

***Electrochemical Biosensor* Sebagai Diagnostik Terbaru Terhadap Penyakit Gonore**

Devi Liani Octiara¹, Bugenvil Ungu²

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Gonore adalah penyakit yang diakibatkan adanya infeksi menular seksual dan disebabkan oleh bakteri *N. gonorrhoeae* yang dapat menyebabkan infeksi pada uretra, serviks, anus, dan tenggorokan (bergantung bentuk kontak seks yang dilakukan). Mikroorganisme memerlukan kontak langsung dengan mukosa dari individu yang terinfeksi. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan bahwa tidak kurang dari 25 juta kasus baru ditemukan setiap tahun di seluruh dunia. *Center for disease control and prevention* (CDC) memperkirakan sekitar 820.000 kasus gonore muncul setiap tahunnya di AS. Survei Terpadu Biologi Perilaku (STBP) pada tahun 2013 di beberapa kota di Indonesia, dilaporkan mengalami peningkatan pada pria berisiko tinggi dari 0,7% pada tahun 2009 menjadi 8,5% pada tahun 2013, dan pada laki-laki yang berhubungan seksual dengan laki-laki (LSL) juga terjadi peningkatan dari sekitar 17% pada tahun 2009 menjadi 21,2% pada tahun 2013. Penegakan diagnosis gonore didasarkan atas anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang dengan *gold standard* pemeriksaan kultur. Pemeriksaan dengan kultur memerlukan waktu dua hingga tiga hari dalam memastikan adanya infeksi *N. gonorrhoeae* dengan biaya yang tidak murah, *operator-dependent*, dan belum tentu ada di setiap fasilitas kesehatan sehingga diperlukan diagnostik baru untuk menentukan infeksi gonore dengan cepat dan tepat. Biosensor adalah teknologi baru dalam diagnostik. Biosensor DNA elektrokimia didasarkan pada integrasi *probe* sekuens spesifik dengan transduser sinyal elektrokimia yang mengubah peristiwa pasangan basa hibridisasi DNA menjadi sinyal listrik yang berguna dengan menggunakan *PACE-Gen-Probe chemiluminescent* untuk identifikasi *N. gonorrhoeae* dalam sampel klinis dengan pulasan urogenital-endoserviks dan *ORTHO Probe biotinylated and Chemiluminescent Accu Probe* untuk konfirmasi identifikasi *N. gonorrhoeae*.

Kata kunci: Biosensor, Diagnostik, Gonore

Electrochemical Biosensor As A New Diagnostic For Gonorrhea

Abstract

Gonorrhea is a disease caused by a sexually transmitted infection and is caused by the bacterium *N. gonorrhoeae* that can cause infection in the urethra, cervix, anus, and throat (depending on the type of sex contact done). Microorganisms require direct contact with the mucosa of an infected individual. The World Health Organization (WHO) estimates that less than 25 million new cases are found each year worldwide. The Center for Disease Control and Prevention (CDC) estimates that approximately 820,000 cases of gonorrhea occur annually in the United States. The Integrated Biological Behavior Survey (STBP) 2013 in several cities in Indonesia, reported a high-risk men from 0.7% in 2009 to 8.5% by 2013, and in men who have sex with men (LSL) also increased from 17% in 2009 to 21.2% in 2013. The diagnosis of gonorrhea is based on anamnesis, physical examination and investigation with gold standard culture examination. Culture examination takes two to three days to confirm the presence of *N. gonorrhoeae*, expensive, operator-dependent, and not necessarily present in every health facility. That is why new diagnostics are needed to determine gonorrhea infection quickly and precisely. Biosensor is a new technology in diagnostics. The electrochemical DNA biosensor is based on the integration of a specific sequence probe with an electrochemical signal transducer that converts the bases of DNA hybridization bases into useful electrical signals using *PACE-Gen-Probe chemiluminescent* for the identification of *N. gonorrhoeae* in clinical samples with urogenital-endocervical swabs and *ORTHOProbe biotinylated and Chemiluminescent AccuProbe* for confirmation of *N. gonorrhoeae* identification.

