



淋病奈瑟菌大观霉素耐药基因检测方法的建立与评价

杨桂琴¹, 李梦欢¹, 王有为², 雍刚², 王红仁³, 别明江^{1,4Δ}

1. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院(成都 610041); 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院 临床医学检验中心(成都 610072); 3. 四川大学华西基础医学与法医学院 病原生物学系(成都 610041); 4. 《四川大学学报(医学版)》编辑部(成都 610041)

【摘要】目的 建立淋病奈瑟菌大观霉素耐药基因的检测方法并对其进行评价。**方法** 设计淋病奈瑟菌特异性引物NG1/NG2以及淋病奈瑟菌*rpsE*基因突变(80_82 delTTA)特异性引物,通过PCR和实时荧光PCR(quantitative real-time PCR, qPCR)技术,分别以大观霉素敏感和耐药淋病奈瑟菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌和伤寒沙门菌等基因组核酸为待检样本,以评价该方法的敏感度及特异度。**结果** NG1/NG2引物能够有效扩增淋病奈瑟菌特异性片段,其余细菌扩增结果为阴性;E64/E175R和E-87/E95R能够有效区分待测样本的*rpsE*基因是否带有突变(80_82 delTTA)。利用PCR方法,NG1/NG2、E64/E175R和E87/E95R检测目的基因的最低检测限分别为414.8、414.8、4.1拷贝/μL,而qPCR检测方法的最低检测限分别为41.5、41.5、4.1×10⁻²拷贝/μL。**结论** 本研究成功建立了一种高特异度和高敏感度的淋病奈瑟菌大观霉素耐药性的核酸检测方法,有望为临床快速诊断淋病感染和治疗决策提供指导。

【关键词】 淋病奈瑟菌 大观霉素耐药 *rpsE*基因 基因检测方法

Establishment and Evaluation of a Nucleic Acid Amplification Test for Spectinomycin-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* YANG Guiqin¹, LI Menghuan¹, WANG Youwei², YONG Gang², WANG Hongren³, BIE Mingjiang^{1,4Δ}.

1. West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Clinical Laboratory Center, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China; 3. Department of Pathogenic Biology, West China School of Basic Medical Sciences & Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. Editorial Office of Journal of Sichuan University (Medical Sciences), Chengdu 610041, China

Δ Corresponding author, E-mail: 13941057@qq.com

[Abstract] Objective To develop and evaluate a nucleic acid amplification test for spectinomycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*). **Methods** *N. gonorrhoeae*-specific primers NG1/NG2 and primers specific to the *N. gonorrhoeae rpsE* gene mutation (80_82 delTTA) were designed. Genomic nucleic acids of spectinomycin-sensitive and resistant *N. gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella typhi* were used as templates to be amplified by PCR and quantitative real-time PCR (qPCR). The sensitivity and specificity of the method were evaluated accordingly. **Results** The NG1/NG2 primers could effectively amplify specific fragments of *N. gonorrhoeae*, yielding negative results for the nucleic acid amplification test of the other types of bacteria tested. E64/E175R and E-87/E95R could effectively differentiate the wild type and mutant (80_82 delTTA) *rpsE* genes. In PCR reactions, the minimum limits of NG1/NG2, E64/E175R, and E87/E95R for the target genes were 414.8 copies, 414.8 copies, and 4.1 copies /μL, respectively, while those for qPCR reactions were 41.5, 41.5, and 4.1×10⁻² copies /μL, respectively. **Conclusion** A nucleic acid amplification test for spectinomycin-resistant *N. gonorrhoeae* with high specificity and sensitivity was successfully established in this study, which is expected to provide support for the rapid diagnosis of *N. gonorrhoeae* infection and treatment decision-making in clinical settings.

[Key words] *Neisseria gonorrhoeae* Spectinomycin resistance *rpsE* gene Nucleic acid amplification testing

淋病是一种由专门的人类病原体——淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*, *N. gonorrhoeae*),也称为淋球菌,引起的性传播疾病。淋球菌主要感染泌尿生殖道、肛门直肠和咽部黏膜,全球每年约有8 200个新病例^[1]。淋球菌已对所有治疗淋病的抗菌药物,包括磺胺、青霉素、四环素

和喹诺酮类等产生耐药性^[2]。目前,广谱头孢菌素是治疗淋病最主要的一线药物^[3],然而,近年来全球范围内已经出现了头孢曲松和头孢克肟耐药株^[4],尤其是FC428头孢耐药克隆的广泛传播,为淋病治疗带来极大的挑战^[5]。

