроскопічним методом) та 56273 пацієнтів (культуральним методом).

Детальна характеристика методів мікробіологічної діагностики ГІ, які використовували ОШВД в Україні впродовж 2013 – 2014 рр., наведена у табл. 3.1.

Таблиця 3.1

**Обсяг застосованих мікробіологічних методів діагностики ГІ
в ОШВД України у 2013 – 2014 рр.**

Методи мікробіологічної діагностики		Кількість ОШВД		
		n/N	%	[95 % ДІ]
Методи дослідження клінічного матеріалу	мікроскопічний	14/14	100	[76,8 – 100]
	культуральний	12/14	85,7	[57,2 – 98,2]
	швидкі тести	1/14	7,1	[0,2 – 33,8]
	МАНК	0/14	0,0	[0,0 – 23,2]
Одержання культур гонококів та вивчення їх антибіотикорезистентності		2/14	14,3	[1,8 – 42,8]

Примітка. ГІ – гонококова інфекція; ОШВД – обласний шкірно-венерологічний диспансер; МАНК – метод ампліфікації нуклеїнових кислот; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Мікроскопічний метод із забарвленням урогенітального матеріалу метиленовим синім і за Грамом проводили усі респонденти, одержання гонококів у культурах – 85,7 % (12/14) анкетованих, а швидкі тести за допомогою імунохроматографічного тест-набору «Гоно-тест-МБА» (ТОВ «МедБіоАльянс», Київ, Україна) для одержання *N. gonorrhoeae* – 7,1 % (1/14) опитаних. МАНК не виконували у жодній з лабораторій ОШВД, проте загальновідомо, що на період анкетування його проводили у приватних лабораторіях, якщо у пацієнта була можливість додатково обстежитися за власні кошти.

Досвід у визначенні антибіотикочутливості гонококів підтвердили 78,6 % (11/14) респондентів. Тернопільський і Дніпропетровський ОШВД у 2013 році розпочали визначення АБР ізолятів *N. gonorrhoeae*, у рамках їх участі у пілотному дослідженні спільно з центром співробітництва ВООЗ. У гетеросексуальних пацієнтів із симптомами ГІ забір біологічного матеріалу з «трьох анатомічних ділянок» (урогенітальний, глотковий та ректальний зразки) проводили 25 % респондентів, з «двох анатомічних ділянок» (урогенітальні та глоткові зразки) – 41,7 % учасників анкетування, а лише з «однієї анатомічної ділянки» (урогенітальний зразок) – 33,3 % диспансерів. Детальна інформація щодо анатомічних місць забору біологічного матеріалу для мікробіологічних методів діагностики ГІ подана у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Характеристика анатомічних місць забору біологічного матеріалу у симптомних гетеросексуальних пацієнтів для мікробіологічних методів діагностики ГІ в ОШВД України у 2013 – 2014 рр.

Анатомічні ділянки забору біологічного матеріалу	Кількість ОШВД		
	n/N	%	[95 % ДІ]
Одна (урогенітальна)	4/12	33,3	[9,9 – 65,1]
Дві (урогенітальна та глоткова)	5/12	41,7	[15,2 – 72,4]
Три (урогенітальна, глоткова та ректальна)	3/12	25,0	[5,5 – 57,2]

Примітка. ГІ – гонококова інфекція; ОШВД – обласний шкірно-венерологічний диспансер; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Загалом, за допомогою мікроскопічного методу було виявлено позитивні результати на гонококи у 2,3 % (1740/76348) обстежених пацієнтів. Кількість обстежених осіб мікроскопічним методом у кожному диспансері у

період 2013 – 2014 рр. широко коливалась від 2020 до 13379 пацієнтів, з широким діапазоном частки позитивних результатів (0,7 – 7,2 %) (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Кількісна та якісна характеристика мікроскопічного методу виявлення гонококів в ОШВД України у 2013 – 2014 рр.

N п/п	Респонденти за областями України	Усього обстежено пацієнтів	Виявлено <i>N. gonorrhoeae</i>		
		N	n	%	[95 % ДІ]
1	Волинська	3304	24	0,7	[0,4 – 1,1]
2	Харківська	2020	19	0,9	[0,5 – 14,0]
3	Чернівецька	8993	133	1,5	[1,3 – 1,8]
4	Кіровоградська	3024	48	1,6	[1,2 – 2,1]
5	Тернопільська	5523	92	1,7	[1,4 – 2,1]
6	Полтавська	5114	89	1,7	[1,4 – 2,1]
7	Івано-Франківська	2280	48	2,1	[1,6 – 2,8]
8	Миколаївська	7203	152	2,1	[1,8 – 2,5]
9	Одеська	9169	213	2,3	[2,0 – 2,6]
10	Дніпропетровська	13379	339	2,5	[2,2 – 2,8]
11	Житомирська	2179	58	2,7	[2,1 – 3,5]
12	Хмельницька	3922	115	2,9	[2,4 – 3,5]
13	Сумська	7882	239	3,0	[2,6 – 3,4]
14	Чернігівська	2386	171	7,2	[6,2 – 8,3]
Разом		76378	1740	2,3	[2,2 – 2,4]

Примітка. ОШВД – обласний шкірно-венерологічний диспансер; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Кількісна та якісна характеристика культурального методу діагностики ГІ у різних областях України за період 2013 – 2014 рр. надана у табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Кількісна та якісна характеристика методу культуральної діагностики гонококової інфекції в ОШВД України у 2013 – 2014 рр.

N п/п	Респонденти за областями України	Усього обстежено пацієнтів	Одержано <i>N. gonorrhoeae</i>		
		N	n	%	[95 % ДІ]
1	Полтавська	1516	4	0,3	[0,1 – 0,7]
2	Харківська	1542	7	0,5	[0,2 – 1,0]
3	Чернівецька	5776	80	1,4	[1,1 – 1,7]
4	Кіровоградська	3024	48	1,6	[1,2 – 2,1]
5	Волинська	362	6	1,7	[0,6 – 3,6]
6	Дніпропетровська	13379	234	1,7	[1,5 – 1,9]
7	Миколаївська	7203	152	2,1	[1,8 – 2,5]
8	Одеська	9169	213	2,3	[2,0 – 2,6]
9	Хмельницька	2814	73	2,6	[2,0 – 3,3]
10	Житомирська	2179	58	2,7	[2,1 – 3,5]
11	Тернопільська	2400	76	3,2	[2,5 – 4,0]
12	Сумська	4376	227	5,2	[4,6 – 5,9]
13	Чернігівська	2339	131	5,6	[4,7 – 6,6]
14	Івано-Франківська	194	13	6,7	[3,6 – 11,2]
Разом		56273	1322	2,3	[2,2 – 2,4]

Примітка. ОШВД – обласний шкірно-венерологічний диспансер; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Загальна частка позитивних результатів культурального дослідження на *N. gonorrhoeae* становила 2,3 %, (1322/56273) від усіх обстежених пацієнтів ОШВД. Більшість диспансерів (71,4 %, 10/14) призначали цільову культуральну діагностику «за показаннями». Трохи більше чверті респондентів (28,6 %, 4/14) з метою скринінгу використовували поєднання культурального та мікроскопічного методів. Відсоток одержання гонококів був достовірно вищим за цільового застосування культурального методу діагностики ГІ (2,7 %, 665/24343, $p < 0,001$), ніж при його додатковому включенню у скринінг (2,1 %, 657/31930).

Після відбору біологічних зразків для одержання гонококів у культурах їх негайну лабораторну обробку забезпечували у 50 % (6/12) опитаних ОШВД. Решту респондентів використовували тимчасове зберігання та транспортування біологічних зразків до мікробіологічних лабораторій. Час транспортування зразків від кабінетів лікарів до лабораторного відділення становив 0,75 – 24,0 год ($Me = 2,5$ год). Більшість респондентів (75,0 %, 9/12) використовувала спосіб прямого (негайного) посіву біологічного матеріалу на ПС, транспортуючи засіяні пробірки / чашки Петрі у лабораторії у термозахисних транспортних контейнерах. Два диспансери (16,7 %, 2/12) повідомили про поєднання прямого способу посіву на *N. gonorrhoeae* та із застосуванням транспортних середовищ. Один диспансер (8,3 %, 1/12) використовував лише непоживне транспортне середовище агарового гелю Amies з вугіллям (Copan Diagnostics Inc., Брешіа, Італія).

Більшість респондентів (66,6 %, 8/12) виділяли *N. gonorrhoeae* на селективних ПС. Комбінацію селективних та неселективних ПС використовували 16,7 % (2/12) респондентів. Лише неселективне ПС використовувалось також у 16,7 % (2/12) випадків.

Більшість диспансерів (58,3 %, 7/12) використовували ПС, приготоване у пробірках місткістю 7 – 10 мл. Про поєднане використання ПС у пробірках

та чашках Петрі повідомили 25 % (3,12) диспансерів, а лише чашки Петрі використовували 16,7 % (2/12) респондентів.

Усі респонденти проводили ідентифікацію одержаних культур *N. gonorrhoeae* за допомогою мікроскопії зафарбованого матеріалу з підозрілих колоній за Грамом та оксидазного тесту (100 %, 12/12). Один диспансер (8,3 %, 1/12) додатково використовував каталазний тест. Біохімічна ідентифікація культур була доступною у 75 % (9/12) лабораторій (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Характеристика культурального методу одержання гонококів в ОШВД України за період 2013 – 2014 рр., N = 12

Характеристика культурального методу		n/N	%	[95 % ДІ]
Спосіб посіву біологічного матеріалу	прямий	9/12	75,0	[42,8 – 94,5]
	із застосуванням транспортних середовищ	1/12	8,3	[0,2 – 38,4]
	прямий та із застосуванням транспортних середовищ	2/12	16,7	[2,1 – 48,5]
Методи ідентифікації культур	мікроскопічний	12/12	100	[73,5 – 100]
	оксидазний тест	12/12	100	[73,5 – 100]
	каталазний тест	1/12	8,3	[0,2 – 38,4]
	біохімічний	9/12	75,0	[42,8 – 94,5]

Примітка. 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки.

Зовнішній контроль якості мікробіологічної діагностики ГІ проводився у половини респондентів (50 %, [95 % ДІ: 21,1 – 78,9], 6/12), з них: у Тернопільському та Дніпропетровському ОШВД був проведений зовнішній міжнародний контроль якості у центрі співробітництва ВООЗ, а у

Харківському та Волинському ОШВД використовували метод міжлабораторного порівняння в Україні (табл. 3.5).

3.1.2. Анкетування «ЕССГ 2018 Questionnaire (Gonorrhoea)» серед країн Європейського регіону ВООЗ, включаючи Україну

Європейське онлайн-анкетування «ЕССГ 2018 Questionnaire (Gonorrhoea)» щодо клінічного менеджменту ГІ з акцентом на лабораторні тести, діагностику та спостереження за пацієнтами було проведено Європейською спільною клінічною групою Міжнародної спілки проти ІПСШ у період із листопада 2018 року до березня 2019 року.

Результати відповідей експертів з України ($n = 2$) разом із даними 76 експертів із 22 інших країн Європейського регіону ВООЗ проаналізовано нижче. Сімдесят шість експертів представляли країни Європейського Союзу або Європейської економічної зони ($n = 15$), та інших країн Європейського регіону ВООЗ ($n = 7$).

Так, мікроскопічний та культуральний методи діагностики ГІ були повністю доступні у 2018 – 2019 рр. в Україні, тоді як доступ до МАНК та виконання тестів на антибіотикочутливість гонококів залишався частковим (50 %) (табл. 3.6). До того ж респонденти з України не проводили верифікації позитивного результату МАНК.

Усі респонденти з України проводили забір біологічного матеріалу «з трьох анатомічних ділянок» у симптомних ЧСЧ для культурального методу діагностики ГІ. Проте, забір біологічного матеріалу «з трьох анатомічних ділянок» у безсимптомних пацієнтів із групи ризику (ЧСЧ) та обстеження контактних осіб проводила лише половина респондентів з України (50 %). Детальна характеристика забору біологічного матеріалу для проведення мікробіологічної діагностики ГІ в Україні та інших країнах Європейського регіону ВООЗ за даними анкетування, проведеного у 2018 – 2019 рр., представлена у табл. 3.7.

Таблиця 3.6

Порівняння методів мікробіологічної діагностики гонококової інфекції в Україні та інших країнах Європейського регіону ВООЗ, на основі анкетування «ЕССГ 2018 Questionnaire (Gonorrhoea)», проведеного у 2018 – 2019 рр.

Методи мікробіологічної діагностики	Відповіді респондентів								
	з України, N = 2			з інших країн Європейського регіону ВООЗ, N = 76			разом із країн Європейського регіону ВООЗ, N = 78		
	n	%	[95 % ДІ]	n	%	[95 % ДІ]	n	%	[95 % ДІ]
Мікроскопічний	2	100	[15,8 – 100]	72	94,7	[87,0 – 98,5]	74	94,9	[87,4 – 98,6]
Культуральний	2	100	[15,8 – 100]	69	90,8	[82,0 – 96,2]	71	91,0	[82,4 – 96,3]
МАНК	1	50,0	[1,3 – 98,7]	68	89,5	[80,3 – 95,4]	69	88,5	[79,3 – 94,6]
Тести на антибіотикочутливість	1	50,0	[1,3 – 98,7]	63	82,9	[72,5 – 90,6]	64	82,1	[71,8 – 89,9]

Примітка. МАНК – метод ампліфікації нуклеїнових кислот; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Характеристика забору біологічного матеріалу з «трьох анатомічних ділянок» у ЧСЧ для мікробіологічних методів діагностики гонококової інфекції в Україні у порівнянні з іншими країнами Європейського регіону ВООЗ на основі анкетування «ЕСССГ 2018 Questionnaire (Gonorrhoea)», проведеного у 2018 – 2019 рр.

Категорія пацієнтів		Відповіді респондентів								
		України, N = 2			із інших країн Європейського регіону ВООЗ, N = 76			разом із країн Європейського регіону ВООЗ, N = 78		
		n	%	[95 % ДІ]	n	%	[95 % ДІ]	n	%	[95 % ДІ]
Безсимптомні ЧСЧ		1	50,0	[1,3 – 98,7]	63	82,9	[72,5 – 90,6]	64	82,1	[70,8 – 90,4]
Симптомні ЧСЧ ^a	для культурального методу	2	100	[15,8 – 100]	38	50,0	[38,3 – 61,7]	40	51,2	[39,6 – 62,7]
	для МАНК	1	50,0	[1,3 – 98,7]	63	82,9	[72,5 – 90,6]	64	82,1	[70,8 – 90,4]

Примітка. ЧСЧ – чоловіки, які мають статеві стосунки з чоловіками; МАНК – метод ампліфікації нуклеїнових кислот; ^a – з позитивними результатами мікроскопічного методу; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Інформація щодо контролю виліковності та обстеження контактних статевих партнерів представлена у табл. 3.8.

Таблиця 3.8

Клінічний менеджмент гонококової інфекції в Україні у порівнянні з іншими країнами Європейського регіону ВООЗ на основі анкетування «ECCG 2018 Questionnaire (Gonorrhoea)», проведеного у 2018 – 2019 рр.

Відповіді респондентів		Проведення контролю виліковності	Обстеження контактних осіб
З України, N = 2	n	2	1
	%	100	50,0
	[95 % ДІ]	[15,8 – 100]	[1,3 – 98,7]
З інших країн Європейського регіону ВООЗ, N = 76	n	59	74
	%	77,6	97,4
	[95 % ДІ]	[66,6 – 86,4]	[90,9 – 99,7]
Разом із країн Європейського регіону ВООЗ, N = 78	n	61	75
	%	78,2	96,2
	[95 % ДІ]	[67,4 – 86,8]	[89,2 – 99,2]

Примітка. 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Контроль виліковності проводили 100 % респондентів з України. Охоплення обстеженням контактних осіб в Україні було нижчим, ніж серед інших країн Європейського регіону ВООЗ: 50 % проти 97,4 % відповідно.

3.2. Дослідження аналітичних характеристик культурального методу залежно від виділення *N. gonorrhoeae* на різних поживних середовищах

Дослідження аналітичних характеристик культурального методу залежно від виділення *N. gonorrhoeae* на п'яти різних ПС проведене із використанням 47 клінічних ізолятів гонококів, які отримали від 47 пацієнтів ТОКШВД із підтвердженим діагнозом ГІ, в тому числі від 41 чоловіка та 6 жінок (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Одержання *N. gonorrhoeae* культуральним методом на п'яти різних поживних середовищах залежно від часу інкубації, N = 47

Час інкубації		Поживні середовища				
		ША	ТМ	СВГ	ГНК-агар	ЖПС
18–24 год	n	27	2	10	1	3
	%	57,4	4,3	21,3	2,1	6,4
	[95 % ДІ]	[42,1–71,7]	[0,5–14,6]	[10,7–35,7]	[0,1–11,3]	[1,3–17,6]
48 год	n	16	5	6	3	9
	%	34,0	10,6	12,8	6,4	19,2
	[95 % ДІ]	[20,8–49,3]	[3,5–23,1]	[4,9–25,8]	[1,3–17,6]	[9,2–33,3]
18–48 год	n	43	7	16	4	12
	%	91,5	14,9	34,0	8,5	25,5
	[95 % ДІ]	[79,6–97,6]	[6,2–28,3]	[20,8–49,3]	[2,4–20,4]	[13,9–40,4]
72 год	n	0	0	1	1	0
	%	0,0	0,0	2,1	2,1	0,0
	[95 % ДІ]	[0,0–7,6]	[0–7,6]	[0,1–11,3]	[0,1–11,3]	[0,0–7,6]
18–72 год	n	43	7	17	5	12
	%	91,5	14,9	36,2	10,6	25,5
	[95 % ДІ]	[79,6–97,6]	[6,2–28,3]	[22,7–51,5]	[3,6–23,1]	[13,9–40,4]

Примітка. ША – селективний шоколадний агар; ТМ – селективний агар Тайера-Мартіна; СВГ – селективний набір для одержання гонококів; ГНК-агар – поживне середовище для одержання та культивування гонококів суше; ЖПС – жовткове поживне середовище; 95 % ДІ – межі довірчого

інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Через 18–24 годин інкубації культури ізолятів *N. gonorrhoeae* частіше зростали на ША (57,4 %, 27/47) та СВГ (21,3 %, 10/47). Лише декілька ізолятів гонококів було одержано через 18–24 години з використанням ЖПС, ТМ та ГНК-агару: 6,4 % (3/47), 4,3 % (2/47) та 2,1 % (1/47) ізолятів відповідно.

Через 48 год інкубації додатковий ріст культур гонококів отримували на усіх середовищах: ША (34%, 16/47), ЖПС (19,2%, 9/47), СВГ (12,8 %, 6/47), ТМ (10,6 %, 5/47) та ГНК-агарі (6,4%, 3/47).

Через 72 год інкубації отримали незначний додатковий ріст культур *N. gonorrhoeae* лише на двох з п'яти досліджуваних середовищах: СВГ (2,1 %, 1/47) та ТМ (2,1 %, 1/47).

Відповідно, більшість ізолятів гонококів давали ріст через 18 – 48 годин інкубації на усіх досліджуваних середовищах, проте діапазон частки одержаних культур гонококів був істотно широким (8,5 – 91,5%). Так, за період 18 – 48 годин інкубації частіше отримували ріст з використанням ША (91,5 %, 43/47) та СВГ (34 %, 16/47). Менше третини клінічних ізолятів дали ріст колоній через 18 – 48 год інкубації на ЖПС (25,5 %, 12/47), ТМ (14,9 %, 7/47) та ГНК-агарі (8,5 %, 4/47) відповідно.

Таким чином, за весь період інкубації (18 – 72 год) на ША було висіяно 91,5 % (43/47) ізолятів *N. gonorrhoeae*, на СВГ – 36,2 % (17/47), на ЖПС – 25,5 % (12/47) ізолятів гонококів відповідно. Лише незначна кількість ізолятів гонококів вироста на ТМ (14,9 %, 7/47) та ГНК-агарі (10,6 %, 5/47).

Найбільше ХНР отримували при використанні ГНК-агару, ТМ агару, ЖПС та СВГ: 89,4 % (42/47), 85,1 % (40/47), 74,5 % (35/47), 63,8 % (30/47) – відповідно. Найменше ХНР було отримано при використанні ША (8,5 %, 4/47) ізолятів) (табл. 3.10).

Аналітична характеристика культурального методу залежно від одержання *N. gonorrhoeae* на різних поживних середовищах, N = 47

Характеристика		Поживні середовища				
		ША	ТМ	СВГ	ГНК-агар	ЖПС
ДПР	n	43	7	17	5	12
	%	91,5*	14,9	36,2	10,6	25,5
	[95 % ДІ]	[79,6–97,4]	[6,2–28,3]	[22,7–51,5]	[3,5–23,1]	[13,9–40,3]
ХНР	n	4	40	30	42	35
	%	8,5	85,1	63,8	89,4	74,5
	[95 % ДІ]	[2,4–20,4]	[71,7–93,8]	[48,5–77,3]	[76,9–96,5]	[59,7–86,1]

*Примітка. ША – селективний шоколадний агар; ТМ – селективний агар Тайера-Мартіна; СВГ – селективний набір для одержання гонококів; ГНК-агар – поживне середовище для одержання та культивування гонококів суше; ЖПС – жовткове поживне середовище; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці; ДПР – дійсно позитивні результати; ХНР – хибно негативні результати; * – вірогідність відмінностей між ША та СВГ, $p < 0,0001$.*

Найбільша частка клінічних ізолятів гонококів дали ріст на ША (91,5 %, $p < 0,0001$). На інших чотирьох ПС було отримано або субоптимальний рівень росту гонококів (36,2 % – для СВГ), або низький (25,5 % – для ЖПС, 14,9 % – для ТМ та 10,6 % – для ГНК-агару).

3.3. Дослідження аналітичних характеристик культурального методу залежно від способів посіву уrogenітального матеріалу для виділення *N. gonorrhoeae*

Дослідження аналітичних характеристик двох способів посіву урогенітального матеріалу з метою одержання *N. gonorrhoeae* у культурах було проведено з використанням 46 клінічних ізолятів *N. gonorrhoeae*, отриманих від 46 пацієнтів ТОКШВД (38 чоловіків і 8 жінок) з урогенітальними виділеннями та підтвердженим діагнозом ГП. Вік пацієнтів становив $(29,5 \pm 7,5)$ років (діапазон: 17 – 80 років; $Me = 27$ років, $IQR = 22 - 33$ років).

Характеристика одержання *N. gonorrhoeae* у культурах, залежно від способів посіву урогенітального матеріалу представлена у табл. 3.11.

Таблиця 3.11

Одержання *N. gonorrhoeae* культуральним методом залежно від способу посіву урогенітального матеріалу, N = 46

Час інкубації		Прямий спосіб	Спосіб із використанням ТС
18–24 год	n	14	22
	%	30,4	47,8
	[95 % ДІ]	[17,7 – 45,8]	[32,9 – 63,1]
48 год	n	8	16
	%	17,4	34,8
	[95 % ДІ]	[7,8 – 31,4]	[21,4 – 50,3]

Примітка. ТС – непоживне транспортне середовище агарового гелю *Aties* з вугіллям; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

В загальному, 22 ізоляти гонококів дали ріст при використанні прямого способу посіву, 38 ізолятів гонококів – при застосуванні способу посіву з використанням ТС. При цьому, ці ізоляти дали ріст через 18 – 48 год інкубації. При використанні ТС у порівнянні з прямим способом посіву відсоток

одержання *N. gonorrhoeae* через 18 – 24 год (47,8 % і 30,4 %, $p = 0,09$) та 48 год (34,8 % і 17,4 %, $p = 0,06$) інкубації статистично не відрізнявся.

Аналітична характеристика культурального методу діагностики ПІ залежно від способів посіву урогенітального матеріалу наведена у табл. 3.12.

Таблиця 3.12

Аналітична характеристика культурального методу залежно від способів посіву урогенітального матеріалу для одержання *N. gonorrhoeae*, N = 46

Аналітичні характеристики		Прямий спосіб	Спосіб із використанням ТС
ДПР	n	22	38
	%	47,8	82,6*
	[95 % ДІ]	[32,9 – 63,1]	[68,6 – 92,2]
ХНР	n	24	8
	%	52,2	17,4*
	[95 % ДІ]	[36,9 – 67,1]	[7,8 – 31,4]

Примітка. ТС – непоживне транспортне середовище агарового гелю *Aties* з вугіллям; ДПР – дійсно позитивні результати; ХНР – хибно негативні результати; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці; * – вірогідність відмінностей показників між прямим способом посіву та способом із використанням ТС, $p < 0,0005$.

Найбільше ДПР було отримано при застосуванні ТС (38/46), на противагу прямому способу посіву (22/46). Частка ХНР була нижча при використанні ТС (17,4 %, $p = 0,0005$) у порівнянні з прямим способом посіву (52,2 %). Частота одержання *N. gonorrhoeae* була вища при використанні ТС (82,6 %, $p = 0,0005$) у порівнянні з прямим способом посіву (47,8 %).

3.4. Дослідження умов життєздатності *N. gonorrhoeae* за зберігання у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям

Вивчення умов життєздатності *N. gonorrhoeae* за зберігання у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям було проведено з використанням 46 клінічних ізолятів *N. gonorrhoeae*, отриманих від 46 пацієнтів ТОКШВД (38 чоловіків і 8 жінок) з урогенітальними виділеннями та підтвердженим діагнозом ГІ (табл. 3.13.). Вік пацієнтів становив $(29,5 \pm 7,5)$ років (діапазон: 17 – 80 років; $Me = 27$ років, $IQR = 22 - 33$ років).

Таблиця 3.13

Одержання *N. gonorrhoeae* у культурах залежно від часу та температури зберігання гонококів у транспортному середовищі^a, N = 46

Час зберігання		Температурні умови зберігання	
		18 – 25 °C	2 – 8 °C
0 год	n	46	46
	%	100	100
	[95 % ДІ]	[92,3 – 100]	[92,3 – 100]
24 год	n	40	43
	%	87,0	93,5
	[95 % ДІ]	[73,8 – 95,1]	[82,1 – 98,6]
48 год	n	24	34
	%	52,2	73,9*
	[95 % ДІ]	[37 – 67,1]	[58,9 – 85,7]
72 год	n	17	27
	%	37,0	58,7*
	[95 % ДІ]	[23,2 – 52,5]	[43,2 – 73,0]

Продовж. табл. 3.13

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
96 год	n	8	22
	%	17,4	47,8*
	[95 % ДІ]	[7,8 – 31,4]	[32,9 – 63,0]

Примітка. ^a – непоживне транспортне середовище агарового гелю *Aties* з вугіллям; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; *N* – абсолютні значення досліджуваної вибірки; *n* – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці; * – вірогідність відмінностей показників між температурними умовами зберігання за температури 18 – 25 °С та 2 – 8 °С, $p < 0,05$.

Найвищі показники одержання ізолятів гонококів (87,0 та 93,5 %) було отримано після 24 год зберігання *N. gonorrhoeae* у ТС при обох температурних режимах (18 – 25 °С та 2 – 8 °С відповідно). При цьому статистичної різниці у позитивних результатах одержання ізолятів гонококів, збереженими упродовж 24 год у ТС при кімнатній температурі (87,0 %) та при 2 – 8 °С (93,5 %), не отримано ($p = 0,296$).

Допустимі показники одержання *N. gonorrhoeae* клінічних ізолятів після зберігання їх у ТС упродовж 48 год були отримані лише при температурі 2 – 8 °С (73,9 %), тоді як ізоляти гонококів, які зберігалися у ТС за кімнатної температури, дали ріст лише у 52,2 % випадках ($p = 0,003$).

Таким чином, кількість позитивних результатів культурального методу одержання *N. gonorrhoeae* була статистично вищою за умови тимчасового зберігання зразків у ТС при температурі 2 – 8 °С, у порівнянні зі зразками, збереженими при кімнатній температурі впродовж 48 год (73,9 % (34/46) проти 52,2 (24/46), $p = 0,03$), 72 год (58,7 % (27/46) проти 37 % (17/46), $p = 0,04$) та 96 год (47,8 % (22/46) проти 17,4 % (8/46), $p = 0,002$).

3.5. Валідаційне дослідження стандартної операційної процедури виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом

Клінічні ізоляти гонококів було одержано від 141 пацієнта із діагностованою ГІ у період 2013 – 2018 рр. у Тернопільській області. Ізоляти були отримані з уретри від 120 чоловіків (85,1 %), з цервікального каналу – у 20 жінок (14,2 %) та з анального каналу – в 1 чоловіка (0,7 %). Пацієнти цієї групи були віком ($29,0 \pm 6,3$) років (діапазон: 16 – 80 років; $Me = 28$ років, $IQR = 23 - 33$ років). У більшості пацієнтів спостерігалися урогенітальні виділення (93,6 %, 132/141).

Згідно даних «Інформаційно-аналітичного центру медичної статистики» Управління охорони здоров'я Тернопільської обласної державної адміністрації, кількість офіційно зареєстрованих випадків ГІ у Тернопільській області за період 2013 – 2018 рр. становила 700 випадків.

Результати оцінювання оптимізованої СОП культурального методу одержання *N. gonorrhoeae* у біологічному матеріалі наведені у табл. 3.14.

Таблиця 3.14

Оцінювання оптимізованої стандартної операційної процедури культурального методу виділення *N. gonorrhoeae*

Критерій оцінювання СОП	n/N	%	[95 % ДІ]
Життєздатні ізоляти	137/141	97,2	[92,95 – 99,24]
Підтверджені ізоляти як <i>N. gonorrhoeae</i>	136/137	99,3	[96,05 – 99,98]
Непідтверджені ізоляти як <i>N. gonorrhoeae</i>	1*/137	0,7	[0,02 – 3,95]

Примітка. СОП – стандартна операційна процедура; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; *N* – абсолютні значення досліджуваної вибірки; *n* – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці; * – *Neisseria meningitidis*.

Загалом, відсоток життєздатних ізолятів *N. gonorrhoeae* був високий – 97,2 % (137/141). Чотири ізоляти (2,8 %) загинули під час зберігання. Відсоток підтверджених ізолятів *N. gonorrhoeae* становив 99,3 % (136/137) у зв'язку з виявленням одного випадку *Neisseria meningitidis*.

Результати загального покриття одержання ізолятів *N. gonorrhoeae* у Тернопільській області у період 2013 – 2018 рр. наведені у табл. 3.15.

Таблиця 3.15

Результати загального покриття^а одержаних ізолятів *N. gonorrhoeae* до усіх офіційно зареєстрованих випадків гонококової інфекції у Тернопільській області за період 2013 – 2018 рр.

Роки	Зареєстровані випадки ГІ ^б	Досліджені ізоляти <i>N. gonorrhoeae</i>		
	N	n	%	[95 % ДІ]
2013	151	14	9,3	[5,2 – 15,1]
2014	143	40	28,0	[20,8 – 36,1]
2015	115	33	28,7	[20,7 – 37,9]
2016	102	25	24,5	[16,5 – 34,0]
2017	93	14	15,1	[8,5 – 24,0]
2018	96	10	10,4	[5,1 – 18,3]
2013 – 2018	700	136	19,4	[16,5 – 22,5]

Примітка. ^а – частка одержаних ізолятів *N. gonorrhoeae* від усіх офіційно зареєстрованих випадків ГІ у Тернопільській області; ^б – кількість офіційно зареєстрованих випадків ГІ у Тернопільській області згідно даних «Інформаційно-аналітичного центру медичної статистики» Управління охорони здоров'я Тернопільської обласної державної адміністрації; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Частка одержаних ізолятів *N. gonorrhoeae* від усіх офіційно зареєстрованих випадків ГІ у Тернопільській області коливалася від 9,3 % у 2013 р. до 24,5 – 28,7 % у 2014 – 2016 рр. із подальшим зниженням до 10,4 – 15,1 % у 2017 – 2018 рр. та, у середньому, становила 19,4 % (136/700) (табл. 3.15).

Показник загального покриття був нижчий при використанні попередньої СОП у період із грудня 2012 до липня 2013 (2,5 %, 1/40, $p = 0,007$).

3.6. Визначення поширеності гонококової інфекції та аналітичних характеристик стандартних методів діагностики

У дослідження поширеності ГІ та аналітичних характеристик стандартних методів діагностики ГІ було включено 455 пацієнтів ТОКШВД, з них – 296 (65,1 %) жінок та 159 (34,9 %) чоловіків (табл. 3.16).

Середній вік жінок становив ($33,3 \pm 7,1$) років (діапазон: 18 – 63 років; $Me = 33$ років, $IQR = 26 – 39$ років), а чоловіків – ($31,0 \pm 5,6$) років (діапазон: 18 – 54 років; $Me = 30,5$ років, $IQR = 25 – 35$ років).

Більшість (70,1 %) пацієнтів мали симптоми уrogenітальних інфекцій, з них: 88,9 % жінок та 34,8 % чоловіків. Найчастішими симптомами у жінок були: вагінальні виділення (86,2 %), біль внизу живота (5,4 %), вагінальний дискомфорт (3,0 %), генітальний свербіж (2,4 %). У чоловіків основними симптомами були: уретральні виділення (21,5 %), дискомфорт (11,4 %) та печія при сечовипусканні (3,2 %).

За допомогою референтних тестів Artima визначено 7 (1,5 %, 7/455) позитивних зразків на *N. gonorrhoeae*. Відповідно, частота виявлення *N. gonorrhoeae* у чоловіків становила 3,8 % (6/159) та у жінок – 0,3 % (1/296) (табл. 3.16).

**Поширеність *N. gonorrhoeae* у Тернопільській області у 2015 – 2016 рр.
згідно з референтними молекулярними тестами Artima Combo 2**

Група пацієнтів	Всього обстежено, N	Дійсно позитивні результати, n	Поширеність, %	[95 % ДІ]
Жінки	296	1	0,3*	[0,01 – 1,80]
Чоловіки	159	6	3,8	[1,41 – 8,07]
Разом	455	7	1,5	[0,60 – 3,09]

Примітка. * – вірогідність відмінностей між жінками та чоловіками, $p = 0,004$; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Відповідно до стандартної практики, усі пацієнти були обстежені за допомогою мікроскопічного методу із забарвленням уrogenітального матеріалу метиленовим синім і за Грамом. Виділення гонококів культуральним методом було проведене у 27 (9,1 %) жінок та 16 (10,1 %) чоловіків (табл. 3.17).

Так, за допомогою СМД *N. gonorrhoeae* виявили серед 5 (1,1 %) зразків. Усього три ДПР випадки ГІ були пропущені при застосуванні культурального методу виділення *N. gonorrhoeae* у біологічному матеріалі та два – мікроскопічного методу із забарвленням уrogenітального матеріалу метиленовим синім і за Грамом.

ХПР у культуральному методі не було зареєстровано. Проте, один ХПР був зареєстрований з використанням мікроскопічного методу.

ЗУ результатів при використанні тестів Artima та СМД становили: для мікроскопічного – 99,3 %, та для культурального – 93 % методів відповідно (табл. 3.17).

**Характеристика стандартних методів діагностики ГІ
порівняно до референтних тестів Artima у Тернопільській області**

Методи діагностики	Стать	N	ДПР, n	ДНР, n	ХПР, n	ХНР, n	ЗУ, %	[95 % ДІ]
Культуральний	жінки	27	1	25	0	1	96,3	[81,0 – 100]
	чоловіки	16	3	11	0	2	87,5	[61,7 – 98,5]
	разом	43	4	36	0	3	93,0	[80,9 – 98,5]
Мікроскопічний	жінки	296	1	294	0	1	99,7	[98,1 – 100]
	чоловіки	159	4	153	1	1	98,7	[95,5 – 99,9]
	разом	455	5	447	1	2	99,3	[98,1 – 99,9]

Примітка. ГІ – гонококова інфекція; Тести Artima – референтні молекулярні тести Artima Combo 2; ДПР – дійсно позитивні результати; ДНР – дійсно негативні результати; ХПР – хибно позитивні результати; ХНР – хибно негативні результати; ЗУ – загальна узгодженість; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %.