Keywords: Biosensor, Diagnostic, Gonorrhea

Korespondensi: Devi Liani Octiara, Jl. Wartawan Gang Manis No. 6C Gunung Sulah, Way Halim, Bandarlampung, HP 081272037002, e-mail devioctiara13@gmail.com

Pendahuluan

Penyakit Gonore adalah penyakit yang diakibatkan adanya infeksi menular seksual dan disebabkan oleh bakteri *N. gonorrhoeae* yang dapat menyebabkan infeksi pada uretra, serviks, anus, dan tenggorokan (bergantung bentuk kontak seks yang dilakukan). Mikroorganisme memerlukan kontak langsung

dengan mukosa dari individu yang terinfeksi, biasanya saat hubungan seksual.¹

Gonore menjadi salah satu penyakit infeksi menular seksual yang sering terjadi dan merupakan tantangan kesehatan umum yang dijumpai saat ini. Seperti yang kita ketahui bahwa gonore telah diketahui menginfeksi

manusia sejak lama, akan tetapi masih menjadi masalah kesehatan masyarakat baik di negara maju maupun di negara yang sedang berkembang. Tidak ada imunitas bawaan, walaupun bagi orang yang pernah menderita penyakit ini dan tidak ada perbedaan mengenai kekebalan antara berbagai suku bangsa, jenis kelamin, atau umur.²

World Health Organization (WHO) memperkirakan bahwa tidak kurang dari 25 juta kasus baru ditemukan setiap tahun di seluruh dunia. *Center for disease control and prevention* (CDC) memperkirakan sekitar 820.000 kasus gonore muncul setiap tahunnya di AS. Angka infeksi gonore dari 106,7 kasus per 100.000 populasi pada tahun 2012 menjadi 106,1 kasus per 100.000 populasi pada tahun 2013, namun selama periode 2009 hingga 2013 angka infeksi meningkat sekitar 8,2%. Prevalensi gonore berdasarkan data dari Survei Terpadu Biologis Perilaku (STBP) pada tahun 2013 di beberapa kota di Indonesia, dilaporkan mengalami peningkatan pada pria berisiko tinggi dari 0,7% pada tahun 2009 menjadi 8,5% pada tahun 2013, dan pada laki-laki yang berhubungan seksual dengan laki-laki (LSL) juga terjadi peningkatan dari sekitar 17% pada tahun 2009 menjadi 21,2% pada tahun 2013. Prevalensi infeksi gonore pada WPS langsung di Indonesia menurut STBP pada tahun 2013 adalah sebesar 32,2 % dan 34,8 % pada tahun 2009. Prevalensi infeksi gonore pada WPS tidak langsung adalah sebesar 17,7 % pada tahun 2013 dan 17,7 % pada tahun 2009.³⁻⁵

Penegakan diagnosis gonore didasarkan atas anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang dengan *gold standard* pemeriksaan kultur. Pemeriksaan dengan kultur memerlukan waktu dua hingga tiga hari dalam memastikan adanya infeksi *N. gonorrhoeae* dengan biaya yang tidak murah dan belum tentu ada di setiap fasilitas kesehatan sehingga diperlukan diagnostik baru untuk menentukan infeksi gonore dengan cepat dan tepat. Saat ini penggunaan biosensor elektrokimia sudah diterapkan di beberapa negara dan terbukti dapat mengurangi mortalitas dan morbiditas penyakit gonore.

