

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Плахова К.И., Петрова Н.П., Никоноров А.А., Кубанов А.А.

БИОХИМИЧЕСКИЙ АТИПИЗМ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ШТАММОВ *NEISSERIA GONORRHOEAЕ*

ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава РФ, 107076, Москва, Россия

Исследовано 267 штаммов Neisseria gonorrhoeae, полученных в 2016 г. из 16-ти регионов Российской Федерации, включая Южный, Центральный, Северо-Западный, Приволжский, Уральский, Сибирский федеральные округа. Все микроорганизмы идентифицированы по биохимическому профилю на анализаторе Vitek 2 Compact. Альтернативным методом идентификации N. gonorrhoeae была матричная лазерная десорбционно-ионизационная времяпролетная масс-спектрометрия (MALDI-ToFMS). В 49,1% исследований (131 штамм) биохимическое типирование (БТ) выявило атипичный ферментативный профиль, не свойственный N. gonorrhoeae (утрата ферментации D-глюкозы, редуцирование специфических ферментов: ProA, TyrA, APPA), в результате 39 штаммов (14,6%) отнесены к другим видам микроорганизмов. Дополнительное биохимическое типирование позволило снизить процент ошибки почти в пять раз (с 14,6 до 3%), но верификации всех штаммов, как N. gonorrhoeae не получено. Верификация на масс-спектрометре установила 100% принадлежность микроорганизмов к N. gonorrhoeae. Выявленный биохимический атипизм N. gonorrhoeae, представленный утратой ряда таксономически значимых характеристик, определяет необходимость комплексного подхода к идентификации, включающего, наряду с БТ, протеомные (масс-спектрометрия) и/или геномные (ПЦР) исследования.

Ключевые слова: *Neisseria gonorrhoeae; атипия; Vitek 2 Compact.*

Для цитирования: Плахова К.И., Петрова Н.П., Никоноров А.А., Кубанов А.А. Биохимический атипизм отечественных штаммов *Neisseria gonorrhoeae*. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (8): 507-511. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-8-507-511>

Plakhova X.I., Petrova N.P., Nikonorov A.A., Kubanov A.A.

BIOCHEMICAL ATYPYIA IN THE MODERN RUSSIAN STRAINS OF *NEISSERIA GONORRHOEAЕ*

State Scientific Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Russian Ministry of Health, 107076, Moscow, Russia

A total 267 strains of Neisseria gonorrhoeae obtained in 2016 from 16 regions of the Russian Federation in six federal districts: Southern, Central, Northwestern, Volga, Ural and Siberian were investigated. All microorganisms were identified by biochemical profile on the Vitek 2 Compact analyzer. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-ToFMS) was used as an alternative method of identification. Biochemical typing revealed an atypical indistinctive enzymatic profile of N. gonorrhoeae (loss of D-glucose fermentation ability and reducing of specific enzymes: ProA, TyrA, APPA) in 49.1% of studies (131 strains), resulting in 39 strains (14.6%) were assigned to other types of microorganisms. Additional biochemical typing reduced the percentage of error by almost five times (from 14.6 to 3), but 100% confirmation of N. gonorrhoeae was not received. However, verification by mass spectrometer study showed 100% affiliation of the microorganism to N. gonorrhoeae. Biochemical atypia of N. gonorrhoeae represented by the loss of a number of taxonomically significant characters determines the need for an integrated approach to its identification which includes proteomic (mass spectrometry) and/or genomic (PCR) studies along with biochemical typing.

Key words: *Neisseria gonorrhoeae; atypia; Vitek 2 Compact.*

For citation: Plakhova X.I., Petrova N.P., Nikonorov A.A., Kubanov A.A. Biochemical atypia in the modern russian strains of *Neisseria gonorrhoeae*. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (8): 507-511. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-8-507-511>

For correspondence: Nikonorov A.A., Dr. Sci. Med., Senior Researcher, Laboratory Diagnosis of STIs and Dermatoses; e-mail: nikonorov_all@mail.ru

Information about authors:

Plakhova X.I., <https://orcid.org/0000-0003-4169-4128>;

Petrova N.P., <https://orcid.org/0000-0003-3163-659X>;

Nikonorov A.A., <https://orcid.org/0000-0001-7214-8176>;

Kubanov A.A., <https://orcid.org/0000-0002-7625-0503>.

