

ARTICOL

**MONITORIZAREA INCIDENTEI INFECTIEI
GONOCOCICE SI CUNOASTEREA PROFILULUI
REZISTENTEI LA ANTIBIOTICE A TULPINILOR
DE NEISSERIA GONORRHOEAE CIRCULANTE
PE TERITORIUL JUDETULUI SUCEAVA**

I. REZUMAT

OBIECTIVE: stabilirea tipului de rezistentă și documentarea emergentei noilor rezistente a tulpinilor de *Neisseria gonorrhoeae* la bolnavii cu gonoree din județul Suceava, în perioada 2004-2010. **DESIGN:** studiul preconizat este unul analitic (observational etiologic), de cohortă, prospectiv, care va presupune mai multe etape. **LOC:** investigarea, în laboratorul de microbiologie al DSP Suceava și laboratorul de microbiologie al U.M.F. Iași. **PARTICIPANȚI:** pacienții care se încadrează în definițiile de caz și care au fost de acord cu consimțământul informat.

MATERIAL ȘI METODE:

Protocolul de lucru: prelevare, transport, conservare; frotiu direct colorat Gram, examinat la microscop cu imersie, izolare (insamantare pe 2 plăci cu mediu selectiv și neselectiv); identificare (microscopic, test oxidază, biochimic-API); antibiograma tulpinilor izolate și identificate ca gonococ, la: penicilina, tetraciclina, amoxicilina, augmentin, claritromicina, ciprofloxacina, ceftriaxona, prin metoda difuzimetrică, tehnica recomandată de O.M.S. cu respectarea criteriilor de interpretare și control NCCLS.

Asigurarea calității prin utilizarea de tulpini standard de gonococ ATCC 49226 pentru verificarea calității nutritive a mediilor de cultură și a antibiogramei; prelucrarea datelor pentru cazurile de gonoree depistate și confirmate (EpiData, EpiInfo).

CRITERII DE RATIONAMENT: scopul acestei izolări este determinarea rezistenței la antibiotice datorită emergentei rezistenței la fluoroquinolone și datorită perspectivei de rezistență la cefalosporine; este important determinarea sensibilității tulpinilor de la pacienții ale căror simptome persistă după terminarea tratamentului. Criterii de rationament: incidența, prevalența și pattern-ul de sensibilitate a tulpinilor izolate ce va influența conduita terapeutică. În prezent România nu se cunosc morbiditatea, incidența, prevalența, nici spectrul de rezistență la antibiotice și circulația tulpinilor rezistente.

Incidența gonoreei este subraportată în România și în Județul Suceava.

Pattern-ul de sensibilitate la antibiotice a tulpinilor circulante de *Neisseria gonorrhoeae* nu este suficient de bine cunoscut.

Am studiat sensibilitatea a 60 tulpini de *Neisseria gonorrhoea* la penicilina, ampicilina, augmentin, tetraciclina, claritromicina, ceftriaxona, ciprofloxacina, izolate la bolnavii de gonoree din județul Suceava, în perioada 2004-2008. Sensibilitatea a fost testată prin metoda difuzimetrică cu discuri (Kirby-Bauer) continuând: penicilina 10 μg (cu diametrul de inhibiție conform NCCLS de la 26 mm-47 mm), amoxicilina 10 μg, augmentin 30 μg, claritromicina 15 μg (pentru care nu există interval de referință), tetraciclina 30 μg (cu diametrul de inhibiție conform NCCLS de la 26 mm-47 mm), ceftriaxona 30 μg (conform NCCLS rezistent >35 mm) ciprofloxacina 5 μg (conform NCCLS rezistent >36 mm).

Din totalul tulpinilor 70%, 60%, 58.3%, 55%, 80%, 55%, 1.6% au fost rezistente la penicilina, respectiv la amoxicilina, augmentin, claritromicina, tetraciclina, ciprofloxacina, ceftriaxona; 31 tulpini (51%) au fost β-lactamază pozitive; 69% tulpini multirezistente; ciprofloxacina nu poate fi recomandată ca tratament de primă linie în tratamentul gonoreei în regiunea noastră.