Isi

Gonore merupakan infeksi bakteri yang disebabkan oleh kuman *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*), suatu diplokokus gram

negatif. Pada tahun 1879, *N. gonorrhoeae* ditemukan oleh Neisser dengan pulasan sediaan hapusan dari eksudat uretra, vagina, dan konjungtiva. Gonokokus termasuk golongan diplokokus berbentuk biji kopi dengan lebar 0,8µm, panjang 1,6µm, dan bersifat tahan asam. Kuman ini bersifat gram negatif, yang terlihat di luar atau di dalam sel polimorfonuklear (leukosit), tidak tahan lama diudara bebas, cepat mati pada keadaan kering, tidak tahan suhu di atas 39° C, dan tidak tahan terhadap zat desinfektan. Afinitas kuman sangat baik pada mukosa epitel lapis gepeng yang belum berkembang (imatur, pada wanita prepubertas) sedangkan epitel transisional dan berlapis pipih lebih resisten terhadap kuman gonokokus ini.^{6,7}

Secara morfologi gonokokus terdiri dari 4 tipe yaitu tipe I dan II yang mempunyai pili bersifat virulen, serta tipe III dan IV yang memiliki pili bersifat non virulen. Pili akan melekat pada mukosa epitel dan akan menimbulkan reaksi radang. Hanya tipe I dan II yang patogen pada manusia. Gonokokus akan melakukan penetrasi permukaan mukosa dan akan berkembang biak di dalam jaringan subepitel. Gonokokus akan menghasilkan berbagai macam produk ekstraseluler yang dapat mengakibatkan kerusakan sel, termasuk diantaranya enzim seperti *fosfolipase*, *peptidase*, dan lainnya. Kerusakan jaringan ini disebabkan oleh dua komponen permukaan sel yaitu LOS (*Lipo Oligosaccharide*) yang berperan menginvasi sel epitel dengan cara menginduksi produksi endotoksin yang menyebabkan kematian sel mukosa dan peptidoglikan yang mengandung beberapa asam amino dan "*penicilin binding component*" yang merupakan sasaran antibiotik penisilin dalam proses kematian kuman. Mobilisasi leukosit PMN menyebabkan terbentuk mikroabses subepitel yang pada akhirnya akan pecah dan melepaskan PMN dan gonokokus.^{8,9}

Gejala penyakit gonore dapat bersifat simptomatik maupun asimtomatik. Bakteri *N. gonorrhoeae* menyerang membran mukosa terutama membran mukosa dengan jenis epitel kolumnar sebagai tempat infeksi. Epitel jenis ini banyak dijumpai pada serviks, rektum, faring, dan konjungtiva sehingga manifestasi klinis infeksi gonore bersifat variatif. Pada pria dengan gonore, keluhan uretritis akut paling sering dijumpai. Keluhan ini disertai dengan

keluarnya *discharge purulent* dari alat kelamin dan rasa nyeri saat kencing. Pada wanita, sekitar 50% kasus bersifat asimtomatik. Dari beberapa kasus, servitis merupakan keluhan yang paling sering dijumpai pada wanita yang terinfeksi gonore. Selain manifestasi berupa uretritis, infeksi gonore juga dapat memberikan gambaran klinis proktitis, orofaringitis, konjungtivitis, dan gonore diseminata.^{10,11}

Strategi utama untuk mengendalikan gonore melibatkan diagnosis dan pengobatan kasus simptomatik bersama serta pelacakan kontak dengan dilakukannya pengobatan pasangan seksual. Tingginya proporsi infeksi asimtomatik sekitar 50-80% pada wanita dan 10% pada pria, kurangnya tes sensitif dan spesifik yang cocok untuk skrining massal, persyaratan sampel invasif untuk tes dan stigma sosial yang melekat pada penyakit adalah beberapa alasan karena penyakit ini kurang didiagnosis dan tidak dilaporkan. Meskipun banyak tes yang tersedia untuk mendeteksi infeksi gonore, sebagian besar memerlukan fasilitas laboratorium dan harganya mahal, serta hasilnya harus menunggu lama.^{12,13}