Чутливість культурального методу становила 57,1 %, а мікроскопічного методу – 71,4 % відповідно. До того ж чутливість мікроскопічного методу уретральних зразків чоловіків була вірогідно вищою, ніж цервікальних зразків жінок: 80 % та 50 % відповідно. Специфічність культурального методу виділення *N. gonorrhoeae* в урогенітальному матеріалі становила 100 %, а мікроскопічного методу із забарвленням урогенітального матеріалу метиленовим синім і за Грамом – 99,8 %. Аналітичні характеристики стандартних методів діагностики ГІ у порівнянні з референтними МАНК тестами Artima наведені у табл. 3.18.

Аналітичні характеристики СМД гонококової інфекції порівняно до референтних тестів Artima у Тернопільській області

Методи діагностики	Стать	Чутливість, % [95 % ДІ]	Специфічність, % [95 % ДІ]	ППЗ, % [95 % ДІ]	ПНЗ, % [95 % ДІ]
Культуральний	Жінки (N = 27)	50,0 [30,3–69,7]	100 [87,2–100]	100 [87,2–100]	96,2 [80,9–99,9]
	чоловіки (N = 16)	60,0 [33,2–83,0]	100 [79,4–100]	100 [79,4–100]	84,6 [58,2–97,4]
	разом (N = 43)	57,1 [41,1–72,1]	100 [91,8–100]	100 [91,8–100]	92,3 [80,0–98,2]
Мікроскопічний	жінки (N = 296)	50,0 [44,2–55,8]	100 [98,8–100]	100 [98,8–100]	99,7 [98,2–100]
	чоловіки (N = 159)	80,0* [73,0–85,9]	99,4 [96,6–100]	80,0 [73,0–85,9]	99,4 [96,6–100]
	разом (N = 455)	71,4 [67,0–75,5]	99,8 [98,8–100]	83,3 [80,0–86,6]	99,6 [98,5–100]

Примітка. ППЗ – прогнозоване позитивне значення; ПНЗ – прогнозоване негативне значення; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; * – вірогідність відмінностей між чутливістю мікроскопічного методу у чоловіків та жінок, $p < 0,0001$.

На основі наведених у розділі 3 результатів можна зробити такі проміжні висновки:

1. Мікробіологічна діагностика ГІ в ОШВД не відповідає рекомендаціям ВООЗ щодо пріоритетного використання методу ампліфікації нуклеїнових кислот, дослідження екстрагенітальних зразків, визначення АБР *N. gonorrhoeae* та застосування системи зовнішнього контролю якості.

Лабораторії обласних шкірно-венерологічних диспансерів не проводять метод ампліфікації нуклеїнових кислот. Зовнішній контроль якості мікробіологічних досліджень із виділення *N. gonorrhoeae* здійснюють 50 % [95 % ДІ: 21,1 – 78,9] диспансерів. Більшість (85,7 % [95 % ДІ: 57,2 – 98,2]) диспансерів не визначають АБР *N. gonorrhoeae*.

2. При порівняльному дослідженні ПС встановлено, що селективний шоколадний агар демонстрував вищі ростові властивості, забезпечуючи вірогідно вищу частоту виділення клінічних ізолятів *N. gonorrhoeae* (91,5 %) порівняно до селективного набору для виділення гонококів культуральним методом (СВГ) (36,2 %), жовткового середовища (25,5 %), селективного агару Тайєра-Мартіна (14,9 %) та ГНК- агару (10,6 %) відповідно.

3. Частота виділення *N. gonorrhoeae* із застосуванням непоживного транспортного середовища агарового гелю Amies з вугіллям була вірогідно вищою, ніж прямого способу посіву: 82,6 % проти 47,8 %.

4. Життєздатність клінічних ізолятів *N. gonorrhoeae* при зберіганні у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям знижується зі збільшенням тривалості зберігання та зростанням температури навколишнього середовища. Показники життєздатності гонококів за зберігання у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям є оптимальними за температури 2 – 8 °С та тривалості зберігання 24 год (93,5 %) і 48 год (73,9 %). За кімнатної температури (18 – 25 °С), прийнятна тривалість зберігання ізолятів *N. gonorrhoeae* становить до 24 год (87,0 %). Перед посівом рекомендовано тимчасово зберігати біологічні зразки у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям при температурі 2 – 8 °С терміном до 48 год.

5. При дослідженні аналітичних характеристик стандартних методів діагностики ГІ встановлено високу специфічність культурального методу виділення *N. gonorrhoeae* в уrogenітальному матеріалі (100 %) та мікроскопічного методу із забарвленням уrogenітального матеріалу метиленовим синім і за Грамом (99,8 %). Чутливість обох стандартних методів

діагностики ГП субоптимальна, при цьому чутливість мікроскопічного методу (71,4 %) вірогідно вища відносно культурального методу (57,1 %). Чутливість мікроскопічного методу уретральних зразків чоловіків була статистично вищою, ніж цервікальних зразків жінок: 80 % та 50 % відповідно.

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора [5, 7, 45, 203].

РОЗДІЛ 4

КЛІНІКО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦІЄНТІВ ІЗ ГОНОКОКОВОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

Детальні клініко-демографічні та епідеміологічні дані були зібрані у 136 пацієнтів ТОКШВД із діагностованою ГІ за період 2013 – 2018 рр. Група пацієнтів включала 118 (86,8 %) чоловіків та 18 (13,2 %) жінок. Співвідношення чоловіки / жінки становило – 6,6:1.

Середній вік пацієнтів становив $(29,4 \pm 6,5)$ років (діапазон: 16 – 80 років; $Me = 28$ років, $IQR = 23 - 33$ років). Середній вік жінок був $(28,2 \pm 8,1)$ років (діапазон: 17 – 80 років; $Me = 26$ років, $IQR = 21 - 30$ років), а чоловіків – $(29,6 \pm 6,2)$ років (діапазон: 16 – 60 років; $Me = 29$ років, $IQR = 24 - 33,3$ років). Характеристика пацієнтів за віком наведена у табл. 4.1.

Таблиця 4.1

Характеристика пацієнтів із діагностованою ГІ за віком

Вік (роки), N = 136	n	%	[95 % ДІ]
< 25 років	44	32,35	[24,59 – 40,90]
25 – 34 років	60	44,12	[35,62 – 52,88]
> 34 років	30	22,06	[15,41 – 29,97]
пацієнти не повідомили дані	2	1,47	[0,18 – 5,21]

Примітка. ГІ – гонококова інфекція; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Більшість пацієнтів були віком 25 – 34 роки – 44,12 %, (60/136), молодші 25 років – 32,35 % (44/136), та старші 34 років – 22,06 % (30/136).

Детальна соціодемографічна характеристика пацієнтів із ГІ наведена у табл. 4.2.

**Соціодемографічна характеристика пацієнтів із діагностованою ГІ в
Тернопільській області за період 2013 – 2018 рр.**

Характеристика пацієнтів, N = 136	n	%	[95 % ДІ]
Громадянство			
українці	129	94,9	[59,9 – 76,1]
іноземці	7	5,1	[2,1 – 10,3]
Проживання			
міські жителі (Тернопіль)	93	68,4	[62,4 – 78,6]
сільські жителі (Тернопільський район)	38	27,9	[20,6 – 36,2]
пацієнти не повідомили дані	5	3,7	[1,2 – 8,4]
Рід зайнятості			
студент	18	13,2	[8,0 – 20,0]
працевлаштовані	12	8,8	[4,6 – 14,9]
безробітні	55	40,5	[32,2 – 49,3]
пацієнти не повідомили дані	51	37,5	[29,4 – 46,2]
Сімейний стан			
одружені	32	23,5	[16,7 – 31,5]
неодружені	99	72,8	[64,5 – 80,1]
пацієнти не повідомили дані	5	3,7	[1,2 – 8,4]

Примітка. ГІ – гонококова інфекція; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Більшість пацієнтів були громадянами України – 94,9 % (129/136, $p < 0,001$), а декілька осіб були іноземцями – 5,1 % (7/136), з них: громадяни Німеччини (1), Польщі (1) та з країн Близького Сходу (5). У місті проживали 68,4 % пацієнтів (93/136), а у сільській місцевості – 27,9 % (38/136) обстежених. Безробітними були 40,5 % пацієнтів (55/136), студентами –

13,2 % (18/136), а працювали – 8,8 % (12/136). Одруженими були 23,5 % пацієнтів (32/136), а неодруженими – 72,8 % (99/136) обстежених.

Пацієнти повідомили про початок їхньої статевої активності у віці (16,9 ± 0,7) років (діапазон: 14 – 22 роки; $Me = 17$ років). Детальні епідеміологічні дані пацієнтів з діагнозом ГІ у Тернопільській області наведені у табл. 4.3.

Таблиця 4.3

**Епідеміологічна характеристика пацієнтів з діагностованою ГІ в
Тернопільській області за період 2013 – 2018 рр.**

Характеристика пацієнтів, N = 136	n	%	[95 % ДІ]
Статева поведінкова практика			
гетеросексуальні	131	96,3	[91,6 – 98,8]
ЧСЧ	5	3,7	[1,2 – 8,4]
Стосунки з останнім статевим партнером			
випадковий статевий партнер	82	60,3	[51,6 – 68,6]
постійний статевий партнер	50	36,8	[28,7 – 45,5]
пацієнти не повідомили дані	4	2,9	[0,8 – 7,3]
Число статевих партнерів протягом останніх трьох місяців			
1	34	25,0	[18,0 – 33,1]
2	80	58,8	[50,0 – 67,2]
3	18	13,2	[8,0 – 20,1]
4	4	3,0	[0,8 – 7,4]
Обстеження статевих партнерів, N = 264			
обстежені	29	11,0	[7,5 – 15,4]
не обстежені	235	89,0	[84,6 – 92,5]
Повідомлена країна інфікування			
Україна	127	93,4	[87,8 – 96,9]
інші країни (Іспанія: n = 1; невідомо: n = 1)	2	1,5	[0,2 – 5,3]
пацієнти не повідомили дані	7	5,1	[2,1 – 10,3]

Продовж. табл. 4.3

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Повідомлена область інфікування в Україні			
Тернопільська	118	86,8	[79,9 – 92,0]
інші області в Україні (Київська, Рівненська, Львівська, Сумська, Волинська)	9	6,6	[3,1 – 12,2]
пацієнти не повідомили дані	9	6,6	[3,1 – 12,2]

Примітка. ГІ – гонококова інфекція; ЧСЧ – чоловіки, які мають статеві стосунки із чоловіками; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; *N* – абсолютні значення досліджуваної вибірки; *n* – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Більшість пацієнтів були гетеросексуальні – 96,3 % (131/136), а ЧСЧ – 3,7 % пацієнтів (5/136). Випадкові статеві контакти мали 60,3 % пацієнтів (82/136), тоді як постійного статевого партнера мали 36,8 % осіб (50/136). Так, про наявність одного статевого партнера повідомили 25 % пацієнтів (34/136). Статеві стосунки більше, ніж з одним статевим партнером за останні три місяці мали 75 % (102/136) опитаних, із них: статеві стосунки з двома партнерами були у 58,8 % (80/136) пацієнтів, з трьома партнерами – у 13,2 % (18/136), а з чотирма партнерами – у 3 % (4/136) пацієнтів.

Загалом, група пацієнтів та їх статевих контактів (статева мережева група) становила 400 осіб з них: 136 пацієнтів з діагнозом ГІ та 264 їх статевих партнерів за останні 3 місяці. Не були обстежені упродовж періоду дослідження 89 % статевих партнерів (235/264). ГІ була виявлена у 41,4 % (12/29) обстежених статевих партнерів. Усього було обстежено 41,3 % (165/400) осіб зі статевої групи (136 пацієнтів із діагнозом ГІ та 29 їх статевих партнерів).

Більшість пацієнтів (93,4 %, 127/136) повідомили, що інфікувалися ГІ в Україні, а саме – у Тернопільській області (86,8 %, 118/136), а також – у п'яти

інших областях України (6,6 %, 9/136): Київській, Рівненській, Львівській, Сумській та Волинській областях. Усі жінки повідомляли, що інфікувалися у Тернопільській області. Два чоловіки були інфіковані за межами України: один – в Іспанії, країна інфікування іншого пацієнта була невідома.

Про перенесені раніше ІПСШ повідомили 11,8 % (16/136) пацієнтів. Більшість пацієнтів (72,8 %, 99/136) захворіли на ГП вперше, і це був їх перший випадок ІПСШ в анамнезі.

Середній інкубаційний період становив ($4,6 \pm 2,3$) днів (діапазон: 1 – 9 днів; $Me = 4$ дні, $IQR = 2 - 7$ дні). Кількість днів із симптомами хвороби перед першим візитом у ТОКШВД становила ($4,4 \pm 1,9$) дні (діапазон: 1 – 7 днів; $Me = 4$ дні, $IQR = 2 - 7$ дні).

Більшість пацієнтів були симптомними (89,7 %, 122/136). При цьому, симптоми ГП частіше реєстрували у чоловіків (94,1 %, 111/118, $p < 0,001$), ніж у жінок (61,1 %, 11/18). Важливо, що 10,3 % (14/136) пацієнтів не мали жодних симптомів, вони були виявлені після клініко-лабораторного обстеження як контактні особи статевих партнерів з ГП. Суттєво, що безсимптомні випадки ГП реєстрували частіше у жінок (38,9 % [95 % ДІ: 17,3 – 64,3], $p < 0,0001$), ніж у чоловіків (5,9 % [95 % ДІ: 2,4 – 11,8]).

Найбільш часті симптоми у чоловіків були: уретральні виділення (78,8 %) та печія під час сечовипускання (70,3 %), а у жінок – вагінальні виділення (38,9 %) (табл. 4.4).

У чоловіків найчастіше був діагностований уретрит (89,8 %, 106/118); рідше – поєднання уретриту з баланітом (5,9 %, 7/118), уретриту з баланопоститом (3,4 %, 4/118). Проктит був діагностований у одного пацієнта (0,9 %, 1/118), який належав до ЧСЧ. У жінок здебільшого діагностували ендocerвіцит (50,0 %, 9/18) та кольпіт (16,7 %, 3/18). Поєднання ендocerвіциту та кольпіту реєстрували у (16,7 %, 3/18) жінок, а ендocerвіциту та ерозії шийки матки – у 11,1 % (2/18) пацієнток. Ерозію шийки матки діагностували у 16,7 % (3/18) жінок (табл. 4.5)

Таблиця 4.4

Особливості симптомів у пацієнтів з гонококовою інфекцією в Тернопільській області за період 2013 – 2018 рр.

Скарги пацієнтів	Чоловіки, N = 118			Жінки, N = 18			Разом, N = 136		
	n	%	[95 % ДІ]	n	%	[95 % ДІ]	n	%	[95 % ДІ]
уретральні виділення	93	78,8	[70,3 – 85,8]	0	0,0	[0,0 – 18,5]	93	68,4	[59,9 – 76,1]
печія під час сечовипускання	83	70,3	[61,2 – 78,4]	1	5,6	[0,2 – 27,4]	84	61,8	[53,1 – 70,0]
генітальні висипання	8	6,8	[3,0 – 13,0]	1	5,6	[0,2 – 27,4]	9	6,6	[3,1 – 12,2]
неприємний запах уrogenітальних виділень	4	3,4	[0,9 – 8,5]	1	5,6	[0,2 – 27,4]	5	3,7	[1,2 – 8,4]
набряк та почервоніння головки статевого члена	2	1,7	[0,2 – 6,0]	–	–	–	–	–	–
часте сечовипускання	1	0,8	[0,0 – 4,6]	0	0,0	[0,0 – 18,5]	1	0,7	[0,0 – 4,0]
генітальний свербіж	1	0,8	[0,0 – 4,6]	1	5,6	[0,2 – 27,4]	2	1,4	[0,2 – 5,1]
біль внизу живота	1	0,8	[0,0 – 4,6]	0	0,0	[0,0 – 18,5]	1	0,7	[0,0 – 4,0]
вагінальні виділення	–	–	–	7	38,9	[17,3 – 64,3]	–	–	–
не висловлювали	7	5,9	[2,4 – 11,8]	7	38,9	[17,3 – 64,3]	14	10,3	[70,3 – 85,8]

Примітка. 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Клінічні прояви гонококової інфекції у пацієнтів з в Тернопільській області за період 2013 – 2018 рр.

Клінічні діагнози	Чоловіки, N = 118			Жінки, N = 18			Разом, N = 136		
	n	%	[95 % ДІ]	n	%	[95 % ДІ]	n	%	[95 % ДІ]
уретрит	106	89,8	[82,9 – 94,6]	0	0	[0,0 – 18,5]	112	82,4	[74,9 – 88,4]
уретрит та баланіт	7	5,9	[2,4 – 11,8]	–	–	–	–	–	–
уретрит та баланопостит	4	3,4	[0,9 – 8,5]	–	–	–	–	–	–
проктит	1	0,9	[0,0 – 4,7]	0	0,0	[0,0 – 18,5]	1	0,7	[0,0 – 4,0]
ендоцервіцит	–	–	–	9	50,0	[26,0 – 74,0]	–	–	–
кольпіт	–	–	–	3	16,7	[3,6 – 41,5]	–	–	–
ендоцервіцит та кольпіт	–	–	–	3	16,7	[3,6 – 41,5]	–	–	–
ендоцервіцит та ерозія шийки матки	–	–	–	2	11,1	[1,4 – 34,7]	–	–	–
ерозія шийки матки	–	–	–	1	5,5	[0,1 – 27,2]	–	–	–

Примітка. 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Супутні ІПСШ були виявлені у 45,6 % (62/136) пацієнтів та були представлені *T. vaginalis* (39,7 %, 54/136), *Gardnerella vaginalis* (2,2 %, 3/136), *C. thrachomatis* (2,2 %, 3/136), аногенітальними кондиломами (2,2 %, 3/136), *Herpes simplex type 2* (1,5 %, 2/136), контагіозним молюском (0,7 %, 1/136) та *Candida spp.* (0,7 %, 1/136).

ВІЛ-статус визначали у 46,3 % (63/136) пацієнтів, серед яких 1 пацієнт (1,6 %, 1/63) виявився ВІЛ-позитивним. Більше ніж половина пацієнтів (53,7 %, 73/136) відмовились обстежуватись на ВІЛ-інфекцію.

Усі пацієнти були обстежені на сифіліс, внаслідок чого виявили 0,7 % (1/136) позитивних результатів.

З уретральних зразків чоловіків було отримано 117 (86 %), з цервікального каналу жінок – 18 (13,2 %), а з прямої кишки ЧСЧ – 1 (0,7 %) ізолятів відповідно. Жодні зразки не були отримані з глотки пацієнтів.

В урогенітальних мазках виявили збільшення поліморфноядерних лейкоцитів (у середньому $(64,8 \pm 13,9)$ лейкоцитів ($Me = 70$, $IQR = 60 - 75$) в полі зору при збільшенні 1000 x), чисельні грамнегативні внутрішньоклітинні диплококи (91,9 %, 125/136) та грамнегативні позаклітинні диплококи (8,1 %, 11/136). Грамнегативні позаклітинні диплококи визначалися частіше у жіночих урогенітальних мазках (33,3 %, 6/18, $p < 0,0001$), ніж у чоловічих (4,2 %, 5/118).

Дані про антибіотикотерапію пацієнтів із діагнозом ГІ були відомі щодо 131 пацієнта. Усього було застосовано 14 різних режимів антибіотикотерапії.

Терапію цефтріаксоном отримували 83,97 % (110/131) пацієнтів. Монотерапію цефтріаксоном у дозі 1 г отримали 16,79 % (22/131) хворих. Найчастіше пацієнти отримували подвійну терапію, яка містила цефтріаксон та ще один антибіотик (67,18 %, 88/131) (табл. 4.6), з цих пацієнтів більшість (33,59 %, 44/131) отримувала як терапію цефтріаксон (1 г) ВМ у поєднанні з доксицикліном (100 мг) ПО двічі на добу впродовж п'яти днів. Наступними схемами за частотою призначення були: поєднання цефтріаксону (1 г) з кларитроміцином (500 мг) ПО двічі на добу впродовж п'яти діб (22,9 %, 26/114).

30/131) та монотерапія цефтріаксоном (1 г) ВМ (16,79 %, 22/131). Подвійну терапію цефтріаксоном (1 г) ВМ та азитроміцином (1,5 г) ПО отримували 6,11 % (8/131) пацієнтів.

Таблиця 4.6

**Схеми комбінованої антибіотикотерапії на основі цефтріаксону,
застосовані для пацієнтів (N = 131) з ГІ в Тернопільській області,
за період 2013 – 2018 рр.**

Призначені антибіотики	n	%	[95 % ДІ]
Доксициклін (100 мг) ПО – двічі на добу, впродовж п'яти діб	44	33,59	[25,58 – 42,36]
Кларитроміцин (500 мг) ПО – двічі на добу, впродовж п'яти діб	30	22,90	[16,02 – 31,05]
Азитроміцин (500 мг) ПО – один раз на добу, впродовж трьох діб	8	6,11	[2,68 – 11,68]
Офлоксацин (200 мг) ПО – двічі на добу, впродовж п'яти діб	2	1,53	[0,19 – 5,41]
Доксициклін (100 мг) ПО – двічі на добу, впродовж п'яти діб, кларитроміцин (500 мг) ПО – двічі на добу, впродовж п'яти діб	2	1,53	[0,19 – 5,41]
Азитроміцин (250 мг) ПО – один раз на добу, впродовж шести діб	1	0,76	[0,02 – 4,17]
Азитроміцин (500 мг) ПО – один раз на добу, впродовж трьох діб; наступний прийом кларитроміцину (500 мг) ПО – двічі на добу, впродовж п'яти діб	1	0,76	[0,02 – 4,17]

Примітка. ГІ – гонококова інфекція; ВМ – внутрішньом'язово; ПО – перорально; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

У табл. 4.7 наведені шість схем антибіотикотерапії ГІ без застосування цефтріаксону.

Таблиця 4.7

**Схеми антибіотикотерапії ГІ без застосування цефтріаксону,
застосовані для пацієнтів (N = 131) з ГІ в Тернопільській області,
за період 2013 – 2018 рр.**

Призначені антибіотики	n	%	[95 % ДІ]
Кларитроміцин (500 мг) ПО – двічі на добу, впродовж п'яти діб	11	8,40	[4,27 – 14,53]
Доксициклін (100 мг) ПО – двічі на добу, впродовж п'яти діб	6	4,58	[1,70 – 9,70]
Азитроміцин (500 мг) ПО – один раз на добу, впродовж трьох діб	1	0,76	[0,02 – 4,17]
Офлоксацин (200 мг) ПО – двічі на добу, впродовж п'яти діб	1	0,76	[0,02 – 4,17]
Бензилпеніцилін (1 млн одиниць) ВМ – 8 разів на добу, впродовж чотирьох діб	1	0,76	[0,02 – 4,17]
Бензилпеніцилін (1 млн одиниць) ВМ – 8 разів на добу, впродовж п'яти діб	1	0,76	[0,02 – 4,17]

Примітка. ГІ – гонококова інфекція; ВМ – внутрішньом'язово; ПО – перорально; 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Так, 16,03 % (21/131) пацієнтів не отримували терапію цефтріаксоном, а лише монотерапію кларитроміцином, доксицикліном, бензилпеніциліном, азитроміцином та офлоксацином (табл. 4.7).

Для спостереження на завершальний візит (через 14 днів після закінчення курсу антибіотикотерапії) не з'явилися 41,9 % [95 % ДІ: 33,5 – 50,7] (57/136) пацієнтів. Вилікування було відмічене у всіх пацієнтів, які з'явилися на візит спостереження (58,1 % [95 % ДІ: 49,3 – 66,5], 79/136).

На основі наведених у розділі результатів можна зробити такі проміжні висновки:

1. Характерними епідеміологічними особливостями ГІ у Тернопільській області за період 2013 – 2018 рр. були: поширеність серед пацієнтів з симптомами урогенітальних інфекцій – 1,5 %; інфікування пацієнтів відбувалося в межах України – 93,4 % та регіону проживання пацієнтів – 86,8 %; ЧСЧ становили – 3,7 %; дослідження екстрагенітальних зразків було низьким – 0,7 %; частота обстеження статевих партнерів – 11 %; візит контролю виліковності не проходили 41,9 % пацієнтів.

2. Зареєстровано 1,5 % випадків інфікування пацієнтів за межами України. Тому, існує ризик імпортування ГІ в Україну, зокрема, викликані резистентними та мультирезистентними штамами *N. gonorrhoeae*.

3. Монотерапію цефтріаксоном отримували 16,79 % пацієнтів; комбіновану терапію цефтріаксоном, у поєднанні з іншим антибіотиком (доксидиклін, кларитроміцин, азитроміцин, офлоксацин) – 67,18 %. Частина пацієнтів (16,03 %) отримували лікування ГІ сумнівної ефективності із застосуванням монотерапії кларитроміцином, доксицикліном, бензилпеніциліном, азитроміцином або офлоксацином.

4. Стандартизоване лікування ГІ на основі актуалізованих клінічних настанов та даних спостереження за АБР гонококів є невідкладним для запровадження в Україні.

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора [42].

РОЗДІЛ 5
ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ІЗОЛЯТІВ *N. GONORRHOEAЕ* ДО
АНТИБІОТИКІВ

Шляхом виділення гонококів у культурах було одержано 150 ізолятів *N. gonorrhoeae*, виділених у 130 (86,7 %) чоловіків та 20 (13,3 %) жінок. Зокрема, в Тернопільській області було зібрано 136 (90,7 %) ізолятів гонококів: у 2013 р. – 14, у 2014 р. – 40, у 2015 р. – 33, у 2016 р. – 25, у 2017 р. – 14 та у 2018 р. – 10 ізолятів відповідно. У Дніпропетровській області було зібрано разом 14 (9,3 %) ізолятів у 2013 – 2014 рр.

Результати антибіотикочутливості ізолятів *N. gonorrhoeae* представлені у табл. 5.1.

Таблиця 5.1

**Антибіотикочутливість ізолятів *N. gonorrhoeae* до восьми антибіотиків,
 виділених від пацієнтів Тернопільської та Дніпропетровської областей,
 за період 2013 – 2018 рр., N = 150**

Антибіотики		Резистентні	Помірно стійкі	Чутливі
Цефтріаксон	n, (%)	0 (0,0)	–	150 (100)
	[95 % ДІ]	[0,0 – 2,4]	–	[97,6 – 100]
Цефіксим	n, (%)	0 (0,0)	–	150 (100)
	[95 % ДІ]	[0,0 – 2,4]	–	[97,6 – 100]
Азитроміцин	n, (%)	0 (0,0)	–	150 (100)
	[95 % ДІ]	[0,0 – 2,4]	–	[97,6 – 100]
Спектиноміцин	n, (%)	0 (0,0)	–	150 (100)
	[95 % ДІ]	[0,0 – 2,4]	–	[97,6 – 100]
Ципрофлоксацин	n, (%)	17 (11,3)	0	133 (88,7)
	[95 % ДІ]	[6,7 – 17,5]	[0,0–2,4]	[82,5 – 93,3]
Бензилпеніцилін	n, (%)	1 (0,7)	44 (29,3)	105 (70,0)
	[95 % ДІ]	[0,0 – 3,7]	[22,2–37,3]	[62,0 – 77,2]

Продовж. табл. 5.1

1		2	3	4
Тетрациклін	n, (%)	9 (6,0)	12 (8,0)	129 (86,0)
	[95 % ДІ]	[2,8 – 14,1]	[4,2 – 13,6]	[79,4 – 91,1]
Гентаміцин	n, (%)	0 (0,0)	5 (3,3)	145 (96,7)
	[95 % ДІ]	[0,0 – 2,4]	[1,1 – 7,6]	[92,4 – 98,9]

Примітка. 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Детальна характеристика фенотипу досліджуваних ізолятів *N. gonorrhoeae* представлена на рис. 5.1.

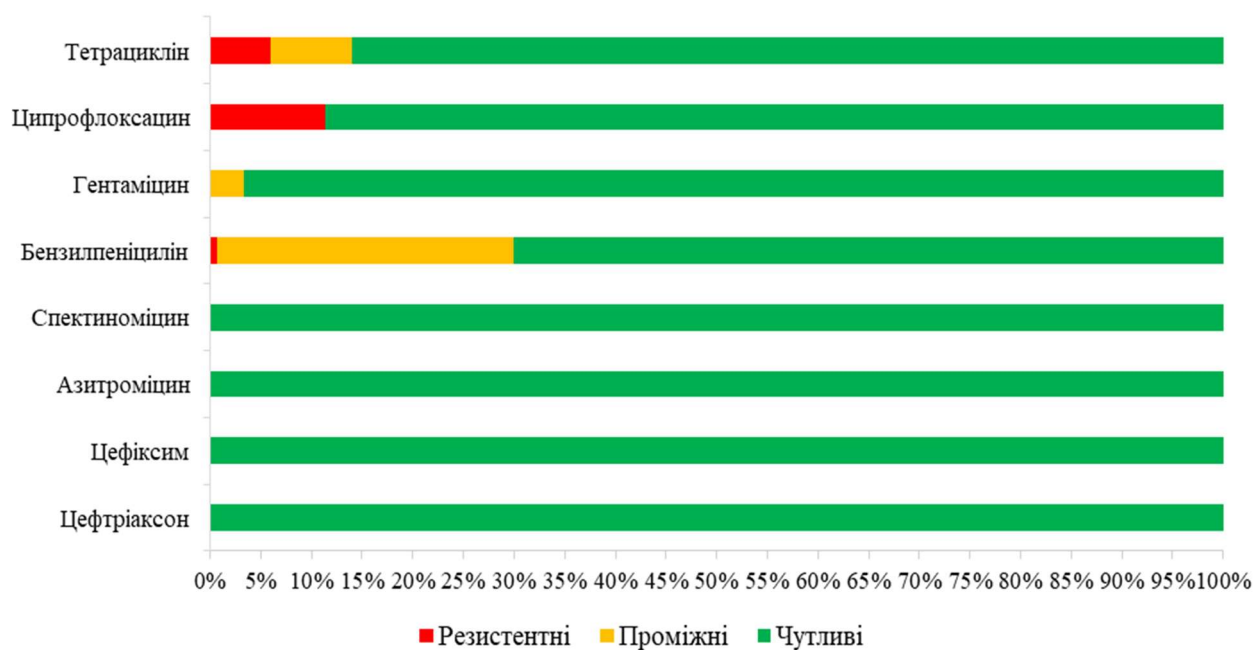


Рис. 5.1. Загальна фенотипова характеристика ізолятів *N. gonorrhoeae* у Тернопільській та Дніпропетровській областях за період 2013 – 2018 рр.

Встановлено, що резистентність до ципрофлоксацину мали 11,3 % (17/150) ізолятів, до тетрацикліну – 6 % (9/150) та до бензилпеніциліну – 0,7 %

(1/150) ізолятів. Не було виділено жодного ізоляту, резистентного до цефтріаксону, цефіксиму, азитроміцину, спектиноміцину (МІК = 4 – 24 мг/л), або гентаміцину (рис. 5.1).

Детальна характеристика АБР досліджуваних ізолятів *N. gonorrhoeae* із зазначенням МІК₅₀ та МІК₉₀ наведена у табл. 5.2.

Таблиця 5.2

Резистентність до антибіотиків 150 ізолятів *N. gonorrhoeae*, виділених в Україні, за період 2013 – 2018 рр.

Антибіотики	Поріг резистентності (мг/л)	Резистентні	Значення МІК (мг/л)		
		% [95 % ДІ]	Діапазон	МІК ₅₀	МІК ₉₀
Ципрофлоксацин	> 0,060	11,3 [6,72–17,49]	<0,002–32,000	0,004	0,125
Тетрациклін	> 1,000	6,0 [2,78–11,08]	0,125 – 32,000	0,250	1,000
Азитроміцин	> 1,000	0,0 [0,00–2,43]	0,032 – 1,000	0,125	0,500
Бензилпеніцилін	> 1,000	0,7 [0,02–3,71]	0,004 – > 32	0,023	0,250
Цефіксим	> 0,125	0,0 [0,00–2,43]	<0,016 – 0,125	< 0,016	<0,016
Цефтріаксон	> 0,125	0,0 [0,00–2,43]	<0,002 – 0,125	< 0,002	0,008
Спектиноміцин	> 64,000	0,0 [0,00–2,43]	4,000 – 24,000	12,000	16,000
Гентаміцин	> 16,000	0,0 [0,00–2,43]	2,000 – 8,000	4,000	8,000

Примітка. 95 % ДІ – межі довірчого інтервалу 95 %; МІК – мінімальна інгібуюча концентрація; МІК₅₀ – мінімальна інгібуюча концентрація до антибіотиків із пригніченням 50 % ізолятів; МІК₉₀ – мінімальна інгібуюча концентрація до антибіотиків із пригніченням 90 % ізолятів.

Варто зауважити, що один (0,7 %) ізолят показав МІК = 0,125 мг/л до цефтріаксону та цефіксиму, що є межевим рівнем щодо резистентності до ЦШСД [207]. Цей ізолят додатково був резистентний також до ципрофлоксацину (МІК = 12 мг/л), помірно стійкий – до бензилпеніциліну

(МІК = 0,25 мг/л) та був отриманий від чоловіка, який мав випадковий незахищений статевий контакт із жінкою з Іспанії. Лише один (0,7 %) ізолят мав здатність продукувати β -лактамазу. Кількість АБР ізолятів була низькою впродовж усього періоду дослідження.

МІК₅₀ та МІК₉₀ до цефтріаксону становила <0,002 мг/л та 0,008 мг/л відповідно (діапазон МІК = <0,002 – 0,125 мг/л; *Me* = <0,002 мг/л; IQR = <0,002 – 0,004 мг/л) (рис. 5.2).

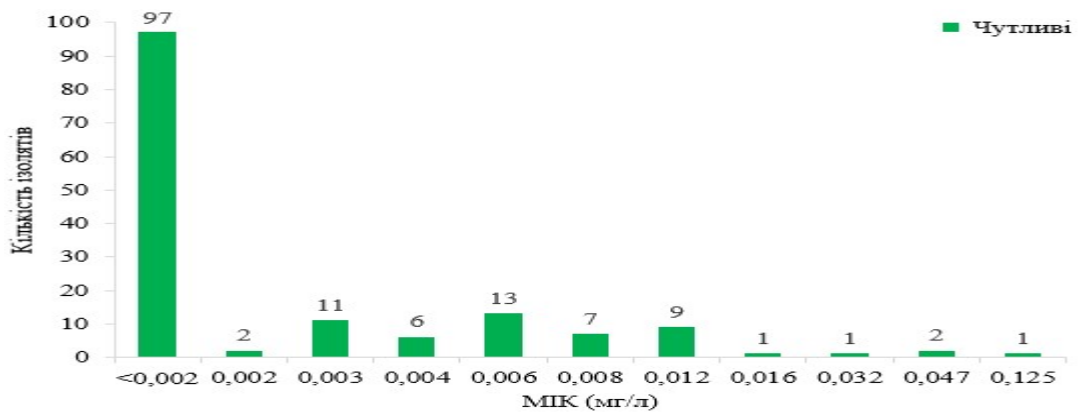


Рис. 5.2. Розподіл ізолятів *N. gonorrhoeae* (n = 150) залежно від мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) до цефтріаксону.

МІК до цефіксиму у більшості досліджуваних ізолятів *N. gonorrhoeae* (94 %, 141/150) була < 0,016 мг/л, а тому показники МІК₅₀ та МІК₉₀ були однаковими зі значенням < 0,016 мг/л (діапазон МІК = <0,016 – 0,125 мг/л; *Me* < 0,016 мг/л; значення МІК першого та третього кватилей також співпадали та становили < 0,016 мг/л) (рис. 5.3).