大观霉素(spectinomycin, SPT)是一种广谱氨基糖苷类抗生素,通过与细菌核糖体小亚基16S rRNA相互作用,抑制细菌蛋白翻译,从而发挥抑菌作用,是治疗单纯生殖

Δ 通信作者, E-mail: 13941057@qq.com

出版日期: 2025-01-20

道淋病的有效药物^[6]。自上个世纪60年代开始以来,短短几年内便出现了大观霉素耐药株。大观霉素对口咽部淋病的治疗效果较差,随着广谱头孢菌素的广泛应用,它在许多情况下并不是淋病治疗的首选,通常作为头孢类抗生素治疗失败后的备选药物。根据各国和地区的淋球菌耐药监测结果,目前大观霉素的耐药现象相对较少,近年来的耐药率范围为0.6%~11.6%^[7]。高水平的大观霉素耐药机制主要与*rpsE*基因发生80_82 delTTA删除突变有关,这导致其编码的RPS5蛋白V27的缺失和K28E置换,从而降低了与大观霉素亲和力,引发耐药^[7-8]。2020年,中国分离到两株高水平大观霉素耐药淋球菌,测序结果显示均由*rpsE*基因突变(80_82 delTTA)引起^[7-8]。此外,16S rRNA基因中发生G1064C和C1192U突变也可导致淋球菌对大观霉素产生耐药^[9]。目前,临床上主要采用琼脂稀释法进行淋球菌药敏试验,但该方法其操作繁琐,耗时较长,难以及时指导临床用药^[10]。核酸检测因其高敏感度和高特异性,广泛用于感染性疾病的诊断及耐药基因/耐药突变的检测,且无须培养,耗时较短^[11-12]。

本研究根据淋球菌16S rRNA基因序列以及*rpsE*基因突变的特征,设计特异性引物进行PCR实验,旨在快速诊断淋病以及鉴定*rpsE*基因突变(80_82 delTTA)引起的大观霉素耐药性,从而建立一种快速诊断淋病及快速判断淋球菌对大观霉素敏感性的分子检测方法。此外,本研究还对该方法进行了特异性和敏感性的评估,以判断其在临床应用中的潜在价值。

1 材料与方法

1.1 菌株

淋球菌药敏试验参考菌株WHO G、WHO J、WHO K、WHO P来自中国疾病预防控制中心性病控制中心。铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)PA 14、大肠埃希菌(*Escherichia coli* Nissle 1917, ECN)、金黄色葡萄球菌株(*Staphylococcus aureus*)CICC 10384、伤寒沙门菌(*Salmonella typhi*)H901均来自于四川大学华西基础医学与法医学院病原生物学系感染与免疫实验室。

1.2 主要试剂与仪器

淋球菌液体培养基(GCBL)、GC琼脂培养基(上海哈灵生物);TIANamp Bacteria DNA Kit试剂盒(北京天根生化);大观霉素(上海麦克林生化);100 bp DNA Marker、Gel Red核酸染料、2×T5 super PCR Mix及PCR所用引物由北京擎科生物科技有限公司提供。PCR扩增仪、荧光定量qPCR仪(德国耶拿);电泳仪、凝胶成像分析系统(Bio-Rad)。

1.3 淋病奈瑟菌大观霉素耐药株的构建与鉴定

1.3.1 淋病奈瑟菌大观霉素耐药株的构建

采用DNA转化的方法构建*rpsE*基因发生80_82 delTTA删除突变的大观霉素耐药突变株(SPT^R-NG)。根据淋球菌WHO G的基因组序列(NZ_LT591898),使用NCBI-Primer-BLAST设计引物(表1),以淋球菌WHO G基因组核酸为模板,采用重叠延伸PCR(splicing overlapping extension PCR, SOE-PCR)扩增带有80_82 delTTA突变的*rpsE*基因片段。

表1 PCR扩增引物序列

Table 1 PCR primers used in the study

Primer	Sequence (5' to 3')
rps1	GGTGC GCGGTAGTCTGAAATCTGG
rps2	AGCCATAATGCGACCACCTTCTACTTTGGTTACACGGTTA
rps3	TAACCGTGTAACCAAAGTAGAAGGTGGTCGCATTATGGCT
rps4	TCAAAAACCAAACGCATAGGTCCAC
rps11	<u>ATGCCGCTCTGA</u> AGGTGCGCGGTAGTCTGAAATCTGG
NG1	CGAGTGTGT CAGAGGGAGGAG
NG2	ACGCTACCAAGCAATCTA
E64	CGTGTAAACCAAAGTAGTTA
E175R	GCACTTCTTTTGACTTAC
E-87	GGTTTCCAATATCACGG
E95R	ATGCGACCACCTTTAA

The underlined area is the DUS. The italics indicate a deliberately altered 2nd base at the 3' end to increase the specificity of primers. Blackbodies are the 80_82 delTTA mutation (due to the lack of these 3 bases, the mutant strain will cause the 3' end to be unmatched and thus fail to amplify).