Kultur masih dijadikan sebagai *gold standard* untuk diagnosis definitif gonore. Media yang mengandung konsentrasi asam amino esensial tertentu seperti sistein, purin, dan pirimidin, serta sumber energi yang dapat digunakan (yaitu glukosa, piruvat, atau laktat) diperlukan untuk dapat mengkultur semua *gonococcal strain* yang berbeda. Isolasi primer *gonococci* memerlukan media kultur selektif yang mengandung agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur lain seperti modifikasi Thayer-Martin, Martin-Lewis atau GC-Lectult dikombinasikan dengan medium tanpa inhibitor, misalnya agar cokelat. Pada laboratorium dengan kontrol kualitas yang baik sensitivitas kultur dapat berkisar dari 85% hingga 95% tetapi keterampilan untuk kultur gonore dengan prosedur *quality control* dibatasi hanya untuk beberapa laboratorium saja.^{14,15}

Diagnostik non-kultur seperti teknologi DNA canggih, terutama *nucleic acid amplification test* (NAATs), *polimerase chain reaction* (PCR), dan *ligase chain reaction* (LCR), telah dikembangkan dan dievaluasi di negara-negara industri selama beberapa tahun terakhir. NAATs mendapatkan popularitas tidak hanya karena berurusan dengan organisme yang halus tetapi juga karena batas deteksi

rendah sangat penting untuk diagnosis infeksi asimtomatik. Tes komersial serta *in-house* yang menargetkan gen berbeda di *N. gonorrhoeae* telah dikembangkan. NAATs menawarkan kepekaan deteksi yang sangat luas, biasanya jauh di atas 90%, sementara mempertahankan spesifisitas sangat tinggi, biasanya $\geq 99\%$. Ada lima tes NAAT *gonorrhoeae* komersial utama. Ini termasuk *Roche Cobas Amplicor* (Sytems Roche Molecular, Branchburg, NJ, USA), *Gen-Probe APTIMA Combo 2* (AC2; GenProbe), *Becton Dickinson Probe Tecassay* (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA), *Abbott Real Time 2000* (Inc Abbott Molecular, Des Plaines, Illinois, USA) dan *Xpert NG assay* (Cepheid, Sunnyvale, California, USA).¹⁶⁻¹⁸

NAAT direkomendasikan untuk mendeteksi infeksi urogenital pada wanita dan pria dengan dan tanpa gejala. Namun, data tentang penggunaan NAAT untuk mendeteksi *N. gonorrhoeae* pada anak-anak terbatas. Oleh karena itu, Pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit, Laboratorium Kesehatan Publik Australia, dan pedoman Badan Perlindungan Kesehatan Inggris, merekomendasikan penggunaan dua PCR yang menargetkan gen berbeda yang diketahui memiliki kapasitas diskriminatif untuk penentuan positif pada sampel urogenital. Satu PCR digunakan sebagai pemeriksaan skrining dan sangat sensitif sedangkan PCR kedua yang digunakan sebagai tes tambahan harus sangat spesifik bersama dengan memiliki sensitivitas yang sebanding dengan pemeriksaan skrining. Para penulis telah merancang PCR *in-house* yang menargetkan gen opa *N. gonorrhoeae* dan mengevaluasi kinerjanya dengan dua PCR yang sudah ada, yang menargetkan gen 16S rRNA dan *por A pseudogen*. Menurut pedoman, yang sama telah divalidasi untuk digunakan pasien India. Selain itu, sesuai rekomendasi, penilaian berkelanjutan dari target gen ini untuk tujuan diagnostik sedang dilakukan.¹⁹⁻²¹

Kemajuan pesat dalam biologi molekuler dalam 20 tahun terakhir telah memberikan teknik yang luas untuk mendeteksi dan mengidentifikasi mikroorganisme. Beberapa sistem identifikasi komersial berdasarkan berbagai metode biokimia dan imunologi tersedia untuk identifikasi cepat *N. gonorrhoeae*. Baru-baru ini, teknologi *probe* DNA telah menciptakan pendekatan diagnostik baru untuk digunakan di klinik-laboratorium.