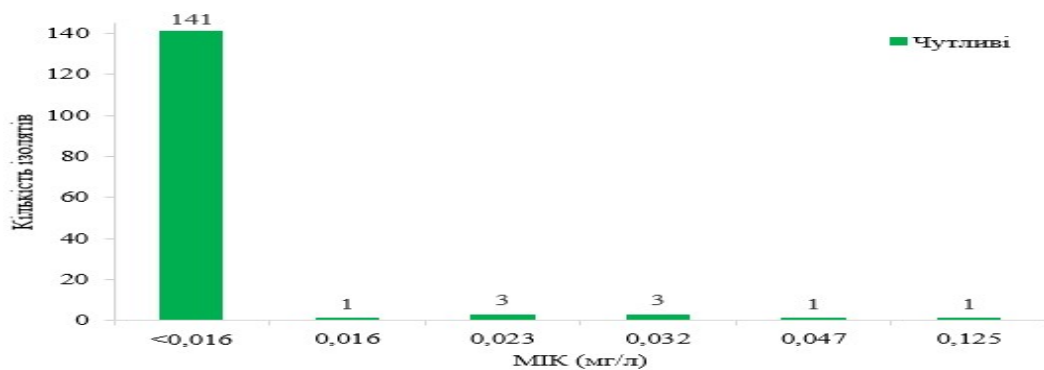


Рис. 5.3. Розподіл ізолятів *N. gonorrhoeae* (n = 150) залежно від мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) до цефіксиму.

Досліджувані ізоляти *N. gonorrhoeae* демонстрували MIK_{50} та MIK_{90} до азитроміцину, зі значеннями 0,125 мг/л та 0,500 мг/л (діапазон $MIK = 0,032 - 1$ мг/л; $Me = 0,125$ мг/л; $IQR = 0,064 - 0,190$ мг/л) (рис. 5.4).

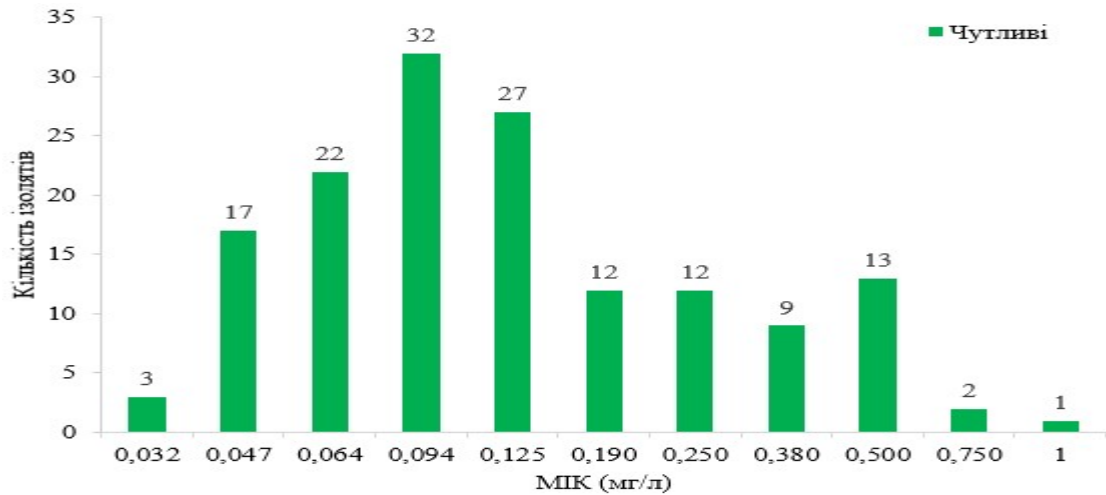


Рис. 5.4. Розподіл ізолятів *N. gonorrhoeae* ($n = 150$) залежно від мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) до азитроміцину.

Ізоляти *N. gonorrhoeae* показали MIK_{50} та MIK_{90} до спектиноміцину зі значеннями 12 мг/л та 16 мг/л (діапазон $MIK = 4 - 24$ мг/л; $Me = 12$ мг/л; $IQR = 8 - 12$ мг/л) (рис. 5.5).

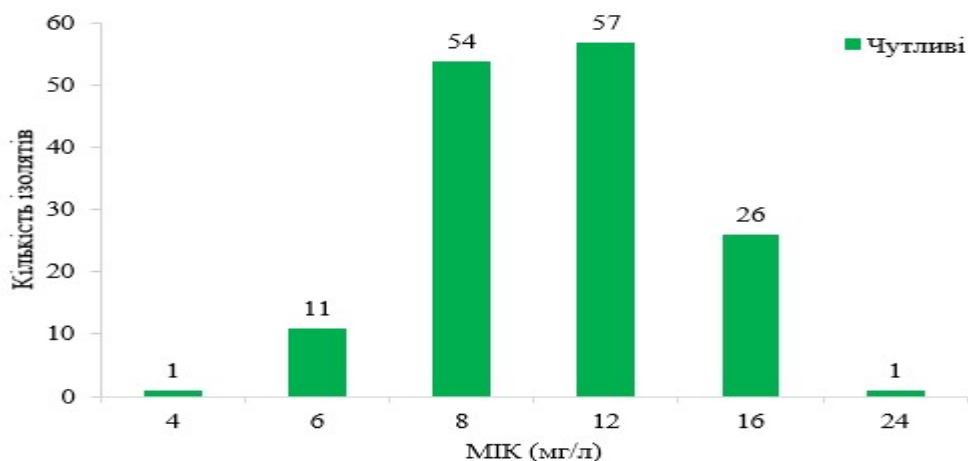


Рис. 5.5. Розподіл ізолятів *N. gonorrhoeae* ($n = 150$) залежно від мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) до спектиноміцину.

Ізоляти *N. gonorrhoeae* показали МІК₅₀ та МІК₉₀ до бензилпеніциліну зі значеннями 0,023 мг/л та 0,250 мг/л відповідно (діапазон МІК = 0,004 – > 32 мг/л; *Me* = 0,023 мг/л; IQR = <0,016 – 0,094 мг/л). Важливо, що МІК₉₀ (0,250 мг/л) була зареєстрована у помірно стійкій зоні чутливості до бензилпеніциліну (> 0,06 – ≤1 мг/л), а один резистентний ізолят демонстрував високий рівень резистентності (МІК = > 32 мг/л) (рис. 5.6).

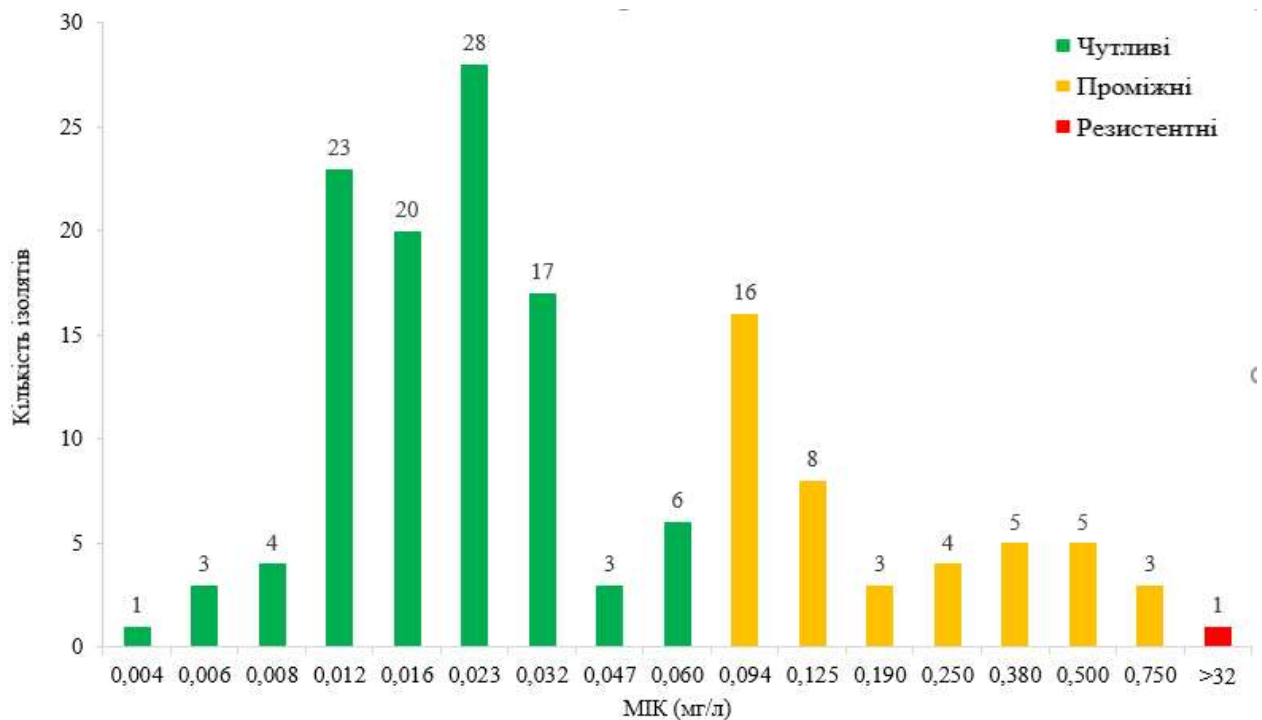


Рис. 5.6. Розподіл ізолятів *N. gonorrhoeae* (n = 150), виділених у Тернопільській та Дніпропетровській областях за період 2013 – 2018 рр., залежно від мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) до бензилпеніциліну.

Один резистентний ізолят гонокока до бензилпеніциліну був виявлений у 2017 році в Тернопільській області. Кількість ізолятів із помірною стійкістю до бензилпеніциліну істотно коливалася впродовж усього періоду дослідження. Найвища частка ізолятів гонококів із помірною стійкістю до бензилпеніциліну була зареєстрована упродовж трьох послідовних років: 11,3 % (2014 р.), 6,9 % (2015 р.) та 7,3 % (2016 р.) ізолятів. На рис. 5.7

представлена динаміка чутливості ізолятів до бензилпеніциліну за період 2013 – 2018 рр. дослідження.

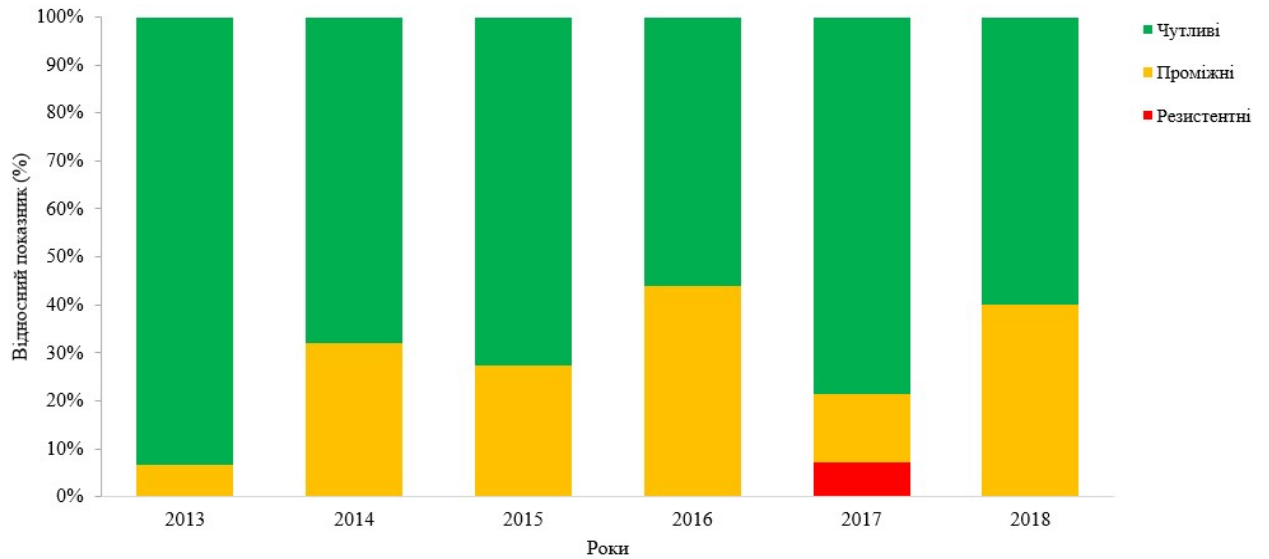


Рис. 5.7. Чутливість ізолятів *N. gonorrhoeae* до бензилпеніциліну у Тернопільській та Дніпропетровській областях залежно від років виділення за період 2013 – 2018 рр.

МІК₅₀ та МІК₉₀ до гентаміцину становили 4 мг/л та 8 мг/л відповідно (діапазон МІК = 2 – 8 мг/л; *Me* = 4 мг/л; IQR = 3 – 6 мг/л) (рис. 5.8).

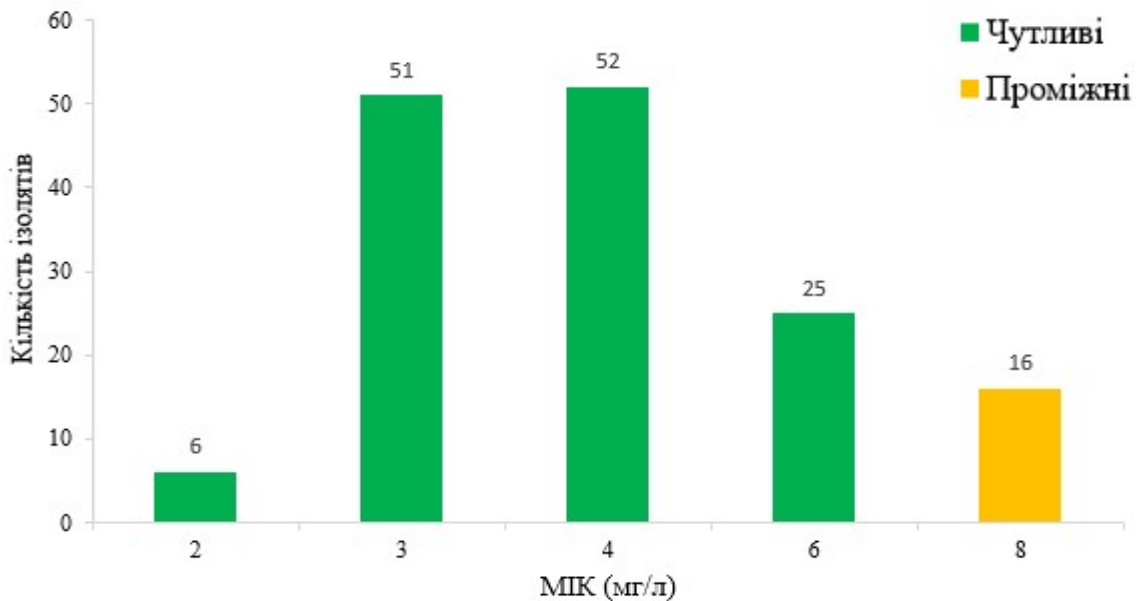


Рис. 5.8. Розподіл ізолятів *N. gonorrhoeae* (n = 150) залежно від мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) до гентаміцину.

Моніторинг чутливості ізолятів *N. gonorrhoeae* до гентаміцину показав значне коливання даних упродовж п'ятирічного періоду спостереження (рис. 5.9).

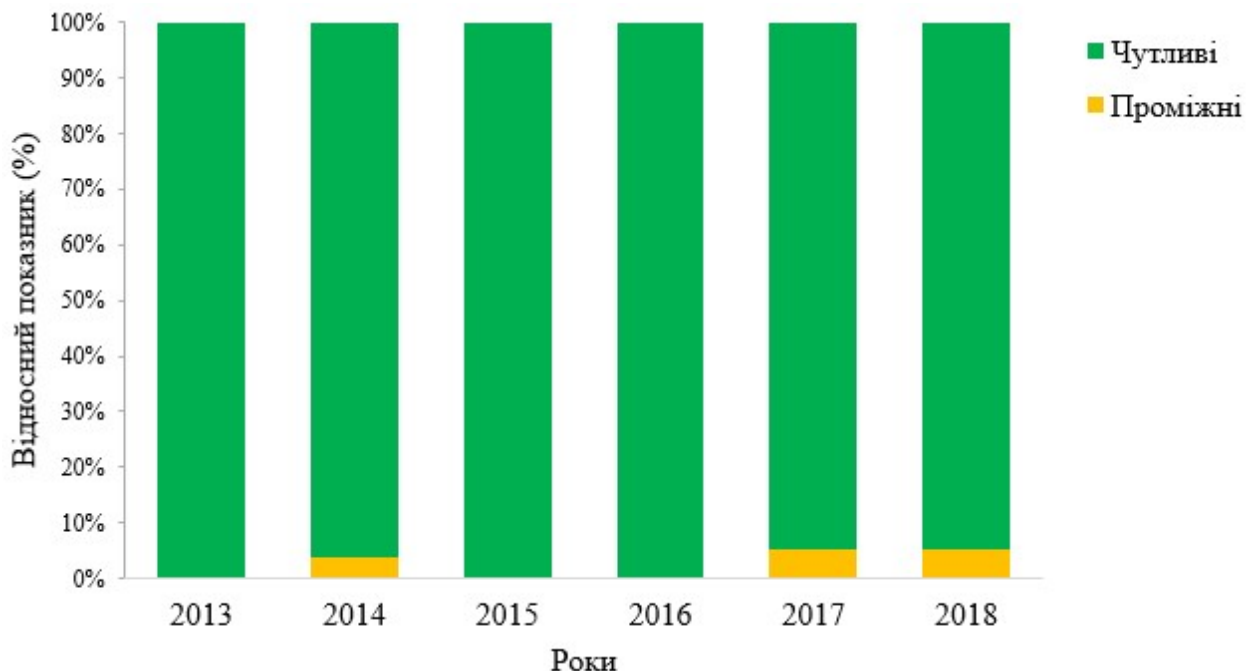


Рис. 5.9. Чутливість ізолятів *N. gonorrhoeae* до гентаміцину у Тернопільській та Дніпропетровській областях залежно від років виділення за період 2013 – 2018 рр.

Так, упродовж 2013, 2015 та 2016 років виділені ізоляти гонококів були повністю чутливими, тоді як у 2014 році частка помірно стійких ізолятів гонококів становила 2 %, а у 2017 та 2018 роках – по 0,7 %. Рис. 5.9 демонструє динаміку чутливості досліджуваних ізолятів гонококів до гентаміцину за період 2013 – 2018 рр.

МІК₅₀ та МІК₉₀ до тетрацикліну становили 0,250 мг/л та 1 мг/л відповідно (діапазон МІК = 0,125 – 32 мг/л; $Me = 0,250$ мг/л; IQR = 0,190 – 0,380 мг/л). Загальна частка резистентних ізолятів до тетрацикліну була 6 % (9/150) із діапазоном МІК = 1,5 – 32,0 мг/л ($Me = 16$ мг/л; IQR = 3 – 16 мг/л). Заслуговує на увагу й той факт, що МІК₉₀

була зареєстрована у помірно стійкій зоні чутливості ізолятів гонококів до тетрацикліну ($> 0,5 - \leq 1,0$ мг/л) та становила МІК = 1,0 мг/л (рис. 5.10).

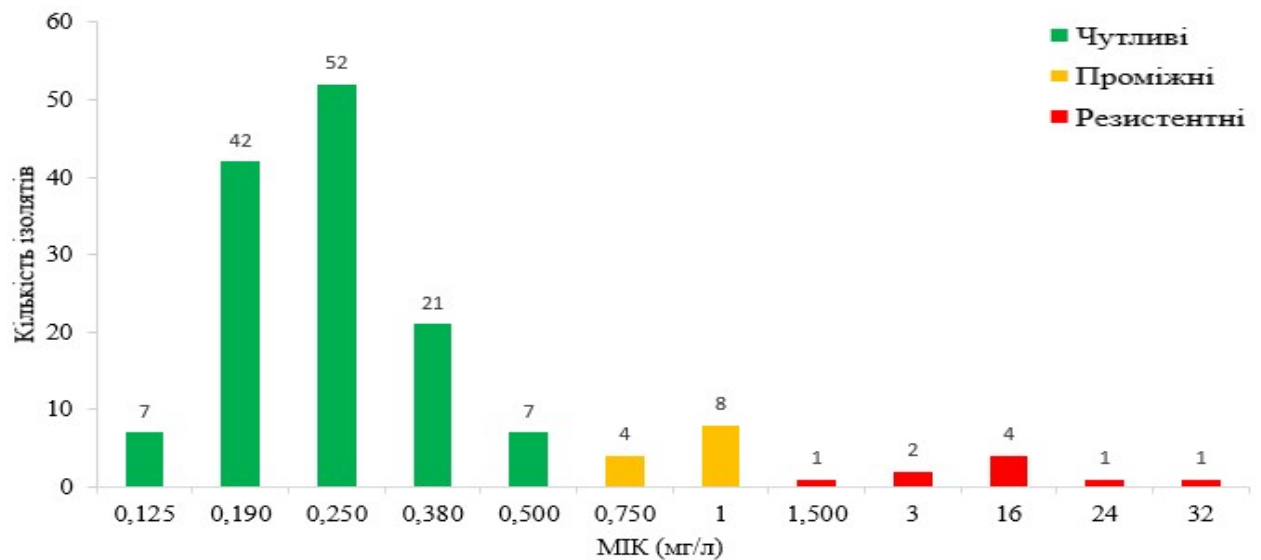


Рис. 5.10. Розподіл ізолятів *N. gonorrhoeae* (n = 150) залежно від мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) до тетрацикліну.

Моніторинг АБР ізолятів гонококів до тетрацикліну за період 2013 – 2018 рр. дослідження показав, що резистентні ізоляти гонококів реєстрували щороку (рис. 5.11).

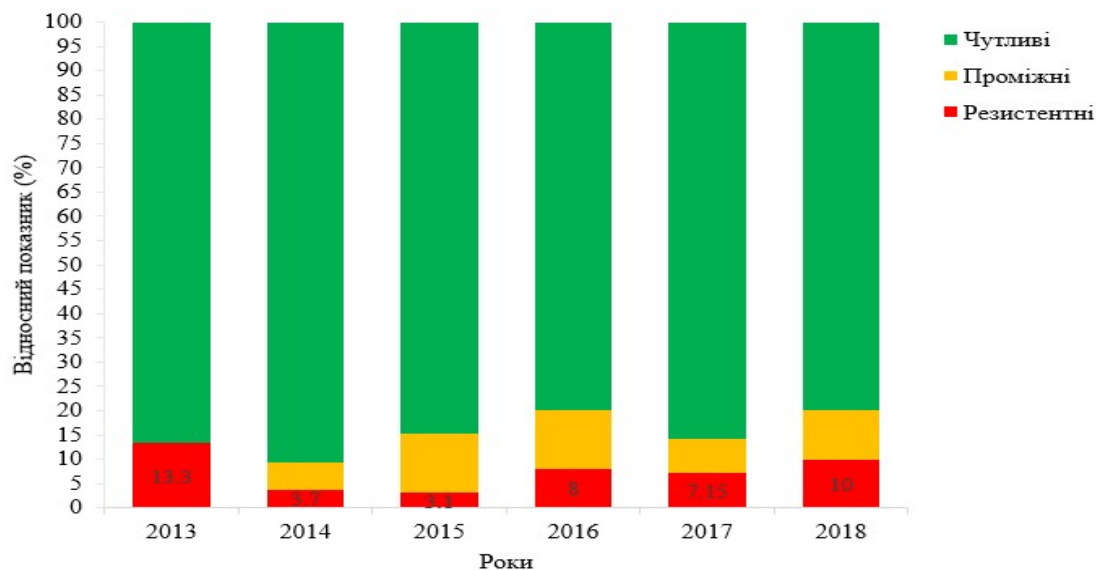


Рис. 5.11. Чутливість ізолятів *N. gonorrhoeae* до тетрацикліну у Тернопільській та Дніпропетровській областях залежно від років виділення за період 2013 – 2018 рр.

Так, епідеміологічно значуща частка резистентних ізолятів гонококів (> 5 %) до тетрацикліну була зареєстрована у чотирьох із шести років спостереження: у 2013 році (13,3 %), у 2016 році (8 %), у 2017 році (7,2 %) та у 2018 році (10,0 %) (рис.5.11). В цілому резистентність до ципрофлоксацину демонстрували 11,3 % (17/150) ізолятів із діапазоном їх МІК = 0,094 – 32 мг/л ($Me = 3$ мг/л; $IQR = 2 - 4$ мг/л).

У загальному МІК₅₀ та МІК₉₀ усіх 150 досліджених ізолятів до ципрофлоксацину становили 0,004 мг/л та 0,125 мг/л відповідно (діапазон МІК = <0,002 – 32 мг/л; $Me = 0,004$ мг/л; $IQR = 0,003 - 0,004$ мг/л) (рис. 5.12).

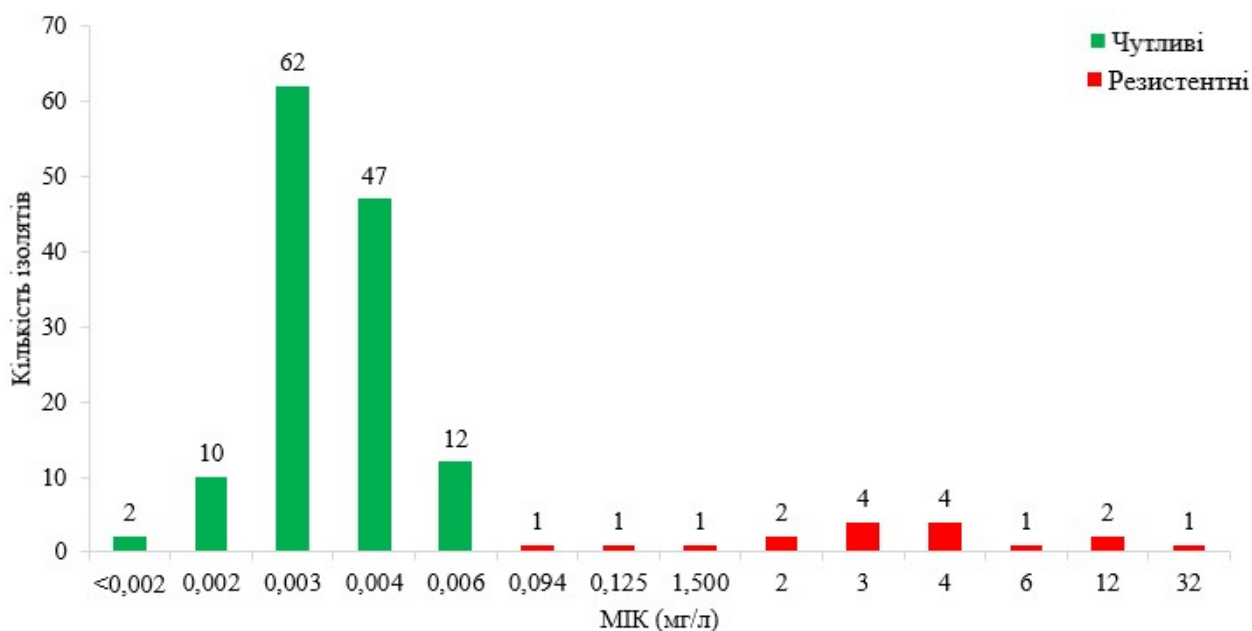


Рис. 5.12. Розподіл ізолятів *N. gonorrhoeae* (n = 150), виділених у Тернопільській та Дніпропетровській областях за період 2013 – 2018 рр., залежно від мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) до ципрофлоксацину.

Варто зауважити, що МІК₉₀ (0,125 мг/л) до ципрофлоксацину реєстрували у резистентній зоні чутливості гонококів до даного антибіотика (> 0,06 мг/л).

Моніторинг АБР ізолятів гонококів до ципрофлоксацину за період 2013 – 2018 рр. свідчить, що резистентні ізоляти гонококів реєстрували упродовж послідовних п'яти років дослідження, починаючи з 2014 року. Потрібно зауважити, що частка резистентних ізолятів гонококів істотно перевищувала епідеміологічно значущий рівень резистентних ізолятів гонококів (> 5 %) до ципрофлоксацину у 2014 році (18,9 %), у 2015 році (6,1 %), у 2017 році (21,4 %) та у 2018 році (10,0 %). Дані моніторингу АБР ізолятів *N. gonorrhoeae* до ципрофлоксацину за період 2013 – 2018 рр., зображені на рис. 5.13.

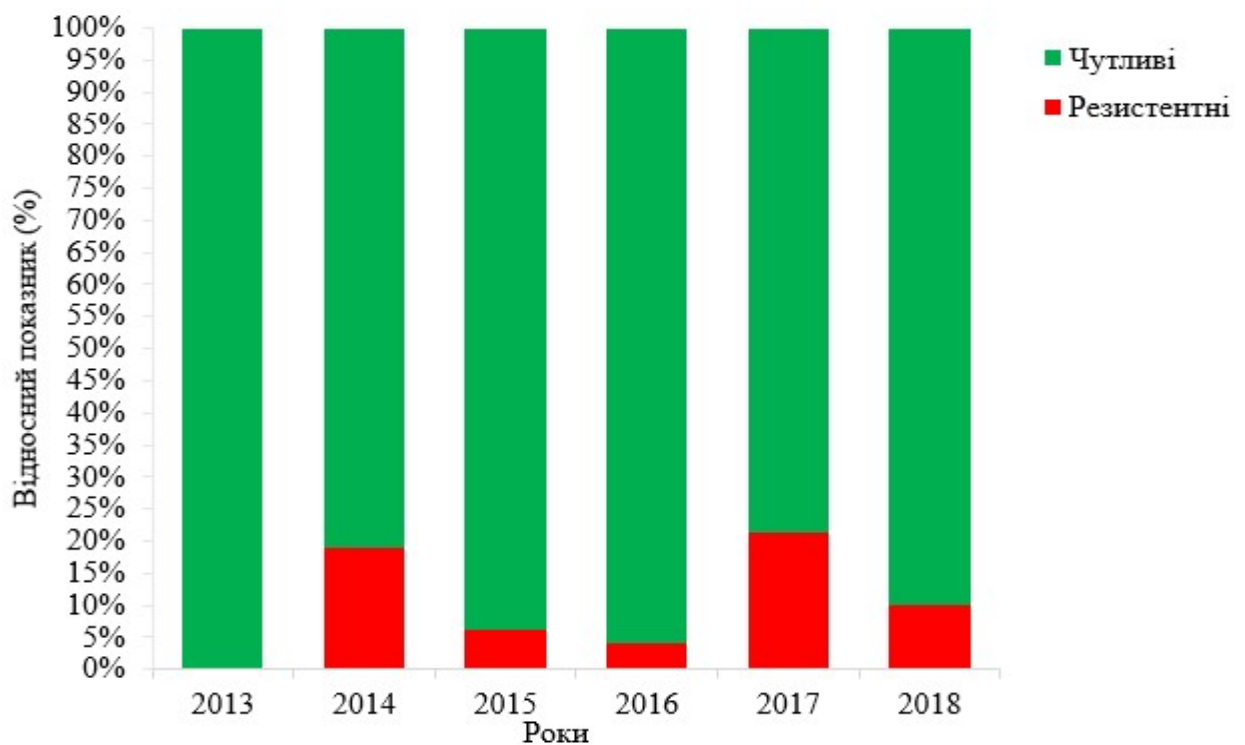


Рис. 5.13. Чутливість ізолятів *N. gonorrhoeae* до ципрофлоксацину у Тернопільській та Дніпропетровській областях залежно від років виділення за період 2013 – 2018 рр.

На основі наведених у розділі результатів можна зробити такі проміжні висновки:

1. Усі досліджені ізоляти гонококів, виділені від пацієнтів Тернопільської та Дніпропетровської областей упродовж 2013 – 2018 рр., є

чутливими до цефтріаксону, цефіксиму, азитроміцину, спектиноміцину та гентаміцину.

2. Резистентність ізолятів *N. gonorrhoeae* до ципрофлоксацину становить 11,3 %, до тетрацикліну – 6,0 %, до бензилпеніциліну – 0,7 %. Межовий рівень резистентності до обох ЦШСД (МІК = 0,125 мг/л) становить 0,7 %.

3. Відповідно до результатів дослідження чутливості виділених культур гонококів до антибіотиків є найбільш доцільним застосування цефтріаксону (1 г) ВМ у вигляді монотерапії або у поєднанні з азитроміцином (2 г) ПО у якості першої лінії емпіричного лікування ГІ. Спектиноміцин може бути запропонований у якості антибіотика другої лінії. За умови наявності гонококового фарингіту та/або супутньої уrogenітальної інфекції, викликаной *C. trachomatis*, або не виключеної за допомогою МАНК, спектиноміцин необхідно комбінувати з азитроміцином (2 г) ПО. Ципрофлоксацин, тетрациклін та бензилпеніцилін повинні бути виключені зі схем лікування.

4. Моніторинг чутливості, принаймні, до ЦШСД та азитроміцину є клінічно важливим.

5. Постійний та розширений нагляд за АБР по всій Україні є нагальним та важливим для своєчасного оновлення настанов щодо лікування та забезпечення ефективного управління ГІ.

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора [6, 8, 42, 43].

РОЗДІЛ 6

ПОВНЕ СЕКВЕНУВАННЯ ГЕНОМУ ІЗОЛЯТІВ *N. GONORRHOEAE*

Даний розділ описує результати повного геномного секвенування 150 ізолятів гонококів, виділених в Україні за період 2013 – 2018 рр. Зокрема, в Тернопільській області було зібрано 136 (90,7 %) ізолятів гонококів у 2013 – 2018 рр., а у Дніпропетровській області – 14 (9,3 %) ізолятів у 2013 – 2014 рр.

6.1. Генетичні детермінанти резистентності *N. gonorrhoeae* до антибіотиків

Наявність основних детермінант, пов'язаних із резистентністю до β-лактамних антибіотиків (мутації *penA*, *mtrR*, *porB1b* та *ponA* генів), тетрацикліну (мутації *rpsJ*, *mtrR* та *porB1b* генів), ципрофлоксацину (мутації *gyrA* та *parC* генів), азитроміцину (мутації 23S rRNA та *mtrR* генів) та спектиноміцину (мутації 16S rRNA та *rpsE* генів) ізолятів з немозаїчною *penA* алеллю наведені у табл. 6.1.

Таблиця 6.1

Генетичні детермінанти резистентності^a та NG-MAST дані *N. gonorrhoeae* ізолятів із немозаїчними алелями *penA*, виділених в Україні у 2013 – 2018 рр., N = 146

Генетичні та молекулярні характеристики		Дніпропетровська область (N = 13)	Тернопільська область (N = 133)
1		2	3
β-лактамні антибіотики	<i>penA</i> алель (n)	1,001 (3), 5,002 (1), 15,001 (9)	15,001 (63); 1,001 (26); 15,007 (12); 2,001 (4); 68,001 (4); 100,001 (4); 119,001 (3), 15,008 (3);

Продовж. табл. 6.1

<i>1</i>		<i>2</i>	<i>3</i>
β-лактамі антибіотики	<i>penA</i> алель (n)	–	5,002 (3); 9,001 (2); 14,001 (2); 44,001 (2); 13,001 (1); 18,001 (1); 2,002 (1); 22,001 (1); 4,001 (1)
	MtrR (n)	A-делеція (1), WT (12)	A-делеція (6); A_del_G45D (6); G45D (3); WT (118)
	PorB1b 101, 102 (n)	G101D (1), WT (12)	G101D (9); A102S (2); K,D (2); D,S (1); A101K,102D (1); A102N (1); G101D.A102S (1); WT (116)
	PBP1 (n)	WT (13)	L421P (21); WT (112)
Тетрациклін	S10 (n)	V57M (1), WT(12)	V57M (20); WT (113)
Ципрофлоксацин	GyrA S91,D95 (n)	F,G (1), WT (12)	F,G (10); F,A (2); WT (121)
	ParC (n)	S87R (1), WT (12)	S87R(4); E91G(2); S87N (1); D86N(1); WT(125)
NG-STAR ST (n)		563 (5), 568 (3), 20 (3), 260 (1), 45 (1)	568 (35); 563 (23); 20 (22); 1476 (12); 1466 (3); 1477 (3); 1478 (3); 43 (2); 158 (2); 260 (2); 729 (2); 1467 (2); 1470 (2); 1473 (2); 1484 (2); 267 (1); 306 (1); 416 (1);

Продовж. табл. 6.1

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
–	–	465 (1); 946(1); 1225 (1); 1335 (1); 1447 (1); 1465 (1); 1468 (1); 1469 (1); 1472 (1); 1474 (1); 1475 (1); 1482 (1); 1483 (1)
NG-MAST ST (n)	ST18842 (5), ST228 (3), ST1993 (3), ST13105 (1), ST18858 (1)	ST1993 (25); ST228 (10); ST18839 (12); ST18842 (7); ST18849 (8); ST807 (4); ST5714 (4); ST18848 (4); ST18859 (4); ST3321 (3); ST18837 (3); ST18852 (3); ST18858 (2); ST18860 (3); ST18893 (3); ST387 (2); ST5985 (2); ST13089 (2); ST18838 (2); ST18847 (2); ST18856 (2); ST1152 (1); ST2400 (1); ST2886 (1); ST3519 (1); ST4995 (1); ST5946 (1); ST8631 (1); ST9184 (1); ST12231 (1); ST14700 (1); ST18836 (1); ST18840 (1); ST18841 (1); ST18843 (1); ST18844 (1); ST18845 (1);

Продовж. табл. 6.1

1	2	3
NG-MAST ST (n)	–	ST18846 (1); ST18850 (1); ST18851 (1); ST18853 (1); ST18854 (1); ST18855 (1); ST18861 (1); ST18862 (1); ST18863 (1); ST18896 (1)

Примітка. ^a – мутації у 23S rRNA, 16S rRNA та рибосомальних протеїнах S5 (*rpsE* гени), асоційованих із резистентністю до азитроміцину та спектиноміцину, відсутні; NG-STAR – типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae* щодо резистентності до антибіотиків; NG-MAST – мультиантигенне типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae*; ST – секвенс-тип(и); WT – «дикий тип» (wild type), до якого належать ізоляти, позбавлені мутаційних або інших набутих механізмів стійкості до конкретного антибіотика; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Ізоляти *N. gonorrhoeae* володіли 18 різними *penA* алелями, які кодують головну мішень – РВР2 до β -лактамних антибіотиків. Більшість ізолятів (97,3 %, 146/150) мали немозаїчні *penA* алелі, включаючи: *penA*-15,001 (n=72), *penA*- 1,001 (n=29), *penA*-15,007 (n=12), *penA*-100,001 (n=4), *penA*- 68,001 (n=4), *penA*-5,002 (n=4), *penA*-2,001 (n=4), *penA*-119,001 (n=3), *penA*-15,008 (n=3), *penA*-44,001 (n=2), *penA*-14,001 (n=2), *penA*-9,001 (n=2), *penA*-4,001 (n=1), *penA*- 2,002 (n=1), *penA*- 13,001 (n=1), *penA*-18,001 (n=1), та *penA*-22,001 (n=1) (табл. 6.1). Решта – 2,7 % ізолятів (n = 4; Дніпропетровська обл. (n = 1) та Тернопільська обл. (n = 3)) містили мозаїчну *penA*-34,001 алель, яка асоційована зі зниженою чутливістю та резистентністю до ЦШСД та, зокрема, із поширеним міжнародно мультирезистентним клоном NG-MAST ST1407.