具体扩增过程如下:①以淋病奈瑟菌WHO G基因组DNA为模板,rps1和rps2为引物扩增出基因片段A。②以淋病奈瑟菌WHO G基因组DNA为模板,rps3和rps4为引物扩增出基因片段B。③以基因片段A和基因片段B为模板,rps4和rps11为引物扩增出带有突变(80_82 delTTA)的*rpsE*基因片段C。所有PCR反应的退火温度均为57℃;引物rps2和rps3为反向互补序列,用于在PCR反应过程中连接片段A和片段B;由于淋球菌只能摄取带有DUS(DNA uptake sequence)的DNA,因此,在最后一个PCR反应采用rps11加上DUS。④基因片段C经胶回收纯化后,采用液体转化的方法^[13]转化淋球菌WHO G。⑤转化后的淋球菌铺板(含64 mg/L大观霉素),在体积分数为5%的CO₂、37℃条件下培养48 h。

1.3.2 淋病奈瑟菌大观霉素耐药株的鉴定

挑取1.3.1步骤⑤中GC平板(含64 mg/L大观霉素)上生长的菌落进行鉴定。将菌落接种至GCBL培养基中扩

增,然后采用刃天青微量稀释法^[14]测定大观霉素的最低抑菌浓度(MIC);提取细菌基因组核酸,以*rps1*和*rps4*为引物进行PCR扩增,将扩增产物送至北京擎科生物科技有限公司进行Sanger测序鉴定。

1.4 淋病奈瑟菌*rpsE*基因突变致大观霉素耐药检测方法的建立

根据淋球菌16S rRNA序列设计淋球菌特异性引物NG1和NG2,为提高特异性,将引物NG1的3'端第2位碱基由T换成A,将引物NG2的3'端第2位碱基由A换成T。为了检测淋球菌*rpsE*基因是否带有80_82 delTTA突变,设计E64/E175R和E-87/E95R两对引物,其中E64和E95R的3'端的3个碱基正好是*rpsE*基因的80_82处,突变株由于缺失了TTA三碱基导致引物无法匹配,PCR扩增为阴性(表1)。

PCR反应条件如下:①PCR反应1(PCR#1):以待测菌株基因组核酸为模板,以NG1和NG2为引物;98℃ 3 min,98℃ 10 s,57℃ 10 s,72℃ 10 s,72℃ 30 s,循环40次。②PCR反应2(PCR#2):以待测菌株基因组核酸为模板,以E64和E175R为引物;98℃ 3 min,98℃ 10 s,50℃ 10 s,72℃ 10 s,循环40次;72℃ 30 s。③PCR反应3(PCR#3):以待测菌株基因组核酸为模板,以E-87和E95R为引物;98℃ 3 min,98℃ 10 s,40℃ 10 s,72℃ 10 s,循环40次;72℃ 30 s。PCR扩增产物进行1.2%琼脂糖凝胶电泳分析。大观霉素敏感淋球菌3个PCR反应预期结果均为阳性;*rpsE*基因突变的大观霉素耐药淋球菌3个PCR反应预期结果分别是PCR#1阳性、PCR#2和PCR#3阴性;其他细菌3个PCR反应预期结果分别是PCR#1阴性,PCR#2、PCR#3阳性或阴性。

1.5 淋病奈瑟菌大观霉素耐药基因检测方法的评价

1.5.1 淋病奈瑟菌大观霉素耐药基因检测方法特异度的评价

采用TIANamp Bacteria DNA Kit试剂盒,提取WHO G、WHO J、WHO K、WHO P、SPT^R-NG、PA 14、ECN、CICC 10384、H901的基因组DNA,进行PCR#1、PCR#2和PCR#3检测。