INTRODUCERE

Neisseria gonorrhoeae todeauna patogena, specific umana, determina a -II-a cauza de infectii cu transmitere sexuala dupa *C. Trachomatis* raportata la C.D.C. Prevalenta gonoreiei la bolnavii 15-49 ani: 2% in Africa Sub Sahariana, 1% Asia de S-E, 0.6% America Centrala si de Sud, 1-10% in tarile industrializate(1, 2), in Romania: 9.75%-2004; 2.96%-2008. Pana in prezent tulpinile *Neisseria gonorrhoeae* au dezvoltat o rezistenta crescuta la penicilina, tetraciclina, quinolone in diferite tari, punand o serioasa problema de management in gonoree(1, 3, 4).

Reducerea sensibilitatii la cefalosporine de a 3-a generatie folosite in prima linie a fost raportata unele tari: China, India(1, 4, 5). Continuarea supravegherii rezistentei la antibiotice a gonococului este esentiala, monitorizarea emergentei si raspandirii rezistentei la antibiotice este baza rationala pentru instituirea tratamentului sindromic(1, 8, 9) si mentinerea eficacitatii tratamentului(8, 10). Controlul gonoreiei este complex si dificil cere integrarea multidisciplinara pentru stabilirea antibioticelor incluse (11). Programele de supraveghere sunt necesare datorita dificultatilor de cultivare si instalarea rezistentei rapide a gonococului (8,12).

Importanta cunoasterii acestui microorganism este determinata de modificarile clinice si microbiologice consecutive antibioterapiei, relativa crestere a frecventei uretritelor negonococice si indeosebi de sarcina rapidei eradicari a infectiilor gonococice in tara noastra. Evolutia sensibilitatii gonococului la cefalosporine trebuie monitorizata obligatoriu , mai ales in zonele amintite, fiind singura clasa de antibiotice disponibila in momentul de fata pentru terapia sindromica in uretrita gonococica. De aceea sunt necesare facilitati pentru izolarea si testarea sensibilitatii la antibiotice a gonococului pentru surprinderea aparitiei tulpinilor rezistente. In acest scop este necesara testarea prin E- test, metoda care poate surprinde cresterea CMI-urilor pentru cefalosporine(21, 22).

MATERIAL SI METODE

In depistarea cazurilor suspecte de gonoree pe baza definitiei de caz(clinic si epidemiologic) au fost implicati 14 medici: 5 dermato-venerologi, 6 ginecologi, 2 planning familial, 1 urolog din judetul Suceava; dupa semnarea acordului liber consimtamant al pacientilor am studiat un numar de 60 de tulpini(izolate clinice obtinute de la 12 femei si 48 barbati, 9 au fost confirmate doar prin frotiu) in perioada 2004-2008. Investigarea, in laboratorul de microbiologie al DSP Suceava si laboratorul de microbiologie al UMF Iasi a probelor de secretie uretrala / endo-cervicala a constatat in: frotiu colorat Gram si insamantare pe medii de cultura pentru izolarea tulpinilor in cultura pura in vederea identificarii si efectuarea antibiogramii.

Pentru recoltare am folosit tampoane cu fibre special tratate, atoxice intr-un mediu nutritiv (AMIES),ce asigura o viabilitate de 6-12 ore;

Am insamantat produsele pe medii nutritive (GC baza + 1%hemoglobina + 1% supliment nutritiv IsoVtalex, VITOX + supliment selectiv VCN) ,placile au fost incubate 5% CO₂ pentru 24-72h la 37°C, 70 umiditate; in paralel am insamantat acelasi mediu fara supliment selectiv, pentru compararea rezultatelor; am inregistrat eficienta cresterii

cu tulpini de control: *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *Proteus mirabilis* ATCC 43071; pentru fiecare lot de mediu se inregistreaza: provenienta ingredientelor si termenul de valabilitate, data prepararii si expirarii, preparator, rezultatele controlului de calitate.