Детальна характеристика ізолятів гонококів з мозаїчною *penA* алеллю наведена у табл. 6.2.

Таблиця 6.2

**Молекулярні детермінанти резистентності^a та NG-MAST дані
N. gonorrhoeae ізолятів із мозаїчною алеллю *penA*, виділених в Україні у
2013 – 2018 рр., N = 4**

Генетичні та молекулярні характеристики		Дніпропетровська область (N = 1)	Тернопільська область (N = 3)
β-лактамі антибіотики	<i>penA</i> алель (n)	34,001 (1)	34,001 (3)
	MtrR (n)	WT (1)	A-делеція (1); WT (2)
	PorB1b 101, 102 (n)	WT (1)	K,N (1); WT (2)
	PBP1 (n)	L421P (1)	L421P (3)
Тетрациклін	S10 (n)	V57M (1)	V57M (3)
Ципрофлоксацин	GyrA S91,D95 (n)	F, G (1)	F, G (3)
	ParC (n)	S87R (1)	S87R (3)
NG-STAR типи (n)		1471 (1)	1471 (2), 90 (1)
NG-MAST ST (n)		18857 (1)	1407 (1); 18857 (2)

Примітка. ^a – мутації у 23S rRNA, 16S rRNA та рибосомальних протеїнах S5 (*rpsE* гени), асоційованих із резистентністю до азитроміцину та спектиноміцину, відсутні; NG-STAR – типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae* щодо резистентності до антибіотиків; NG-MAST – мультиантигенне типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae*; ST – секвенс-тип(и); WT – «дикий тип» (wild type), до якого належать ізоляти, позбавлені мутаційних або інших набутих механізмів стійкості до конкретного антибіотика; N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Мутації в ділянці промотора та / або послідовності кодування *mtrR* гена, які спричиняють надмірну експресію відповідної помпи MtrCDE та зниження чутливості до багатьох антибіотиків (β -лактамних антибіотиків, макролідів і тетрациклінів), спостерігали в 11,3 % (17/150) ізолятів. Жоден із досліджених ізолятів не містив мозаїчності в опероні *mtrRCDE*. Одиначна нуклеотидна (A) делеція (позиція -35) в інвертованому повторенні промоторної ділянки 13 bp гену *mtrR* спостерігалася у 5,3 % (8/150) ізолятів. Делеція нуклеотиду (A) з додатковою перебудовою MtrR G45D була зареєстрована у 4 % (6/150) ізолятів. Ізольовану перебудову MtrR G45D містили 2 % (3/150) ізолятів.

Несинонімічні заміни амінокислот G101 та A102 у порині PorB1b, асоційовані зі зменшенням припливу багатьох антибіотиків (β -лактамних антибіотиків та тетрациклінів), спостерігалися у 12,7 % (19/150) ізолятів. Мутація *ronA1*, що викликає заміну L421P у PBP1 та зниження спорідненості до пеніцилінів, спостерігалася у 16,7 % (25/150) ізолятів.

Усі ізоляти, резистентні до ципрофлоксацину (17/150, 11,3 %), мали амінокислотні заміни GyrA у позиціях S91 та D95 (S91F+D95A (2/150, 1,3 %) або S91F+D95G (15/150, 10 %)). *ParC* резистентні мутації додатково мали 76,5 % (13/17) ізолятів, які кодують ParC S87R (9/150, 6,0 %), E91G (2/150, 1,3 %), D86N (1/150, 0,7 %) або S87N (1/150, 0,7 %).

Амінокислотна заміна V57M у рибосомальному білку S10, спричинена мутацією у гені *rpsJ* та залучена у хромосомну резистентність до тетрациклінів, була визначена у 16,7 % (25/150) ізолятів та у 66,7 % (6/9) тетрациклін-резистентних ізолятів.

Жоден із ізолятів не містив мутації мішені (у позиціях A2059 та C2611) гену *23S rRNA*, що визначає стійкість до азитроміцину. Також не було виявлено жодного ізоляту, що містив мутації у *16S rRNA* гені або у *rpsE* гені, які кодують рибосомальний білок S5 та призводять до резистентності щодо спектиноміцину.

Вісім (5,3 %) ізолятів містили плазмід-опосередковані детермінанти резистентності до антибіотиків: плазмід, що продукує β -лактамазу ($n = 1$) або кон'юговані плазмід, носії *tetM* ($n = 7$).

6.2. Молекулярна епідеміологія та філогенетичний аналіз *N. gonorrhoeae*

База MLST визначила 25 різних ST (включаючи сім нових ST), з яких 12 були представлені ≥ 2 ізолятами. Найчастіше реєстрували MLST ST1892 ($n = 44$), потім – ST11177 ($n = 39$), ST1594 ($n = 24$), ST7363 ($n = 5$) та ST1901 ($n = 5$) відповідно.

За результатами дослідження вперше визначено 7 нових типів MLST ST14308 – 14314 ізолятів гонококів, які були виділені в Україні та внесені до міжнародної бази Neisseria PubMLST з відкритим доступом. Пошук інформації у міжнародній базі даних Neisseria PubMLST про ізоляти гонококів, виділених в Україні упродовж 2013 – 2018 рр., доступний за посиланням https://pubmlst.org/bigbdb?db=pubmlst_neisseria_isolates&page=query.

Використовуючи NG-MAST, було зареєстровано 50 різних ST, включаючи 30 нових ST, та 22 із цих STs були представлені більше, ніж двома ізолятами. NG-MAST ST1993 ($n = 28$) переважав, наступними за ним реєстрували ST228 ($n = 13$), ST18839 ($n = 12$), ST18842 ($n = 12$) та ST18849 ($n = 8$) (табл. 6.1).

Типування NG-STAR визначило 34 типи ізолятів, включаючи 17 нових типів, та 16 із цих типів включали понад два ізоляти. Тип NG-STAR 568 ($n = 38$) переважав, далі за ним реєстрували типи 563 ($n = 28$), 20 ($n = 25$) та 1476 ($n = 12$) (рис. 6.1). На рисунку 6.2 подано результати ПСГ усіх 150 ізолятів, виділених в Україні упродовж 2013 – 2018 рр., у порівнянні з геномом 1054 ізолятів, зібраних у 20 країнах Європейського Союзу та Європейської економічної зони у 2013 р.

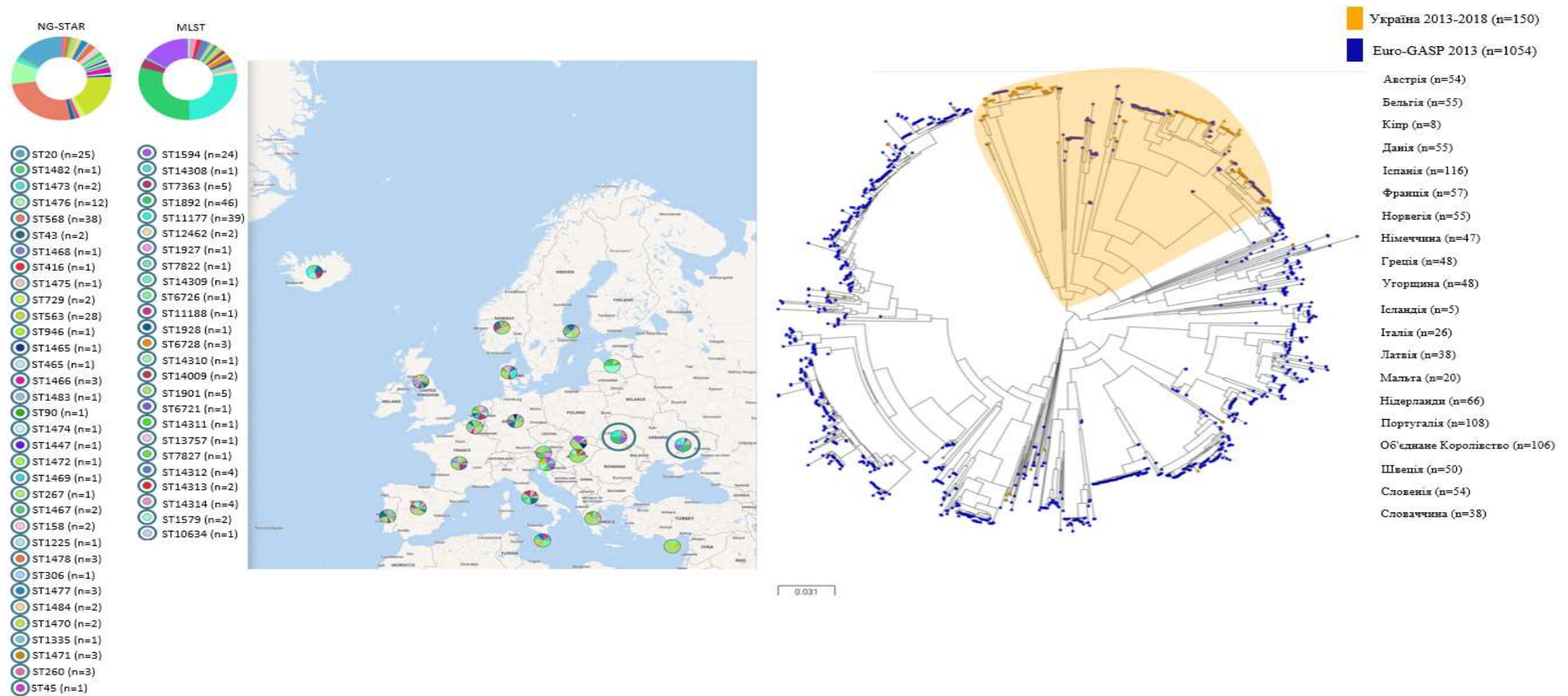


Рис. 6.1. Геномна епідеміологія і філогеографія з демонстрацією спорідненості ізолятів *N. gonorrhoeae*, виділених в Україні впродовж 2013 – 2018 рр., (n = 150) у порівнянні з геномами ізолятів, зібраних у 20 країнах Європейського Союзу та Європейської економічної зони у 2013 р. (n = 1054) (міжнародно описаний мультичутливий до антибактеріальних препаратів родовід гонококів позначений на радіальній дендрограмі сектором помаранчевого кольору; відображено за допомогою платформи Microreact).

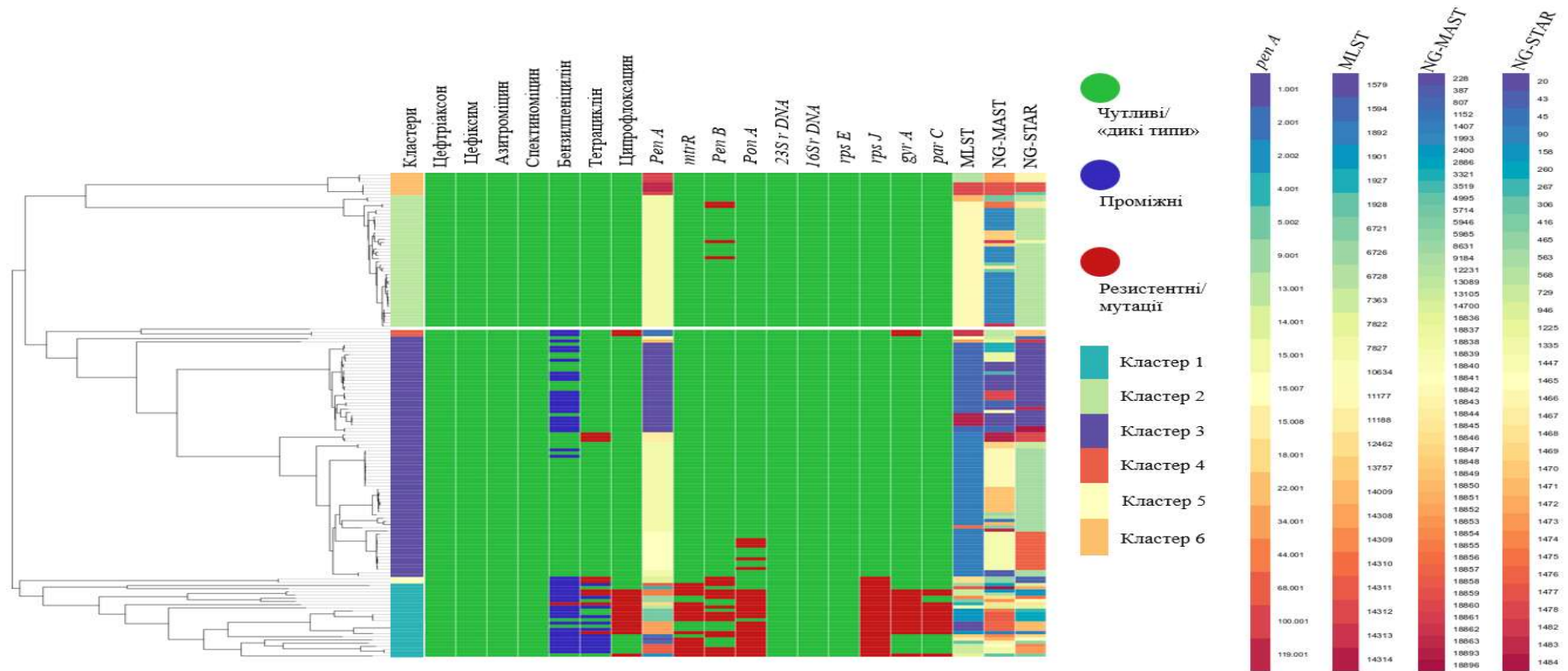


Рис. 6.2. Горизонтальна дендрограма результатів повного секвенування геному ізолятів *N. gonorrhoeae*, виділених в Україні у 2013 – 2018 рр., та їх кластерного генетичного групування у порівнянні з даними фенотипу, антигенними детермінантами антибіотикорезистентності, типами *penA* алелей та молекулярним типуванням гонококів (MLST – мультилокусне типування послідовностей; NG-MAST – мультиантигенне типування послідовностей *N. gonorrhoeae*; NG-STAR – типування послідовностей *N. gonorrhoeae* щодо резистентності до антибіотиків).

Міжнародно описаний мультичутливий до антибактеріальних препаратів родовід гонококів позначений сектором помаранчевого кольору; поза сектором знаходяться ізоляти, споріднені із міжнародно поширеним мультирезистентним родоводом (рис. 6.1). Так, за походженням більшість ізолятів з України належали до міжнародно описаного мультичутливого родоходу. Проте, деякі ізоляти групувалися у кластери, споріднені з мультирезистентним родоводом. Зокрема, клон NG-MAST ST1407, який реєструється у більшості мультирезистентних штамів, а також – зі зниженою чутливістю та резистентністю до ЦШСД у країнах Європейського Союзу та Європейської економічної зони та в усьому світі.

Філогенез повної послідовності геному виявив шість основних кластерів (С) (рис. 6.2). Зокрема, визначено чотири великі кластери (С1, С2, С3, С6), кожен з яких включав 6 ізолятів та більше. Так, С3 був найбільшим кластером, який охоплював 50 % (75/150) ізолятів, С2 – 27,3 % (41/150), С1 – 15,3 % (23/150), С6 – 4,7 % (7/150), С4 та С5 – 1,3 % (2/150) кожен.

Найбільш поширеними STs у С1 були: MLST ST7363 (21,7 %, 5/23), ST1901 (21,7 %, 5/23) та ST1579 (13 %, 3/23); NG-MAST ST18857 (13 %, 3/23), ST18858 (13 %, 3/23) та ST18838 (8,7 %, 2/23); та NG-STAR тип 260 (13 %, 3/23), 1471 (13 %, 3/23), 158 (8,7 %, 2/23) та 1473 (8,7 %, 2/23). Детальна дендрограма кластера С1 наведена на рис. 6.3.

Зокрема, С1 включав один ізолят, що належав до міжнародно поширеного мультирезистентного NG-MAST типу ST1407 (MLST ST1901 та мозаїчний *penA*-34,001). До того ж у С1 три (13,0 %) додаткові ізоляти NG-MAST ST18857 з ідентичною алеллю 110 *tbpB*, як і у NG-MAST ST1407, але дев'ять різних SNPs у *porB* алелі (10997) мали мозаїчний *penA*-34,001, асоційований зі зниженням чутливості або резистентністю до ЦШСД. Щобільше, додаткові детермінанти АБР були характерними для С1, у порівнянні з іншими кластерами. Детальна характеристика С1 наведена у табл. 6.3.

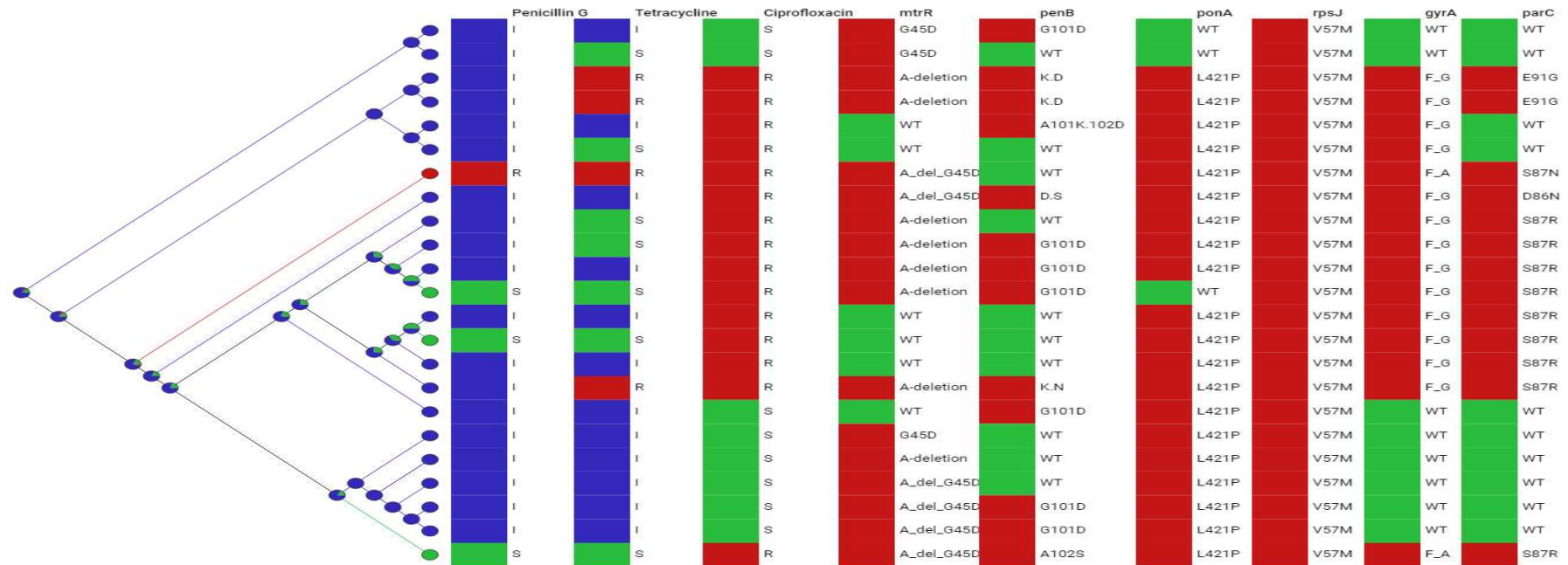


Рис. 6.3. Діагональна дендрограма кластера C1 з позначенням фенотипових і генотипових характеристик до пеніциліну, тетрацикліну та ципрофлоксацину (ізоляти позначено колами; лінії, що з'єднують ізоляти, позначають спорідненість ізолятів у межах кластера; колір, яким позначені ізоляти, відповідає фенотиповим характеристикам; фенотипові характеристики представлені у перших трьох стовпчиках, вони послідовно відображають чутливість до трьох антибіотиків – пеніциліну, тетрацикліну та ципрофлоксацину; I – помірно стійкі штами, позначені синім кольором; R – стійкі штами, позначені червоним кольором; S – чутливі штами, позначені зеленим кольором; генотипові характеристики представлені у стовпчиках 4 – 9, що зображають стан генів *mtrR*, *penB*, *ponA*, *rpsJ*, *gyrA*, *parC*; червоним кольором позначені мутації, зеленим – «дикі типи»).

Таблиця 6.3

Молекулярна та генотипова характеристика кластера C1, N = 23

NG-MAST ST (n)	NG-STAR ST (n)	MLST ST (n)	Тип <i>penA</i> алелі (n)	Мутації (n)	Фенотип (n)
1407 (1), 2400 (1), 2886 (1), 4995 (1), 9184 (1), 14700 (1), 18838 (2), 18841 (1), 18843 (1), 18845 (1), 18846 (1), 18851 (1), 18853 (1), 18854 (1), 18855 (1), 18857 (3), 18858 (3), 18896 (1)	90 (1), 158 (2), 260 (3), 267 (1), 416 (1), 465 (1), 946 (1), 1225 (1), 1447 (1), 1465 (1), 1468 (1), 1469 (1), 1471 (3), 1472 (1), 1473 (2), 1474 (1), 1475 (1)	1579 (3), 1901 (5), 1927 (1), 1928 (1), 6721 (1), 6726 (1), 7363 (5), 7822 (1), 7827 (1), 11188 (1), 13757 (1), 14309 (1), 14311 (1)	1,001 (1), 2,001 (2), 2,002 (1), 4,001 (1), 5,002 (4), 9,001 (2), 13,001 (1), 18,001 (1), 34,001 (4), 44,001 (2), 68,001 (4)	<i>mtrR</i> : A_del_G45D (6), A-deletion (8), G45D (3); <i>penB</i> : A101K.102D (1), A102S (1), D.S (1), G101D (7), K.D (2), K.N (1); <i>ponA</i> : L421P (20); <i>rpsJ</i> : V57M (23); <i>gyrA</i> : F.A (2), F.G (13); <i>parC</i> : D86N (1); E91G (2), S87N (1), S87R (9)	помірно стійкі до бензилпеніциліну (19); резистентні до бензилпеніциліну (1); помірно стійкі до тетрацикліну (12); резистентні до тетрацикліну (4); резистентні до ципрофлоксацину (15)

Примітка. NG-MAST – мультиантигенне типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae*; NG-STAR – типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae* щодо резистентності до антибіотиків; MLST – мультилокусне типування послідовностей; ST – секвенс-тип(и); N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

У дослідженні зареєстрували підвищену експресію відповідної помпи MtrCDE, а саме: 34,8 % (8/23) ізолятів мали традиційну A-делецію у промотері *mtrR*, 26,1 % (6/23) ізолятів мали одночасно A-делецію у промотері *mtrR* та MtrR G45D, а 13 % (3/23) ізолятів містили винятково MtrR G45D.

Зменшення припливу антибіотиків через PorB у 56,5 % (13/23) ізолятів були пов'язані з амінокислотним заміщенням у PorB1b G101 та/або A102. Також було виявлено, що 87 % (20/23) ізолятів мали RBP1 L421P; 65,2 % (15/23) ізолятів – амінокислотну заміну GyrA, у 56,5 % (13/23) – амінокислотне заміщення ParC та у 100 % (23/23) – мутацію V57M у S10.

Ізоляти, які належали до C1, фенотипово презентували резистентність до ципрофлоксацину у 65,2 % випадків (15/23), тетрацикліну – 17,4 % (4/23) та бензилпеніциліну – 4,3 % (1/23).

Відповідно, C1 містив як більшість резистентних ізолятів, так і детермінанти стійкості до антибіотиків та генетично був кластеризований із міжнародно описаним мультирезистентним родоводом (рис. 6.1).

C2 ($n = 41$) містив ізоляти, які здебільшого належали до MLST ST11177 (95,1 %, 39/41) та дещо рідше – до NG-MAST ST1993 (68,3 %, 28/41), ST5714 (9,8 %, 4/41), або ST18848 (9,8 %, 4/41) та NG-STAR типу 568 (92,7 %, 38/41).

Як і більшість ізолятів у C3, C4 та C6 (дані наведені нижче), ізоляти у C2 демонстрували чутливість до всіх досліджуваних антибіотиків та були кластеризовані з міжнародно описаним мультичутливим родоводом. Детальна характеристика C2 наведена у табл. 6.4.

Дендрограма кластера C2 наведена на рис. 6.4 та презентує одиничні генетичні мутації й спорідненість ізолятів гонококів.

Таблиця 6.4

Молекулярна та генотипова характеристика кластера C2, N = 41

NG-MAST ST (n)	NG-STAR ST (n)	MLST ST (n)	Тип <i>penA</i> алелі (n)	Мутації <i>penB</i> (n)
1993 (28), 5714 (4), 18844 (1), 18848 (4), 18856 (2), 18861 (1), 18862 (1)	568 (38), 1335 (1), 1467 (2)	11177 (39), 14009 (2)	15,001 (41)	A102N (1), G101D (3)

Примітка. *NG-MAST* – мультиантигенне типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae*; *NG-STAR* – типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae* щодо резистентності до антибіотиків; *MLST* – мультилокусне типування послідовностей; *ST* – секвенс-тип(и); *N* – абсолютні значення досліджуваної вибірки; *n* – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

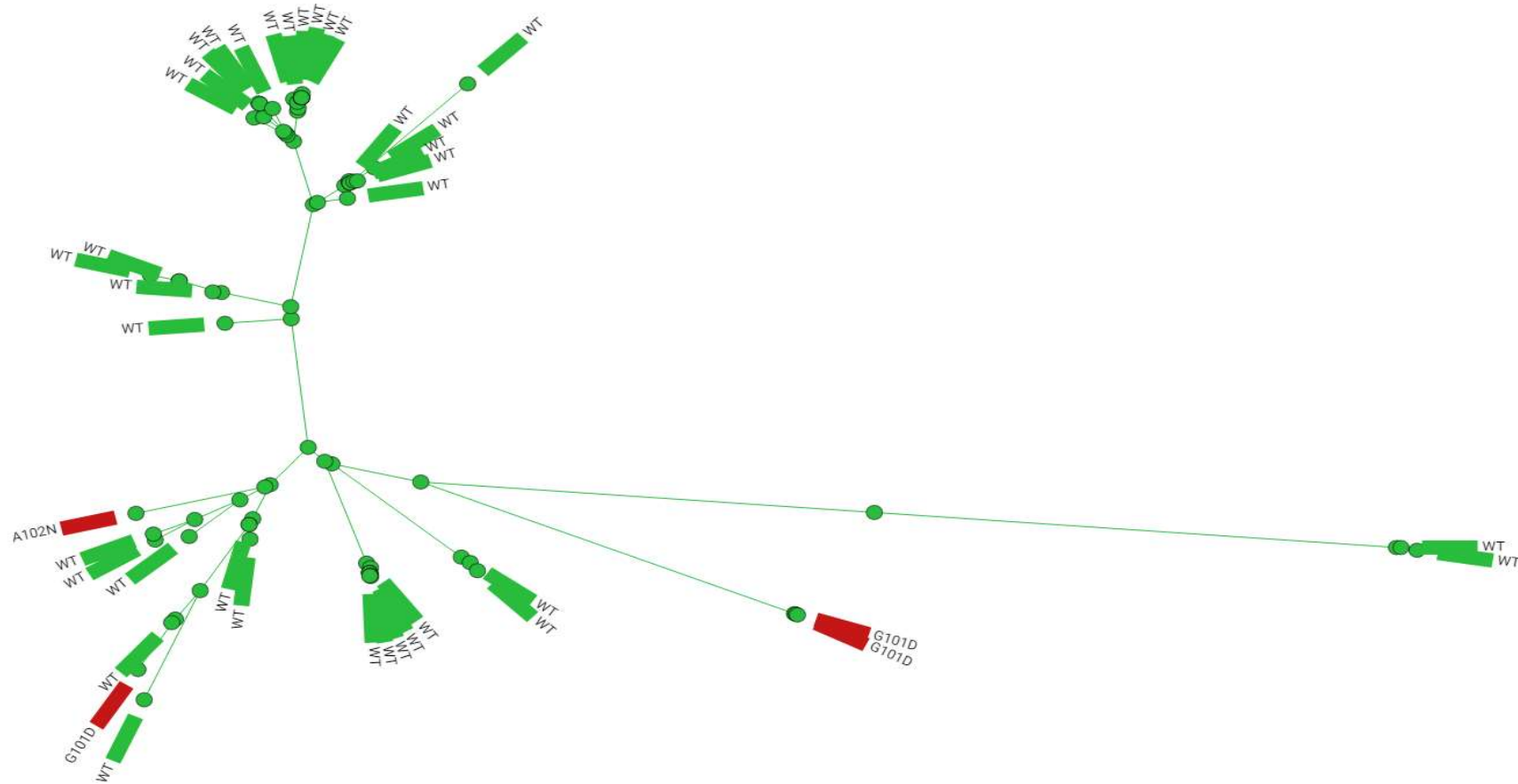


Рис. 6.4. Радіальна дендрограма кластера С2 з позначенням генотипових характеристик *penB* (ізоляти позначені колами; лінії, що з'єднують ізоляти, позначають спорідненість ізолятів у межах кластера; усі штами чутливі до досліджуваних антибіотиків та позначені зеленим кольором; генотипові характеристики наведені для *penB* та позначені прямокутниками: червоним кольором позначені мутації, зеленим – «дикі типи»).

Кластер С3 переважно охоплював чутливі до антибіотиків ізоляти, які найчастіше належали до MLST ST1892 (58,7 %, 44/75), рідше – до ST1594 (32,0 %, 24/75), та ST14314 (5,3 %, 4/75); NG-MAST ST228 (17,3 %, 13/75), ST18839 (16,0 %, 12/75), та ST18842 (16,0 %, 12/75); та NG-STAR тип 563 (37,3 %, 28/75), 20 (33,3 %, 25/75), та 1476 (16,0 %, 12/75). Детальна характеристика кластера С3 наведена у табл. 6.5 та рис.6.5.

Таблиця 6.5

Молекулярна та генотипова характеристика кластера С3, N = 75

NG-MAST ST (n)	NG-STAR ST (n)	MLST ST (n)	Тип <i>penA</i> алелі та <i>ponA</i> мутації (n)	Фенотип (n)
228 (13), 387 (2), 807 (4), 1152 (1), 3321 (3), 3519 (1), 5946 (1), 8631 (1), 12231 (1), 13105 (1), 18836 (1), 18837 (3), 18839 (12), 18840 (1), 18842 (12), 18847 (2), 18849 (8), 18850 (1), 18860 (3), 18863 (1), 18893 (3)	20 (25), 45 (1), 563 (28), 729 (2), 1476 (12), 1478 (3), 1482 (1), 1483 (1), 1484 (2)	1594 (24), 1892 (44), 10634 (1), 14308 (1), 14310 (1), 14314 (4)	<i>penA</i> : 1,001 (28), 15,001 (31), 15,007 (12), 15,008 (3), 22,001 (1); <i>ponA</i> : L421P (5)	помірно стійкі до бензилпеніциліну (21); резистентні до тетрацикліну (3)

Примітка. NG-MAST – мультиантигенне типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae*; NG-STAR – типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae* щодо резистентності до антибіотиків; MLST – мультилокусне типування послідовностей; ST – секвенс-тип(и); N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

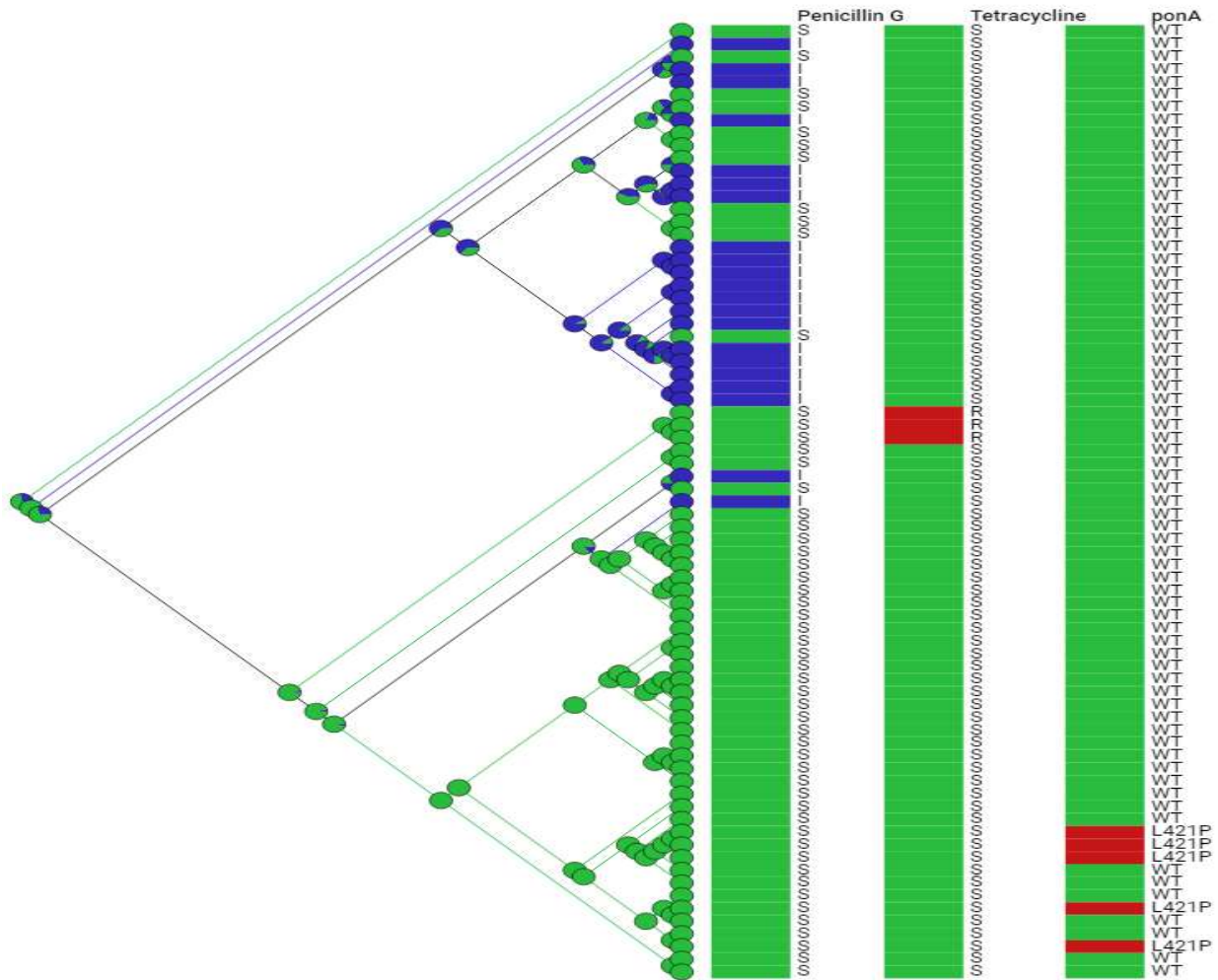


Рис. 6.5. Діагональна дендрограма кластера С3 з позначенням фенотипових характеристик до пеніциліну та тетрацикліну, а також генотипових властивостей *ponA* (ізоляти позначені колами; лінії, що з'єднують ізоляти, позначають спорідненість ізолятів у межах кластера; колір, яким позначені ізоляти, відповідає фенотиповим характеристикам; фенотипові характеристики представлені у перших двох стовпчиках та відбивають чутливість до двох антибіотиків – пеніциліну та тетрацикліну; I – помірно стійкі штами, позначені синім кольором; R – стійкі штами, позначені червоним кольором; S – чутливі штами, позначені зеленим кольором; генотипові характеристики представлені у третьому стовпчику та демонструють стан гену *ponA*; червоним кольором позначені мутації, зеленим – «дикі типи»).