1.5.2 淋病奈瑟菌大观霉素耐药基因检测方法的敏感度评价

将WHO G菌株DNA稀释为100、10、1、10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶ ng/μL,取1 μL各浓度DNA为模板,进行PCR#1、PCR#2、PCR#3检测,重复3次。以WHO G菌株DNA为阳性对照(100 ng/μL),SPT^R-NG DNA为阴性对照(100 ng/μL),以上述浓度DNA为模板,NG1/NG2、E64/E175R和E-87/E95R为引物,退火温度分别为57℃、50℃、40℃,溶解曲线参数为60~95℃,0.5℃/5 s递增,进行qPCR(qPCR#1、qPCR#2、qPCR#3)检测,均重复3次。淋球菌拷贝数(拷贝/μL)通过DNA质量浓度

(ng/μL)×6.023×10¹⁴/(660×2.2×10⁶)计算^[15]。

2 结果

2.1 大观霉素耐药突变株的构建与鉴定

以WHO G基因组为模板,*rps1*/*rps2*和*rps3*/*rps4*为引物,PCR扩增出303 bp大小片段A和293 bp大小片段B(图1a);以片段A、B为模板,*rps4*/*rps11*为引物,PCR扩增出符合预期且条带清晰的566 bp的片段C(图1b)。

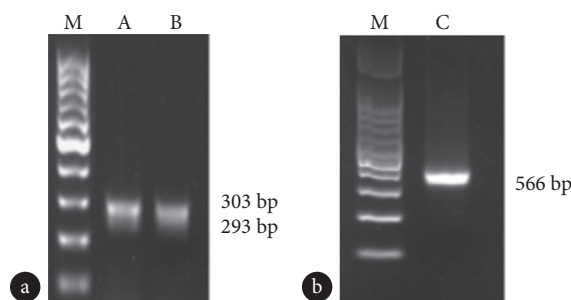


图1 SOE-PCR扩增基因*rpsE*

Fig 1 SOE-PCR amplification of *rpsE* gene

M: 100 bp marker; A-C: SOE-PCR products; SOE-PCR: splicing overlapping extension PCR. a, Amplification of fragment A and fragment B. b, amplification of *rpsE* gene by SOE-PCR.

将扩增的片段C胶回收纯化之后,转化淋球菌WHO G,在含有64 μg/mL大观霉素GC琼脂培养基上观察到有多个单克隆的生长,挑取单克隆传两代。检测结果显示,大观霉素对阳性克隆的MIC为2048 mg/L,标准对照菌株WHO G的结果为32 mg/L。提取细菌基因组核酸进行PCR鉴定,由*rps1*/*rps4*引物扩增出约566 bp的目标条带(图2a)。Sanger测序结果显示,与野生型相比,阳性克隆在预定位置少了“TTA”三个碱基(图2b),表明成功构建了大观霉素耐药株SPT^R-NG。

2.2 淋病奈瑟菌大观霉素耐药基因检测方法的特异度

按照1.5.1进行PCR#1反应,如图3a所示,WHO G、WHO J、WHO K、WHO P、SPT^R-NG扩增产物出现明显的207 bp大小条带,而其他细菌的PCR反应均为阴性。

按照1.5.1进行PCR#2和PCR#3反应,如图3b和图3c所示,WHO G、WHO J、WHO K、WHO P PCR#2反应扩增产物出现清晰的111 bp条带;WHO P、WHO G、PA14、CICC 21648、H901、WHO J、WHO K均出现清晰的182 bp条带;SPT^R-NG在PCR#2和PCR#3反应中均无法扩增出目标条带,证明两对引物均能够有效区分*rpsE*基因是否存在del 80-82 TTA突变。

2.3 淋病奈瑟菌大观霉素耐药基因检测方法的敏感度评价

2.3.1 PCR检测不同浓度WHO G参考菌株DNA的检测限

以NG1/NG2、E64/E175R和E-87/E95R为引物,对梯

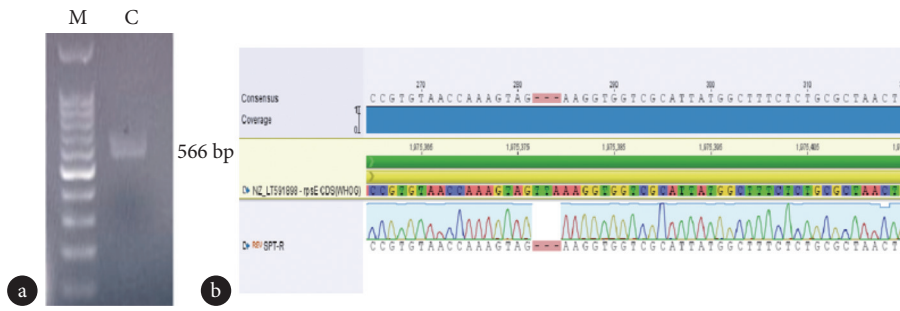


图 2 大观霉素耐药突变菌株的构建

Fig 2 Construction of spectinomycin-resistant strains

a, PCR results of positive clones. b, Sanger sequencing results of the target fragment. M: 100 bp marker; C: PCR results of the target fragment.