Am identificat tulpinile prin truse comerciale de identificare API-NH(*Neisseria-Haemophilus*), cu care am detectat si prezenta de β -lactamaza. Dupa identificare, tulpinile au fost stocate prin congelare la -25°C in bulion tripticaza soia si 20% glicerol. Am testat sensibilitatea la antibiotice prin metoda difuzimetrica Kirby-Bauer(43) recomandata de NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standard)2002/2008(37) si de WHO, pe Mediu GC agar baze completat cu 1% IsoVitaleX, fara hemoglobina; suspensia standardizata(0.5 McFarland 10⁸CFU/ml) am efectuat-o din cultura proaspata de 24h; discurile impregnate cu antibiotic (ABOxoid): penicilina 10 μg (cu diametrul de inhibitie conform NCCLS de la 26mm-47mm), amoxicilina 10 μg , augmentin 30 μg , claritromicina 15 μg (pentru care nu exista interval de referinta), tetraciclina 30 μg (cu diametrul de inhibitie conform NCCLS de la 26mm-47mm), ceftriaxona 30 μg (conform NCCLS rezistent >35mm) ciprofloxacina 5 μg (conform NCCLS rezistent >36mm); placile au fost incubate 5% CO₂ pentru 24h la 37 $^{\circ}\text{C}$, 70 umiditate; diametrele de inhibitie au fost masurate cu rigla; tulpini de control folosite la fiecare lot testat: *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226.

REZULTATE

Treizeci si unu de tulpini au fost β -lactamaza pozitiv. Un numar substantial de tulpini au fost rezistente la penicilina (51 din 60) si tetraciclina (51 din 60). Pentru penicilina 42 de tulpini au zone de inhibitie «19mm(propus limita pentru β -lactamaza pozitiv), 9 tulpini cu diametre intre 20-26mm(rezistente dar non β -lactamaza pozitiv). Pentru tetraciclina 48 de tulpini au diametru de inhibitie «19mm(propus limita rezistentei inalte) si 3 tulpini cu diametru intre 20 si 30mm(nivelul scazut de rezistenta). Rezultatele testarii Kirby-Bauer pentru 60 de tulpini de gonococ sunt prezentate in Tabelul nr. 1. In timp ce pentru penicilina, tetraciclina, ceftriaxona si ciprofloxacina sunt criteriile clare in ghidul pentru interpretare a sensibilitatii(43), pentru amoxicilina, augmentin, si claritromicina nu sunt bine definite. Toate 31 tulpini β -lactamaza pozitiv au fost rezistente la penicilina; producerea de β -lactamaza nu a fost corelata cu reducerea sensibilitatii la alte antibiotice exceptand tetraciclina. Un numar mare de tulpini (41 din 60) au fost rezistente la ciprofloxacina.

TABEL 1.

Procentul si numarul de tulpini *Neisseria gonorrhoeae* izolate in 2004-2008, rezistente la antibioticele testate

Antibiotic	Categorii		
	Rezistent	Intermediar	Sensibil
Ceftriaxona 30µg	1.6(1/60)	3.3(2/60)	95(57/60)
Penicilina 10ui	70(42/60)	15(9/60)	15(9/60)
Tetraciclina 30 µg	80(48/60)	5(3/60)	15(9/60)
Amoxicilina 10µg	60(36/60)	16.6(10/60)	23.3(14/60)
Augmentin 30µg	58.3(35/60)	13.3(8/60)	28.3(17/60)
Claritromicina 15µg	55(33/60)	6.6(4/60)	38.3(23/60)
Ciprofloxacina 5 µg	55(33/60)	13.3(8/60)	31.6(19/60)

TABEL 2. Sensibilitatea pentru *Neisseria gonorrhoeae* testata prin metoda difuzimetrica^a

Antibiotic	Nr. tulpini		
	Rezistenta inalta	Rezistenta moderata	Sensibil
Ceftriaxona 30 µg	1	2	57
Penicilina 10ui	42	9	9
β-lactamaza pozitiv	31		
Tetraciclina 30µg	48	3	9

^aRezistenta inalta a fost corelata cu rezistenta mediata plasmidic, si rezistenta moderata a fost corelata cu rezistenta mediata cromosomal. Criteriile utilizate sunt in referinta 43. Am determinat acuratetea rezultatelor prin antibiograma difuzimetrica prin testarea in paralel a primelor 6 tulpini si la I.Cantacuzino, cu o acuratete de 100%.