Conflict of interests. *The authors declare the absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study was carried out with the financial support of the Ministry of Health of the Russian Federation (State task №056-00015-18-00 for 2018 and the planning period of 2019 and 2020yy).*

Received 22.01.2020
Accepted 27.01.2020

Введение. Гонококковая инфекция остается одной из распространённых инфекций, передаваемых половым путём [1-2]. В Российской Федерации в 2018 г. зарегистрировано 8,7 случаев гонококковой инфекции на 100 тыс. населения [2]. Риск возникновения неизлечимых форм гонореи вследствие быстрого формирования резистентности *N.gonorrhoeae* к антимикробным препаратам, явился основанием для включения данного заболевания ВОЗ в проект Глобальной стратегии сектора здравоохранения на 2016-2021 гг. с приданием статуса стратегического приоритета [3]. В РФ данное направление реализуется по программе RU-GASP [4-6].

Обнаружение *N.gonorrhoeae* в биологическом материале осуществляется микроскопией, ПЦР, культуральным методом, масс-спектрометрией.

ПЦР-исследование [7] позволяет решить задачу идентификации даже при условии нежизнеспособности микроорганизма. Полученная с помощью ПЦР информация, может быть использована для отслеживания путей распространения возбудителя инфекции и детекции генетических детерминант антибиотикорезистентности [8].

MALDI-TOFMS –точный и экономически эффективный метод идентификации бактерий, используемый во многих лабораториях [9, 10]. MALDI-TOFMS хорошо зарекомендовала себя при идентификации патогенных *Neisseriae* [11], но из-за высоких психосоциальных и медико-правовых последствий неправильного типирования возбудителя при клиническом диагнозе «гонорея» [12] возникает необходимость в подтверждающем методе, которым может выступить культуральный.

Исследование биохимических профилей микроорганизмов для видовой идентификации предложено на ранних этапах развития медицинской микробиологии [13, 14]. Оно основано на комплексной оценке ферментативных реакций и наличия самих ферментов, мозаично распределённых среди представителей идентифицируемой группы микроорганизмов, что позволяет отнести их к определённой таксономии [13].

Идентификация *N. gonorrhoeae* на основе определения биохимических профилей (БТ), может проводиться тестами разных производителей: GonochekII, RapIDNH, Neisstrip, API-NH, RCUT (Rapidcarbohydrateutilization-test) с широким варьированием ферментов и субстратов [15-18]. В наборах API-NH используется комплекс тестов, сочетающий определение ферментов, синтезируемых микроорганизмом, и метаболизм углеводов [15]. Специфичными для *N. gonorrhoeae* считаются ферменты L-пролинариламидаза(*ProA*), L-аланилфенилаланил пролинариламидаза(*APPA*), тирозинариламидаза(*TyrA*) и способность к окислению D-глюкозы(*dGlu*). Диагностический диапазон панели предполагает наличие ряда неспецифичных для метаболизма *N. gonorrhoeae* биомолекул, позволяющих верифицировать другие виды рода *Neisseria* или другие роды [19]. Штаммы *N. gonorrhoeae* обладают высокой изменчивостью культуральных и биохимических свойства. Ярким примером является вариативность фермента *ProA* [20].

Впервые хромогенный субстрат, специфичный для *ProA*, успешно использован при идентификации *N. gonorrhoeae* в 1978 г. [21]. Оценка метода, проведённая в 1991 г., показала, что только у двух из 398 изолятов *N. gonorrhoeae* фермент *ProA* не выявлен [22]. Более поздние исследования показали, что при использовании коммерческих наборов биохимических тестов, включа-

ющих, в том числе, и определение *ProA*, высок процент ложноположительных результатов [18, 20, 23, 24].

Цель исследования – оценка информативности и воспроизводимости результатов биохимической идентификации *N. gonorrhoeae* коммерческим набором API-NH, выявление биохимически атипичных клинических изолятов, полученных из разных регионов Российской Федерации в 2016 г., определить необходимость подтверждения результатов применения биохимического типирования другими методами идентификации *N. gonorrhoeae*.