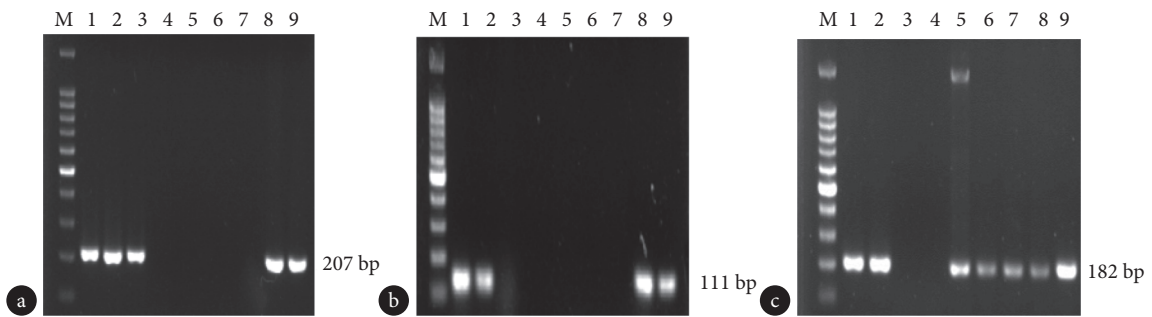


图 3 PCR#1、PCR#2、PCR#3扩增产物

Fig 3 PCR#1, PCR#2, and PCR#3 amplification products

M: 100 bp marker; 1-9: WHO P, WHO G, SPT^R-NG, ECN, PA 14, CICC 21648, H901, WHO J, and WHO K. a-c, Amplification products of PCR#1, PCR#2, and PCR#3, respectively.

度稀释的DNA样本进行扩增, WHO G扩增产物长度与预期目标条带(分别为207 bp、111 bp和182 bp)一致,突

变菌株SPT^R-NG无扩增条带(图4)。三者的最低检测限分别为414.8、414.8和4.1拷贝/μL。

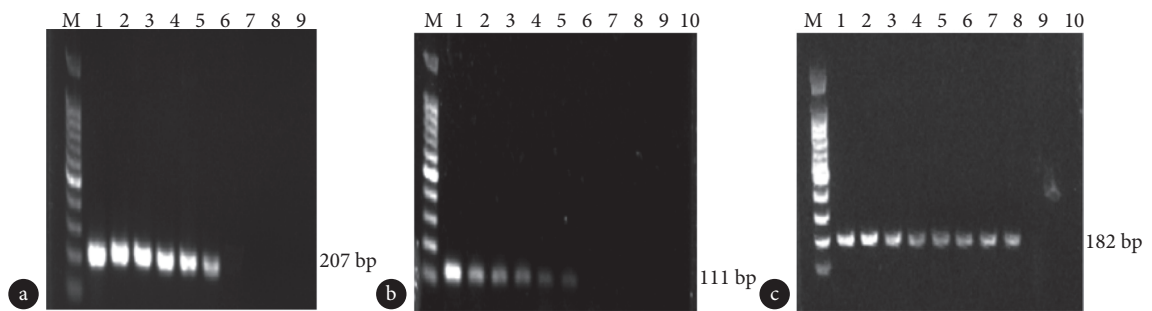


图 4 PCR扩增NG1/NG2、E64/E175R和E-87/E95R

Fig 4 PCR amplification of NG1/NG2, E64/E175R, and E-87/E95R

M: 100 bp marker; 1-9: 100, 10, 1, 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, and 10⁻⁶ ng/μL WHO G DNA; 10: SPT^R-NG. a-c, PCR#1, PCR#2, and PCR#3 reactions of WHO G gradient DNA at different concentrations.