DISCUTII

Acest studiu este primul raportat in jud.Suceava, optimizarea diagnosticului microbiologic al gonoreei cu implementarea controlului de calitate al testarii sensibilitatii la antibiotice facand parte a programului national de supraveghere OMS. Se observa o scadere a sensibilitatii la antibiotice, in special penicilina si tetraciclina(85%) comparabil cu descresterea sensibilitatii tulpinilor raportata in Asia(74.3% la penicilina si 98.4% la tetraciclina); Europa de Vest(82% la penicilina si 91.3% la tetraciclina); America (90% la penicilina si 100% la tetraciclina); Africa(100% la penicilina si 91.7% la tetraciclina)(44); Rusia(77% la penicilina si 92% la tetraciclina)(46,49);Spania(70% la penicilina si 86.5% la tetraciclina)(48); Iasi(100% la penicilina si 92.6 la tetraciclina). Am depistat 31 de tulpini producatoare de β-lactamaza(51%) in timp ce in alte regiuni

cum ar fi Asia(46.2%); Europa de Vest(15.2); America (23.1%); Africa(33.3%)(44); Rusia(77%)(46); India(21.2%)(1); Australia(14%)(26); Japonia(0.5%)(16) Iasi(71.6%)(47); producerea de β -lactamaza nu a fost corelata cu reducerea sensibilitatii la alte antibiotice exceptand tetraciclina. In 1976 atat in Anglia cat si in SUA au fost detectate tulpini de gonococ producatoare de penicilinaza. Din 1989 penicilina inceteaza sa mai fie utilizata in tratamentul gonoreei, rezistenta la penicilina atingand nivele semnificative clinic.

Un numar mare de tulpini 55% au fost rezistente la ciprofloxacina, rezultat ce nu-l mai recomanda ca tratament pentru gonoree in regiunea noastra, utilizarea sa fiind indicata numai dupa efectuarea antibiogrammei si demonstrarea sensibilitatii izolatelor. In alte zone sunt raportate: Asia(63%); Europa de Vest(4.3); America (7.7%); Africa(0%)(44); Rusia(50%)(46); Iasi(59.2%)(47);India(86.6%)(1);Australia(50%)(26);Japonia(81.6%)(16); China(94.3%)(47).

Pana in prezent tulpinile de *Neisseria gonorrhoeae* au dezvoltat o rezistenta crescuta la penicilina, tetraciclina, quinolone in diferite tari(India, China, Japonia) punand o serioasa problema de management in gonoree(1, 3 , 4).

La ceftriaxona am izolat o tulpina rezistenta(1.6%) si 2 tulpini moderat sensibile in timp ce in alte regiuni sunt raportate: America (semnalate sporadic); Africa(13%)(44); Rusia(3%)(46), Iasi(0%)(47); India(5.5%)(1); Japonia(30.3%)(16); Italia(4.8%)(44); Suedia(1%)(13);

Reducerea sensibilitatii la cefalosporine de a 3-a generatie folosite in prima linie a fost raportata in unele tari: China, India(1,4, 5). Continuarea supravegherii rezistentei la antibiotice a *Neisseria gonorrhoeae* este esentiala, monitorizarea emergentei si raspandirii rezistentei la antibiotice este baza rationala pentru instituirea tratamentului sindromi(1, 8, 9) si mentinerea eficacitatii tratamentului(8,10). Controlul gonoreei este complex si dificil cere integrarea multidisciplinara pentru stabilirea antibioticelor incluse (11). Programele de supraveghere sunt necesare datorita dificultatilor de cultivare si instalarea rezistentei rapide a gonococului (8,12).