Beberapa tes telah dikembangkan untuk deteksi langsung dari urutan target *N. gonorrhoeae* baik dalam sampel pasien, sebagai sarana diagnosis non-kultur langsung atau pada organisme berbudaya untuk memberikan konfirmasi identifikasi. Ini termasuk sistem *PACE-Gen-Probe chemiluminescent* untuk identifikasi *N. gonorrhoeae* dalam sampel klinis dengan pulasan urogenital-endoserviks dan *ORTHO Probe biotinylated and Chemiluminescent Accu Probe* untuk konfirmasi identifikasi *N. gonorrhoeae*. Biosensor adalah teknologi baru dalam diagnostik. Biosensor DNA elektrokimia didasarkan pada integrasi *probe* sekuens spesifik dengan transduser sinyal elektrokimia yang mengubah peristiwa pasangan basa hibridisasi DNA menjadi sinyal listrik yang berguna. Para penulis telah mengembangkan biosensor DNA elektrokimia menggunakan elektroda emas yang dimodifikasi DNA. *Probe self-design* yang menargetkan gen opa diimobilisasi setelah modifikasi dan metilen biru digunakan sebagai agen monitor hibridisasi. Optimasi kondisi kerja dilakukan menggunakan strain standar *N. gonorrhoeae* dan DNA sintesis.²²⁻²⁵

Para peneliti telah mengevaluasi lebih lanjut kinerja biosensor untuk mendeteksi *N. gonorrhoeae* menggunakan ampikon dari sampel klinis positif dan negatif yang diketahui. Berdasarkan variasi intensitas sinyal yang dihasilkan oleh sampel yang berbeda, nilai *cut-off* menggunakan kurva karakteristik ditentukan untuk membedakan individu yang terinfeksi dan yang tidak terinfeksi. Sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif, dan nilai prediksi negatif dari uji biosensor adalah 96,2%, 88,2%, 92,6%, dan 93,8%, masing-masing bila dibandingkan dengan kultur, yang merupakan *gold standard* CUI (+) adalah 0,89 dan CUI (-) adalah 0,83, merupakan tes yang sangat baik.²⁶

Metode pengenceran serial DNA genomik *sonicated* diuji untuk menentukan batas deteksi, dan spesifisitas ditentukan terhadap panel yang disebutkan di atas. Batas deteksi *bioelectrode* untuk DNA genom ditemukan 10-18 M ($4,336 \times 10^{-15}$ g) dan biosensor ditemukan 100% spesifik dengan panel strain yang diuji menunjukkan penurunan sinyal. Intensitas hanya untuk DNA gonokokal. Sensitivitas tinggi yang ditawarkan ditambah dengan kompatibilitasnya menggunakan teknologi *microfabrication modern*, portabilitas, biaya

rendah, dan kebutuhan daya minimal menjadikan diagnostik penyakit gonore yang sangat baik.²⁶

Ringkasan

Penyakit Gonore adalah penyakit yang diakibatkan adanya infeksi menular seksual dan disebabkan oleh bakteri *N. gonorrhoeae* yang dapat menyebabkan infeksi pada uretra, serviks, anus, dan tenggorokan (bergantung bentuk kontak seks yang dilakukan). Mikroorganisme memerlukan kontak langsung dengan mukosa dari individu yang terinfeksi, biasanya saat hubungan seksual. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan bahwa tidak kurang dari 25 juta kasus baru ditemukan setiap tahun di seluruh dunia. *Center for disease control and prevention* (CDC) memperkirakan sekitar 820.000 kasus gonore muncul setiap tahunnya di AS. Survei Terpadu Biologis Perilaku (STBP) pada tahun 2013 di beberapa kota di Indonesia, dilaporkan mengalami peningkatan pada pria berisiko tinggi dari 0,7% pada tahun 2009 menjadi 8,5% pada tahun 2013, dan pada laki-laki yang berhubungan seksual dengan laki-laki (LSL) juga terjadi peningkatan dari sekitar 17% pada tahun 2009 menjadi 21,2% pada tahun 2013.