2.3.2 qPCR检测不同浓度WHO G参考菌株DNA的最低检测限

以WHO G不同梯度浓度DNA为模板, SPT^R-NG为阴性对照进行qPCR#1、qPCR#2、qPCR#3, 图5a为NG1/NG2的qPCR#1扩增曲线, 图5b为不同模板浓度梯度qPCR#1对应的Ct值, NG1/NG2的qPCR反应最低检测限

为41.5拷贝/μL。图5c为E64/E175R的qPCR#2扩增曲线, 图5d为不同模板浓度梯度qPCR#2对应的Ct值, 结果显示, E64/E175R的qPCR反应最低检测限为41.5拷贝/μL。图5e为E-87/E95R的qPCR#3扩增曲线, 图5f为不同模板浓度梯度qPCR#3对应的Ct值, E-87/E95R的qPCR反应最低检测限为4.1×10⁻²拷贝/μL。

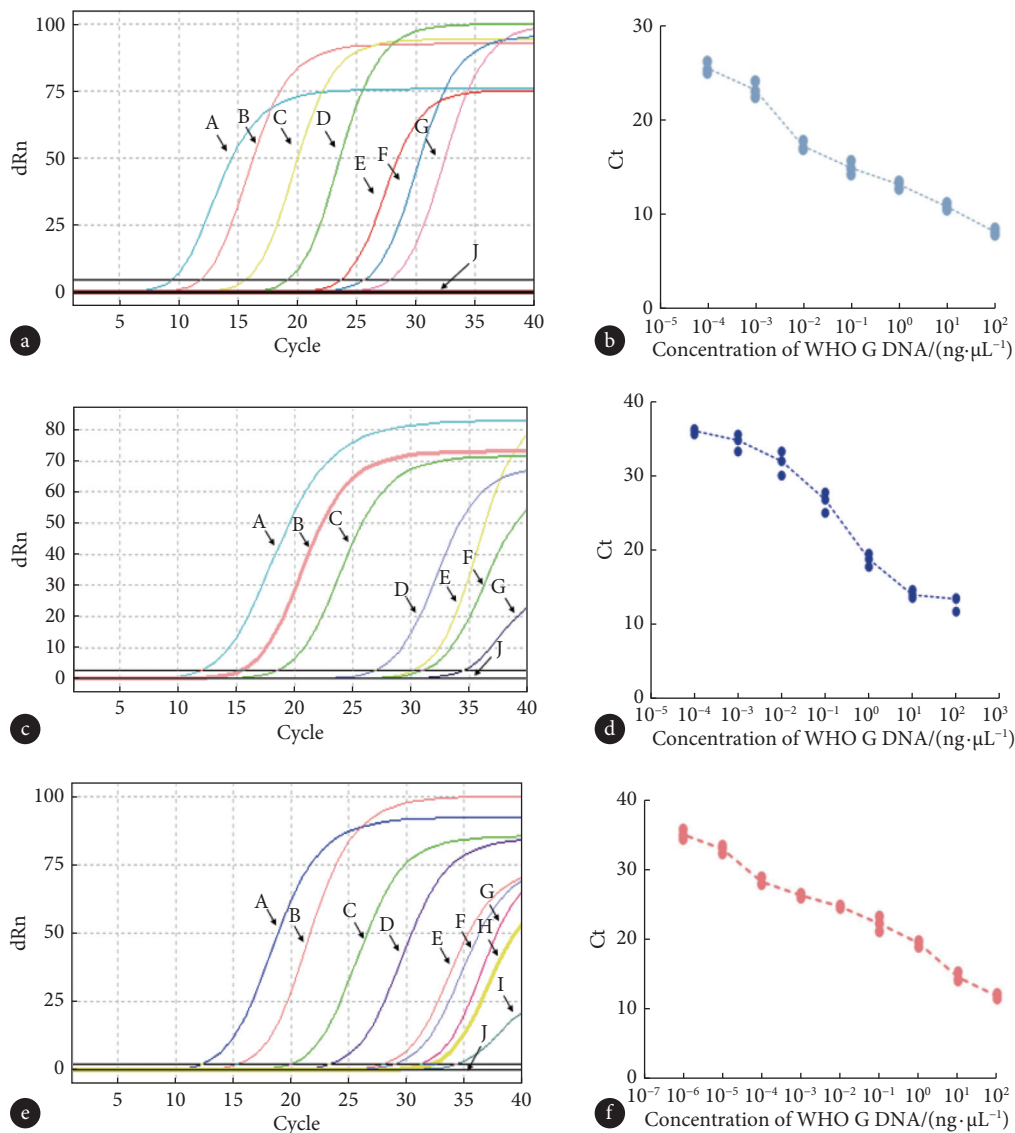


图 5 不同DNA浓度的qPCR反应

Fig 5 qPCR reaction with different DNA concentration gradients

A-I: 100, 10, 1, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , and 10^{-6} ng/ μ L WHO G DNA; J: SPT^R-NG. a, c, and e are the amplification curves for qPCR#1, qPCR#2, and qPCR#3, respectively; b, d, and f are the Ct values of the qPCR#1, qPCR#2, and qPCR#3 reactions corresponding to different template concentration gradients (results from three independent experiments).