Материал и методы. Исследованы 267 штаммов *N. gonorrhoeae*, поступившие в 2016 г. в отдел лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путём и дерматозов ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России из специализированных медицинских организаций дерматовенерологического профиля из 16-ти субъектов РФ: Архангельской, Астраханской, Брянской, Калужской, Новосибирской, Омской, Пензенской, Псковской, Рязанской, Томской, Челябинской областей, Республики Татарстан, Тывы, Чувашии, Ставропольского края, города Москвы. Оксидазоположительные, грамотрицательные диплококки субкультивированы на шоколадном агаре с добавлением 1% ростовой добавки ISOVitalex и 1% селективной добавки VCAT (Vecton Dickinson, США) и инкубированы при 37°C в атмосфере с 5% CO₂.

Для всех культур соблюдены одинаковые временные и температурные условия культивирования, пробоподготовки, верификации. Суточную культуру верифицировали по совокупности биохимических свойств с использованием NH-карт на анализаторе VITEK 2 Compact (BioMérieux, Франция) по принципу сравнительного анализа результата с имеющейся базой данных. Если полученному биохимическому спектру не соответствовал ни один из имеющихся в базе данных, система выдавала список вероятных микроорганизмов или сообщение о невозможности их идентификации (unidentified organism). При этом рассчитывается количественный показатель относительной вероятности (96, 95, 92, 90, 85%), который отражает, насколько полученные результаты соответствуют типичным реакциям каждого микроорганизма базы данных. При высокой степени соответствия с каким-либо профилем базы данных относительная вероятность равна 99%.

Масс-спектрометрическое исследование культур проводили на времяпролётном масс-спектрометре с ионизацией MALDI Microflex (Bruker Daltonics GmbH, Германия) с индексом идентификации выше 2,0 [11].

Результаты. При анализе биохимических свойств по специфическим для *N. gonorrhoeae* ферментам, согласно руководству к NH картам (BioMérieux, Франция) ключевую роль играют следующие ферменты: *LeuA*, *PheA* с вероятностью идентификации 95-100%; *TyrA*, *APPA*, *ArgA*, *LysA* и субстрат *dGlu* с вариативной вероятностью идентификации 6-94% [19].

Установлено стабильное содержание ферментов *LeuA* и *PheA* у всех исследуемых штаммов *N. gonorrhoeae*. *LysA* (положительный результат вместо отрицательного) обнаружен у 13-ти штаммов (4,7% выборки), что на результат идентификации гонококка не влияет. Фермент *ArgA* охарактеризован как нетипичный в 7-ми случаях, что привело к идентификации системой VITEK 2 Systems этих микроорганизмов как *Moraxella catarrhalis* и *Neisseria cinerea* (2,6% выборки).

БТ только половину штаммов (50,9% или 136 штаммов из 267, соответственно) идентифицировали

Биохимический профиль штаммов

Показатель	Норма		Эксперимент	
	Руководство Берджи [13]	Контроль Биомерье (АТСС 19424)	Контроль (АТСС 49226)	Штаммы 2016 г.
Аргининариламидаза (ArgA)	Н/Д	+	+	97,4%
g-глутамилтрансфераза	Н/Д	-	-	-
L-лизинариламидаза (LysA)	Н/Д	-	-	95,3%
D-галактоза	Н/Д	-	-	-
Лейцинариламидаза (LeuA)	Н/Д	+	+	+
Эллман	Н/Д	-	-	-
Фенилаланинариламидаза (PheA)	Н/Д	+	+	+
L-пролинариламидаза (ProA)	Н/Д	+	+	96,3%
L-пирролидонилинариламидаза	Н/Д	-	-	-
Тирозинариламидаза (TyrA)	Н/Д	+	+	96,3%
APPA	Н/Д	+	+	96,3%
D-глюкоза (dGlu)	+	+	+	69,3%*
Гликоген	Н/Д	-	-	-
D-манноза	-	-	-	-
D-мальтоза	-	-	-	-
Сахароза	-	-	-	-
N-ацетил-D-глюкозамин	Н/Д	-	-	-
Уреаза	Н/Д	-	-	97,4%
b-галактопиранозидазиндоксил	Н/Д	-	-	-
Орнитиндекарбоксилаза	Н/Д	-	-	-
a-арабинозидаза	Н/Д	-	-	-
Пируват	Н/Д	-	-	-
Фосфорилхолин	Н/Д	-	-	-
D-малат	Н/Д	-	-	-
Мальтотриоза	Н/Д	-	-	-
L-глутамин	Н/Д	-	-	-
Фосфатаза	Н/Д	-	-	-
D-рибоза	Н/Д	-	-	-
Фенилфосфонат	Н/Д	-	-	-
D-ксилоза	Н/Д	-	-	-
Фруктоза	-	Н/Д	Н/Д	Н/Д
Лактоза	-	Н/Д	Н/Д	Н/Д

Примечание. Н/Д – нет данных; * – данные после первого цикла тестов.