Так, дендрограма кластера С3 відбиває спорідненість ізолятів у межах кластера, основні генетичні мутації та фенотипові характеристики ізолятів (рис. 6.5). Загалом, ізоляти С3 володіли 5 різними *penA* алелями немозаїчного типу. Лише 4 % (3/75) ізолятів були резистентними до тетрацикліну та 6,7 % (5/75) ізолятів мали мутації *ponA*.

До кластера С4 (n = 2) входили ізоляти, які належали до MLST ST14313 (100 %, 2/2), NG-MAST ST13089 (100 %, 2/2) та NG-STAR тип 1470 (100 %, 2/2). Ізоляти з кластера С4 були резистентними лише до ципрофлоксацину (100 %, 2/2), у зв'язку з амінокислотою резистентною заміною GyrA. Детальна характеристика С4 наведена у табл. 6.6.

Таблиця 6.6

Молекулярна та генотипова характеристика кластеру С4, N = 2

NG-MAST ST (n)	NG-STAR ST (n)	MLST ST (n)	Тип <i>penA</i> алелі та мутації <i>gyrA</i> гену (n)	Фенотип (n)
13089 (2)	1470 (2)	14313 (2)	<i>penA</i> : 2,001 (2); <i>gyrA</i> : F.G (2)	помірно стійкі до бензилпеніциліну (n = 2); резистентні до ципрофлоксацину (n=2)

Примітка. NG-MAST – мультиантигенне типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae*; NG-STAR – типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae* щодо резистентності до антибіотиків; MLST – мультилокусне типування послідовностей; ST – секвенс-тип(u); N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Кластер С5 (n = 2) включав ізоляти, які належали до MLST ST12462 (100 %, 2/2), NG-MAST ST5985 (100 %, 2/2) та NG-STAR типу 43 (100 %, 2/2).

Ізоляти з кластера С5 (100 %, 2/2) мали амінокислотну заміну *rpsJ* V57M та PorB1b G101D, та/або амінокислотну заміну A102S (100 %, 2/2). Ізоляти з кластера С5 демонстрували резистентність лише до тетрацикліну (100 %, 2/2) та були помірно стійкими до бензилпеніциліну. Зазначено, що ізоляти кластеру С5 були філогенетично подібними до більш резистентних ізолятів кластера С1. Детальна характеристика кластера С5 наведена у табл. 6.7.

Таблиця 6.7

Молекулярна та генотипова характеристика кластеру С5, N = 2

NG-MAST ST (n)	NG-STAR ST (n)	MLST ST (n)	Тип <i>penA</i> алелі (n)	Мутації (n)	Фенотип (n)
5985 (2)	43 (2)	12462 (2)	14,001 (2)	<i>penB</i> : A102S (1), G101D.A102S (1); <i>rpsJ</i> : V57M (2)	резистентні до тетрацикліну (n = 2)

Примітка. NG-MAST – мультиантигенне типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae*; NG-STAR – типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae* щодо резистентності до антибіотиків; MLST – мультилокусне типування послідовностей; ST – секвенс-тип(и); N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

Кластер С6 (n = 7) включав ізоляти, які належали до MLST ST14312 (57,1 %, 4/7) та ST6728 (42,9 %, 3/7); NG-MAST ST18852 (42,9 %, 3/7) та ST18859 (57,1 %, 4/7); NG-STAR 1466 (42,9 %, 3/7), 1477 (42,9 %, 3/7), та 306 (14,3 %, 1/7) секвенс-типи. Детальна характеристика С6 наведена у табл. 6.8.

Таблиця 6.8

Молекулярна та генотипова характеристика С6, N = 7

NG-MAST ST (n)	NG-STAR ST (n)	MLST ST (n)	Тип <i>penA</i> алелі (n)	Мутації	Фенотип
18852 (3), 18859 (4)	1466 (3), 1477 (3), 306 (1)	6728 (3), 14312 (4)	100,001 (4), 119,001 (3)	відсутні	усі штами чутливі до восьми досліджуваних антибіотиків

Примітка. NG-MAST – мультиантигенне типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae*; NG-STAR – типування послідовностей *Neisseria gonorrhoeae* щодо резистентності до антибіотиків; MLST – мультилокусне типування послідовностей; ST – секвенс-тип(и); N – абсолютні значення досліджуваної вибірки; n – абсолютні значення перемінної ознаки у досліджуваній вибірці.

На основі наведених у розділі результатів можна зробити такі проміжні висновки:

1. Резистентність до ципрофлоксацину зумовлена мутаціями *gyrA* (11,3 %) та *parC* (8,7 %); до тетрацикліну – мутаціями *rpsJ* V57M (16,7 %) та *tetM* (4,7 %); до пеніцилінів – мозаїчною алеллю *penA*-34,001 (2,7 %) та продукцією β -лактамази (0,7 %); зниження чутливості до β -лактамних антибіотиків, макролідів і тетрациклінів зумовлено мутацією *mtrR* (11,3 %); зниження чутливості до β -лактамних антибіотиків і тетрациклінів – мутаціями PorB1b (12,7 %) та PBP1 L421P (16,7 %).

2. Популяція гонококів, що циркулюють в Україні, є гетерогенною та представлена 25 різними MLST секвенс-типами, 50 NG-MAST секвенс-типами, 34 NG-STAR типами та 6 основними філогеномними

кластерами. Кластери С2, С3, С4 та С6 асоціюються з міжнародно описаним мультичутливим родоводом гонококів і містять більшість ізолятів (83,3 %). Кластери С1 та С5 охоплюють 16,7 % ізолятів та асоціюються з резистентністю до бензилпеніциліну, тетрацикліну, ципрофлоксацину, а також – з межевою чутливістю до цефалоспоринів широкого спектра дії. До мультирезистентного клону NG-MAST ST1407, MLST ST1901 належать 0,7 % ізолятів із фенотиповими ознаками межевої резистентності до цефалоспоринів широкого спектра дії.

3. Визначення географічного розповсюдження та характеристик домінуючих кластерів може бути важливим для контролю за поширенням штамів антибіотикорезистентних *N. gonorrhoeae* в Україні.

4. Невідкладне оновлення національних настанов стосовно лікування ГІ у поєднанні з посиленням наглядом за АБР, збір інформації про неефективність лікування, контроль з боку ЦШСД та доцільність призначення окремих антибіотиків (перш за все, азитроміцину), є важливими для запобігання виникненню та розповсюдженню резистентних ізолятів та збереження доступних терапевтичних варіантів так довго, наскільки це можливо.

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора [41, 44].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

ГІ є другою найпоширенішою бактеріальною ІПСШ у світі. У 2016 році ВООЗ повідомила про 86,9 млн випадків ГІ серед дорослого населення планети. ВООЗ прогнозує більший рівень захворюваності у країнах середнього та (або) низького достатку, проте офіційна реєстрація є вищою у країнах з високим рівнем доходу [132, 177]. Особливо високий рівень захворюваності ГІ реєструють у розвинених країнах світу, що, зокрема, зумовлено застосуванням високочутливих і специфічних сучасних методів скринінгу та діагностики [88, 177, 214]. Постійний розвиток та поширення АБР *N. gonorrhoeae* компрометує сучасне лікування ГІ [188, 201, 204]. Використання у стандартній практиці високочутливих і специфічних молекулярних і геномних методів діагностики є основою ефективних скринінгових й діагностичних заходів для забезпечення ефективного менеджменту ГІ [125, 194].

На відміну від світових даних, в Україні реєструють постійне зниження зареєстрованих випадків ГІ [9, 10, 16, 151]. Так, за період 2000 – 2018 рр. в Україні відбувалося зниження захворюваності на ГІ у 5,5 раза (з 52,9 до 9,7 на 100 тис. населення), тоді як у країнах Європейського союзу та Європейської економічної зони – зростання у 1,5 раза (з 17,1 до 26,4 на 100 тис. населення) [13, 14, 60, 88]. Відомими причинами зниження захворюваності на ГІ в Україні є неповна офіційна реєстрація та самостійне лікування інфікованими особами при загальній доступності безрецептурних антибіотиків, а також – застосування субоптимальних за чутливістю та специфічністю методів діагностики [151].

У дослідженні, використовуючи метод анкетування, з'ясовано можливості мікробіологічної діагностики ГІ у спеціалізованих ОШВД України за період 2013 – 2014 рр. та зіставлено отримані дані з рекомендаціями ВООЗ

[200]. Загалом, ми підтвердили наявність субоптимального забезпечення мікробіологічної діагностики ГІ в ОШВД України [7].

Так, усі заклади застосовували мікроскопічний метод для діагностики ГІ, як найдешевший, доступний і швидкий метод діагностики. Попри те, що більшість диспансерів проводили виділення гонококів у культурах (85,7 %) переважно за цільовим призначенням, близько третини диспансерів (28,6 %) продовжували використовувати культуральний метод для скринінгу. ВООЗ рекомендує використовувати метод культуральної діагностики для верифікації інших тестів, діагностики екстрагенітальної ГІ та для визначення антибіотикочутливості гонококів [200].

Культуральний метод діагностики ГІ має високу специфічність, але нижчу чутливість у порівнянні з не тільки з МАНК, але й з методом мікроскопії [182, 200]. Ми дослідили, що поєднання культурального та мікроскопічного методів не впливало на кількість виявлених позитивних результатів у скринінгу на ГІ [7]. Крім цього, багато випадків ГІ залишаються недіагностованими за допомогою лише мікроскопічного та / або культурального діагностичних методів, відповідно – у 28,6 % та 42,9 % пацієнтів [45, 83].

Міжнародні стандарти та настанови рекомендують з метою скринінгу використовувати високочутливі та високоспецифічні методи діагностики, наприклад МАНК [59, 68, 189, 200]. Окрім цього, МАНК дозволяє одночасно виявляти декілька різних антигенів збудників ППСШ в одному біологічному зразку, включаючи: *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *T. vaginalis*, *M. genitalium* [45, 128, 184, 200]. Викликає занепокоєння той факт, що лабораторії ОШВД в Україні не виконували МАНК для скринінгу або діагностики ГІ. Натомість пацієнти мали можливість обстежитися методом МАНК за власні кошти у приватних клініках та / або лабораторіях, однак така інформація не була доступною під час анкетування. Наші дані свідчать, що офіційні статистичні дані щодо поширеності гонококової інфекції можуть бути заниженими у зв'язку із невикористанням МАНК в ОШВД України. Тому ширше

використання валідованих МАНК із перевіреною якістю та високою чутливістю та специфічністю є важливим заходом в ефективному керуванні ГІ в Україні.

Точні та доступні діагностичні тести на ІПСШ, в ідеалі – швидкі тести, є вкрай важливими для впровадження за умов обмеженого доступу до МАНК [165, 218, 224]. Ширше використання швидких тестів для скринінгу на ГІ та інші ІПСШ може стати першочерговим та економічно вигідним способом оптимізації мікробіологічної діагностики ГІ в Україні. Проте, впроваджуючи у клінічну практику, швидкі тести повинні бути верифіковані за допомогою МАНК [113, 200, 223]. Швидкі тести на основі молекулярних технологій полімеразної ланцюгової реакції GeneXpert CT/NG вже продемонстрували високу специфічність та чутливість і затверджені FDA [99, 231]. Проте ці тести дороговартісні, потребують доступу до електромережі й відносно тривалі у виконанні (90 хв).

Застосування світового досвіду з ефективного поєднання МАНК та культурального методу виділення *N. gonorrhoeae* у біологічному матеріалі із застосуванням транспортних середовищ може бути корисним в Україні [225]. Так, з метою скринінгу доцільно поєднувати мікроскопічний метод з МАНК або валідованими швидкими тестами та культуральним методом із застосуванням транспортних середовищ. Такий підхід забезпечуватиме як підтвердження позитивного результату МАНК та / або швидких тестів, так і виділення ізолятів гонококів, з метою подальшого вивчення їх АБР.

Обмежене застосування забору біологічних зразків з «трьох анатомічних ділянок» у клінічній практиці в Україні призводить до значного ризику гіподіагностики екстрагенітальної ГІ у пацієнтів. ГІ прямої кишки та глотки можуть бути більш поширені, ніж діагностуються на даний час [130]. ВООЗ наголошує на важливості забору фарингальних і ректальних біологічних зразків за відповідними показаннями: повідомлення пацієнтами про види статевих стосунків та/ або наявність клінічних ознак фарингіту та/ або проктиту [200].

Своєчасний забір та обробка біологічних зразків відіграють вирішальну роль на преаналітичному етапі культуральної діагностики *N. gonorrhoeae* [200]. Прямий спосіб посіву вважається «золотим» стандартом культуральної діагностики гонококів. Проте, якщо неможливо забезпечити належні умови інкубації (температура, вологість, рівень CO₂) одразу після забору матеріалу та посіву, рекомендовано застосовувати транспортні середовища [4, 200]. Проведене дослідження свідчить, що 50 % диспансерів не забезпечували негайну лабораторну обробку зразків, а час від забору біологічних зразків до їх доставляння у мікробіологічні лабораторії був суттєво тривалим та становив 0,75 – 24 год (*Me* = 2,5 год). Однак, спосіб посіву з використанням транспортних середовищ використовували лише 25 % респондентів. У всіх випадках тимчасового зберігання біологічних зразків доцільно використовувати транспортні середовища, що забезпечує життєздатність *N. gonorrhoeae*, а отже – знижує вірогідність ХНР [200].

Частина лабораторій (16,7 %) використовувала для виділення гонококів у культурах неселективні ПС, що могло стати причиною ХНР. Інша супутня рясна флора уrogenітальних та, особливо, екстрагенітальних зразків може пригнічувати ріст гонококів [200]. ВООЗ рекомендує для виділення гонококів у культурах використовувати чашки Петрі, діаметром 90 мм, тоді як 58,3 % ОШВД використовували пробірки для виділення гонококів. Кожна лабораторія повинна перевіряти якість ПС для виділення *N. gonorrhoeae* перед початком їх використання у клінічній практиці. Для контролю якості мікробіологічних методів дослідження на *N. gonorrhoeae* використовують референтні штами гонококів ВООЗ, які в Україні відсутні дотепер [200, 206].

Попередню ідентифікацію *Neisseria spp.* проводили відповідно до рекомендацій ВООЗ, проте 25 % респондентів не виконували біохімічну ідентифікацію виділених культур на етапі остаточної верифікації виділених культур. Відсутність біохімічної ідентифікації культур може призвести до діагностичних помилок у випадках колонізації коменсальними *Neisseria spp.* та / або *N. meningitidis* [3]. Так, у нашому дослідженні ми виявили один

випадок уретриту, викликаного *N. meningitidis* [122], який був спочатку помилково прийнятий за гонококовий уретрит (0,7 %, 1/141). Причиною помилкового діагнозу була тимчасова відсутність реагентів для виконання біохімічної ідентифікації *Neisseria spp.* у ТОКШВД упродовж вересня 2017 р. Біохімічна ідентифікація виділених культур має бути обов'язковою за культурального дослідження екстрагенітального біологічного матеріалу [200].

Із метою запевнення, що лабораторії надають надійні та точні результати, особливо стосовно діагностики ІПСШ, у лабораторіях повинен проводитись регулярно систематичний внутрішній та зовнішній контроль якості [84, 123]. Наше дослідження показало, що лише половина ОШВД інформували про проведення зовнішнього контролю якості мікробіологічних методів діагностики ГІ [7]. Контроль якості повинен проводитися сертифікованими лабораторіями-кураторами або шляхом міжлабораторного обміну закодованими біологічними зразками [200]. Лише двоє респондентів брали участь у зовнішньому міжнародному оцінюванні якості у центрі співробітництва ВООЗ [4] та два диспансери організували міжлабораторний обмін зразками в межах України [7].

В Україні дотепер не затверджено національної програми нагляду за чутливістю гонококів до антибіотиків, проте більшість респондентів (78,6 %) підтвердили наявний у них досвід у визначенні антибіотикочутливості гонококів. Наше дослідження, проведене у Тернопільській та Дніпропетровській областях, стало першим досвідом щодо вивчення АБР та геномної епідеміології гонококів в Україні на основі міжнародних стандартів ВООЗ [8, 24, 213]. У час глобального розповсюдження АБР *N. gonorrhoeae* важливо розширити використання культуральної діагностики та впровадити визначення чутливості гонококів до антибіотиків за допомогою стандартизованих методик на основі протоколів ВООЗ [200, 220].

Друге анкетування щодо стану менеджменту ГІ в країнах Європейського регіону ВООЗ було проведено Європейською спільною клінічною групою Міжнародного союзу з ІПСШ у 2018 – 2019 рр. [203]. Результати

європейського анкетування стосовно мікробіологічних методів діагностики ГІ показали, що доступ до МАНК та виконання тестів на антибіотикочутливість гонококів в Україні залишався частковим (50 %). До того ж респонденти з України не проводили верифікації позитивного результату МАНК [7]. Додатково забір біологічного матеріалу «з трьох анатомічних ділянок» у безсимптомних пацієнтів із групи ризику (ЧСЧ) та обстеження контактних осіб теж проводили не усі респонденти з України (50 %). Стосовно обстеження симптомних ЧСЧ, то усі респонденти з України проводили забір біологічного матеріалу «з трьох анатомічних ділянок» для культурального методу. Контроль виліковності проводили 100 % респондентів з України. Охоплення обстеженням контактних осіб в Україні було істотно нижчим, ніж серед інших країн Європейського регіону ВООЗ: 50 % проти 97,4 % відповідно.

Слід зауважити, що основним обмеженням досліджень із застосуванням анкетувань був збір даних лише серед спеціалізованих ОШВД, тоді як дані з урологічних і гінекологічних закладів / відділень та приватних медичних центрів / лабораторій, які також проводять діагностику ГІ в Україні, не були одержані. Проте, ОШВД, забезпечуючи спеціалізовану медичну допомогу в галузі ІПСШ, є достатньо репрезентативною вибіркою для судження про сучасний стан державної мікробіологічної діагностики ГІ в Україні. У майбутньому було б важливим також отримати та оцінити дані від усіх медичних закладів України, що діагностують і надають медичну допомогу в галузі ІПСШ. Доцільним був би й збір даних про статеву поведінку пацієнтів, детальну інформацію про лікування, спостереження за пацієнтами, інформацію про випадки ускладнень та неуспішного лікування ГІ [202, 203].

У час молекулярної та геномної діагностики культуральний метод діагностики ГІ залишається значущим у всьому світі. Зокрема, він є єдиним методом, який дозволяє отримати живі культури гонококів для вивчення та моніторингу АБР [200]. У зв'язку з високим рівнем стійкості гонококів до антибіотиків, що компрометує лікування ГІ в усьому світі, важливим є підтримання використання культурального методу діагностики ГІ в Україні та

інших країнах. Як відомо, гонококи належать до вимогливих мікроорганізмів [15, 139, 200], що істотно ускладнює культуральну діагностику *N. gonorrhoeae* [36, 153]. Так, гонококи можуть втратити життєздатність на етапі забору, тимчасового зберігання та транспортування біологічного матеріалу, а також – інкубації посівів, що призводить до ХНР [200]. Точність досліджень залежить, зокрема, й від використання попередньо перевічених на якість реактивів, реагентів, тест-систем та ПС на аналітичному етапі мікробіологічного дослідження [123, 200].

У нашій роботі ми дослідили ростові властивості п'яти ПС, які були доступні до придбання в Україні у 2013 році, відносно виділення клінічних ізолятів *N. gonorrhoeae*. Клінічні *N. gonorrhoeae* ізоляти, виділені від пацієнтів з урогенітальними виділеннями та підтвердженим діагнозом ГІ, були використані у нашому дослідженні оцінювання аналітичних характеристик культурального методу діагностики ГІ залежно від застосованих поживних і транспортних середовищ, відповідно до національних настанов із діагностики ПСШ, оскільки референтні штами *N. gonorrhoeae* були відсутні в Україні [19, 206].

Дослідження показало, що лише селективний ША забезпечував високі ростові властивості (91,5 %) відносно клінічних ізолятів гонококів. На жаль, чотири інші ПС демонстрували низький рівень росту (10,6 – 36,2 %), через що не можуть бути рекомендовані для використання. Більшість ізолятів гонококів втратили свою життєздатність при використанні ГНК-агару (89,4 %, 42/47), селективного ТМ агару (85,1 %, 40/47), ЖПС (74,5 %, 35/47) та СВГ (63,8 %, 30/47). Турбує той факт, що ПС із субоптимальними та низькими ростовими властивостями продовжують використовувати для діагностики ГІ в Україні [7].

Преаналітичний етап культурального методу також відіграє важливу роль в успішному виділенні ізолятів *N. gonorrhoeae* [200]. У роботі ми порівняли прямий і непрямий способи посіву біологічного матеріалу для виділення *N. gonorrhoeae*. Ми встановили кращі характеристики

культурального методу виділення *N. gonorrhoeae* в урогенітальному матеріалі при використанні транспортного середовища у порівнянні зі стандартним прямим способом посіву біологічного матеріалу. Так, використання комбінації непоживного транспортного середовища агарового гелю Amies з вугіллям, із наступною інокуляцією біологічного матеріалу на селективний ША, показало оптимальну частоту виділення *N. gonorrhoeae* (82,6 %) у порівнянні з прямою інокуляцією урогенітальних зразків на той же агар (47,8 %). Наші результати узгоджуються із попередньо описаними Olsen СС та співавторами, де наведено навіть вищу частоту виділення *N. gonorrhoeae* (98 %) при використанні непоживного транспортного середовища агарового гелю Amies з вугіллям [163]. Також, дослідження Radebe F та співавторів показало перевагу непрямого способу посіву урогенітального матеріалу для одержання ізолятів гонококів у порівнянні з прямим (62,4 % проти 49,5 %) [173].

У нашій роботі ми дослідили умови використання транспортних середовищ для підтримання життєздатності *N. gonorrhoeae* залежно від часу та температури зберігання біологічних зразків у ТС. Дослідження підтвердило, що ТС зі зразками, які зберігалися у холодильнику при температурі 2 – 8 °С упродовж 48 год, мали оптимальні показники життєздатності гонококів (73,9 %) та вищі, ніж ті, що зберігалися за кімнатної температури (52,2 %). Це є важливими даними для клінік, які розташовані на відстані від лабораторій, а отже – змушені тимчасово зберігати біологічні зразки у непоживних транспортних середовищах довше. Проте, при збереженні зразків у ТС понад 48 год, рекомендується використовувати поживне транспортне середовище [200].

Варто зауважити, що основними обмеженнями наших досліджень щодо визначення аналітичних характеристик культурального методу залежно від застосованих поживних і транспортних середовищ були: переважне дослідження ізолятів *N. gonorrhoeae*, виділених з урогенітальних ділянок; лише один штам був виділений з ректальних виділень, фарингальні зразки не були досліджені; референс-штами гонококів не були використані у

дослідженні через їх відсутність в Україні. До того ж ми використовували ізоляти *N. gonorrhoeae* для оцінювання аналітичних характеристик культурального методу залежно від застосованих поживних і транспортних середовищ, тоді як клінічні урогенітальні виділення містять численну іншу флору. Ця супутня флора може пригнічувати ріст гонококів упродовж культивування *in vitro* та призводити до ХНР. Окрім цього, ми не проводили порівняння різних розведень ізолятів гонококів. Дослідження було проведено лише в одній лабораторії-учасниці Тернопільської області (клініко-діагностичній лабораторії ТОКШВД). Проте, беручи до уваги, що КДЛ ТОКШВД є обласною спеціалізованою лабораторією для скринінгу й діагностики ГІ та інших ІПСШ, проводить тести для усіх мешканців Тернопільської області, факт участі у дослідженні однієї лабораторії не мав суттєвого впливу на отримані результати. Без сумніву, що наступні багатоцентрові дослідження будуть доцільними із використанням екстрагенітальних зразків і референтних штамів гонококів.

Оптимізована СОП виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом була впроваджена у ТОКШВД з липня 2013 року та полягала у застосуванні непоживного транспортного середовища агарового гелю Amies з вугіллям і селективного ША, при обстеженні цільової групи пацієнтів. До цільової групи були віднесені пацієнти з клінічними симптомами ІПСШ, наявністю поточної ІПСШ у статевих партнерів та / або наявністю чисельних (або нових) статевих партнерів, у яких були виявлені грамнегативні диплококи в урогенітальних мазках. Враховуючи кращий міжнародний досвід, у рамках цього дослідження проведено незалежне зовнішнє оцінювання якості культурального методу діагностики ГІ із застосуванням оптимізованої СОП відповідно до протоколів ВООЗ [70, 123, 200].

Наше дослідження засвідчило позитивні аналітичні характеристики оптимізованої СОП виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом із високою частотою життєздатних (97,2 %, 137/141) та підтверджених ізолятів

N. gonorrhoeae (96,5 %, 136/141), що були навіть вищі, ніж опублікували інші дослідники [25].

Безсумнівно, турбує факт виявлення у нашому дослідженні одного ХНР (0,7 %, 1/141), коли причиною уретриту був підтверджений збудник *N. meningitidis*. Відомо, що *N. meningitidis* може бути однією з причин негонококових уретритів [122]. Два збудники належать до одного роду, викликають подібні клінічні симптоми, мають схожі морфологічні характеристики при застосуванні мікроскопічного та культуральних методів діагностики, і можуть бути розпізнаними лише за біохімічної ідентифікації виділених культур та / або за допомогою молекулярних і генетичних методів. Розпізнання випадків урогенітальних інфекцій, спричинених *N. meningitidis*, повністю залежить від належного виконання ідентифікаційних тестів [200].

Частка виділених ізолятів *N. gonorrhoeae* від усіх офіційно зареєстрованих випадків ГІ у Тернопільській області за період 2013 – 2018 рр. (загальне покриття) загалом була достатньою (19,4 %, 136/700) та вищою, ніж рекомендований ВООЗ обсяг виділень (10 %) [227]. Наші дані щодо показника загального покриття були подібними до результатів повідомлених іншими авторами [112]. До 2013 року у КДЛ ТОКШВД усі гонококові культури виділяли як змішані культури, у поєднанні з іншою урогенітальною флорою, та завжди утилізували після завершення культурального дослідження. До того ж ми отримували лише невеликий ріст колоній малого розміру, а спроби їх подальшої рекультивації для виділення ізолятів були неуспішними. Ось чому не отримано жодної чистої культури впродовж 2009 – 2012 рр. При використанні попередньої СОП упродовж грудня 2012 – липня 2013, частка виділення ізолятів *N. gonorrhoeae* від усіх офіційно зареєстрованих випадків ГІ була вірогідно нижчою 2,5 % (1/40) та не відповідала рекомендованому ВООЗ мінімуму в 10 %.

Упровадження непоживного ТС та селективного ША для культурального методу виділення *N. gonorrhoeae* в урогенітальному матеріалі демонструвало хороші аналітичні характеристики, що дозволило виділити

ізоляти гонококів і вперше в Україні дослідити профіль їх АБР та вивчити геномну епідеміологію ГІ [41, 42, 43, 44]. Отримавши відсоток загального покриття понад 10 %, описаний профіль АБР може бути екстрапольований на клінічну практику Тернопільської області в Україні [227].

Використовуючи високочутливі та специфічні, ухвалені FDA, МАНК тести Aptima [46, 47, 63, 108, 125, 189], ми вперше дослідили поширеність ГІ у Тернопільській області серед дорослих чоловіків і жінок, які, переважно, мали симптоми ІПСШ та послідовно відвідували ТОКШВД. Окрім цього, ми вперше оцінили аналітичні характеристики стандартних методів діагностики ГІ у порівнянні з референтними МАНК тестами Aptima.

Поширеність ГІ серед дорослих симптомних пацієнтів обох статей була значущою (1,5 %) та вищою серед чоловіків (3,8 %, $p = 0,004$), ніж серед жінок (0,3 %). Це передусім, узгоджується з порівняно високою поширеністю ГІ у багатьох інших країнах Європи [60, 88].

Загальна узгодженість результатів була 99,3 % – для мікроскопічного та 93,0 % – для культурального методів відповідно. Загалом, СМД демонстрували адекватну специфічність, але мали субоптимальну чутливість. Чутливість культурального методу виділення *N. gonorrhoeae* в урогенітальному матеріалі була 57,1 %, що є відносно прийнятним у порівнянні з високочутливими тестами Aptima [194, 200]. Чутливість мікроскопічного методу із забарвленням метиленовим синім і за Грамом урогенітального матеріалу обох статей становила 71,4 %. До того ж чутливість мікроскопічного методу уретральних виділень була вищою у чоловіків (80 %, $p = 0,0004$) у порівнянні з цервікальними зразками у жінок (50 %). Необхідно акцентувати на вкрай субоптимальних показниках чутливості мікроскопічного методу біологічного матеріалу з цервікального каналу у жінок (50 %). Крім того, за результатами анкетування, лише мікроскопічний метод для скринінгу та / або діагностики ГІ виконували 14,3 % лабораторій ОШВД України у 2013 – 2014 рр. [7]. Викликає занепокоєння той факт, що 50 % та 20 % випадків ГІ у жінок та чоловіків відповідно можуть залишатися

невиявленими при застосуванні лише одного мікроскопічного методу у програмах скринінгу та / або діагностики [45]. На проблемах з низькими аналітичними характеристиками СМД на ІПСШ було наголошено також у попередніх дослідженнях [37, 51, 143, 159, 161, 194]. Проте, всупереч низької чутливості та специфічності СМД, вони широко використовуються у країнах з обмеженими матеріальними ресурсами, через невисоку ціну та швидкість у виконанні [139].

Низька чутливість і специфічність СМД, що застосовуються в Україні, призводять до значної гіподіагностики ГІ та пропущеного лікування інфікованих осіб, а також до повідомлення про ХПР та, відповідно, до безпідставного та / або неточного лікування. Помилковий позитивний діагноз стосовно ГІ може призвести також до негативних соціальних впливів, зокрема, розриву шлюбів і стосунків, юридичних наслідків [194]. Наше дослідження доводить, що повідомлена раніше поширеність ГІ є неточною в Україні, тому що багато дійсно інфікованих пацієнтів можуть залишатися недіагностованими.

Основними обмеженнями дослідження стосовно поширеності ГІ та аналітичних характеристик СМД були:

а) досліджувалися лише уrogenітальні зразки, без екстрагенітальних (ректальних та фарингальних) зразків, що має вирішальне значення для тестування не лише у ЧСЧ, але й у багатьох гетеросексуальних чоловіків і жінок, залежно від практики статевих стосунків;

б) зразки були відібрані на основі звичайної клінічної практики, що призвело до відносно низької кількості пацієнтів, обстежених культуральним методом ($n = 43$);

в) забір біологічних зразків був проведений серед обмеженої географічної популяції: в 1 з 24 областей України.

Подальші багатоцентрові дослідження є вкрай нагальними для вивчення поширеності ГІ в Україні та аналітичних характеристик використовуваних діагностичних методів для детекції *N. gonorrhoeae*.

Популяційні, епідеміологічні, клінічні та діагностичні дані пацієнтів ТОКШВД з ГІ були ретельно проаналізовані для визначення наявних проблем у менеджменті ГІ в Україні [40].

У нашому дослідженні чоловіки були обстежені непропорційно частіше, ніж жінки, а співвідношення чоловіки / жінки становило – 6,6:1. Dave J та співавтори, а також Tshokey T та співавтори опублікували подібні дані [74, 197], тоді як Giomi V та співавтори повідомили про вищий рівень охоплення обстеженням та виявленням ГІ у жінок [102]. Наші дані засвідчують, що більшість потенційно інфікованих жінок, ймовірно, були необстеженими [40].

ГІ, набута у гомосексуальних стосунках, становила у нашому дослідженні лише 3,7 % від загальної кількості. Інші автори повідомили про вищу частоту ЧСЧ (25,9 – 52 %) та бісексуальних (1 %) пацієнтів у клініках ІПСШ [74, 102]. Наші дані можуть свідчити, що пацієнти в Україні мають стигму щодо інформування лікарів про їх статеву поведінку [40].

Згідно з нашим дослідженням, ГІ була локальною інфекцією впродовж 2013 – 2018 рр., оскільки більшість пацієнтів були громадянами України (93,9 %) й зазначили Тернопільську область (86,8 %) та Україну (93,4 %) географічними місцями набуття ГІ [40]. Giomi V та співавтори також повідомили про локальний характер ГІ в клініці ІПСШ в Італії [102]. У країнах Європи та у всьому світі систематично повідомляється значний рівень стійкості *N. gonorrhoeae* до антибіотиків [54, 67, 126, 155]. Наше дослідження показало, що інфікування 1,5 % пацієнтів відбувалося за межами України, а 5,1 % пацієнтів були іноземцями. Це дозволяє висловлювати занепокоєння, що існує суттєвий ризик імпортування ГІ в Україну, зокрема, викликаної резистентними та мультирезистентними штамми *N. gonorrhoeae*. Тому, надалі не можна виключати поширення ГІ в Україні, зокрема, викликаної резистентними та мультирезистентними штамми *N. gonorrhoeae* [132].

Відповідно до Європейських настанов із менеджменту ГІ, усі статеві контакти пацієнтів з діагностованою ГІ, які мали місце щонайменше упродовж попередніх двох місяців від появи симптомів, або трьох місяців із часу

встановлення діагнозу, повинні бути обстежені після виявлення випадку ГІ [39]. Наше дослідження показало, що лише 11 % статевих партнерів пройшли медичне обстеження та ГІ була виявлена у 41,4 % статевих партнерів, що вказує на високу ймовірність передавання *N. gonorrhoeae* в межах епідеміологічних статевих ланцюгів [12, 40]. Викликає стурбованість той факт, що 89 % статевих партнерів не були обстежені, оскільки значна їх частина могла бути інфікованою *N. gonorrhoeae* [12, 74, 139].

Середній період із симптомами хвороби перед першим візитом у клініку був відносно тривалим та становив ($4,4 \pm 1,9$) дні з діапазоном у 1 – 7 днів, що може опосередковано впливати на поширення ГІ. Турбує і той факт, що це може також сприяти самостійному лікуванню інфікованих осіб, особливо в умовах вільної доступності антибіотиків в Україні, в тому числі й в електронних фармацевтичних магазинах [18, 40].

За нашими даними, безсимптомна ГІ становила 5,9 % у чоловіків і 38,9 % – у жінок. Безсимптомні пацієнти можуть залишатися прихованим джерелом передавання *N. gonorrhoeae*, особливо якщо для скринінгу та діагностики використовуються методи з низькою чутливістю, як, наприклад, мікроскопічний [39].