CONCLUZII

In zona noastra penicilina, tetraciclina, ciprofloxacina, claritromicina, amoxicilina si augmentinul nu pot fi folosite in tratamentul gonoreei, decat dupa rezultatul testarii la antibiotice. In Romania, optimizarea, standardizarea si controlul de calitate al testarii sensibilitatii la antibiotice a gonococului nu este inca bine stabilit in multe laboratoare. Continuarea regionala si nationala a supravegherii sensibilitatii la antibiotice este cruciala in detectarea emergentei noilor rezistente, monitorizarea variatiei patternurilor de sensibilitate face posibila adaptarea tratamentului .

Evolutia sensibilitatii la cefalosporine trebuie monitorizata obligatoriu,(fiind singura clasa de antibiotice disponibila in momentul de fata pentru terapia sindromica in uretrita gonococica), pentru surprinderea aparitiei tulpinilor rezistente.

Sunt necesare studii microbiologice inclusiv prin utilizarea markerilor de epidemiologie moleculara, stabilirea mecanismelor de rezistenta si a modului lor de transmitere.

Rezistentă la antibiotice:

Antibiotic	2004	2005	2006	2008	2009	2010
Penicilina	9/13(69%)	20/32(62%)	4/7(57%)	6/8(75%)	8/12(66%)	11/20(55%)
B-lactamaza	8/13(61%)	16/32(50%)	3/7(42%)	4/8(50%)	3/12(25%)	4/20(20%)
Tetraciclina	10/13(76%)	28/32(87%)	4/7(57%)	6/8(75%)	7/12(58%)	12/20(60%)
Amoxicilina	9/13(69%)	19/32(59%)	4/7(57%)	4/8(50%)	6/12(50%)	8/20(40%)
Augmentin	8/13(61%)	19/32(59%)	4/7(57%)	4/8(50%)	5/12(41%)	8/20(40%)
Claritromicina	9/13(69%)	18/32(56%)	3/7(42%)	3/8(37%)	7/12(58%)	7/20(35%)
Ciprofolxacina	7/13(53%)	13/32(40%)	3/7(42%)	4/8(50%)	8/12(66%)	8/20(40%)
Cetriaxona	1/13(7%)	0/32(0%)	0/7(0%)	0/8(0%)	0/12(0%)	0/20(0%)
Spectinomina					0/20(0%)	0/20(0%)

V. BIBLIOGRAFIE

1. Changing trends of antimicrobial susceptibility patterns of *Neisseria gonorrhoeae* in India and the emergence of ceftriaxone less susceptible *N. gonorrhoeae* strains Manju Bala*, Krishna Ray, S. M. Gupta, Sumathi Muralidhar and R. K. Jain *Regional STD Teaching Training and Research Centre, Vardhman Mahavir Medical College and Safdarjang Hospital, New Delhi, India*
2. Gerbase AC, Rowley JT, Heymann DH, et al. Global prevalence and incidence estimates of selected curable STDs. *Sex Transm Infect* (1998) 14:S12–6.
3. Stathi M, Fliemetakis A, Miriagou V, et al. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* in Greece: data for the years 1994–2004. *J Antimicrob Chemother* (2006) 57:775–9. [[Abstract/Free Full Text](#)]
4. Tapsall JW. Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Clin Infect Dis* (2005) 41(Suppl 4):S263–8. [[CrossRef](#)][[ISI](#)][[Medline](#)]
5. Rahman M, Sultan Z, Monira S, et al. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Bangladesh (1997 to 1999): rapid shift to fluoroquinolone resistance. *J Clin Microbiol* (2002) 40:2037–40. [[Abstract/Free Full Text](#)]
6. WHO. Management of Sexually Transmitted Diseases (1997) Geneva: WHO. 37. Document no. WHO/GPA/TEM94./Rev.1.
7. WHO. Global Surveillance Network for Gonococcal Antimicrobial Susceptibility (1990) Geneva: WHO. WHO/VDT/90-452.
8. Anonymous. Surveillance standards for antimicrobial resistance. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.5. (2001) Geneva: World Health Organization. http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/WHO_CDS_CSR_DRS_2001_5/en/ (29 August 2007, date last accessed).
9. Simonsen GS, Tapsall JW, Allegranzi B, et al. The antimicrobial resistance containment and surveillance approach—a public health tool. *Bull World Health Organ* (2004) 82:928–34. [[ISI](#)][[Medline](#)]
10. Tapsall JW. Monitoring antimicrobial resistance for public health action. *Commun Dis Intell* (2003) 27:S70–4. [[Medline](#)]
11. Tapsall JW. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* WHO/CDS/CSR/DRS/2001.3. (2001) Geneva: World Health Organization. http://www.who.int/entity/drugresistance/Antimicrobial_resistance_in_Neisseria_gonorrhoeae.pdf (29 August 2007, date last accessed).

