



淋病奈瑟菌 *rpsE* 基因新突变介导高水平大观霉素耐药及其对细菌生物适应度的影响*

李梦欢¹, 杨桂琴¹, 王有为², 雍刚², 王红仁³△

1. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院 卫生检验与检疫学系(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)

【摘要】目的 探究淋病奈瑟菌 *rpsE* 基因新突变介导高水平大观霉素耐药及其对细菌生物适应度的影响。**方法** 采用大观霉素培养基, 筛选出自发突变的大观霉素耐药的淋球菌株, 并进行最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentrations, MIC)测定和 *rpsE* 基因测序鉴定。采用滴板法和绘制生长曲线, 探究耐大观霉素淋球菌的生长速率变化。采用体外竞争实验, 探究在不同质量浓度大观霉素条件下, 耐大观霉素淋球菌的生物适应度变化。**结果** 成功筛选到由 *rpsE* 基因新突变(88_90delGTT)介导的高水平耐大观霉素淋球菌株, 命名为 NG-SPT^R。相对于野生菌株, NG-SPT^R 的生长速率降低(OD值比较, $P < 0.05$)。在不含抗生素及低质量浓度大观霉素($\leq 16 \mu\text{g/mL}$)条件下, 突变株在竞争实验中竞争指数(competitive index, CI) < 1 。在 $32 \mu\text{g/mL}$ 大观霉素条件下, 突变株在竞争实验前期 CI < 1 , 在后期(18 h后)逐渐升至 > 1 。在 $\geq 64 \mu\text{g/mL}$ 大观霉素条件下, 突变株 CI > 1 。**结论** 淋球菌 *rpsE* 基因发生 88_90delGTT 突变能介导高水平大观霉素耐药, 该突变会导致细菌出现适应度代价; 突变株的生物适应度受不同质量浓度大观霉素的影响。

【关键词】 淋病奈瑟菌 大观霉素 抗生素耐药 核糖体蛋白 适应度代价

A Novel *rpsE* Mutation Mediates High-Level Spectinomycin Resistance in *Neisseria gonorrhoeae* and Influences Their Biological Fitness

LI Menghuan¹, YANG Guiqin¹, WANG Youwei², YONG Gang², WANG Hongren³△.

1. Department of Health Inspection and Quarantine, 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 Pathogen Biology, West China School of Basic Medical Sciences; Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: wanghongren@scu.edu.cn

[Abstract] Objective To investigate the role of a novel *rpsE* gene mutation in mediating high-level spectinomycin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* and to evaluate its effect on the biological fitness of the bacteria. **Methods** Spectinomycin-containing medium was used to screen for *Neisseria gonorrhoeae* strains with spontaneous mutations that conferred spectinomycin resistance. Minimum inhibitory concentrations (MIC) were determined, and the *rpsE* gene was sequenced. Changes in the growth rates of spectinomycin-resistant strain were assessed using the drop plate method and growth curves. Additionally, *in vitro* competition experiments were conducted with spectinomycin at different concentrations to assess changes in the biological fitness of the spectinomycin-resistant strain. **Results** A *Neisseria gonorrhoeae* strain with high-level spectinomycin resistance mediated by a novel *rpsE* gene mutation (88_90delGTT) was successfully identified and designated NG-SPT^R. Compare with the wild-type strain, the NG-SPT^R exhibited reduced growth rate (optical density [OD] comparison, $P < 0.05$). In addition, *in vitro* competition experiments showed a competitive index (CI) < 1 in gonococcal base liquid (GCBL) without or with low-concentration spectinomycin ($\leq 16 \mu\text{g/mL}$). In the GCBL with $32 \mu\text{g/mL}$ spectinomycin, the CI value gradually increased from < 1 before 18 h to > 1 after 18 h. The mutant strain showed CI > 1 in GCBL with spectinomycin concentrations $\geq 64 \mu\text{g/mL}$. **Conclusion** The *rpsE* gene mutation (88_90delGTT) mediates high-level spectinomycin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*, and imposes a fitness cost on the bacteria. The biological fitness of the mutant strain is influenced by the concentration of spectinomycin.