Penegakan diagnosis gonore didasarkan atas anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang dengan *gold standard* pemeriksaan kultur. Pemeriksaan dengan kultur memerlukan waktu dua hingga tiga hari dalam memastikan adanya infeksi *N. gonorrhoeae* dengan biaya yang tidak murah dan belum tentu ada di setiap fasilitas kesehatan sehingga diperlukan diagnostik baru untuk menentukan infeksi gonore dengan cepat dan tepat.

Biosensor adalah teknologi baru dalam diagnostik. Biosensor DNA elektrokimia didasarkan pada integrasi *probe* sekuens spesifik dengan transduser sinyal elektrokimia yang mengubah peristiwa pasangan basa hibridisasi DNA menjadi sinyal listrik yang berguna. Ini termasuk sistem *PACE-Gen-Probe chemiluminescent* untuk identifikasi *N. gonorrhoeae* dalam sampel klinis dengan pulasan urogenital-endoserviks dan *ORTHO Probe biotinylated and Chemiluminescent Accu Probe* untuk konfirmasi identifikasi *N. gonorrhoeae*. Sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif, dan nilai prediksi negatif dari uji biosensor adalah 96,2%, 88,2%, 92,6%, dan

93,8%, masing-masing bila dibandingkan dengan kultur, yang merupakan *gold standard* CUI (+) adalah 0,89 dan CUI (-) adalah 0,83 merupakan tes yang sangat baik.

Simpulan

Biosensor adalah teknologi baru dalam diagnostik. Biosensor DNA elektrokimia didasarkan pada integrasi *probe* sekuens spesifik dengan transduser sinyal elektrokimia yang mengubah peristiwa pasangan basa hibridisasi DNA menjadi sinyal listrik yang berguna. Sensitivitas tinggi yang ditawarkan ditambah dengan kompatibilitasnya menggunakan teknologi *microfabrication modern*, portabilitas, biaya rendah, dan kebutuhan daya minimal menjadikannya diagnostik yang sangat baik.