Забір екстрагенітальних зразків проводили вкрай нечасто. Лише один (0,7 %) ректальний зразок був отриманий у цьому дослідженні, тоді як група пацієнтів включала ще додатково 4 ЧСЧ. Інформація про орогенітальні контакти не була отримана у пацієнтів та глоткові зразки не тестували у нашому дослідженні. Це додатково вказує на сучасну стигму серед пацієнтів стосовно повідомлення лікарів про типи статевих контактів та поведінки [40, 214]. Тому, клініцисти повинні збирати більш детальний анамнез стосовно статевої поведінки пацієнтів і проводити забір екстрагенітальних зразків. Екстрагенітальні ділянки, особливо фарингальна, вважаються прихованими місцями *N. gonorrhoeae*, де стійкість до антибіотиків може набуватись більш ефективно [39, 40].

Найчастішою супутньою ІПСШ серед пацієнтів із діагностованою ГІ вважається *C. trachomatis* [177]. Порівняно низький відсоток хламідійної інфекції (2,2 %) був зареєстрований у нашому дослідженні, із використанням мікроскопічного методу із забарвленням біологічного матеріалу за Романовським, що засвідчує вкрай виражену гіподіагностику *C. trachomatis*. Значна частина пацієнтів мала високий рівень супутньої *T. vaginalis* (39,7 %), виявленої за допомогою мікроскопічного методу дослідження урогенітальних виділень. Ми описали субоптимальні аналітичні характеристики мікроскопічного методу із забарвленням урогенітального матеріалу за Грамом із метою діагностики урогенітального трихомоніазу [45]. Високоєфективні МАНК є нагально необхідними для діагностики ІПСШ в Україні, як це впроваджено у більшості країн світу [28, 59, 65, 118, 134].

Зумовлює занепокоєння той факт, що 53,7 % пацієнтів відмовилися від обстеження на ВІЛ-інфекцію [124]. Li R та співавтори повідомили про високий рівень ВІЛ-інфекції у пацієнтів з діагностованими ІПСШ, у тому числі з ГІ [146]. Детальне передтестове консультування з ВІЛ-інфекції є необхідним серед пацієнтів із діагностованою ГІ, оскільки інфікування *N. gonorrhoeae* збільшує ризик передавання ВІЛ-інфекції [9, 39].

Супутня сифілітична інфекція була виявлена у 0,7 % пацієнтів із ГІ. Справжня частка *T. pallidum* інфекції може бути недооціненою, оскільки при скринінгу пацієнтів використовувалися нетрепонемні тести [127, 200]. Відповідно, застосування високочутливих із гарантованою якістю серологічних трепонемних тестів на сифіліс є вкрай важливим.

Значна частина пацієнтів (41,9 %) пропустила візит спостереження та могла залишитися прихованим резервуаром для персистенції збудника, а тому – бути джерелом для подальшого передавання *N. gonorrhoeae* у популяції [40, 196, 218]. У майбутньому було б цінним дослідити, які чинники можуть впливати на відмову пацієнтів від ВІЛ-тестування та пропуск завершального візиту спостереження. Розуміння цих причин дасть змогу приділяти більше уваги таким групам пацієнтів на етапі передтестового

консультування, а також проводити роз'яснення важливості проходження контрольних мікробіологічних досліджень на завершальному візиті.

Питання соціальної стигми, асоційованої із ГІ, порушується у міжнародних публікаціях [196, 197, 214]. Наше дослідження передбачає, що ГІ є також стигматизованою в Україні. Доказами існування стигматизації ГІ у нашому дослідженні є низькі рівні:

- а) повідомленої пацієнтами гомосексуальної поведінки;
- б) згода на ВІЛ-скринування;
- в) пропуск пацієнтами планового візиту контролю виліковності;
- г) епізодичний забір екстрагенітальних зразків клініцистами.

Доцільно підкреслити, що дослідження клініко-епідеміологічних характеристик пацієнтів із ГІ включало такі обмеження:

- а) дані були отримані лише в одній з областей України;
- б) епідеміологічні дані ґрунтувалися лише на обстеженні, переважно, генітальних зразків;
- в) інформація про статеву практику пацієнтів була обмеженою.

Збільшення даних про пацієнтів від інших лікарів (акушер-гінекологи, урологи, лікарі з приватною практикою), а також отримання даних з інших областей України, покращення епідеміологічних і діагностичних даних (анамнез про статеву практику пацієнтів, обстеження екстрагенітальних зразків, застосування МАНК) є нагально потрібними в Україні для забезпечення ефективного менеджменту та контролю за ГІ в Україні.

Відповідно до міжнародних стандартів ВООЗ, наше дослідження представляє перше міжнародне повідомлення даних про АБР гонококів в Україні, виділених у Тернопільській та Дніпропетровській областях упродовж 2013 – 2018 рр. [42, 43, 87, 198, 206, 211]. Рівень АБР був неочікувано низьким у порівнянні з сусідніми країнами Європейського союзу та Європейської економічної зони [73, 75, 156], Білоруссю [144], Російською Федерацією [135, 136, 137, 138], а також іншими країнами світу [223]. А отже, особливо цінним у нашому дослідженні стало те, що ми вперше порівняли відносно

чутливу популяцію гонококів з України із міжнародною популяцією, використовуючи ПСГ, яке практикується в програмах спостереження за АБР у країнах Європейського союзу та Європейської економічної зони [115].

Поширеність резистентності гонококів в Україні до попередньо рекомендованих ципрофлоксацину та тетрацикліну була 11,3 % та 6,0 %, відповідно [42, 43]. Жоден з цих антибіотиків не може бути рекомендованим в Україні у якості монотерапії першої лінії для емпіричного лікування ГІ. Аналогічні обмеження вже запроваджені у багатьох країнах світу [73, 75, 135, 144, 223]. Викликає стурбованість той факт, що доксициклін та офлоксацин були використані для монотерапії у 4,58 % та 0,76 % пацієнтів відповідно [42, 43]. Тетрациклін і фторхінолони повинні бути виключені з емпіричних схем лікування у рекомендаціях щодо лікування в Україні [17, 18]. Цікавим є той факт, що β -лактамазо-продукуючі штами гонококів реєстрували вкрай рідко (0,7 %, 1/150 ізолятів) в Україні у порівнянні з сусідніми східноєвропейськими країнами, Білоруссю та Російською Федерацією [103, 135, 136, 137, 138, 144]. Цей факт вказує на те, що β -лактамазо-продукуючі штами досі не імпортовані з-за кордону, або жоден імпортований штам ще не встиг встановити будь-яке внутрішнє передавання плазмід в Україні. Також жоден ізолят не мав хромосомної резистентності до бензилпеніциліну, проте 29,3 % ізолятів гонококів були помірно стійкими, що ставить під питання використання бензилпеніциліну в емпіричних схемах лікування [42, 43].

Що до сучасних антибіотиків, міжнародно рекомендованих для лікування ГІ, то резистентність до азитроміцину не була зареєстрована в Україні, на противагу більшості країн Європейського союзу та Європейської економічної зони [73, 75], а також – сусіднім східноєвропейським країнам, Білорусі та Російській Федерації [135, 136, 144]. Лише три ізоляти гонококів з України мали найвищий рівень МІК до азитроміцину (0,75 мг/л та 1 мг/л), при цьому залишаючись чутливими згідно з епідеміологічними точками відсікання EUCAST [42, 43, 91]. Це доводить високу ефективність міжнародно

рекомендованої подвійної схеми лікування із використанням цефтріаксону та азитроміцину [33, 39, 176, 200, 221, 226], яка була застосована у 6,11 % випадків у даному дослідженні. Також, найбільш часто призначеним лікуванням була подвійна терапія цефтріаксоном з доксицикліном, яка була застосована для 33,59 % пацієнтів. Така комбінація мала б бути ефективною і для супутньої *C. trachomatis* інфекції [142]. Усі ізоляти були чутливими до цефтріаксону, цефіксиму, спектиноміцину, гентаміцину та у загальному МІК до цих антибіотиків була низькою. Однак, один (0,7 %) ізолят був помірно стійким до цефтріаксону та цефіксиму [42, 43]. Цей факт підкреслює важливість розширеного спостереження за АБР в Україні.

Причини низького рівня АБР в Україні невідомі. Проте, це може бути пояснено довготривалим (починаючи з 2004 року) застосуванням цефтріаксону у дозі (1 г) ВМ як моно- або подвійної терапії при першій лінії емпіричного лікування неускладненої ГІ [21]. Окрім того, цефіксим, або менш дієві пероральні цефалоспорини, не були раніше рекомендовані або нечасто застосовували в Україні, що, ймовірно, обмежило селекційний тиск для стійкості гонококів до ЦШСД. Також, жоден штам, стійкий до ЦШСД, ще не був імпортований з інших країн та / або досі не вдалося встановити внутрішнє передавання резистентних детермінант між гонококами в Україні.

Наше дослідження щодо вивчення АБР гонококів в Україні мало ряд обмежень: була включена відносно помірною кількістю пацієнтів ($n = 150$) лише з двох областей України; екстрагенітальні зразки були вкрай лімітовані (0,7 %). Відповідно, в Україні необхідно посилити й розширити якість спостереження за АБР гонококів та випадками неефективного лікування ГІ. Щоб забезпечити вагому доказову базу для регулярного вдосконалення рекомендацій щодо лікування в Україні терміново необхідні: збільшення кількості ізолятів, виділених упродовж року; включення додаткових областей України; забір глоткових та ректальних зразків; покращення епідеміологічних даних про пацієнтів [21, 22]. Для розширення нагляду за АБР гонококів нагально необхідно впровадити комплекс заходів – навчання клініцистів і

лабораторних працівників (наприклад, для забору біологічного матеріалу, транспортування зразків та гонококових ізолятів, тестування на антибіотикочутливість гонококів), впровадження якісної культуральної діагностики ГІ у багатьох лабораторіях України, а також – політична та фінансова підтримка.

У нашому дослідженні вперше не лише в Україні, а й серед країн Східної Європи, виконали ПСГ ізолятів *N. gonorrhoeae*. Так, ми встановили, що популяція гонококів, поширених в Україні упродовж 2013 – 2018 рр., була генетично гетерогенною. Нам вдалося визначити шість основних геномних кластерів гонококів [41, 44].

Два кластери (С1 та С5) включали ізоляти, які мали фенотипову стійкість або генетичні детермінанти АБР до антибіотиків, що використовувались у терапевтичних схемах лікування ГІ. Фенотипові характеристики С1 та С5 представляли зниження чутливості до ЦШСД, а також – стійкість до ципрофлоксацину, тетрацикліну, бензилпеніциліну [41, 44]. Характеристики генотипу С1 та С5 включали: мозаїчні *penA* алелі, *tetM* кон'юговані плазмідиди, β -лактамазо-продукуючі плазмідиди, мутації у генах *mtrR*, *porB1b*, *ponA*, *gyrA*, *parC* та *rpsJ*. Так, С1 включав *N. gonorrhoeae* ізоляти з мозаїчними *penA*-34,001 (2,7 %, 4/150), які асоціювалися із мультирезистентним NG-MAST ST1407 та зниженою чутливістю або резистентністю до ЦШСД [56, 64, 78, 101, 110, 111, 115, 129, 209, 215]; мутацію гену *mtrR* у 11,3 % (17/150) ізолятів; та мутацію гену *penB* у 12,7 % (19/150) ізолятів. Суттєво, що, С1 та С5 були генетично пов'язані з основним мультирезистентним родоводом, описаним раніше серед європейської колекції ізолятів гонококів [115, 179].

Інші чотири кластери (С2, С3, С4, та С6) були розцінені, як мультичутливі, попри те, що деякі штами все-таки містили *penB* (n = 4) або *tetM* (n = 3) детермінанти АБР. Ці чотири кластери були генетично споріднені з основним мультичутливим родоводом європейської колекції ізолятів гонококів [115, 179].

Необхідно наголосити, що, всупереч тому, що ізоляти в Україні демонстрували високу чутливість до ЦШСД, азитроміцину, спектиноміцину та гентаміцину, ризики випадків імпортування мультирезистентних, або поширення резистентних ізолятів гонококів з інших країн, повинні бути у центрі уваги [132, 171]. Очевидно, що підвищення обізнаності про ймовірність поширення ЦШСД-резистентних і мультирезистентних штамів гонококів, зокрема, в Україні, є важливим заходом в організації контролю за ГІ.

Цефтріаксон (1 г) ВМ, був рекомендований в Україні з 2004 року та найбільш часто використовувався як перша лінія емпіричного лікування неускладненої ГІ. Однак, додатково до цефтріаксону, багато інших антибіотиків (декілька додаткових цефалоспоринів, макролідів, фторхінолонів, пеніцилінів, тетрациклінів, аміноглікозидів, а також триметоприм, у комбінації з сульфаметоксазолом) були рекомендовані у настановах щодо лікування ГІ в Україні з 2004 р. [21, 22], та, на жаль, використовуються у лікуванні й сьогодні. Так, у нашому дослідженні частина пацієнтів (16,03 %) отримувала лікування ГІ сумнівної ефективності із застосуванням монотерапії кларитроміцином, доксицикліном, бензилпеніциліном, азитроміцином або офлоксацином. Очевидно, більшість із цих антибіотиків мають бути виключені з українських настанов з лікування ГІ. Важливо вдосконалити лікування ГІ в Україні, ґрунтуючись на Європейських рекомендаціях або адаптованих національних доказових рекомендаціях [39, 65]. Починаючи з 2017 р., міжнародні медичні протоколи або настанови можуть застосовуватись у медичній практиці в Україні [20, 23, 39]. Відповідно до рекомендованих МОЗ України міжнародних протоколів, у разі відсутності можливості проводити тестування на антибіотикочутливість, рекомендовано застосовувати подвійну терапію неускладненої ГІ: цефтріаксон (500 мг) ВМ та азитроміцин (2 г) ПО [23]. Турбує той факт, що в Україні антибіотики доступні до придбання без рецептів в аптечній мережі, а це провокує та підтримує самолікування ГІ. Ця практика, у поєднанні із рекомендаціями щодо

застосування багатьох субоптимальних в ефективності антибіотиків [21, 22], може призводити до вибіркової стійкості *N. gonorrhoeae* до антибіотиків, а також інших збудників ПСШ, таких як: *Mycoplasma genitalium*, та загальної мікробіоти. Тестування на АБР для вчасного інформування про ефективні схеми лікування, чутливі та специфічні діагностичні тести для діагностики та встановлення ерадикації гонококів, у тому числі – для виключення інших ПСШ [176, 203, 226, 228], є рідкісними в Україні через відсутність національної програми спостереження за розвитком АБР гонококів в Україні. Подвійна схема емпіричної терапії із застосуванням цефтріаксону (1 г), в комбінації азитроміцину – (2 г), повинна бути взятою до уваги в Україні при усіх підозрілих або підтверджених випадках ГІ, з метою зниження подальшого передавання інфекції та виникнення та / або поширення мультирезистентних ізолятів гонококів. Отже, впровадження якісної національної програми спостереження за розвитком АБР *N. gonorrhoeae*, яка б в ідеалі охоплювала реєстрацію усіх випадків неефективного лікування ГІ, є нагальною в Україні. Окрім цього, моніторинг дотримання доказових рекомендацій на етапах діагностики, лікування та ведення пацієнтів з ГІ є важливим для визначення напрямів поліпшень менеджменту ГІ в Україні [65]. Нарешті, включення ПСГ на регулярній основі у програми спостереження за АБР гонококів значно покращить розуміння геномної епідеміології гонококових ізолятів, поширених в Україні та міжнародно, а також може визначити національне поширення, імпорт штамів із інших країн і популяції пацієнтів з вищим ризиком зараження та / або АБР.

Результати роботи свідчать, що існує високий ризик подальшого поширення та імпортування в Україну випадків ГІ, викликані резистентними та мультирезистентними ізолятами *N. gonorrhoeae*. Використання валідованих та якісно гарантованих МАНК у поєднанні із культуральним методом, впровадження національної системи зовнішнього контролю якості мікробіологічних методів діагностики ГІ та національної програми

спостереження за розвитком АБР *N. gonorrhoeae*, з охопленням реєстрації усіх випадків неефективного лікування ГІ, є нагальним питанням в Україні.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення актуального завдання сучасної мікробіології щодо детального оцінювання та оптимізації мікробіологічної діагностики гонококової інфекції на базі обласних шкірно-венерологічних диспансерів в Україні, дослідженню епідеміологічних особливостей гонококової інфекції, антибіотикорезистентності та геномної епідеміології ізолятів *N. gonorrhoeae*, які циркулювали в Україні у період 2013 – 2018 рр.

1. Стан мікробіологічної діагностики гонококової інфекції в обласних шкірно-венерологічних диспансерах в Україні не відповідає рекомендаціям ВООЗ стосовно пріоритетного використання молекулярного аналізу нуклеїнових кислот, визначення антибіотикорезистентності *N. gonorrhoeae* та застосування системи зовнішнього контролю якості. Лабораторії обласних шкірно-венерологічних диспансерів не проводять метод ампліфікації нуклеїнових кислот (0 % [95 % ДІ: 0,0–23,2]). Зовнішній контроль якості мікробіологічних досліджень із виділення *N. gonorrhoeae* здійснюють 50 % [95 % ДІ: 21,1–78,9] диспансерів. Більшість (85,7 % [95 % ДІ: 57,2–98,2]) диспансерів не визначають антибіотикорезистентності *N. gonorrhoeae*.

2. При аналітичному вивченні характеристик стандартних методів діагностики гонококової інфекції встановлено високу специфічність культурального (100 %) та мікроскопічного (99,8 %) методів дослідження уrogenітальних виділень. Чутливість мікроскопічного методу із забарвленням уrogenітального матеріалу метиленовим синім і за Грамом (71,4 %) вірогідно вища відносно культурального методу (57,1 %). Чутливість мікроскопічного методу є вірогідно вищою при дослідженні уретральних виділень у чоловіків (80 %) порівняно із цервікальними зразками у жінок (50 %).

3. При вивченні ростових властивостей поживних середовищ встановлено, що селективний шоколадний агар забезпечує вірогідно вищу частоту виділення (91,5 %) клінічних ізолятів *N. gonorrhoeae*. Частота виділення *N. gonorrhoeae* за допомогою посіву уrogenітального матеріалу із

застосуванням непоживного транспортного середовища агарового гелю Amies з вугіллям є вірогідно вищою (82,6 %) в порівнянні з прямим способом посіву (47,8 %). Показники життєздатності гонококів за зберігання у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям є оптимальними за температури 2–8 °С та тривалості зберігання 24 год (93,5 %) і 48 год (73,9 %). За кімнатної температури (18–25 °С), прийнятна тривалість зберігання ізолятів *N. gonorrhoeae* становить до 24 год (87 %).

4. Епідеміологічними особливостями гонокової інфекції у Тернопільській області є поширеність 1,5 % серед пацієнтів із симптомами урогенітальних інфекцій та локальний характер – інфікування більшості пацієнтів відбувається в межах України (93,4 %) і регіону проживання (86,8 %). Існує ризик імпортування гонокової інфекції з інших країн (1,5 %). Безсимптомні випадки в загальному становлять 10,3 % та є вірогідно частішими серед жінок (38,9 %, $p < 0,0001$), ніж серед чоловіків (5,9 %). Недостатні рівні обстеження контактних осіб (11 %) та дослідження екстрагенітальних зразків (0,7%) сприяють збереженню прихованого резервуару та подальшого передавання *N. gonorrhoeae* у популяції. Переважаючою схемою антибактеріальної терапії гонокової інфекції є комбінована терапія цефтріаксоном, у поєднанні з іншим антибіотиком (доксидиклін, кларитроміцин, азитроміцин, офлоксацин), яку застосовують у 67,18 % пацієнтів. Показники застосування монотерапії цефтріаксоном становлять 16,79 %, а іншим антибіотиком (кларитроміцин, доксициклін, бензилпеніцилін, азитроміцин) – 16,03 %.

5. Резистентність ізолятів *N. gonorrhoeae* до ципрофлоксацину становить 11,3 %, до тетрацикліну – 6 % та до бензилпеніциліну – 0,7 %. Усі досліджені ізоляти є чутливими до цефтріаксону, цефіксиму, азитроміцину, спектиноміцину та гентаміцину. Межовий рівень резистентності ізолятів гонококів до обох цефалоспоринів широкого спектра дії становить 0,7 %.

6. Резистентність ізолятів *N. gonorrhoeae* до ципрофлоксацину зумовлена мутаціями генів *gyrA* (11,3 %) та *parC* (8,7 %); до тетрацикліну –

rpsJ V57M мутацією (16,7 %) та набуттям кон'югованих плазмід-носіїв гену *tetM* (4,7 %); до бензилпеніциліну – мозаїчною алеллю *penA*-34,001 (2,7 %), продукцією β -лактамази (0,7 %) та мутаціями *ponA1*, що спричиняють L421P амінокислотні заміни у пеніцилін-зв'язувальному білку першого типу РВР1 (16,7 %). Зниження чутливості до β -лактамних антибіотиків, макролідів та тетрациклінів зумовлене мутаціями *mtrR* (11,3 %), до β -лактамних антибіотиків та тетрациклінів – несинонімічними амінокислотними заміщеннями G101 та A102 у білку порині зовнішньої мембрани клітинної стінки PorB1b (12,7 %).

7. Популяція гонококів, що циркулює в Україні, характеризується генетичною гетерогенністю та представлена 25 різними MLST секвенс-типами, 50 NG-MAST секвенс-типами, 34 NG-STAR типами та 6 основними філогеномними кластерами. Встановлено, що більшість ізолятів гонококів (83,3 %) належать до кластерів C2, C3, C4 та C6, генетично споріднених із міжнародно описаним мультичутливим до антибактеріальних препаратів родоводом гонококів. Для 16,7 % ізолятів гонококів доведена належність до кластерів C1 та C5, генетично асоційованих з міжнародно описаним мультирезистентним родоводом гонококів із фенотиповими ознаками резистентності одночасно до двох чи більше антибактеріальних препаратів (бензилпеніциліну, тетрацикліну, ципрофлоксацину), а також з межевою чутливістю до цефалоспоринів широкого спектра дії. До мультирезистентного клону NG-MAST ST1407, MLST ST1901 належать 0,7 % ізолятів із фенотиповими ознаками межевої резистентності до цефалоспоринів широкого спектра дії.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для покращення мікробіологічної діагностики ГІ в Україні, рекомендовано запровадження національної системи зовнішнього контролю якості відповідно до міжнародних протоколів ВООЗ, в тому числі з організацією міжнародного контролю якості.

2. Для оптимізації мікробіологічної діагностики гонококової інфекції та для спостереження за антибіотикорезистентністю *N. gonorrhoeae* в Україні рекомендовано невідкладне та широке впровадження валідованих та якісно гарантованих методів ампліфікації нуклеїнових кислот у поєднанні із культуральним методом виділення *N. gonorrhoeae*.

3. Валідована, оптимізована та якісно гарантована оптимізована операційна процедура виділення *N. gonorrhoeae* культуральним методом із використанням непоживного транспортного середовища агарового гелю Amies з вугіллям і селективного шоколадного агару може бути використана у практиці бактеріологічних лабораторій в Україні та закордоном. Перед посівом рекомендовано тимчасово зберігати біологічні зразки у непоживному транспортному середовищі агарового гелю Amies з вугіллям при температурі 2–8 °С терміном до 48 год.

4. Цефтріаксон (1 г внутрішньом'язово) у вигляді монотерапії або у поєднанні з азитроміцином (2 г перорально) може залишатися як перша лінія емпіричного лікування ГІ. За наявності супутньої уrogenітальної інфекції, викликаной *Chlamydia trachomatis*, або за неможливості виключити *C. trachomatis* за допомогою МАНК, спектиноміцин (2 г внутрішньом'язово) може бути антибіотиком другої лінії. Проте, якщо додатково діагностований гонококовий фарингіт, то спектиноміцин (2 г внутрішньом'язово) слід призначати у поєднанні з азитроміцином (2 г перорально). Ципрофлоксацин, тетрациклін та бензилпеніцилін рекомендовано виключити зі схем емпіричного лікування ГІ.

5. Для своєчасного оновлення настанов щодо лікування та

забезпечення ефективного управління ГІ необхідно запровадити системний, постійний та національний нагляд за антибіотикорезистентністю *N. gonorrhoeae* в Україні у поєднанні зі збором клінічної інформації про пацієнтів, призначене лікування та випадки неефективного лікування ГІ.

6. Для своєчасного оновлення настанов щодо лікування та забезпечення ефективного управління ГІ необхідно запровадити системний, постійний та національний нагляд за антибіотикорезистентністю *N. gonorrhoeae* в Україні у поєднанні зі збором клінічної інформації про пацієнтів, призначене лікування та випадки неефективного лікування ГІ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Адаптована клінічна настанова, заснована на доказах. Гонококова інфекція [Інтернет]. Київ: Державний експертний центр МОЗ України; 2017. 23 с. Доступно з: https://dec.gov.ua/wp-content/uploads/images/dodatki/KN/obg/AKN_honor.pdf.
2. Анфілова МР. Особливості клінічного перебігу гонококової інфекції у жінок на сучасному етапі. Дерматовенерология Косметология Сексология. 2009;1 – 2(12):44 – 7.
3. Безкоровайна ГО, Бойко ІБ. Деякі особливості сучасного перебігу та діагностики гонококової інфекції в осіб молодого віку. Сучасні методи діагностики та лікування коморбідної патології в дерматовенерологічній практиці на принципах доказової медицини. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю; 2017 черв.1–2; Чернівці, Україна. Чернівці: БДМУ; 2017. с. 145–6.
4. Бойко ІБ, Криницька ІЯ. Усовершенствование бактериологического метода диагностики гонореи: опыт Тернопольского областного клинического кожно-венерологического диспансера, Украина. Лабораторная диагностика. Восточная Европа. 2019;8(4):498–506.
5. Бойко ІБ, Безкоровайна ГО. Поліпшення якості мікробіологічної діагностики гонококової інфекції з метою систематичного моніторингу антибіотикорезистентності. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2016;4(63):124–5.
6. Бойко ІБ, Безкоровайна ГО. Практика виділення чистих культур *Neisseria gonorrhoeae* у Тернопільській області з метою вивчення антибіотикорезистентності. Дерматологія та венерологія. 2015; 3(69):96.
7. Бойко ІБ, Криницька ІЯ, Когут ІЙ. Діагностика гонореї в Україні відповідно до рекомендацій ВООЗ. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2020;1(76):20–7.

8. Бойко ІБ. Локальний моніторинг антибіотикорезистентності *Neisseria gonorrhoeae* у Тернопільській області. Журнал дерматовенерології та косметології імені М.О. Торсуєва. 2017;1(37):70–1.

9. Бондаренко ГМ, Мавров П, Осінська ТВ, Щербакова ЮВ, Нікітенко ІМ, Унучко СВ та ін. Особливості розповсюдження інфекцій, що передаються статевим шляхом, з урахуванням впливу ВІЛ-інфекції в Україні. Дерматологія та венерологія. 2017;1(75):8–14.

10. Волкославська ВМ. Стан та основні організаційні задачі дерматовенерологічної служби на сучасному етапі в Україні. Дерматологія та венерологія. 2015;2(68):85–93.

11. Галникіна СО, Безкоровайна ГО, Бойко ІБ. Деякі особливості сучасних підходів до курації молодих осіб з гонококовою інфекцією. Дерматовенерологія. Косметологія і Сексопатологія. 2016;3–4 (4):47.

12. Галникіна СО. Хвороби, що передаються статевим шляхом. Підручник. 2-ге вид. Тернопіль: ТНМУ «Укрмедкнига»; 2020. Розділ XIX, Гонококова інфекція; с. 326–336.

13. Заболотько ВМ, редактор. Показники лікувально-профілактичної допомоги хворим шкірними і венеричними захворюваннями в Україні у 2018 році [Інтернет]. Київ: ДЗ «Центр медичної статистики МОЗ України»; 2019. Доступно з: <http://medstat.gov.ua/ukr/ММХVIII.html>.

14. Заболотько ВМ, редактор. Показники лікувально-профілактичної допомоги хворим шкірними і венеричними захворюваннями в Україні у 2019 році [Інтернет]. Київ: ДЗ «Центр медичної статистики МОЗ України»; 2019. Доступно з: <http://medstat.gov.ua/ukr/ММХІХ.html>.

15. Климнюк СІ, Ситник ІО, Творко МС, Широбоков ВП. Практична мікробіологія. 2-ге вид. Тернопіль: ТНМУ «Укрмедкнига»; 2020. Розділ 11, Гонококові інфекції; с. 186–190.

16. Кравченко ВН, Степаненко ВІ. Аналітичний огляд рівня захворюваності на інфекції, що передаються статевим шляхом, у період 1945 – 2017 рр. та можливі перспективи щодо зниження їхньої поширеності в

Україні. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2018;3(70);15–21.

17. Мавров ГІ, Бондаренко ГМ, Кочетова НВ та ін. Протоколи лабораторної діагностики інфекцій, що спричинені *Neisseria gonorrhoeae*. Дерматологія та венерологія. 2007;1(35):65–90.

18. Мавров ГІ, Чінов ГП. Контроль інфекцій, що передаються статевим шляхом, в епоху керованої охорони здоров'я. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2005;2:66–72.

19. Мавров П, Белозоров ОП, Тацька ЛС та ін. Уніфікація лабораторних методів досліджень в діагностиці захворювань, що передаються статевим шляхом. Харків: Факт; 2000. 120 с.

20. Наказ МОЗ України № 1422 «Про внесення змін до наказу Міністерства охорони здоров'я від 28 вересня 2012 року № 175»; 2016 Груд 29. Доступно з: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0530-17>.

21. Наказ МОЗ України № 286 «Про удосконалення дерматовенерологічної допомоги населенню України»; 2004 Черв 07. Доступно з: <http://medstandart.net/browse/1254>.

22. Наказ МОЗ України № 312 «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги хворим на дерматовенерологічні захворювання»; 2009 Трав 08. Доступно з: https://zakononline.com.ua/documents/show/77737_536323.

23. Настанова 00254. Гонорея / Eija Hiltunen-Back. Duodecim Medical Publications Ltd, 2017. Доступно з: <http://guidelines.moz.gov.ua/documents/2918?id=ebm00254&format=pdf>.

24. Франкенберг АА, Безкоровайна ГО, Бойко ІБ. Стандартизовані підходи до діагностики та лікування гонококової інфекції, засновані на спостереженні за антибіотикорезистентністю *Neisseria gonorrhoeae*. Журнал дерматовенерології та косметології імені М.О. Торсуєва. 2017;1(37):75–6.

25. Adam LB, Robert FP, Meghan AW, Caitlin J, Gautam D, Carey-Ann DB. Genotypic and Phenotypic Characterization of Antimicrobial Resistance in

Neisseria gonorrhoeae: a Cross-Sectional Study of Isolates Recovered from Routine Urine Cultures in a High-Incidence Setting. *mSphere*. 2019;4(4):373–19.

26. Allen VG, Farrell DJ, Rebbapragada A, Tan J, Tijet N, Perusini SJ, et al. Molecular analysis of antimicrobial resistance mechanisms in *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Ontario, Canada. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:703–12.

27. Altman DG, Machin D, Bryant TN, Gardner MJ. *Statistics with confidence*. 2nd ed. BMJ Books; 2000. 254 p.

28. Andrea SB, Chapin KC. Comparison of Aptima *Trichomonas vaginalis* Transcription-Mediated Amplification Assay and BD Affirm VPIII for detection of *T. vaginalis* in symptomatic women: performance parameters and epidemiological implications. *J Clin Microbiol*. 2011;49:866–9.

29. Aptima Combo 2 Assay (Partner System) [Internet]. 502446 Rev. 003. Hologic, Inc. San Diego, USA; 2017. 43 p. [cited 2020 June 02]. https://www.hologic.com/sites/default/files/2018-08/502446-IFU-PI_005_01_0.pdf.

30. Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit for Endocervical and Male Urethral Swab Specimens [Internet]. 502258 Rev. 002. Hologic, Inc. San Diego, USA; 2016. 3 p. [cited 2020 June 02]. Available from: https://www.hologic.com/sites/default/files/package-insert/502258-IFU-PI_002_01.pdf.

31. Aptima Vaginal Swab Specimen Collection Kit [Internet]. 502259 Rev. 002. Hologic, Inc. San Diego, USA; 2016. 3 p. [cited 2020 June 02]. Available from: https://www.hologic.com/sites/default/files/package-insert/502259-IFU-PI_002_01.pdf.

32. Argimón S, Abudahab K, Goater RJE, Fedosejev A, Bhai J, Glasner C, et al. Microreact: visualizing and sharing data for genomic epidemiology and phylogeography. *Microb Genom*. 2016;2(11):e000093.

33. Australasian Sexual Health Alliance (ASHA). Gonorrhoea [Internet]. Australian STI management guidelines for use in primary care: ASHA; 2016 [cited

2020 June 02]. Available from: <http://www.sti.guidelines.org.au/sexually-transmissible-infections/gonorrhoea#management>.

34. Baker S, Thomson N, Weill FX, Holt KE. Genomic insights into the emergence and spread of antimicrobial-resistant bacterial pathogens. *Science* [Internet]. 2018;360(6390):733–8. Available from: doi: 10.1126/science.aar3777.

35. Bala M, Singh V, Philipova I, Bhargava A, Joshi NC, Unemo M. Gentamicin in vitro activity and tentative gentamicin interpretation criteria for the CLSI and calibrated dichotomous sensitivity disc diffusion methods for *Neisseria gonorrhoeae*. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(7):1856–9.

36. Barlow D. Culture of the gonococcus: a reliable gold standard? *Sex Transm Infect*. 2017;93(3):178.

37. Bartelsman M, van Rooijen MS, Alba S, Vaughan K, Faber WR, Straetemans M, et al. Point-of-care management of urogenital Chlamydia trachomatis via Gram-stained smear analysis in male high-risk patients. Diagnostic accuracy and cost effectiveness before and after changing the screening indication at the STI Clinic in Amsterdam. *Sex Transm Infect*. 2015;91:479–84.

38. Bennett JS, Jolley KA, Sparling PF, Saunders NJ, Hart CA, Feavers IM, et al. Species status of *Neisseria gonorrhoeae*: evolutionary and epidemiological inferences from multilocus sequence typing. *BMC Biology*. 2007;5:35.

39. Bignell C, Unemo M; European STI Guidelines Editorial Board. European guideline on the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults. *Int J STD AIDS*. 2012;24:85–92.

40. Boiko I, Akimova V, Mazur L, Savchenko I, Kohut I, Krynytska I. Clinico-epidemiological profile of patients with gonorrhoea and challenges in the management of *Neisseria gonorrhoeae* infection in STI clinic, Ternopil in Ukraine (2013–2018). *Journal of Medicine and Life*. 2020;13(1):75–81.

41. Boiko I, Golparian D, Jacobsson S, Krynytska I, Frankenberg A, Shevchenko T, et al. Genomic epidemiology and antimicrobial resistance determinants of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Ukraine, 2013–2018. *APTIMA. APMIS*. 2020;128(7):465–475.

42. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, et al. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates and treatment of gonorrhoea patients in Ternopil and Dnipropetrovsk regions of Ukraine, 2013–2018. *APMIS*. 2019;127(7):503–9.

43. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, et al. High Antimicrobial Susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae* Isolates in Ternopil and Dnipropetrovsk Regions of Ukraine During 2013–2017. International Union against Sexually Transmitted Infections (IUSTI) World European Congress 2018; 2018 June 18; Dublin, Ireland. – Electronic Poster oral presentation.

44. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Unemo M. Genomic epidemiology and antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates: first data from Ukraine, 2013–2018. 33d IUSTI-Europe Congress on Sexually Transmitted Infections; 2019 Sep 05–07; Tallinn, Estonia; 2019;91 p.

45. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Unemo M. High prevalence of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and particularly *Trichomonas vaginalis* diagnosed using US FDA approved Aptima molecular tests and evaluation of conventional routine diagnostic tests in Ternopil, Ukraine. *APMIS*. 2019;127:627–34.

46. Boyadzhyan B, Yashina T, Yatabe JH, Patnaik M, Hill CS. Comparison of the APTIMA CT and GC assays with the APTIMA Combo 2 assay, the Abbott LCx assay, and direct fluorescent-antibody and culture assays for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *J Clin Microbiol*. 2004;42:3089–93.