12. Roy K, Wang SA, Meltzer MI. Optimizing treatment of antimicrobial resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Emerg Infect Dis* (2005) 11:1265–73. [\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
13. Martin IMC, Hoffman S, Ison CA. European surveillance of sexually transmitted infections (ESSTI): the first combined antimicrobial susceptibility data for *Neisseria gonorrhoeae* in Western Europe. *J Antimicrobial Chemother* (2006) 58:587–93. [\[Abstract/Free Full Text\]](#)
14. Centers for Disease Control and Prevention. Update to CDC's Sexually Transmitted Treatment Guidelines, 2006: fluoroquinolones no longer recommended for treatment of gonococcal infections. *MMWR* (2007) 56:332–6. [\[Medline\]](#)
15. Tapsall J. Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* is diminishing available treatment options for gonorrhea: some possible remedies. *Expert Rev Anti Infect Ther* (2006) 4:619–28. [\[CrossRef\]](#)[\[Medline\]](#)
16. Ito M, Deguchi T, Mizutani KS, et al. Emergence and spread of *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates harboring mosaic-like structure of penicillin-binding protein 2 in Central Japan. *Antimicrob Agents Chemother* (2005) 49:137–43. [\[Abstract/Free Full Text\]](#)
17. Whiley DM, Limnios EA, Ray S, et al. Diversity of *penA* alterations and subtypes of *Neisseria gonorrhoeae* less susceptible to ceftriaxone from Sydney, Australia. *Antimicrob Agents Chemother* (2007) 51:3111–6. [\[Abstract/Free Full Text\]](#)
18. Tanaka M, Nakayama H, Huruya K, et al. Analysis of mutations within multiple genes associated with resistance in a clinical isolate of *Neisseria gonorrhoeae* with reduced ceftriaxone susceptibility that shows a multidrug-resistant phenotype. *Int J Antimicrob Agents* (2006) 27:20–6. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
19. Ochiai S, Sekiguchi S, Hayashi A, et al. Decreased affinity of mosaic-structure recombinant penicillin-binding protein 2 for oral cephalosporins in *Neisseria gonorrhoeae*. *J Antimicrob Chemother* (2007) 60:54–60. [\[Abstract/Free Full Text\]](#)
20. Multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* John Tapsall is with the World Health Organization Collaborating Centre for Sexually Transmitted Diseases, Department of Microbiology, Prince of Wales Hospital, Sydney, Australia *CMAJ* • February 3, 2009; 180 (3). doi:10.1503/cmaj.081721
21. Workowski KA, Berman SM, Douglas JM Jr. Emerging antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: urgent need to strengthen prevention strategies. *Ann Intern Med* 2008;148:606-13. [\[Abstract/Free Full Text\]](#)