3 讨论

淋病奈瑟菌耐药性的快速发展已成为全球面临的一项紧迫公共卫生威胁。如果不及及时治疗,可能会导致播散性淋病、不孕症和异位妊娠等并发症。因此,快速检测细菌对抗生素的敏感性是应对其传播的主要措施之一。在临床上,琼脂稀释法被认为是进行淋球菌药敏试验的“金标准”,但该方法操作繁琐,通常需要2~3 d,费时费力。因此,快速检测淋球菌对一线药物的敏感性对于淋病的防治具有重要意义。

随着淋球菌头孢曲松耐药株的增加,大观霉素在淋病治疗中的重要性愈发凸显。因此,快速检测淋球菌对大观

霉素的敏感性,可为临床提供用药指导。本研究成功构建了淋病奈瑟菌*rpsE*基因突变株, MIC测定显示该突变株的大观霉素MIC为2 048 mg/L,表明其具有高水平耐药性。在此基础上,建立了一种基于qPCR的检测方法,用于判断待检样本是否是淋球菌以及是否带有*rpsE*基因突变(80_82 delTTA),整个检测过程仅需1~2 h即可得出结果。这一方法能够有效区分淋球菌与其他细菌,具有高特异度,且在淋病实验室诊断中具有重要价值。该方法还通过引物3'端三碱基的匹配与否,有效区分待测样本的*rpsE*基因是否存在80_82 delTTA突变,从而快速检测淋球菌对大观霉素的敏感性,具有临床应用潜力。在检测*rpsE*基因(80_82 delTTA)突变时, PCR#2和PCR#3扩增其他细菌(非淋球

菌)时可能表现出差异, 本研究所用的几株菌均对PCR#2反应为阴性, 而对PCR#3为阳性, 这是由于PCR#2所用引物与这几株菌不匹配导致, 而非这几株菌带有 $rpsE$ 基因(80_82 delTTA)突变。差异并不会影响最终结果的判断, 因为在结果判定时, 首先读取PCR#1的结果, 以确定待检样本是否为淋球菌。在确认待检样本为淋球菌后, 若PCR#2和PCR#3的反应均为阴性, 则说明该样本为大观霉素耐药淋球菌; 若反应为阳性, 则表明样本不带有 $rpsE$ 基因(80_82 delTTA)突变。本研究采用了3对引物进行3个PCR反应, 敏感度均较高, 其中荧光定量PCR的敏感度远高于普通PCR, 因此在实际应用中应优先选择荧光定量PCR。

综上所述, 本研究建立了一种基于荧光定量PCR的方法, 用于检测淋球菌对大观霉素的敏感性。该方法具有较高的特异度和敏感度, 展现出良好的临床应用前景, 但仍需通过更多临床标本进行验证。

* * *

作者贡献声明 杨桂琴负责调查研究和初稿写作, 李梦欢、王有为和雍刚负责提供资源, 王红仁负责论文构思和审读与编辑写作, 别明江负责监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊, 且对将要发表版本进行最终定稿, 并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution YANG Guiqin is responsible for investigation and writing--original draft. LI Menghuan, WANG Youwei, and YONG Gang are responsible for resources. WANG Hongren is responsible for conceptualization and writing--review and editing. BIE Mingjiang is responsible for supervision and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 本文作者别明江是本刊编委会编委。该在编辑评审过程中所有流程严格按照期刊政策进行, 且未经其本人经手处理。除此之外, 所有作者声明不存在利益冲突。

Declaration of conflicting interests BIE Mingjiang is a member of the Editorial Board of the journal. All processes involved in the editing and reviewing of this article were carried out in strict compliance with the journal's policies and there was no inappropriate personal involvement by the author. Other than this, all authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] SÁNCHEZ-BUSÓ L, COLE M J, SPITERI G, *et al.* Europe-wide expansion and eradication of multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* lineages: a genomic surveillance study. *Lancet Microbe*, 2022, 3(6): e452-e463. doi: 10.1016/s2666-5247(22)00044-1.
- [2] VICENTINI C B, MANFREDINI S, MARITATI M, *et al.* Gonorrhoea, a current disease with ancient roots: from the remedies of the past to future perspectives. *Infez Med*, 2019, 27(2): 212-221. doi: 10.1093/oso/9780198793625.003.0006.
- [3] ST CYR S, BARBEE L, WORKOWSKI K A, *et al.* Update to CDC's treatment guidelines for gonococcal infection, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2020, 69(50): 1911-1916. doi: 10.15585/mmwr.mm6950a6.