с вероятностью 99% как *N. gonorrhoeae*, оставшиеся 49,1% или 131 штампоказали различную степень утраты биохимических признаков. Большинство этих штаммов (82 штамма из 131 или 30,7% от общего числа) утратили единичный тест, демонстрируя отсутствие способности к ферментации *dGlu*, и распознаны с вероятностью 96% как *N. gonorrhoeae*. Единичные или двойные выпадения специфически значимых признаков, таких, как *ProA*, *TyrA*, *ArgA*, *APPA* наблюдались у 10-ти штаммов (3,8%), что соответствовало верификации их как *N. gonorrhoeae* с вероятностью 92-96% (см.таблицу).

Vitek 2 Compact не идентифицировал 18 штаммов (6,7%) с атипичным биохимическим профилем, отсутствующим в базе данных. Одновременное отсутствие ферментов *ProA*, *TyrA*, *APPA* и способности к окислению глюкозы идентифицировано системой как *Moraxella catarrhalis* (3,8%), *Neisseria elongata* (1,3%), *Neisseria meningitidis* (0,7%), *Neisseria cinerea* (0,7%), *Gardnerella vaginalis* (0,7%), *Neisseria sicca* (0,7%).

Для атипичных штаммов, API NH-экспертиза показала принадлежность изолятов к *N. gonorrhoeae* (с 92-96% вероятностью) в 70% случаев. 30% микроорганизмов не идентифицированы или идентифицированы как другой вид (*Neisseria elongata*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria sicca*) или род (*Moraxella catarrhalis*, *Gardnerella vaginalis*). Проведённый масс-спектрометрический анализ данных штаммов указывал на то, что они относятся

к виду *N. gonorrhoeae* с индексом идентификации выше 2,0.

Для подтверждения воспроизводимости результатов системой Vitek 2 Compact проанализировано 39 штаммов (14,6% выборки), в первом исследовании не идентифицированные как *N. gonorrhoeae* с вероятностью 92-99%. Повторная серия тестов позволила 41% (16 штаммов) данной выборки идентифицировать как *N. gonorrhoeae* с вероятностью 99%. Отсутствие способности ферментировать D-глюкозу выявлено у 20,5% (8 штаммов), что определено как *N. Gonorrhoeae* с 96% вероятностью; 10,3% (4 штамма) определены системой как *N. gonorrhoeae* с 92-96% вероятностью за счёт отсутствия ферментов *ProA*, *APPA*, *TyrA*; 7,7% (3 штамма) не распознаны системой как какой-либо известный микроорганизм в виду смешанных показателей (наличие/отсутствие) ферментативного профиля, 20,5% (или 8штаммов), с выпадением некоторых специфических тестов, распознаны API NH-экспертизой как *Moraxella catarrhalis* (15,4%), *Neisseria sicca* (2,55%), *Capnocytophaga spp* (2,55%).

11 штаммов *N. gonorrhoeae*, прошедшие повторный цикл идентификации и подтвердившие атипичный ферментативный профиль, проанализированы по той же схеме в третий раз. Лишь 27,3% образцов (3 штамма) верифицировались как *N. gonorrhoeae*, 8 штаммов (72,7%) продемонстрировали атипизм по энзимо-субстратному профилю, показывая принадлежность к другим видам (*Moraxella catarrhalis* 54,5%, *Neisseria cinerea* 9,1%) и роду (*Capnocytophaga spp* 9,1%) (рис. 1).

Три проведённых цикла БТ позволили снизить количество неверифицированных как *N. gonorrhoeae* микроорганизмов с 39-ти до 8-ми (из 267), т. е. в пять раз (рис. 2).

Проведение даже нескольких повторов БТ не позволило все исследуемые штаммы отнести к *N. gonorrhoeae*, что свидетельствует о необходимости подкрепления полученных БТ результатов другими методами идентификации микроорганизмов.