Daftar Pustaka

1. Kumar B, Sethi S, Sharma D, Mehta SD, Singh B, Smriti M, et al. Emergence of ciprofloxacin resistant neisseria gonorrhoeae in North India. *Indian J Med Res*. 2006;123:708.
2. Martiastutik, D. Buku ajar infeksi menular seksual. Surabaya: Airlangga University Press. 2008.
3. Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit & Penyehatan Lingkungan Kementerian Kesehatan RI. (2014). Laporan Survey Terpadu Biologi dan Perilaku (STBP) 2013. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013.
4. Centers for Disease Control and Prevention. 2015. Sexually transmitted disease treatment guidelines [internet]. USA: CDC; June 2015 [diakses 27 Mei 2018]. Tersedia dari <https://www.cdc.gov/std/tg2015/gonorrhea.htm>
5. World Health Organization. 2014. Guidelines for the management of sexually transmitted infection [internet]. WHO; 2004 [diakses 26 Mei 2018]. Tersedia dari: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42782/1/9241546263_eng.pdf?ua=1
6. Daili SF. Gonore. Dalam: Daili SF, Makes WIB, Zubier F, Judanarso J, editor. Penyakit menular seksual. Edisi kedua. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2001.
7. Martodihardjo S. Kencing nanah. *BIPKK*. 1990;2(1):14-21.
8. Isnain H, Martodiharjo S. Resistensi neisseria gonorrhoeae terhadap antibiotik. *BIPKK*. 2007;13(2):80-9.
9. Sparling PF. Biology of neisseria gonorrhoeae. In: Holmes KK, editors. Sexually transmitted disease. 3rd ed. New York: McGraw-Hill. 1999.
10. Garcia AI, Madkan VK dan Tying SK. Gonorrhea and other venereal diseases. Dalam: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, Paller AS, Leffel DJ, penyunting. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. Edisi ke-7. United State: Mc Graw-Hill. 2008. hlm.1993-2000.
11. Ram S dan Rice PA. Gonococcal infections. Dalam: Kasper DL dan Fauci AS, penyunting. *Harrison's infectious diseases*. United State: Mc Graw-Hill. 2010. hlm.459-468.
12. Tapsall J. Antimicrobial resistance in neisseria gonorrhoeae. Geneva: World Health Organization. 2001.
13. Davies PO, Low N, Ison CA. The role of effective diagnosis for the control of gonorrhoea in high prevalence populations. *Int J STD AIDS*. 1998;9:435-43.
14. Ng LK, Martin IE. The laboratory diagnosis of neisseria gonorrhoeae. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2005;16:15-25.
15. Savicheva A, Sokolovsky E, Frigo N, Pripitnevich T, Brilene T, Deak J. Guidelines for laboratory diagnosis of neisseria gonorrhoeae in East-European Countries. *Acta Med Lituanica*. 2007;14:123-34.
16. Whiley DM, Tapsall JW, Sloots TP. Nucleic acid amplification testing for neisseria gonorrhoeae: an ongoing challenge. *J Mol Diagn*. 2006;8:3-15.
17. Tabrizi SN, Chen S, Cohenford MA, Lentricchia BB, Coffman E, Shultz T, et al. Evaluation of real time polymerase chain reaction assays for confirmation of neisseria gonorrhoeae in clinical samples tested positive in the roche cobas amplicor assay. *Sex Transm Infect*. 2004;80:68-71.
18. Mukenge-Tshibaka L, Alary M, Bernier F, van Dyck E, Lowndes CM, Guédou A, et al. Diagnostic performance of the roche AMPLICOR PCR in detecting neisseria gonorrhoeae in genitourinary specimens from female sex workers in Cotonou, Benin. *J Clin Microbiol*. 2000;38:4076-9.
19. Smith DW, Tapsall JW, Lum G. Guidelines for the use and interpretation of nucleic acid detection tests for neisseria gonorrhoeae in Australia: a position paper on behalf of the Public Health Laboratory Network. *Commun Dis Intell*. 2005;29:358-65.
20. Bignell C, Fitzgerald M; Guideline Development Group; British Association for Sexual Health and HIV UK. UK national guideline for the management of gonorrhoea in adults, 2011. *Int J STD AIDS*. 2011;22:541-7.
21. Verma R, Sood S, Bala M, Mahajan N, Kapil A, Sharma VK, et al. Evaluation of an opa gene-based nucleic acid amplification test for detection of neisseria gonorrhoeae in urogenital samples in North India. *Epidemiol Infect*. 2012;140:2110-6.

22. Kuritza AP, Edberg SC, Chapis C, Gallo P. Identification of neisseria gonorrhoeae with the ORTHO Probe DNA probe test. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1989;12:129-32.
23. Naher H, Kohl PK, Petzoldt D. Evaluation of a non-radioactive DNA probe for confirmatory identification of neisseria gonorrhoeae. *Int J Med Microbiol*. 1989;272:181-5.
24. Sprott MS, Kearns AM, Neale MW. Non-radioactive DNA probe to identify neisseria gonorrhoeae. *Genitourin Med*. 1989;65:60-1.
25. Lewis JS, Kranig-Brown D, Trainor DA. DNA probe confirmatory test for neisseria gonorrhoeae. *J Clin Microbiol*. 1990;28:2349-50.
26. Verma R, Sood S, Singh R, Sumana G, Bala M, Sharma VK, et al. Coupling electrochemical response of a DNA biosensor with PCR for neisseria gonorrhoeae detection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014;78:16-23.