- [4] ZHU X, XI Y, GONG X, *et al.* Ceftriaxone-resistant gonorrhoea - China, 2022. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2024, 73(12): 255-259. doi: 10.15585/mmwr.mm7312a2.
- [5] ALLAN-BLITZ L T, FIFER H, KLAUSNER J D. Managing treatment failure in *Neisseria gonorrhoeae* infection: current guidelines and future directions. *Lancet Infect Dis*, 2024, 24(8): e532-e538. doi: 10.1016/s1473-3099(24)00001-x.
- [6] CHEN Y, GONG Y, YANG T, *et al.* Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in China: a meta-analysis. *BMC Infect Dis*, 2016, 16: 108. doi: 10.1186/s12879-016-1435-0.
- [7] 孙思, 刘兰兰, 佟立峰, 等. 淋球菌对大观霉素耐药机制的研究进展. *中国抗生素杂志*, 2019, 44(2): 168-173. doi: 10.13461/j.cnki.cja.006548.
- [7] SUN S, LIU L L, TONG L F, *et al.* Advance on the mechanism of *Neisseria gonorrhoeae* resistant to spectinomycin. *Chin J Antibio*, 2019, 44(2): 168-173. doi: 10.13461/j.cnki.cja.006548.
- [8] CHEN S C, HU L H, ZHU X Y, *et al.* Gonococcal urethritis caused by a multidrug resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain with high-level resistance to spectinomycin in China. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 517-519. doi: 10.1080/22221751.2020.1732836.
- [9] UNEMO M, SEIFERT H S, HOOK E W, 3rd, *et al.* Gonorrhoea. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 79. doi: 10.1038/s41572-019-0128-6.
- [10] CHEN S C, LIU J W, WU X Z, *et al.* Comparison of microdilution method with agar dilution method for antibiotic susceptibility test of *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect Drug Resist*, 2020, 13: 1775-1780. doi: 10.2147/idr.S253811.
- [11] CHEN M J, CHEN P Y, FANG Y J, *et al.* Molecular testing-guided therapy versus susceptibility testing-guided therapy in first-line and third-line *Helicobacter pylori* eradication: two multicentre, open-label, randomised controlled, non-inferiority trials. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2023, 8(7): 623-634. doi: 10.1016/s2468-1253(23)00097-3.
- [12] XIU L, WANG L, LI Y, *et al.* Multicentre clinical evaluation of a molecular diagnostic assay to identify *Neisseria gonorrhoeae* infection and detect antimicrobial resistance. *Int J Antimicrob Agents*, 2023, 61(5): 106785. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2023.106785.
- [13] CALLAGHAN M M, DILLARD J P. Transformation in *Neisseria gonorrhoeae*. *Methods Mol Biol*, 2019, 1997: 143-162. doi: 10.1007/978-1-4939-9496-0_10.
- [14] 李梦欢, 杨桂琴, 王有为, 等. 淋病奈瑟菌药敏试验刃天青微量稀释法的建立与评价. *四川大学学报(医学版)*, 2024, 55(1): 198-203. doi:10.12182/20240160209.
- [14] LI M H, YANG G Q, WANG Y W, *et al.* Establishment and evaluation of a resazurin-based microdilution assay for microbial sensitivity test of *Neisseria gonorrhoeae*. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2024, 55(1): 198-203. doi:10.12182/20240160209.
- [15] 周潜. 耐药淋球菌快速检测方法与替代药物研究. 北京: 北京协和医学院, 2023. doi:10.27648/d.cnki.gzxhu.2023.000539.
- [15] ZHOU Q. Study on rapid detection method and alternative antibiotics evaluation for drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. Beijing: Peking Union Medical College, 2023. doi:10.27648/d.cnki.gzxhu.2023.000539.

(2024-08-31收稿, 2024-11-24修回)

编辑 何学令



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2025 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of Journal of Sichuan University (Medical Sciences)