Обсуждение. Микроорганизмы рода *Neisseria* и близкие виды идентифицируются по ряду биохимических тестов, включающих продукцию кислоты из глюкозы, мальтозы, сахарозы, лактозы, окисление нитратов и продукцию полисахаридов. Дифференциация *N. gonorrhoeae* от других микроорганизмов рода *Neisseria* обеспечивается её способностью анаэробно окислять только глюкозу и неспособностью к метаболизму дисахаридов (мальтоза, лактоза, сахароза) [25]. При этом после истощения глюкозы в течение стационарной фазы *N. gonorrhoeae* экспрессирует мощные аутолизины, активность которых ведёт к гибели клеток [26]. Нами показано, что у отечественных штаммов *N. gonorrhoeae* часто отсутствует способность к ферментации *dGlu*. Данный признак не критичный, потому что отсутствие только одного показателя в виде *dGlu* снижает вероятность идентификации с 99% до 96%. Часто штаммы характеризовались сочетанным отсутствием ферментов *ProA* и *APPA*, что в итоге давало идентификацию в 92%, сочетанное отсутствие *ProA*, *APPA* и *dGlu/TyrA* вело к ошибочной идентификации, отличной от *N.*

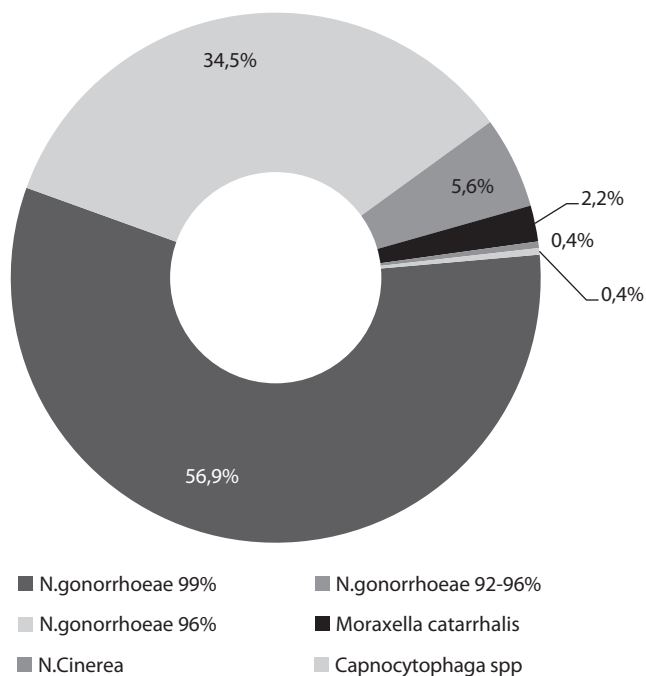


Рис. 1. Накопительный результат анализов методом API NH после трёх циклов тестов.

gonorrhoeae. Проведённое исследование позволило описать несколько атипичных паттернов (сочетания нехарактерной для *N. gonorrhoeae* биохимической активности) в популяции *N. gonorrhoeae*. У некоторых штаммов они отличаются (различное сочетание отсутствующих ферментов), а у некоторых схожи (один и тот же паттерн), что требует дальнейшего изучения.

БТ позволило идентифицировать практически все анализируемые изоляты как *N. gonorrhoeae*, при этом 39 штаммов после первой, 11 штаммов после повторного, 8 штаммов после троекратного повторения тестирования по схеме не определены как таковые по API NH-экспертизе. Использование MALDI-TOFMS со 100% результатом позволило идентифицировать все 267 штаммов как *N. gonorrhoeae*, что свидетельствует о его высокой надёжности и предпочтительности в идентификации *N. gonorrhoeae*. Рекомендовать использование только масс-спектрометрии для верификации штаммов *N. gonorrhoeae* не совсем правильно, поскольку дополнительная фенотипическая характеристика полезна для окончательной идентификации [27]. Лаборатории, имеющие MALDI-TOFMS, потенциально могут использовать её для идентификации в обычных клинических случаях, резервируя API NH и другие методы для более сложных случаев с медико-правовым значением [12].