47. Bristow CC, McGrath MR, Cohen AC, Anderson LA, Gordon KK, Klausner JD. Comparative evaluation of two nucleic acid amplification tests for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* at extragenital sites. *Sex Transm Dis*. 2017;44:398–400.

48. British Association for Sexual Health and HIV. Urgent PHE Clinical Alert – Two cases of XDR gonorrhoea identified in UK residents [Internet]. Health

England notification; 2019 [cited 2020 June 02]. Available from: <https://www.gov.uk/government/news/two-cases-of-resistant-gonorrhoea-diagnosed-in-the-uk>.

49. Brooks B, Patel R; European Collaborative Clinical Group (ECCG). The 2012 International Union against Sexually Transmitted Infections European Collaborative Clinical Group report on the diagnosis and management of *Neisseria gonorrhoeae* infections in Europe. *Int J STD AIDS*. 2013;24(6):419–22.

50. Brown LB, Krysiak R, Kamanga G, Mapanje C, Kanyamula H, Banda B, et al. *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial susceptibility in Lilongwe, Malawi, 2007. *Sex Transm Dis*. 2010;37:169–72.

51. Bruni MP, Freitas da Silveira M, Stauffert D, Bicca GLO, Caetano Dos Santos C, da Rosa Farias NA, et al. Aptima Trichomonas vaginalis assay elucidates significant underdiagnosis of trichomoniasis among women in Brazil according to an observational study. *Sex Transm Infect*. 2019;95:129–32.

52. Buchanan R, Ball D, Dolphin H, Dave J. Matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry for the identification of *Neisseria gonorrhoeae*. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2016;22(9):815.e5–815.e7. Available from: doi: 10.1016/j.cmi.2016.06.010.

53. Buckley C, Beatson SA, Linnios A, Lahra MM, Whiley DM, Forde BM. Whole-genome sequencing as an improved means of investigating *Neisseria gonorrhoeae* treatment failures. *Sex Health*. [Internet]. 2019;16(5):500–7. Available from: doi:10.1071/SH19012.

54. Buder S, Dudareva S, Jansen K, Loenenbach A, Nikisins S, Sailer A, et al. Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Germany: low levels of cephalosporin resistance, but high azithromycin resistance. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1):44.

55. Callander D, Guy R, Fairley CK, McManus H, Prestage G, Chow EPF, et al. Gonorrhoea gone wild: rising incidence of gonorrhoea and associated risk factors among gay and bisexual men attending Australian sexual health clinics. *Sex Health*. 2019;16(5):457–63. Available from: doi: 10.1071/SH18097.

56. Cámara J, Serra J, Ayats J, Bastida T, Carnicer-Pont D, Andreu A, et al. Molecular characterization of two high-level ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates detected in Catalonia, Spain. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2012;67:1858–60.
57. Campbell I. Chi-squared and Fisher-Irwin tests of two-by-two tables with small sample recommendations. *Stat Med*. 2007;26(19):3661-3675. doi:10.1002/sim.2832.
58. Carannante A, De Carolis E, Vacca P, Vella A, Vocale C, De Francesco MA, et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for identification and clustering of *Neisseria gonorrhoeae*. *BMC Microbiol*. 2015;15:142.
59. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*—2014. *MMWR Recomm Rep*. 2014;63:1–19.
60. Centralized information system for infectious diseases (CISID). Sexually transmitted infections (STI). Incidence rates (per 100 000 population) [Internet]. [cited 2020 June 02]. Available from: <http://data.euro.who.int/cisid/>.
61. Chen SC, Han Y, Yuan LF, Zhu XY, Yin YP. Identification of internationally disseminated ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain FC428, China. *Emerg Infect Dis*. 2019;25:1427–9.
62. Chen YM, Stevens K, Tideman R, Zaia A, Tomita T, Fairley CK, et al. Failure of ceftriaxone 500 mg to eradicate pharyngeal gonorrhoea, Australia. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:1445–7.
63. Cheng A, Kirby JE. Evaluation of the Hologic Gen-Probe PANTHER, APTIMA Combo 2 assay in a tertiary care teaching hospital. *Am J Clin Pathol*. 2014;141:397–403.
64. Chisholm SA, Unemo M, Quaye N, Johansson E, Cole MJ, Ison CA, et al. Molecular epidemiological typing within the European Gonococcal Antimicrobial Resistance Surveillance Programme reveals predominance of a multidrug-resistant clone. *Euro Surveill*. 2013;18(3):20358.

65. Clarke E, Patel C, Patel R, Unemo M. The 2018–19 International Union against Sexually Transmitted Infections European Collaborative Clinical Group report on the diagnosis and treatment of gonorrhoea in Europe. *Int J STD AIDS*. 2020;31(1):77–81.
66. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline*. 2nd ed. Wayne, PA: CLSI; 2008. 13 p.
67. Cobo F, Cabezas-Fernández MT, Cabeza-Barrera MI. Antimicrobial susceptibility and typing of *Neisseria gonorrhoeae* strains from Southern Spain, 2012–2014. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34(1):3–7.
68. Cole M, Quaye N, Ison C, Chisholm S, Hoffmann S, Jensen J et. al. European Centre for Disease Prevention and Control. STI laboratory diagnostics in Europe [Internet]. Stockholm: ECDC; 2013:48. Available from: <https://doi.org/10.2900/91382>.
69. Cole M, Spiteri G, Chisholm S, Hoffmann S, Ison C, Unemo M, et al. Emerging cephalosporin and multidrug-resistant gonorrhoea in Europe. *Euro Surveill*. 2014;19(45):20955.
70. Cole MJ, Quaye N, Jacobsson S, Day M, Fagan E, Ison C et al. Ten years of external quality assessment (EQA) of *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial susceptibility testing in Europe elucidate high reliability of data. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):281.
71. Cole MJ, Quinten C, Jacobsson S, Jacobsson S, Day M, Amato-Gauci AJ, et al. The European gonococcal antimicrobial surveillance programme (Euro- GASP) appropriately reflects the antimicrobial resistance situation for *Neisseria gonorrhoeae* in the European Union/European Economic Area. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):1040.
72. Cole MJ, Spiteri G, Jacobsson S, Pitt R, Grigorjev V, Unemo M, et al. Is the tide turning again for cephalosporin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in Europe? Results from the 2013 European surveillance. *BMC Infect Dis*. 2015;15:321.

73. Cole MJ, Spiteri G, Jacobsson S, Woodford N, Tripodo F, Amato-Gauci AJ, et al. Overall low extended-spectrum cephalosporin resistance but high azithromycin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in 24 European countries, 2015. *BMC Infect Dis.* 2017;17:617.
74. Dave J, Paul J, Pasvol TJ, Williams A, Warburton F, Cole K et al. Ethnically diverse urban transmission networks of *Neisseria gonorrhoeae* without evidence of HIV serosorting. *Sex Transm Infect.* 2020;96(2):106–9.
75. Day MJ, Spiteri G, Jacobsson S, Woodford N, Amato-Gauci AJ, Cole MJ, et al. Stably high azithromycin resistance and decreasing ceftriaxone susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae* in 25 European countries, 2016. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1):609.
76. De Silva D, Peters J, Cole K, Cole MJ, Cresswell F, Dean G, et al. Whole-genome sequencing to determine transmission of *Neisseria gonorrhoeae*: an observational study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16:1295–303.
77. Deguchi T, Yasuda M, Hatazaki K, Kameyama K, Horie K, Kato T, et al. New clinical strain of *Neisseria gonorrhoeae* with decreased susceptibility to ceftriaxone in Japan. *Emerg Infect Dis.* 2016;22:142–4.
78. Demczuk W, Lynch T, Martin I, Domselaar GV, Graham M, Bharat A, et al. Whole-genome phylogenomic heterogeneity of *Neisseria gonorrhoeae* isolates with decreased cephalosporin susceptibility collected in Canada between 1989 and 2013. *J Clin Microbiol.* 2015;53:191–200.
79. Demczuk W, Martin I, Peterson S, Bharat A, Domselaar GV, Graham M, et al. Genomic epidemiology and molecular resistance mechanisms of azithromycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Canada from 1997 to 2014. *J Clin Microbiol.* 2016;54:1304–13.
80. Demczuk W, Sidhu S, Unemo M, Whiley DM, Allen VG, Dillon JR, et al. *Neisseria gonorrhoeae* sequence typing for antimicrobial resistance, a novel antimicrobial resistance multilocus typing scheme for tracking global dissemination of *N. gonorrhoeae* strains. *J Clin Microbiol.* 2017;55:1454–68.

81. Deng X, Allan-Blitz LT, Klausner JD. Using the genetic characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* strains with decreased susceptibility to cefixime to develop a molecular assay to predict cefixime susceptibility. *Sex Health* [Internet]. 2019;16(5):488–99. Available from: doi:10.1071/SH18227.
82. Dillon JA. Sustainable antimicrobial surveillance programs essential for controlling *Neisseria gonorrhoeae* superbug. *Sex Transm Dis* [Internet]. 2011;38(10):899–901. Available from: doi: 10.1097/OLQ.0b013e318232459b.
83. Domeika M, Litvinenko I, Smirnova T, Gaivaronskaya O, Savicheva A, Sokolovskiy E, et al. Laboratory diagnostics for non-viral sexually transmitted infections in St. Petersburg, Russia: current situation and hallmarks for improvements. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008;22:1094–100.
84. Domeika M, Savicheva A, Sokolovskiy E, Ballard R, Unemo M; Eastern European Network for Sexual and Reproductive Health (EE SRH Network). Quality enhancements and quality assurance of laboratory diagnosis of sexually transmitted infections in Eastern Europe. *Int J STD AIDS*. 2009;20:365–7.
85. Dong HV, Klausner JD. *Neisseria gonorrhoeae* resistance driven by antibiotic use. *Nat Rev Urol* [Internet]. 2019;16(9):509–10. Available from: doi: 10.1038/s41585-019-0206-2.
86. Edwards JL, Jennings MP, Apicella MA, Seib KL. Is gonococcal disease preventable? The importance of understanding immunity and pathogenesis in vaccine development. *Crit Rev Microbiol* [Internet]. 2016;42(6):928–41. Available from: doi:10.3109/1040841X.2015.1105782.
87. El-Rami FE, Zielke RA, Wi T, Sikora AE, Unemo M. Quantitative proteomics of the 2016 WHO *Neisseria gonorrhoeae* reference strains surveys vaccine candidates and antimicrobial resistance determinants. *Mol Cell Proteomics*. 2019;18:127–50.
88. European Centre for Disease Prevention and Control. Disease data from ECDC Surveillance Atlas – gonorrhoea [Internet]. [cited 2020 June 02]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/gonorrhoea/surveillance-and-disease-data/disease-data-atlas>.

89. European Centre for Disease Prevention and Control. Gonococcal antimicrobial susceptibility surveillance in Europe, 2016 [Internet]. Stockholm: ECDC; 2018 [cited 2020 June 02]. Available from: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/EURO-GASP-report-2016.pdf>.

90. European Centre for Disease Prevention and Control. Response plan to control and manage the threat of multidrug-resistant gonorrhoea in Europe [Internet]. Stockholm: ECDC; 2012 [cited 2020 June 02]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/1206-ECDC-MDR-gonorrhoea-response-plan.pdf>.

91. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 10.0 [Internet]. 2020 [cited 2020 June 02]. Available from: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_10.0_Breakpoint_Tables.pdf.

92. Eyre DW, De Silva D, Cole K, Peters J, Cole MJ, Grad YH, et al. WGS to predict antibiotic MICs for *Neisseria gonorrhoeae*. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2017;72(7):1937–47. Available from: doi:10.1093/jac/dkx067.

93. Eyre DW, Golparian D, Unemo M. Prediction of minimum inhibitory concentrations of antimicrobials for *Neisseria gonorrhoeae* using whole-genome sequencing. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2019;1997:59–76. Available from: doi:10.1007/978-1-4939-9496-0_4.

94. Eyre DW, Sanderson ND, Lord E, Regisford-Reimmer N, Chau K, Barker L, et al. Gonorrhoea treatment failure caused by a *Neisseria gonorrhoeae* strain with combined ceftriaxone and high-level azithromycin resistance, England, February 2018. *Euro Surveill*. 2018;23(27):1800323.

95. Ezewudo MN, Joseph SJ, Castillo-Ramirez S, Dean D, Del Rio C, Didelot X, et al. Population structure of *Neisseria gonorrhoeae* based on whole genome data and its relationship with antibiotic resistance. *PeerJ*. 2015;3:e806.

96. Fifer H, Natarajan U, Jones L, Alexander S, Hughes G, Golparian D, et al. Failure of dual antimicrobial therapy in treatment of gonorrhoea. *N Engl J Med*. 2016;374:2504–6.
97. Gaines WL, Harrod JR, Lehmkuhl JF. Monitoring biodiversity: quantification and interpretation. General Technical Report PNW-GTR-443, USDA Forest Service, Pacific North-West Research Station, 1999.
98. Gales AC, Jones RN, Andrade SS, Pereira AS, Sader HS. In vitro activity of tigecycline, a new glycycline, tested against 1,326 clinical bacterial strains isolated from Latin America. *Braz J Infect Dis*. 2005;9(5):348–56.
99. Garrett N, Mitchev N, Osman F, Naidoo J, Dorward J, Singh R, et al. Diagnostic accuracy of the Xpert CT/NG and OSOM Trichomonas Rapid assays for point-of-care STI testing among young women in South Africa: a cross-sectional study. *BMJ Open* [Internet]. 2019;9(2):e026888. Available from: doi:10.1136/bmjopen-2018-026888.
100. Gianecini R, Oviedo C, Stafforini G, Galarza P. *Neisseria gonorrhoeae* resistant to ceftriaxone and cefixime, Argentina. *Emerg Infect Dis*. 2016;22:1139–41.
101. Gianecini RA, Golparian D, Zittermann S, Litvik A, Gonzalez S, Oviedo C, et al. Genome-based epidemiology and antimicrobial resistance determinants of *Neisseria gonorrhoeae* isolates with decreased susceptibility and resistance to extended-spectrum cephalosporins in Argentina in 2011–16. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74:1551–9.
102. Giomi B, Silvestri C, Bravi S, Foretic M, Zuccati G, Martini P, et al. Epidemiological and clinical characteristics of patients attending STI clinics in Tuscany, Italy: a multicenter report on new infections in 2011. *G Ital Dermatol Venereol*. 2015;150(2):135–41.
103. Glazkova S, Golparian D, Titov L, Pankratova N, Suhabokava N, Shimanskaya I, et al. Antimicrobial susceptibility/resistance and molecular epidemiological characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* in 2009 in Belarus. *APMIS*. 2011;119:537–42.

104. Golparian D, Donà V, Sánchez-Busó L, Foerster S, Harris S, Endimiani A, et al. Antimicrobial resistance prediction and phylogenetic analysis of *Neisseria gonorrhoeae* isolates using the Oxford Nanopore MinION sequencer. *Sci Rep* [Internet]. 2018;8(1):17596. [cited 2018 Dec 4]. Available from: doi:10.1038/s41598-018-35750-4.
105. Golparian D, Harris SR, Sánchez-Busó L, Hoffmann S, Shafer WM, Bentley SD, et al. Genomic evolution of *Neisseria gonorrhoeae* since the preantibiotic era (1928–2013): antimicrobial use/misuse selects for resistance and drives evolution. *BMC Genomics*. 2020;21(1):116.
106. Golparian D, Ohlsson A, Janson H, Lidbrink P, Richtner T, Ekelund O, et al. Four treatment failures of pharyngeal gonorrhoea with ceftriaxone (500 mg) or cefotaxime (500 mg), Sweden, 2013 and 2014. *Euro Surveill*. 2014;19(30):20862.
107. Golparian D, Rose L, Lynam A, Mohamed A, Bercot B, Ohnishi M, et al. Multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolate, belonging to the internationally spreading Japanese FC428 clone, with ceftriaxone resistance and intermediate resistance to azithromycin in Ireland, August 2018. *Euro Surveill*. 2018;23(47):1800617.
108. Golparian D, Tabrizi SN, Unemo M. Analytical specificity and sensitivity of the APTIMA Combo 2 and APTIMA GC Assays for detection of commensal *Neisseria species* and *Neisseria gonorrhoeae* on the Gen-Probe Panther Instrument. *Sex Transm Dis*. 2013;40:175–8.
109. Gottlieb SL, Johnston C. Future prospects for new vaccines against sexually transmitted infections. *Curr Opin Infect Dis* [Internet]. 2017;30(1):77– 86. Available from: doi: 10.1097/QCO.0000000000000343.
110. Grad YH, Harris SR, Kirkcaldy RD, Green AG, Marks DS, Bentley SD, et al. Genomic epidemiology of gonococcal resistance to extended-spectrum cephalosporins, macrolides, and fluoroquinolones in the United States, 2000– 2013. *J Infect Dis*. 2016;214:1579–87.
111. Grad YH, Kirkcaldy RD, Trees D, Dordel J, Harris SR, Goldstein E, et al. Genomic epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* with reduced susceptibility to

cefixime in the USA: a retrospective observational study. *Lancet Infect Dis.* 2014;14:220–6.

112. Gratrix J, Kamruzzaman A, Martin I, Smyczek P, Read R, Bertholet L, et al. Surveillance for Antimicrobial Resistance in Gonorrhoea: The Alberta Model, 2012–2016. *Antibiotics (Basel)*. 2018;7(3):63.

113. Guy RJ, Causer LM, Klausner JD, Unemo M, Toskin I, Azzini AM, et al. Performance and operational characteristics of point-of-care tests for the diagnosis of urogenital gonococcal infections. *Sex Transm Infect.* 2017;93(S4):S16–S21.

114. Hall CL, Harrison MA, Pond MJ, Chow C, Harding-Esch EM, Sadiq ST. Genotypic determinants of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Sex Health [Internet]*. 2019;16(5):479–87. Available from: doi: 10.1071/SH18225.

115. Harris SR, Cole MJ, Spiteri G, Sánchez-Busó L, Golparian D, Jacobsson S, et al. Public health surveillance of multidrug-resistant clones of *Neisseria gonorrhoeae* in Europe: a genomic survey. *Lancet Infect Dis.* 2018;18:758–68.

116. Harrison OB, Cehovin A, Skett J, Jolley KA, Massari P, Genco CA, et al. *Neisseria gonorrhoeae* Population Genomics: use of the gonococcal core genome to improve surveillance of antimicrobial resistance. *J Infect Dis [Internet]*. 2020;jiaa002. Available from: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa002>.

117. Harrison OB, Schoen C, Retchless AC, Wang X, Jolley KA, Bray JE, et al. *Neisseria* genomics: current status and future perspectives. *Pathog Dis [Internet]*. 2017;75(6):ftx060. Available from: doi: 10.1093/femspd/ftx060.

118. Hathorn E, Ng A, Page M, Hodson J, Gaydos C, Ross JD. A service evaluation of the Gen-Probe APTIMA nucleic acid amplification test for *Trichomonas vaginalis*: should it change whom we screen for infection? *Sex Transm Infect.* 2015;91:81–6.

119. Herbst de Cortina S, Bristow CC, Joseph Davey D, Klausner JD. A Systematic Review of Point of Care Testing for *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria*

gonorrhoeae, and *Trichomonas vaginalis*. Infect Dis Obstet Gynecol [Internet]. 2016;2016:4386127. Available from: doi: 10.1155/2016/4386127.

120. Hernando Rovirola C, Spiteri G, Sabidó M, Montoliu A, Gonzales V, Casabona J, et al. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolates from foreign-born population in the European Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme. Sex Transm Infect. 2020;96(3):204–10.

121. Hook EW 3rd, Kirkcaldy RD. A Brief History of Evolving Diagnostics and Therapy for Gonorrhea: Lessons Learned. Clin Infect Dis [Internet]. 2018;67(8):1294–1299. Available from: doi: 10.1093/cid/ciy271.

122. Horner PJ, Blee K, Falk L, Meijden W, Moi H. 2016 European guideline on the management of non-gonococcal urethritis. Int J STD AIDS. 2016;27:928–37.

123. International Organization for Standardization. ISO 15189:2012. Medical laboratories – Requirements for quality and competence. Switzerland: International Organization for Standardization; 2012.

124. Ito S, Hanaoka N, Shimuta K, Seike K, Tsuchiya T, Yasuda M, et al. Male non-gonococcal urethritis: From microbiological etiologies to demographic and clinical features. Int J Urol. 2016;23:325–31.

125. Jacobsson S, Boiko I, Golparian D, et al. WHO laboratory validation of Xpert®CT/NG and Xpert®TV on the GeneXpert system verifies high performances. APMIS. 2018;126(12):907–12.

126. Jacobsson S, Golparian D, Cole M, Spiteri G, Martin I, Bergheim T, et al. WGS analysis and molecular resistance mechanisms of azithromycin-resistant (MIC > 2 mg/L) *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Europe from 2009 to 2014. J Antimicrob Chemother. 2016;71(11):3109–16.

127. Janier M, Hegyi V, Dupin N, Unemo M, Tiplica GS, Potočnik M. 2014 European guideline on the management of syphilis. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2014;28(12):1581–93.

128. Jensen JS, Cusini M, Gomberg M, Moi H. 2016 European guideline on *Mycoplasma genitalium* infections. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;30:1650–6.
129. Jeverica S, Golparian D, Matičič M, Potočnik M, Mlakar B, Unemo M. Phenotypic and molecular characterization of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Slovenia, 2006–12: rise and fall of the multidrug-resistant NG-MAST genogroup 1407 clone? *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:1517–25.
130. Jordan NN, Jett-Goheen M, Hsieh YH, Gaydos JC, Gaydos CA. Detection of three sexually transmitted infections by anatomic site: evidence from an internet-based screening program. *Sex Transm Dis*. 2020;47(4):243–5.
131. Kenyon C, Buyze J, Spiteri G, Cole MJ, Unemo M. Population-level antimicrobial consumption is associated with decreased antimicrobial susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae* in 24 European Countries: an ecological analysis. *J Infect Dis*. 2020;221(7):1107–16.
132. Kirkcaldy RD, Weston E, Segurado AC, Hughes G. Epidemiology of gonorrhoea: a global perspective. *Sexual Health*. 2019;16:401–11.
133. Ko KKK, Chio MTW, Goh SS, Tan AL, Koh TH, Abdul Rahman NB. First case of ceftriaxone-resistant multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Singapore. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019;63:e02624–18.
134. Kowalski RP, Karenchak LM, Raju LV, Ismail N. The verification of nucleic acid amplification testing (Gen-Probe Aptima Assay) for *Chlamydia trachomatis* from ocular samples. *Ophthalmology*. 2015;122:244–7.
135. Kubanov A, Vorobyev D, Chestkov A, Leinsoo A, Shaskolskiy B, Dementieva E, et al. Molecular epidemiology of drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Russia (Current Status, 2015). *BMC Infect Dis*. 2016;16:389.
136. Kubanova A, Frigo N, Kubanov A, Sidorenko S, Lesnaya I, Polevshikova S, et al. The Russian gonococcal antimicrobial susceptibility programme (RU- GASP) – national resistance prevalence in 2007 and 2008, and trends during 2005–2008. *Euro Surveill*. 2010;15(14).pii:19533.

137. Kubanova A, Frigo N, Kubanov A, Sidorenko S, Priputnevich T, Vachnina T, et al. National surveillance of antimicrobial susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae* in 2005–2006 and recommendations of first-line antimicrobial drugs for gonorrhoea treatment in Russia. *Sex Transm Infect.* 2008;84:285–9.
138. Kubanova A, Kubanov A, Frigo N, Solomka V, Semina V, Vorobyev D, et al. Russian gonococcal antimicrobial susceptibility programme (RU-GASP) – resistance in *Neisseria gonorrhoeae* during 2009–2012 and NG-MAST genotypes in 2011 and 2012. *BMC Infect Dis.* 2014;14(1):342.
139. Reddy BSN, Khandpur S, Sethi S, Unemo M. Gonococcal infections. In: Kumar B, Gupta S, editors. *Sexually Transmitted Infections*. 2nd rev. ed. New Delhi: Elsevier; 2011. pp. 473–93.
140. Lahra MM, Martin I, Demczuk W, Jennison AV, Lee KI, Nakayama SI, et al. Cooperative recognition of internationally disseminated ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(4): 735–40.
141. Lahra MM, Ryder N, While DM. A new multidrug-resistant strain of *Neisseria gonorrhoeae* in Australia. *N Engl J Med.* 2014;371:1850–1.
142. Lanjouw E, Ouburg S, de Vries HJ, Stary A, Radcliffe K, Unemo M. 2015 European guideline on the management of Chlamydia trachomatis infections. *Int J STD AIDS.* 2016;27:333–48.
143. Lazenby GB, Soper DE, Nolteb FS. Correlation of Leukorrhoea and Trichomonas vaginalis Infection. *J Clin Microbiol.* 2013;51:2323–7.
144. Lebedzeu F, Golparian D, Titov L, Pankratava N, Glazkova S, Shimanskaya I, et al. Antimicrobial susceptibility/resistance and NG-MAST characterisation of *Neisseria gonorrhoeae* in Belarus, Eastern Europe, 2010– 2013. *BMC Infect Dis.* 2015;15(1):29.
145. Lefebvre B, Martin I, Demczuk W, Deshaies L, Michaud S, Labbé AC, et al. Ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*, Canada, 2017. *Emerging Infect Dis.* 2018;24:381–3.

146. Li R, Zhao G, Li J, McGoogan JM, Zhou C, Zhao Y, et al. HIV screening among patients seeking care at Xuanwu Hospital: A cross-sectional study in Beijing, China, 2011–2016. *PLoS One*. 2018;13(12):e0208008.
147. Loo LS, Cisera K, Korman TM, Woolley I. Management of gonorrhoea in a hospital network: are we following best practice? *Sex Health* [Internet]. 2019;16(5):523–525. Available from: doi: 10.1071/SH19018.
148. Low N, Unemo M. Molecular tests for the detection of antimicrobial resistant *Neisseria gonorrhoeae*: when, where, and how to use? *Curr Opin Infect Dis* [Internet]. 2016;29(1):45–51. Available from: doi: 10.1097/QCO.0000000000000230.
149. Mann LM, Kirkcaldy RD, Papp JR, Torrone EA. Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to Gentamicin-Gonococcal Isolate Surveillance Project, 2015–2016. *Sex Transm Dis*. 2018;45(2):96–8.
150. Martin IM, Hoffmann S, Ison CA; ESSTI Network. European Surveillance of Sexually Transmitted Infections (ESSTI): the first combined antimicrobial susceptibility data for *Neisseria gonorrhoeae* in Western Europe. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58:587–93.
151. Mavrov GI, Bondarenko GM. The evolution of sexually transmitted infections in the Ukraine. *Sex Transm Infect*. 2002;78(3):219–21.
152. Mensforth S, Ross JDC. Should we still use azithromycin for gonorrhoea treatment? *Sex Health* [Internet]. 2019;16(5):442–8. Available from: doi:10.1071/SH19016.
153. Meyer T, Buder S. The Laboratory Diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae*: Current Testing and Future Demands. *Pathogens*. 2020;9(2):E91.
154. Miller IF, Schneider-Crease I, Nunn CL, Muehlenbein MP. Estimating infection prevalence: Best practices and their theoretical underpinnings. *Ecol Evol*. 2018;8(13):6738–47.
155. Mlynarczyk-Bonikowska B, Malejczyk M, Majewski S, Unemo M. Antibiotic resistance and NG-MAST sequence types of *Neisseria gonorrhoeae*

isolates in Poland compared to the world. *Postepy Dermatol Alergol.* 2018;35(6):346–551.

156. Mlynarczyk-Bonikowska B, Serwin AB, Golparian D, Walter De Walthoffen S, Majewski S, Koper M, et al. Antimicrobial susceptibility/resistance and genetic characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Poland, 2010–2012. *BMC Infect Dis.* 2014;14:65.

157. Morel F, Jacquier H, Desroches M, Fihman V, Kumanski S, Cambau E, et al. Use of Andromas and Bruker MALDI-TOF MS in the identification of *Neisseria*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2018;37(12):2273–7. Available from: doi: 10.1007/s10096-018-3368-6.

158. Nakayama S-I, Shimuta K, Furubayashi K-I, Kawahata T, Unemo M, Ohnishi M. New ceftriaxone and multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain with a novel mosaic penA gene isolated in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60:4339–41.

159. Nathan B, Appiah J, Saunders P, Heron D, Nichols T, Brum R, et al. Microscopy outperformed in a comparison of five methods for detecting *Trichomonas vaginalis* in symptomatic women. *Int J STD AIDS.* 2015;26:251–6.

160. 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.

161. Nye MB, Schwebke JR, Body BA. Comparison of APTIMA *Trichomonas vaginalis* transcription-mediated amplification to wet mount microscopy, culture, and polymerase chain reaction for diagnosis of trichomoniasis in men and women. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;200:188.e1–7.

162. Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea? Detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:3538–45.

163. Olsen CC, Schwebke JR, Benjamin WH Jr, Beverly A, Waites KB. Comparison of direct inoculation and Copan transport systems for isolation of *Neisseria gonorrhoeae* from endocervical specimens. *J Clin Microbiol.* 1999;37:3583–5.
164. Ong JJ, Wi T, Hughes G, Williamson DA, Mayaud P, Chow EPF. Gonorrhoea: tackling the global epidemic in the era of rising antimicrobial resistance. *Sex Health* [Internet]. 2019;16(5):397–400. Available from: doi: 10.1071/SH19121.
165. Pai M, Ghiasi M, Pai NP. Point-of-care diagnostic testing in global health: what is the point? *Microbe.* 2015;10:103–7.
166. Paula A, Da Costa-Lourenço R, Barros KT, Santos D, Moreira BM, Longo Fracalanza SE, et al. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: history, molecular mechanisms and epidemiological aspects of an emerging global threat *Neisseria gonorrhoeae* infections: symptoms, surveillance and treatment. *Brazilian J Microbiol.* 2017;48:617–28.
167. Paynter J, Goodyear-Smith F, Morgan J, Saxton P, Black S, Petousis-Harris H. Effectiveness of a Group B Outer Membrane Vesicle Meningococcal Vaccine in Preventing Hospitalization from Gonorrhoea in New Zealand: A Retrospective Cohort Study. *Vaccines (Basel)* [Internet]. 2019;7(1):5. Available from: doi: 10.3390/vaccines7010005.
168. Peters J, Cresswell F, Amor L, Cole K, Dean G, Didelot X, et al. Whole genome sequencing of *Neisseria gonorrhoeae* reveals transmission clusters involving patients of mixed HIV serostatus. *Sex Transm Infect.* 2018;94:138–43.
169. Phillips TR, Fairley CK, Chen MY, Bradshaw CS, Chow EPF. Risk factors for urethral gonorrhoea infection among heterosexual males in Melbourne, Australia: 2007–17. *Sex Health* [Internet]. 2019;16(5):508–13. Available from: doi: 10.1071/SH19027.
170. Poncin T, Fouere S, Braille A, Camelena F, Agsous M, Bebear C, et al. Multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* failing treatment with ceftriaxone and doxycycline in France, November 2017. *Euro Surveill.* 2018;23(21):1800264.

171. Poncin T, Merimeche M, Braille A, Mainardis M, Bebear C, Jacquier H, et al. Two cases of multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* related to travel in south-eastern Asia, France, June 2019. *Euro Surveill.* 2019;24:1900528.

172. Quillin SJ, Seifert HS. *Neisseria gonorrhoeae* host adaptation and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2018;16(4):226–40. Available from: doi: 10.1038/nrmicro.2017.169.

173. Radebe F, Gumede L, Ricketts C, Vezi A, Maseko V, Lewis DA. The evaluation and comparison of two transport media for the growth, holding and transport of *Neisseria gonorrhoeae*. *Int. J. Med. Biomed Sci.* 2014;2(3):39–45.

174. Read PJ, Linnios EA, McNulty A, Whiley D, Lahra MM. One confirmed and one suspected case of pharyngeal gonorrhoea treatment failure following 500 mg ceftriaxone in Sydney, Australia. *Sex Health.* 2013;10:460–2.

175. Richardson JT. The analysis of 2×2 contingency tables--yet again. *Stat Med.* 2011;30(8):890-892. doi:10.1002/sim.4116.

176. Romanowski B, Robinson J, Wong T. Gonococcal infections chapter. Canadian guidelines on sexually transmitted infections [Internet]. Wong T, Latham-Carmanico C, editors. Ottawa, ON: Public Health Agency of Canada; 2013. [cited 2020 June 02]. Available from: <http://www.phac-aspc.gc.ca/std-mts/sti-its/cgsti-ldcits/assets/pdf/section-5-6-eng.pdf>.

177. Rowley J, Vander Hoorn S, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad LJ, et al. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. *Bull World Health Organ.* 2019;97(8):548–62.

178. Rumyantseva T, Golparian D, Nilsson CS, Johansson E, Falk M, Fredlund H, et al. Evaluation of the new AmpliSens multiplex real-time PCR assay for simultaneous detection of *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, and *Trichomonas vaginalis*. *APMIS.* 2015;123:879–86.

179. Sánchez-Busó L, Golparian D, Corander J, Grad YH, Ohnishi M, Flemming R, et al. The impact of antimicrobials on gonococcal evolution. *Nat Microbiol.* 2019;4:1941–50.

180. Schmidt K, Mwaigwisya S, Crossman LC, Doumith M, Munroe D, Pires C, et al. Identification of bacterial pathogens and antimicrobial resistance directly from clinical urines by nanopore-based metagenomic sequencing. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2017;72(1):104–14. Available from: doi:10.1093/jac/dkw397.
181. Schwarz S, Silley P, Simjee S, Woodford N, van Duijkeren E, Johnson AP, et al. Editorial: Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2010;65(4):601–4.
182. Serra-Pladevall J, Caballero E, Roig G, Juvé R, Barbera MJ, Andreu A. Comparison between conventional culture and NAATs for the microbiological diagnosis in gonococcal infection. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015;83(4):341–3.
183. Sherrard J, Wilson J, Donders G, Mendling W, Jensen JS. 2018 European (IUSTI/WHO) International Union against sexually transmitted infections (IUSTI) World Health Organization (WHO) guideline on the management of vaginal discharge. *Int J STD AIDS*. 2018;29:1258–72.
184. Shipitsyna E, Savicheva A, Solokovskiy E, Ballard RC, Domeika M, Unemo M, et al. Guidelines for the laboratory diagnosis of *Mycoplasma genitalium* infections in East European countries. *Acta Derm Venereol*. 2010;90:461–7.
185. Silveira MF, Bruni MP, Stauffert D, Golparian D, Unemo M. Prevalence and risk factors associated with *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Mycoplasma genitalium* among women in Pelotas, Southern Brazil. *Int J STD AIDS*. 2020;31(5):432–9.
186. Spence JM, Wright L, Clark VL. Laboratory Maintenance of *Neisseria gonorrhoeae*. *Current Protocols in Microbiology*. 2008;8:4A.1.1–4A.1.26.
187. Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*. 2014;30(9):1312–1313.
188. Suay-García B, Teresa Pérez-Gracia M. Future Prospects for *Neisseria gonorrhoeae* Treatment. *Antibiotics*. 2018;7(2):49.
189. Tabrizi SN, Unemo M, Limnios AE, Hogan TR, Hjelmevoll SO, Garland SM, et al. Evaluation of six commercial nucleic acid amplification tests for

detection of *Neisseria gonorrhoeae* and other *Neisseria* species. *J Clin Microbiol.* 2011;49:3610–5.

190. Tapsall J, Read P, Carmody C, Bourne C, Ray S, Limnios A, et al. Two cases of failed ceftriaxone treatment in pharyngeal gonorrhoea verified by molecular microbiological methods. *J Med Microbiol.* 2009;58(Pt 5):683–7.

191. Tapsall J. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* [Internet]. Geneva: World Health Organization Document Production Services; 2001 [cited 2020 June 02]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/66963/WHO_CDS_CSR_DRS_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

192. Tapsall JW, Ndowa F, Lewis DA, Unemo M. Meeting the public health challenge of multidrug- and extensively drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2009;7(7):821–34.

193. Terkelsen D, Tolstrup J, Johnsen CH, Lund O, Larsen HK, Worning P, et al. Multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* infection with ceftriaxone resistance and intermediate resistance to azithromycin, Denmark, 2017. *Euro Surveill.* 2017;22(42):17–00659.