22. Deguchi T, Yasuda M. Lack of nationwide surveillance of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in Japan. *Ann Intern Med* 2008;149:363-4. [\[Free Full Text\]](#))
23. Wong WW, Huang CT, Li LH, et al. Molecular epidemiological identification of *Neisseria gonorrhoeae* clonal clusters with distinct susceptibility profiles associated with specific groups at high risk of contracting human immunodeficiency virus and syphilis. *J Clin Microbiol* 2008;46:3931-4. Epub 2008 Oct. 8. [\[Abstract/Free Full Text\]](#)
24. Tapsall JW, Ray S, Lo JYC, et al. Distribution of a cephalosporin-resistant sequence type of *Neisseria gonorrhoeae* with a mosaic PBP2 associated with treatment failure in the Asia-Pacific region [poster presentation, abstract P052]. *Programme and abstracts of the 16th International Pathogenic Neisseria Conference*; 2008 Sept. 7–12; Rotterdam, Netherlands. Available: www.ipnc2008.org/Abstracts%20poster%20presentations%20IPNC%202008.pdf (accessed 2008 Dec 24).
25. Gill, M. J., Simjee, S., Al-Hattawi, K., Robertson, B. D., Easmon, C. S. F. & Ison, C. A. (1998). Gonococcal resistance to β -lactams and tetracyclines involves mutation in loop 3 of the porin encoded at the *penB* locus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **42**, 2799–803. [\[Abstract/Free Full Text\]](#)
26. Tapsall, J. W., Limnios, M. & Schultz, T. (1998). Continuing evolution of the pattern of quinolone resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Sydney, Australia. *Sexually Transmitted Diseases* **8**, 415–7.
27. Gordon, S. M., Carlyn, C. J., Doyle, L. J., Knapp, C. C., Longworth, D. L., Hall, G. S. et al. (1996). The emergence of *Neisseria gonorrhoeae* with decreased susceptibility to ciprofloxacin in Cleveland, Ohio: epidemiology and risk factors. *Annals of Internal Medicine* **125**, 465–70. [\[Abstract/Free Full Text\]](#)
28. Tanaka, M., Matsumoto, T., Kobayashi, I., Uchino, U. & Kumazawa, J. (1995). Emergence of in vitro resistance to fluoroquinolones in *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Japan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **39**, 2367–70. [\[Abstract\]](#)
29. Gill, M. J., Simjee, S., Al-Hattawi, K., Robertson, B. D., Easmon, C. S. F. & Ison, C. A. (1998). Gonococcal resistance to β -lactams and tetracyclines involves mutation in loop 3 of the porin encoded at the *penB* locus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **42**, 2799–803. [\[Abstract/Free Full Text\]](#)
30. Chalkley, L. J., van Rensburg, J. M. N., Mathee, P. C., Ison, C. A. & Botha, P. L. (1997). Plasmid analysis of *Neisseria gonorrhoeae* isolates and dissemination of *tetM* genes in Southern Africa 1993-1995. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **40**, 817–22. [\[Abstract/Free Full Text\]](#)