Заключение. Значительная доля отечественных штаммов *N. gonorrhoeae* характеризуется биохимическим атипизмом, вплоть до потери ключевых видовых признаков. Одним из возможных механизмов высокой биохимической изменчивости *N. gonorrhoeae* может быть окислительный стресс, формирующийся в результате развития под действием данного микроорганизма локальных воспалительных процессов, а биохимиче-

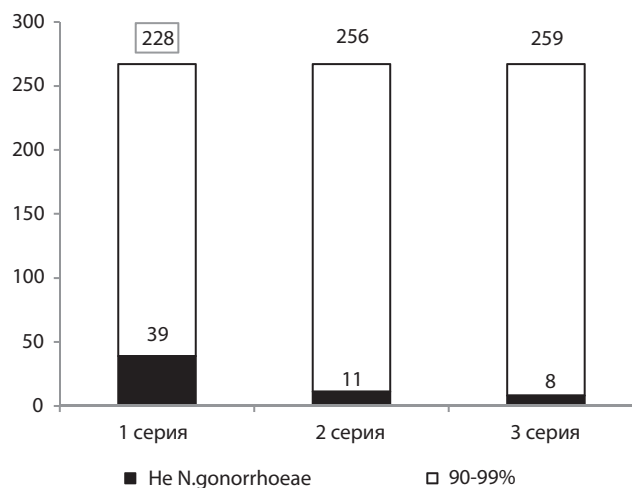


Рис. 2. Воспроизводимость результатов при трёхкратной API NH-экспертизе.

ский атипизм – способ выживания *N. gonorrhoeae* в полиморфноядерных лейкоцитах и урогенитальных эпителиальных клетках [28]. Идентификация *N. gonorrhoeae* требует дополнительного использования протеомных и геномных методов исследования, с формулировкой окончательного заключения на основе как минимум двух совпадающих тестов.

Финансирование. Исследования выполнены при финансовой поддержке Министерства здравоохранения РФ (Государственное задание № 056-00015-18-00 на 2018–2020 гг.).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (pp.1, 4-7, 9-13, 16-30 см. REFERENCES)

- Кубанов А.А., Богданова Е.В. Организация и результаты оказания медицинской помощи по профилю «дерматовенерология» в Российской Федерации. Итоги 2018 года. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2019;95(4):8-23.
- Данные с сайта Всемирной организации Здравоохранения. Availableat: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250268/WHO-RHR-16.09-rus.pdf;jsessionid=A75DD7808D598272F0DAFD5F12FE0F58?sequence=1> (дата обращения: декабрь 2019 г.)
- Кубанов А.А., Барышков К.В., Честков А.В., Шаскольский Б.Л., Грядунов Д.А., Дерябин Д.Г. Генотипическое разнообразие популяции *Neisseria gonorrhoeae* в Архангельске (Россия): механизмы формирования и связь с устойчивостью к антимикробным препаратам. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2018; 3: 43-8.
- Поздеев О.К. Медицинская микробиология. М.: Гэотар-Медиа; 2005.
- Данные с сайта технической библиотеки Биомерье. Availableat: <https://www.mybiomerieux.com/web/guest/login> (дата обращения: декабрь 2019 г.)

REFERENCES

- Newman L., Rowley J., Vander Hoorn S., Wijesooriya N.S., 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: e0143304.
- Kubanov A.A., Bogdanova E.V. Dermatovenerologic health care delivery management in the Russian Federation. Results of 2018.

- Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2019; 95(4):8-23. (in Russian)
3. World Health Organization. 2015. Global Health Sector Transmission Infectious Disease Strategy sexually 2016-2021. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250268/WHO-RHR-16.09-rus.pdf;jsessionid=A75DD7808D598272F0DAFD5F12FE0F58?sequence=1> (Reference date: December 2019).
 4. 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 Infectious Diseases*. 2014; 14:342.
 5. 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 Infectious Diseases*. 2016; 16:389.
 6. Kubanov A., Solomka V., Plakhova X., Chestkov A., Petrova N., Shaskolskiy B. et al. Summary and Trends of the Russian Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme, 2005 to 2016. *J. Clin. Microbiol.* 2019; 57: 6.
 7. Kweon O.J., Choi J.H., Song U.H., Park A.J. Performance evaluation of a DNA chip assay in the identification of major genitourinary pathogens. *J. Microbiol. Methods*. 2015; 109: 117-122.
 8. Kubanov A.A., Baryshkov K.V., Chestkov A.V., Shaskolskiy B.L., Gryadunov D.A., Deryabin D.G. Genotypic heterogeneity of *Neisseria gonorrhoeae* population in Arkhangelsk (Russia): diversity-mechanism and relationship with antibiotic resistance. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*. 2018; 3: 43-8. (in Russian)
 9. Bizzini A., Greub, G. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification. *Clin. Microbiol. Infect.* 2010; 16: 1614-9.
 10. Tan K.E., Ellis B.C., Lee R., Stamper P.D., Zhang S.X., Carroll K.C. Prospective evaluation of a matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system in a hospital clinical microbiology laboratory for identification of bacteria and yeasts: a bench-by-bench study for assessing the impact on time to identification and cost-effectiveness. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50: 3301-8.
 11. Iliina E.N., Borovskaya A.D., Malakhova M.M., Vereshchagin V.A., Kubanova A.A., Kruglov A.N. Direct bacterial profiling by matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry for identification of pathogenic *Neisseria*. *J. Mol. Diagn.* 2009; 11: 75-86.
 12. 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.* 2016; 22(9): 815.
 13. Garrity G. M. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. The Proteobacteria. New York: Springer; 2001: 1388.
 14. Pozdeev O.K. *Medical Microbiology [Meditsinskaya Mikrobiologiya]*. Moscow: Geotar-Media; 2005: 333. (in Russian)
 15. Kulkarni S., Bala M., Risbud Indian A. Performance of tests for identification of *Neisseria gonorrhoeae*. *Indian J. Med. Res.* 2015; 141:833-5.
 16. Tsuruoka N., Uzawa Y., Kikuchi K., Ohtsuka H., Todome Y., Ohkuni H. Evaluation of the GonoGen II kit for rapid identification of *Neisseria gonorrhoeae* using monoclonal antibody directed at gonococcal outer membrane protein 1. *Kansenshogaku Zasshi*. 2008; 82 : 317-21.
 17. Dillon J.R., Carballo M., Pauzé M. Evaluation of eight methods for identification of pathogenic *Neisseria* species: *Neisseria*-Kwik, RIM-N, Gonobio-Test, Minitex, GonochekII, GonoGen, Phadebact Monoclonal GC OMNI Test, and Syva MicroTrak Test. *J. Clin. Microbiol.* 1988; 26: 493-7.
 18. Alexander S., Ison C. Evaluation of commercial kits for the identification of *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Med. Microbiol.* 2005; 54: 827-31.
 19. Technical library bioMérieux. Available at: <https://www.mybiomerieux.com/web/guest/login> (Reference date: December 2019)
 20. Alexander S., Martin I.M., Fenton K., Ison C.A. The prevalence of proline iminopeptidase negative *Neisseria gonorrhoeae* throughout England and Wales. *Sex Transm. Infect.* 2006;82:280-2.
 21. D'Amato R.F., Eriqre L.A., Tomfohrde K.M., Singerman E. Rapid identification of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis* by using enzymatic profiles. *J. Clin. Microbiol.* 1978;77:77-81.
 22. Dealler S.F., Gough K. R., Campbell L., Turner A., Hawkey P. M. Identification of *Neisseria gonorrhoeae* using the NeisStrip rapid enzyme detection test. *J. Clin. Path.* 1991;44:376-9.
 23. Blackmore T., Hererra G., Shi S., Bridgewater P., Wheeler L., Byrne J. Characterization of prolyl iminopeptidase-deficient *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43: 4189-90.
 24. Otero L., Alvarez-Argüelles M., Villar H., Díaz-Gigante J., Carreño F., Vázquez F. et al. The prevalence of *Neisseria gonorrhoeae* negative for proline iminopeptidase in Asturias, Spain. *Sex Transm Infect.* 2007;83(1):76.
 25. Morse S.A., Bartenstein L. Factors affecting autolysis of *Neisseria gonorrhoeae*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1974; 145:1418-21.
 26. Spence J.M., Wright L., Clark V.L. Laboratory maintenance of *Neisseria gonorrhoeae*. *Curr. Protoc. Microbiol.* 2008; 4: 4.
 27. Sönksen U.W., Christensen J.J., Nielsen L., Hesselbjerg A., Hansen D.S., Bruun B. Fastidious Gram-Negatives: Identification by the Vitek 2 *Neisseria*-*Haemophilus* Card and by Partial 16S rRNA Gene Sequencing Analysis. *Open Microbiol. J.* 2010; 31(4):123-31.
 28. Seib K.L., Wu H. J., Kidd S. P., Apicella M. A., Jennings M. P., McEwan A. G. Defenses against oxidative stress in *Neisseria gonorrhoeae*: a system tailored for a challenging environment. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2006;70(2):344-61.

Поступила 22.01.20

Принята к печати 27.01.20