194. Thorley N, Radcliffe K. The performance and clinical utility of cervical microscopy for the diagnosis of gonorrhoea in women in the era of the NAAT. *Int J STD AIDS.* 2015;26:656–60.

195. Toskin I, Govender V, Blondeel K, Murtagh M, Unemo M, Zemouri C, et al. Call to action for health systems integration of point-of-care testing to mitigate the transmission and burden of sexually transmitted infections. *Sex Transm Infect* [Internet]. 2020;sextrans-2019-054358. Available from: doi: 10.1136/sextrans-2019-054358.

196. Tsadik M, Berhane Y, Worku A, Terefe W. The magnitude of, and factors associated with, loss to follow-up among patients treated for sexually transmitted infections: a multilevel analysis. *BMJ Open* [Internet]. 2017;7(7):e016864. Available from: doi: 10.1136/bmjopen-2017-016864.

197. Tshokey T, Tshering T, Pradhan AR, Adhikari D, Sharma R, Gurung K, et al. Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoea* and treatment outcomes of gonococcal urethritis suspected patients in two large hospitals in Bhutan, 2015. *PLoS One*. 2018;13(8):e0201721.

198. UNAIDS/WHO Working Group on Global HIV/AIDS and STI Surveillance. Strategies and laboratory methods for strengthening surveillance of sexually transmitted infections 2012 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2012. [cited 2020 June 02]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75729/1/9789241504478_eng.pdf.

199. Unemo M, Althaus CL. Fitness cost and benefit of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: Multidisciplinary approaches are needed. *PLoS Med* [Internet]. 2017;14(10):e1002423. Available from: doi: 10.1371/journal.pmed.1002423.

200. Unemo M, Ballard R, Ison C, Lewis D, Ndowa F, Peeling R, editors. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. Geneva: World Health Organization Document Production Services; 2013. 244 p.

201. Unemo M, Bradshaw CS, Hocking JS, de Vries HJC, Francis SC, Mabey D, et al. Sexually transmitted infections: challenges ahead. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(8):e235–79.

202. Unemo M, Brooks B, Cole M, Ross JDC, White JA, Patel R. Does the ‘2012 IUSTI ECCG report on the diagnosis and management of *Neisseria gonorrhoeae* infections in Europe’ depict the situation in Europe? *Int J STD AIDS*. 2013;24:423–6.

203. Unemo M, Clarke E, Boiko I, Patel C, Patel R. Adherence to the 2012 European Gonorrhoea Guideline in the WHO European Region According to the 2018–19 International Union against Sexually Transmitted Infections European Collaborative Clinical Group Gonorrhoea Survey. *International Journal of STD & AIDS*. 2020;31(1):69–76.

204. Unemo M, Del Rio C, Shafer WM. Antimicrobial Resistance Expressed by *Neisseria gonorrhoeae*: A Major Global Public Health Problem in the 21st Century. *Microbiol Spectr*. 2016;4:10.

205. Unemo M, Dillon JA. Review and international recommendation of methods for typing *Neisseria gonorrhoeae* isolates and their implications for improved knowledge of gonococcal epidemiology, treatment, and biology. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24:447–58.

206. Unemo M, Fasth O, Fredlund H, Limnios A, Tapsall J. Phenotypic and genetic characterization of the 2008 WHO *Neisseria gonorrhoeae* reference strain panel intended for global quality assurance and quality control of gonococcal antimicrobial resistance surveillance for public health purposes. *J Antimicrob Chemother*. 2009;63:1142–51.

207. Unemo M, Golparian D WMS. Challenges with antimicrobial susceptibility testing for *Neisseria gonorrhoeae* in the era of extensively drug-resistant gonorrhoea – molecular antimicrobial resistance testing crucial. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014;12(6):653–6.

208. Unemo M, Golparian D, Hestner A. Ceftriaxone treatment failure of pharyngeal gonorrhoea verified by international recommendations, Sweden, July 2010. *Euro Surveill*. 2011;16(6):1–3.

209. Unemo M, Golparian D, Nicholas R, Ohnishi M, Gallay A, Sednaoui P. High-level cefixime- and ceftriaxone-resistant *N. gonorrhoeae* in France: novel penA mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:1273–80.

210. Unemo M, Golparian D, Potonik M, Jeverica S. Treatment failure of pharyngeal gonorrhoea with internationally recommended first-line ceftriaxone verified in Slovenia, September 2011. *Euro Surveill*. 2012;17(25):20200.

211. Unemo M, Golparian D, Sánchez-Busó L, Grad Y, Jacobsson S, Ohnishi M, et al. The novel 2016 WHO *Neisseria gonorrhoeae* reference strains for global quality assurance of laboratory investigations: Phenotypic, genetic and reference genome characterization. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71:3096–108.

212. Unemo M, Ison CA, Cole M, Spiteri G, van de Laar M, Khotenashvili L. Gonorrhoea and gonococcal antimicrobial resistance surveillance networks in the WHO European Region, including the independent countries of the former Soviet Union. *Sex Transm Infect.* 2013;89(Suppl 4):v42–iv6.

213. Unemo M, Lahra MM, Cole M, Galarza P, Ndowa F, Martin I, et al. World Health Organization Global Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program (WHO GASP): review of new data and evidence to inform international collaborative actions and research efforts. *Sex Health.* 2019;16(5):412–25.

214. Unemo M, Seifert HS, Hook EW 3rd, Hawkes S, Ndowa F, Dillon JR. Gonorrhoea. *Nat Rev Dis Primers.* 2019;5(1):79.

215. Unemo M, Shafer WM. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st Century: Past, evolution, and future. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27:587–613.

216. Unemo M. Current and future antimicrobial treatment of gonorrhoea – the rapidly evolving *Neisseria gonorrhoeae* continues to challenge. *BMC Infect Dis.* 2015;15(1):364.

217. Vicentini CB, Manfredini S, Maritati M, Di Nuzzo M, Contini C. Gonorrhoea, a current disease with ancient roots: from the remedies of the past to future perspectives. *Infez Med.* 2019;27(2):212–21.

218. Vickerman P, Watts C, Alary M, Mabey D, Peeling RW. Sensitivity requirements for the point of care diagnosis of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in women. *Sex Transm Infect* [Internet]. 2003;79(5):363–7. Available from: doi: 10.1136/sti.79.5.363.

219. Wadsworth CB, Arnold BJ, Sater MRA, Grad YH. Azithromycin resistance through interspecific acquisition of an epistasis-dependent efflux pump component and transcriptional regulator in *Neisseria gonorrhoeae*. *mBio.* 2018;9:e01419–18.

220. Weston EJ, Wi T, Papp J. Strengthening global surveillance for antimicrobial drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* through the enhanced

gonococcal antimicrobial surveillance program. *Emerg Infect Dis.* 2017;23(13):S47–S52.

221. Weston EJ, Workowski K, Torrone E, Weinstock H, Stenger MR. Adherence to CDC Recommendations for the Treatment of Uncomplicated Gonorrhea – STD Surveillance Network, United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2018;67:473–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6716a4>.

222. Whiley DM, Jennison A, Pearson J, Lahra MM. Genetic characterization of *Neisseria gonorrhoeae* resistant to both ceftriaxone and azithromycin. *Lancet Infect Dis.* 2018;18:717–8.

223. Wi T, Lahra MM, Ndowa F, Bala M, Dillon JR, Ramon-Pardo P, et al. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: Global surveillance and a call for international collaborative action. *PLoS Med.* 2017;14:e1002344.

224. Wi TE, Ndowa FJ, Ferreyra C, Kelly-Cirino C, Taylor MM, Toskin I, et al. Diagnosing sexually transmitted infections in resource-constrained settings: challenges and ways forward. *J Int AIDS Soc* [Internet]. 2019;22 Suppl 6(Suppl Suppl 6):e25343. Available from: doi: 10.1002/jia2.25343.

225. Wind CM, de Vries HJ, Schim van der Loeff MF, Unemo M, van Dam AP. Successful Combination of Nucleic Acid Amplification Test Diagnostics and Targeted Deferred *Neisseria gonorrhoeae* Culture. *J Clin Microbiol.* 2015;53(6):1884–90.

226. Workowski KA, Bolan GA; Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep.* 2015;64(RR-03):1–137.

227. World Health Organization (WHO). Global action plan to control the spread and impact of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* [Internet]. Geneva: WHO; 2012 [cited 2020 June 02]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44863>.

228. World Health Organization (WHO). WHO guidelines for the treatment of *Neisseria gonorrhoeae* [Internet]. Geneva: WHO; 2016 [cited 2020 June 02].

Available from:
<http://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/gonorrhoea-treatment-guidelines/en/>.

229. World Health Organization. Report on global sexually transmitted infection surveillance, 2018 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2018. [cited 2020 June 02]. Available from: <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/stis-surveillance-2018/en/>.

230. Zhu W, Chen CJ, Thomas CE, Anderson JE, Jerse AE, Sparling PF. Vaccines for gonorrhea: can we rise to the challenge? *Front Microbiol* [Internet]. 2011;2:124. Available from: doi: 10.3389/fmicb.2011.00124.

231. Zienkiewicz AK, Verschueren van Rees N, Homer M, Ong JJ, Christensen H, Hill D, et al. Agent-based modelling study of antimicrobial-resistant *Neisseria gonorrhoeae* transmission in men who have sex with men: towards individualised diagnosis and treatment. *Sex Health* [Internet]. 2019;16(5):514–22. Available from: doi: 10.1071/SH18235.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

**АНКЕТА ОЦІНКИ МОЖЛИВОСТЕЙ ДІАГНОСТИКИ
ГОНОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ**

1. Назва закладу.
2. Поштова адреса, контактні телефони, електронна пошта.
3. Керівник закладу.
4. Назва лабораторії закладу.
5. Завідувач лабораторії (П.І.П., контактний телефон, електронна пошта).

Таблиця А.1

**Кількісні та якісні показники обстеження пацієнтів Вашого закладу на
гонококову інфекцію за 2013 рік та 9 місяців 2014 року**

Звітний період	Всього осіб обстежено	З них кількість осіб, у яких виявлено гонококи	Частка осіб, у яких було виявлено гонококи, %
2013 рік			
9 місяців 2014 року			

Таблиця А.2

Методи діагностики гонококової інфекції у Вашій лабораторії

Повна назва методу дослідження	Комерційна назва набору реактивів (барвників / поживних середовищ) та країна виробник	Призначення методу дослідження

Таблиця А.3

Виявлення гонококової інфекції різними методами дослідження за 2013 рік

Методи дослідження на гонококову інфекцію у Вашій лабораторії	Кількість осіб, обстежених даним методом	Кількість осіб, у яких виявлено гонококи даним методом	Частка осіб, у яких було виявлено гонококи даним методом, %

Таблиця А.4

Виявлення гонококової інфекції різними методами дослідження за 9 місяців 2014 року

Методи дослідження на гонококову інфекцію у Вашій лабораторії	Кількість осіб, обстежених даним методом	Кількість осіб, у яких виявлено гонококи даним методом	Частка осіб, у яких було виявлено гонококи даним методом, %

Таблиця А.5

Культуральна діагностика гонококової інфекції

№ з / п	Запитання	Відповідь
1	2	3
1.	Чи застосовується метод культуральної діагностики гонококової інфекції	
2.	Забір біологічного матеріалу у жінок проводиться:	
	а) з піхви	
	б) з шийки матки	
	в) з уретри	
	г) з прямої кишки	
	г) з ротової порожнини	

1	2	3
3.	Забір біологічного матеріалу у чоловіків проводиться: а) з уретри	
	б) з ротової порожнини	
	в) з прямої кишки	
4.	Поживне середовище, яке використовується для культивування гонококів: а) закупається стандартне (вказати назву та виробника)	
	б) готується в лабораторії (вказати рецептуру)	
5.	В який посуд розливається поживне середовище (чашки Петрі / пробірки)	
6.	Хто проводить посів біологічних виділень (лікар / медсестра / лабораторний працівник)	
7.	Посів проводиться: а) безпосередньо на поживне середовище	
	б) пересів з транспортного середовища, якщо так, то яке транспортне середовище використовується	
8.	Середній час доставлення засіяних середовищ у лабораторію	
9.	Як витримується тепловий ланцюг під час транспортування засіяних поживних середовищ у лабораторію	
10.	Умови інкубації засіяних середовищ у лабораторії (який температурний режим, система підвищеного вмісту CO ₂ , тривалість інкубації)	
11.	Метод забезпечення інкубації посівів в системі підвищеного вмісту CO ₂	
12.	Метод ідентифікації виділених культур (оксидазний тест, мікроскопічний, біохімічний, інше)	

1	2	3
13.	Досвід лабораторії у виділенні чистих культур <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
14.	Досвід лабораторії у зберіганні чистих культур <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (рідкий азот, камера низькотемпературного холодильника при -70 °С, інше)	
15.	Досвід лабораторії у визначенні антибіотикочутливості виділених чистих культур <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
16.	Наявність системи зовнішнього контролю якості культуральної діагностики <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	

АНКЕТА «ECCG 2018 Questionnaire (Gonorrhoea)» (витяг)**1. Загальна інформація**

1. У якій країні Ви в основному залучені у роботу з інфекціями, які передаються статевим шляхом?

2. Виберіть відповідь, яка застосовується до Вашої практики (міська або сільська місцевість, державна або приватна практика, кількість населення, яке обслуговується).

3. Чи маєте Ви медичну кваліфікацію?

4. Які із зазначених професій найбільш відповідають Вам? Будь ласка, виберіть одну або більше відповідей із запропонованих (спеціаліст лабораторії, медичний спеціаліст (який безпосередньо веде пацієнтів з гонококовою інфекцією), спеціаліст громадського здоров'я, дослідник).

5. Чи ведете Ви пацієнтів з гонококовою інфекцією?

2. Діагностика гонококової інфекції

6. Чи Ви маєте лабораторне забезпечення, щоб підтвердити підозрілі випадки щодо гонококової інфекції?

7. Чи Ви маєте доступ до мікроскопічного методу для негайної діагностики гонококової інфекції у симптомних пацієнтів?

8. Чи Ви маєте доступ до культуральної діагностики гонококової інфекції?

9. Якщо так, то чи Ваша лабораторія надає профайл антибіотикорезистентності гонококів?

10. Чи Ви виконуєте рутинні тести на гонококову інфекцію у симптомних гетеросексуальних пацієнтів?

11. З яких анатомічних ділянок Ви б проводили забір біологічного матеріалу з метою скринінгу в безсимптомних гомосексуальних чоловіків із метою виключення гонококової інфекції? Будь ласка, виберіть одну або більше з наступних запропонованих відповідей (ротоглотка, пряма кишка, уретра та / або сеча).

12. Чи Ви маєте доступ до методу ампліфікації нуклеїнових кислот для діагностики гонококової інфекції?

13. Якщо так, то тест-набори якого виробника та який тип методу ампліфікації нуклеїнових кислот Ви використовуєте?

14. Чи Ви підтверджуєте усі позитивні результати, отримані за допомогою методу ампліфікації нуклеїнових кислот? Якщо так, то уточніть метод, який Ви використовуєте.

15. Чи проводити Ви зазвичай забір біологічного матеріалу з прямої кишки та ротоглотки у безсимптомних гетеросексуальних чоловіків та жінок, які не мають зв'язку із статевими партнерами із діагностованою гонококовою інфекцією (незалежно від їх анамнезу)?

3. Лікування

16 – 22. Запитання не увійшли в дану роботу.

23. Чоловік гомосексуальної поведінки скаржиться на дизурію та виділення з уретри, в анамнезі – нещодавно мав оральні статеві стосунки (реципієнт); за результатами мікроскопічного методу у мазку уретральних виділень виявлено грамнегативні диплококи. Будь ласка, зазначте, чи Ви проведете забір біологічного матеріалу і для яких лабораторних методів діагностики гонококової інфекції (уретра (культуральний метод та / або метод ампліфікації нуклеїнових кислот та / або мікроскопічний метод); ротоглотка (культуральний метод та / або метод ампліфікації нуклеїнових кислот та / або мікроскопічний метод); пряма кишка (культуральний метод та / або метод ампліфікації нуклеїнових кислот та / або мікроскопічний метод)).

24 – 29. Запитання не увійшли в дану роботу.

30. Чи Ви застосовуєте культуральний метод виділення *N. gonorrhoeae* з метою контролю виліковності? Якщо так, то через скільки днів після завершення лікування Ви запросите пацієнта повернутися на візит контролю за виліковністю?

31. Якщо так, то який лабораторний тест Ви зазвичай проводите після лікування безсимптомних пацієнтів?

32. Чи усі статеві контакти підлягають відстеженню у пацієнтів із підтвердженою гонококовою інфекцією?

33. Якщо так, то який найдовший період Ви відстежуєте пацієнтів, починаючи з останнього статевого партнера?

34. Яку настанову з менеджменту гонококової інфекції Ви використовуєте (якщо використовуєте взагалі)?

Примітка. Анкета була доступна на платформі SurveyMonkey за посиланням: <https://www.surveymonkey.co.uk/r/NMLQZW9>

ДОДАТОК В.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Jacobsson S, Boiko I, Golparian D, Blondeel K, Kiarie J, Toskin I, Peeling RW, Unemo M. WHO laboratory validation of Xpert®CT/NG and Xpert®TV on the GeneXpert system verifies high performances. *APMIS*. 2018;126(12):907–12. (Особистий внесок* – брала участь в аналізі літератури, узагальненні результатів проведених досліджень та підготовці статті).
2. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, Jacobsson S, Unemo M. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates and treatment of gonorrhoea patients in Ternopil and Dnipropetrovsk regions of Ukraine, 2013–2018. *APMIS*. 2019;127(7):503–9. (* – брала участь в плануванні експерименту, аналізі літератури, проведенні експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці статті до друку).
3. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Unemo M. High prevalence of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and particularly *Trichomonas vaginalis* diagnosed using US FDA-approved Aptima Combo 2 molecular tests and evaluation of conventional routine diagnostic tests in Ternopil, Ukraine. *APMIS*. 2019;127(9):627–34. (* – брала участь в плануванні експерименту, аналізі літератури, проведенні експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці статті).
4. Unemo M, Clarke E, Boiko I, Patel C, Patel R. Adherence to the 2012 European gonorrhoea guideline in the WHO European Region according to the 2018–19 International Union against Sexually Transmitted Infections European Collaborative Clinical Group gonorrhoea survey. *Int J STD AIDS*. 2020;31(1):69–

76. (* – брала участь в аналізі літератури, статистичній обробці результатів експериментальних досліджень, підготовці статті).

5. Boiko I, Golparian D, Jacobsson S, Krynytska I, Frankenberg A, Shevchenko T, Unemo M. Genomic epidemiology and antimicrobial resistance determinants of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Ukraine, 2013–2018. *APMIS*. 2020;128(7):465–475. (* – брала участь в плануванні експерименту, аналізі літератури, проведенні експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці статті).

6. Бойко І. Б., Криницька І. Я., Когут І. Й. Діагностика гонореї в Україні відповідно до рекомендацій ВООЗ. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2020;1(76):7–14. (* – брала участь в плануванні експерименту, аналізі літератури, проведенні експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці статті).

7. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, Jacobsson S, Unemo M. High antimicrobial susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Ternopil and Dnipropetrovsk regions of Ukraine during 2013–2017. International Union against Sexually Transmitted Infections (IUSTI) World + European Congress 2018, 18 June, *Dublin, Ireland*. – Electronic Poster and oral presentation. (*Best Poster award, IUSTI World Congress*). (* – автором розроблено план експерименту, виконано аналіз літератури, експериментальні дослідження та їх статистичну обробку, підготовлено, поданого до друку тези, представлено доповідь).

8. Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Unemo M. P–18. Genomic epidemiology and antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates: first data from Ukraine, 2013–2018. 33d IUSTI-Europe Congress on Sexually Transmitted Infections (05–07.09.2019, Tallinn, Estonia). 2019;91. (* – брала участь в плануванні експерименту, аналізі літератури, проведенні

експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці та проведенні презентації).

9. Бойко І., Безкоровайна Г. Практика виділення чистих культур *Neisseria gonorrhoeae* у Тернопільській області з метою вивчення антибіотикорезистентності. *Дерматологія та венерологія*. 2015;3(69):96. (* – автором виконано планування експерименту, аналіз літератури, проведено експеримент, їх статистичний аналіз, підготовці тез до публікації).

10. Бойко І.Б., Безкоровайна Г.О. Поліпшення якості мікробіологічної діагностики гонококової інфекції з метою систематичного моніторингу антибіотикорезистентності. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2016;4(63):124–5. (* – брала участь в аналізі літератури, проведенні експериментальних досліджень та їх статистичної обробки, підготовці тез до публікації).

11. Бойко І.Б. Локальний моніторинг антибіотикорезистентності *Neisseria gonorrhoeae* у Тернопільській області. *Журнал дерматовенерології та косметології імені М. О. Горсуєва*. 2017;1(37):70–71.

ДОДАТОК Г

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Науково-практична конференція (м. Київ, 19–20 листопада 2015 року) – усна доповідь.
2. Науково-практична конференція «Менеджмент надання спеціалізованої медичної допомоги при інфекціях, які передаються статевим шляхом» (м. Тернопіль, 26–27 листопада 2015 року) – усна доповідь.
3. Всеукраїнська науково-практична конференція Української асоціації лікарів-дерматовенерологів і косметологів з міжнародною участю «Сучасні підходи до формування клінічних настанов з діагностики та лікування шкірних захворювань та інфекцій, що передаються статевим шляхом: європейський досвід та всеукраїнські реалії» (м. Тернопіль, 19–20 листопада 2016 року) – усна доповідь.
4. Міжнародний та європейський конгрес – 2018 міжнародного союзу проти інфекцій, які передаються статевим шляхом (м. Дублін, Ірландія, 27–30 червня 2018 року) – усна презентація постера.
5. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Питання профілактики, сучасна діагностика та інноваційні методи терапії в дерматовенерології» (м. Харків, 15–16 листопада 2018 року) – усна доповідь.
6. Матеріали 33-го європейського конгресу міжнародного союзу проти інфекцій, які передаються статевим шляхом (м. Таллінн, 05–07 вересня 2019 року) – публікація.

ДОДАТОК Д.1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
з наукової роботиТернопільського національного
медичного університету імені
І.Я. Горбачевського МОЗ України

проф. І. Кліш

2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Пропозиція для впровадження: Особливості бактеріологічного методу діагностики гонореї.

Установа-розробник: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра функціональної і лабораторної діагностики, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1, 46001, Україна.

Розроблювач: Бойко Ірина Борисівна. Джерело інформації: Бойко І.Б., Криницька І.Я. Усовершенствование бактериологического метода диагностики гонореи: опыт Тернопольского областного клинического кожно-венерологического диспансера, Украина. Лабораторная диагностика. Восточная Европа. 2019;8(4):498-506; Бойко І.Б., Криницька І.Я., Когут І.Й. Діагностика гонореї в Україні відповідно до рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2020;1(76);7-14.

Базова установа, яка проводить впровадження: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра функціональної і лабораторної діагностики.

Термін впровадження: січень 2020 р. - березень 2020 р. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри функціональної і лабораторної діагностики на практичних заняттях циклів тематичного удосконалення для лікарів-курсантів.

Ефективність впровадження: Використання результатів наукового дослідження дозволяє розширити знання лікарів-курсантів щодо діагностики гонококової інфекції.

Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Відповідальна за впровадження:
Завідувач кафедри функціональної
і лабораторної діагностики
Тернопільського національного
медичного університету імені
І.Я. Горбачевського МОЗ України,
доктор медичних наук, професор

М.І. Марущак

ДОДАТОК Д.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
з наукової роботиТернопільського національного
медичного університету імені
І.Я. Горбачевського МОЗ України
Проф. І. Кліщ
12. 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Пропозиція для впровадження: Особливості антибіотикорезистентності штамів *Neisseria gonorrhoeae* в Україні.

Установа-розробник: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра функціональної і лабораторної діагностики, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1, 46001, Україна.

Розроблювач: Бойко Ірина Борисівна. Джерело інформації: Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, Jacobsson S, Unemo M. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates and treatment of gonorrhoea patients in Ternopil and Dnipropetrovsk regions of Ukraine, 2013-2018. APMIS. 2019; 127(7):503-509.

Базова установа, яка проводить впровадження: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра мікробіології, вірусології та імунології.


Термін впровадження: вересень 2019 р. - грудень 2019 р. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри мікробіології, вірусології та імунології.

Ефективність впровадження: Використання результатів наукового дослідження дозволяє розширити знання студентів щодо антибіотикорезистентності та вивчення молекулярної епідеміології гонококів.

Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри мікробіології,
вірусології та імунології
Тернопільського національного
медичного університету імені
І.Я. Горбачевського МОЗ України,
доктор медичних наук, професор

 С.І. Климнюк

ДОДАТОК Д.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор



науково-педагогічної роботи

Запорізького державного

медичного університету

проф. В.А. Візір

26.12.2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Пропозиція для впровадження: Особливості антибіотикорезистентності штамів *Neisseria gonorrhoeae* в Україні.

Установа-розробник: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра функціональної і лабораторної діагностики, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1, 46001, Україна.

Розроблювач: Бойко Ірина Борисівна. Джерело інформації: Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, Jacobsson S, Unemo M. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates and treatment of gonorrhoea patients in Ternopil and Dnipropetrovsk regions of Ukraine, 2013-2018. APMIS. 2019; 127(7):503-509.

Базова установа, яка проводить впровадження: Запорізький державний медичний університет, кафедра мікробіології, вірусології та імунології.

Термін впровадження: вересень 2019 р. - грудень 2019 р. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри мікробіології, вірусології та імунології.

Ефективність впровадження: Використання результатів наукового дослідження дозволяє розширити знання студентів щодо антибіотикорезистентності та вивчення молекулярної епідеміології гонококів.

Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри мікробіології,
вірусології та імунології
Запорізького державного
медичного університету,
доктор медичних наук, професор

О.М. Камишний

ДОДАТОК Д.4


 ЗАТВЕРДЖУЮ
 Проректор з науково-педагогічної
 (начальної) роботи
 Вінницького національного медичного університету
 ім. М.І. Пирогова
 професор Ю.І. Думпський
 «_____» _____ 2020 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
результатів наукових досліджень**

1. **Пропозиція для впровадження:** рекомендації із лабораторної діагностики гонококової інфекції, спостереження за антибіотикорезистентністю та дослідження геномної епідеміології *Neisseria gonorrhoeae*.
2. **Ким запропоновано, адреса, виконавці:** Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, кафедра функціональної та лабораторної діагностики, здобувач І.Б. Бойко.
3. **Джерело інформації:**
 - 3.1 Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, Jacobsson S, Unemo M. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates and treatment of gonorrhoea patients in Ternopil and Dnipropetrovsk regions of Ukraine, 2013–2018. APMIS 2019; 127(7):503-509.
 - 3.2 Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Unemo M. High prevalence of Chlamydia trachomatis, *Neisseria gonorrhoeae* and particularly *Trichomonas vaginalis* diagnosed using US FDA approved Aptima molecular tests and evaluation of conventional routine diagnostic tests in Ternopil, Ukraine. APMIS 2019;127:627–634.
 - 3.3 Jacobsson S, Boiko I, Golparian D, Blondeel K, Kiarie J, Toskin I, Peeling RW, Unemo M. WHO laboratory validation of Xpert®CT/NG and Xpert®TV on the GeneXpert system verifies high performances. APMIS. 2018;126(12):907–912.
 - 3.4 Boiko I, Golparian D, Jacobsson S, Krynytska I, Frankenberg A, Shevchenko T, Unemo M. Genomic epidemiology and antimicrobial resistance determinants of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Ukraine, 2013-2018. APMIS. In Print.
 - 3.5 Unemo M, Clarke E, Boiko I, Patel C, Patel R. Adherence to the 2012 European Gonorrhoea Guideline in the WHO European Region According to the 2018–19 International Union against Sexually Transmitted Infections European Collaborative Clinical Group Gonorrhoea Survey. International Journal of STD & AIDS. 2020;31(1): 69–76.
 - 3.6 Бойко І.Б., Криницька І.Я., Козут І.Й. Діагностика гонореї в Україні відповідно до рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2020;1(76):7-14.
4. **Де впроваджено:** впроваджено у навчальний процес на кафедрі шкірних та венеричних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України.
5. **Включено:** в лекційний курс і практичні заняття з тем «Гонококова інфекція», «Інфекції, які передаються статевим шляхом»
6. **Термін впровадження:** січень 2019 – лютий 2020.
7. **Результати впровадження:** вдосконалення навчального процесу, поглиблення знань щодо діагностики та лікування гонококової інфекції, антибіотикорезистентності та геномної епідеміології *Neisseria gonorrhoeae*.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
 завідувач кафедри шкірних та венеричних хвороб
 Вінницького національного медичного
 університету ім. М.І. Пирогова
 д.м.н., професор



С.А. Бондар

ДОДАТОК Д.5

ЗАТВЕРДЖУЮ


АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
результатів наукових досліджень

1. **Пропозиція для впровадження:** рекомендації із діагностики гонококової інфекції та спостереження за антибіотикорезистентністю та епідеміологією гонококів.
2. **Ким запропоновано, адреса, виконавці:** Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, здобувач І.Б. Бойко
3. **Джерело інформації:**
 - 3.1 Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, Jacobsson S, Unemo M. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates and treatment of gonorrhoea patients in Ternopil and Dnipropetrovsk regions of Ukraine, 2013–2018. APMIS 2019; 127(7):503-509.
 - 3.2 Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Unemo M. High prevalence of Chlamydia trachomatis, *Neisseria gonorrhoeae* and particularly *Trichomonas vaginalis* diagnosed using US FDA approved Aptima molecular tests and evaluation of conventional routine diagnostic tests in Ternopil, Ukraine. APMIS 2019; 127:627–634.
 - 3.3 Jacobsson S, Boiko I, Golparian D, et al. WHO laboratory validation of Xpert®CT/NG and Xpert®TV on the GeneXpert system verifies high performances. APMIS. 2018; 126(12):907–912.
 - 3.4 Бойко І.Б., Криницька І.Я. Усовершенствование бактериологического метода диагностики гонореи: опыт Тернопольского областного клинического кожно-венерологического диспансера, Украина. Лабораторная диагностика. Восточная Европа. 2019; 4(8):498-506.
 - 3.5 Unemo M, Clarke E, Boiko I, Patel C, Patel R. Adherence to the 2012 European Gonorrhoea Guideline in the WHO European Region According to the 2018–19 International Union against Sexually Transmitted Infections European Collaborative Clinical Group Gonorrhoea Survey. International Journal of STD & AIDS. 2020; 31(1): 69–76.
 - 3.6 Бойко І.Б., Криницька І.Я., Когут І.Й. Діагностика гонореї в Україні відповідно до рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2020; 1(76):7-14.
4. Де **впроваджено:** впроваджено у клініко-діагностичний процес дівізії мікробіології в будівлі ТОНМУ
5. **Термін впровадження:** вересень 2019 – січень 2020.
6. **Ефективність впровадження:** вдосконалення методів лабораторної діагностики гонококової інфекції, заходів щодо спостереження за антибіотикорезистентністю та епідеміологією *Neisseria gonorrhoeae*.

Відповідальний за впровадження:

Зав. відділу
І.Б. Бойко
Бойко І.Б. ТМ

ДОДАТОК Д.6

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор КП «Обласний шкірно-
венерологічний диспансер» ДОР

А.А.Франкенберг

2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
результатів наукових досліджень

1. **Пропозиція для впровадження:** рекомендації із діагностики гонококової інфекції та спостереження за антибіотикорезистентністю та епідеміологією гонококів.
2. **Ким запропоновано, адреса, виконавці:** Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, здобувач І.Б. Бойко
3. **Джерело інформації:**
 - 3.1 Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, Jacobsson S, Unemo M. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates and treatment of gonorrhoea patients in Ternopil and Dnipropetrovsk regions of Ukraine, 2013-2018. APMIS 2019; 127(7):503-509.
 - 3.2 Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Unemo M. High prevalence of Chlamydia trachomatis, *Neisseria gonorrhoeae* and particularly *Trichomonas vaginalis* diagnosed using US FDA-approved Aptima molecular tests and evaluation of conventional routine diagnostic tests in Ternopil, Ukraine. APMIS 2019;127:627-634.
 - 3.3 Jacobsson S, Boiko I, Golparian D, et al. WHO laboratory validation of Xpert®CT/NG and Xpert®TV on the GeneXpert system verifies high performances. APMIS. 2018;126(12):907-912.
 - 3.4 Бойко І.Б., Криницька І.Я. Усовершенствование бактериологического метода диагностики гонореи: опыт Тернопольского областного клинического кожно-венерологического диспансера, Украина. Лабораторная диагностика. Восточная Европа. 2019;4(8):498-506.
 - 3.5 Unemo M, Clarke E, Boiko I, Patel C, Patel R. Adherence to the 2012 European Gonorrhoea Guideline in the WHO European Region According to the 2018-19 International Union against Sexually Transmitted Infections European Collaborative Clinical Group Gonorrhoea Survey. International Journal of STD & AIDS. 2020;31(1): 69-76.
 - 3.6 Бойко І.Б., Криницька І.Я., Когут І.Й. Діагностика гонореї в Україні відповідно до рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2020;1(76);7-14.
4. **Де впроваджено:** впроваджено у клініко-діагностичний процес.;

Поліклінічне відділення

5. **Термін впровадження:** вересень 2019 – січень 2020.
6. **Ефективність впровадження:** вдосконалення методів лабораторної діагностики гонококової інфекції, заходів щодо спостереження за антибіотикорезистентністю та епідеміологією *Neisseria gonorrhoeae*.

Відповідальний за впровадження:

Скоріна В.О.



ДОДАТОК Д.7



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
результатів наукових досліджень

1. **Пропозиція для впровадження:** рекомендації із діагностики гонококової інфекції та спостереження за антибіотикорезистентністю та епідеміологією гонококів.
2. **Ким запропоновано, адреса, виконавці:** Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, здобувач І.Б. Бойко
3. **Джерело інформації:**
 - 3.1 Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Bezkorovaina H, Frankenberg A, Onuchyna M, Jacobsson S, Unemo M. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates and treatment of gonorrhoea patients in Ternopil and Dnipropetrovsk regions of Ukraine, 2013–2018. *APMIS* 2019; 127(7):503-509.
 - 3.2 Boiko I, Golparian D, Krynytska I, Unemo M. High prevalence of Chlamydia trachomatis, *Neisseria gonorrhoeae* and particularly *Trichomonas vaginalis* diagnosed using US FDA approved Aptima molecular tests and evaluation of conventional routine diagnostic tests in Ternopil, Ukraine. *APMIS* 2019; 127:627–634.
 - 3.3 Jacobsson S, Boiko I, Golparian D, et al. WHO laboratory validation of Xpert®CT/NG and Xpert®TV on the GeneXpert system verifies high performances. *APMIS*. 2018; 126(12):907–912.
 - 3.4 Бойко І.Б., Криницька І.Я. Усовершенствование бактериологического метода диагностики гонорей: опыт Тернопольского областного клинического кожно-венерологического диспансера, Украина. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2019; 4(8):498-506.
 - 3.5 Unemo M, Clarke E, Boiko I, Patel C, Patel R. Adherence to the 2012 European Gonorrhoea Guideline in the WHO European Region According to the 2018–19 International Union against Sexually Transmitted Infections European Collaborative Clinical Group Gonorrhoea Survey. *International Journal of STD & AIDS*. 2020; 31(1): 69–76.
 - 3.6 Бойко І.Б., Криницька І.Я., Когут І.Й. Діагностика гонорей в Україні відповідно до рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2020; 1(76):7-14.
4. **Де впроваджено:** впроваджено у клініко-діагностичний процес комунального підприємства «Рівненський обласний шкірно-венерологічний диспансер» Рівненської обласної ради
5. **Термін впровадження:** вересень 2019 – січень 2020.
6. **Ефективність впровадження:** вдосконалення методів лабораторної діагностики гонококової інфекції, заходів щодо спостереження за антибіотикорезистентністю та епідеміологією *Neisseria gonorrhoeae*.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка ОМК

Змієвська І.Д.