- 31.** Moodley, P., Hoppenbrouwers, J., Bohlken, L. & Sturm, A. W. (2001). Emergence of TetM-mediated tetracycline resistance in rural South Africa. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48, 142–3. [Free Full Text](#)
- 32.** Retsema, J. (1999). Susceptibility and resistance emergence studies with macrolides. *International Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 11, Suppl. 1, S15–21 [discussion S31–2].
- 33.** Retsema, J. A., Brennan, L. A. & Girard, A. E. (1991). Effects of environmental factors on the *in vitro* potency of azithromycin. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 10, 834–42. [ISI](#) [Medline](#)
- 34.** Zarantonelli, L., Borthagaray, G., Lee, E.-H. & Shafer, W. M. (1999). Decreased azithromycin susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* due to *mtrR* mutations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 10, 2468–72.
- 35.** Schito, G. C., Mannelli, S. & Pesce, A. (1997). Trends in the activity of macrolide and beta-lactam antibiotics and resistance development. Alexander Project Group. *Journal of Chemotherapy* 9, Suppl. 3, 18–28.
- 36.** Young, H., Moyes, A. & McMillan, A. (1997). Azithromycin and erythromycin resistant *Neisseria gonorrhoeae* following treatment with azithromycin. *International Journal of STD and AIDS* 8, 299–302.
- 37.** National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2008). *Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing: Eighteenth Informational Supplement M2–A9 end M7-A7*. NCCLS, Villanova, PA.
- 38.** Thornsberry, C., Jaffee, H., Brown, S. T., Edwards, T., Biddle, J. W. & Thompson, S. E. (1977). Spectinomycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Journal of the American Medical Association* 22, 2405–6.
- 39.** Manual of Commercial Methods in Clinical Microbiology Allan L. Truant American Society for Microbiology, Washington, D.C., 2002, ISBN: 1-55581-189-2, Pages: 40
- 40.** Manual of Clinical Microbiology. P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover & R.H. Tenover (eds). 7th ed., ASM Press, Washington, D.C, 1999, p.336-338.
- 41.** Evolution in the trends of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Durban over a 5 year period: impact of the introduction of syndromic management Prashini Moodley, Chinsamy Pillay, Rabia Goga, Ayesha B. M. Kharsany and A. Willem Sturm*

42. Analysis of trends in antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Australia, 1997–2006 J. W. Tapsall¹, E. A. Limnios¹, Denise Murphy on behalf of the Australian Gonococcal Surveillance Programme^{2*}
43. Jones, R. J., T. L. Gavan, C. Thornsberry, P. C. Fuchs, E. H. Gherlach, J. S. Knapp, P. Murray, and J. A. Washington II. 1989. Standardization of disk diffusion and agar dilution susceptibility tests for *Neisseria gonorrhoeae*: interpretative criteria and quality control guidelines for ceftriaxone, penicillin, spectinomycin, and tetracycline. *J. Clin. Microbiol.* 27:2758-2766.
44. One Year of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Sweden: prevalence study of antibiotic susceptibility shows relation to the geographic area of exposure. Torsten Berglund, Magnus Unemo, Per OLCen, Johan Giesecke and Hans Freulund. *International Journal of STD&AIDS* 2002; 13: 109-114
45. Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to Cefpodoxime: Determination of MICs and Disk Diffusion Zone Diameters. Thomas Fekete, John Woodwell, and Kenneth R. Cundy
46. National surveillance of antimicrobial susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae* in 2005-2006 and recommendations of first-line antimicrobial drugs for gonorrhoea treatment in Rusia. A. Kubanova, N. Frigo, A. Kubanov, S. Sidorenko, T. Pripitnevich, T. Vachnina, N. Al-Khafaji, S. Polevshikova, V. Solomka, M. Domeika and M. Unemo.
47. Rezistentă la antibiotice a *Neisseria gonorrhoeae* în zona Moldovei. Aida Corina Badescu, Zenaida Petrescu, A. Enache, D. Buiuc
48. In Vitro Susceptibilities of 400 Spanish Isolates of *Neisseria gonorrhoeae* to Gemifloxacin and 11 Other Antimicrobial Agents. S. Berron, J. A. Vazquez, M. J. Gimenez, L. de la Fuente, and L. Aguilar
49. Veronoca Vorobieva, Natalia Firsova, Tatiana Ababkova, Ivan Leniv, Bjorg C. Haldorsen, Magnus Unemo and Vegard Skogen Antibiotic susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* in Arkhangelsk, Rusia. *Sexually Transmitted infections* 2007;83:133-13

50. CDC-Gonoccal Isolate Surveillance Project)GISP--1999, US Dep. of Health and Human Services

TIFFANY R. SHULTZ, JOHN W. TAPSALL, AND PETER A. WHITE Correlation of In Vitro Susceptibilities to Newer Quinolones of Naturally Occuring Quinolone-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Strains with Changes in Gyr A and Par C ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTERAPY, Mar. 2001, p. 734-738