* 四川大学技术开发项目(No. 19H1082)资助

△ 通信作者, E-mail: wanghongren@scu.edu.cn

[Key words] *Neisseria gonorrhoeae* Spectinomycin Drug resistance, bacterial Ribosomal proteins
Fitness cost

淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*)又称淋球菌,是引起人类淋病的病原体。当前淋病治疗方案中,最重要的一线药物为头孢曲松。自2009年以来,世界各地不断分离到头孢曲松耐药的淋球菌临床株,导致头孢曲松治疗失败病例越来越多^[1-4]。对于头孢曲松治疗失败的淋病病例,WHO及我国推荐的治疗方案中均包括肌注大观霉素2 g^[4]。在此形势下,大观霉素在淋病治疗中的作用越发重要。

大观霉素是一类氨基环醇类抗生素(aminocyclitol antibiotic),能与细菌核糖体16S rRNA的第34个螺旋(helix 34,大肠杆菌编号1063-1066及1190-1193,后续描述均参考大肠杆菌编号)结合,从而抑制蛋白翻译。该区域的突变(比如C1192T)常导致细菌对大观霉素耐药^[5]。核糖体蛋白S5虽不直接与大观霉素结合,但其loop 2区域(第20~31位氨基酸)与16S rRNA的helix 34结合^[5-6],因此*rpsE*基因该区域的突变也可导致大观霉素耐药,目前已发现的临床耐药株突变V24del K25E^[7-8]以及T21P^[8-9]均位于该区域。

细菌获得耐药性之后,生物适应度往往会降低,称为适应度代价(fitness cost)^[10-11],主要体现为生长速率下降以及与敏感株相比竞争能力下降。不同突变引起不同的适应度代价,可能会导致其传播能力的差异。大观霉素自20世纪60年代起开始用于淋病治疗,几年之后出现了大观霉素耐药株,20世纪80年代驻韩美军淋病大观霉素治疗失败率高达8.3%^[12-13]。随着头孢曲松广泛用于淋病治疗,大观霉素退出了淋病治疗的首选,淋球菌大观霉素耐药率又回落到极低水平^[4,12]。因此,大观霉素耐药很可能导致淋球菌出现较大的适应度代价,其耐药率会随着大观霉素使用频率变化而变化。为探究这一问题,本研究在实验室筛选出自发突变形成的耐大观霉素淋球菌株,并对其在不同条件下的生物适应度进行了研究,为淋球菌大观霉素耐药机制及淋病防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料和仪器

淋球菌参考菌株WHO G来自中国疾病预防控制中心性病控制中心;核酸电泳仪、凝胶成像分析系统和紫外可见分光光度计(Smart Spec Plus)购自美国Bio-Rad公司;PCR仪购自德国耶拿公司;淋球菌液体培养基(gonococcal base liquid, GCBL)购自上海哈灵生物科技有限公司;

GC琼脂培养基购自OXOID公司;TIANamp Bacteria DNA Kit试剂盒购自北京天根生化科技有限公司;大观霉素、青霉素、头孢曲松、阿奇霉素、环丙沙星和四环素等抗生素购自上海麦克林生化科技有限公司;100 bp DNA Marker、Gel Red核酸染料、2×T5 super PCR Mix及PCR所用引物购自北京擎科生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 淋球菌的培养及MIC的测定

本研究中淋球菌采用固体和液体两种培养方式。固体培养: -80℃冰箱中取出淋球菌冻存管,用接种环分区划线接种于GC固体培养基上,37℃、体积分数为5%CO₂孵箱中培养18~24 h,随后挑取单克隆传两代后用于后续实验。液体培养:待淋球菌在GC培养基上生长至对数生长期,挑取单克隆至装有3 mL GCBL培养基的6孔板中,置入37℃、体积分数为5%CO₂孵箱中培养18~24 h。

细菌MIC的测定,采用本实验室建立的刃天青微量稀释法^[14]。在96孔板内加入100 μL不同浓度的抗生素液,然后每孔加入100 μL菌悬液(浓度为5×10⁵ mL⁻¹),阴性对照孔(-)内加200 μL GCBL,阳性对照孔(+)内加菌液不加抗生素,每个浓度梯度设3个复孔。在阳性对照孔中观察到混浊后,每孔加入50 μL无菌0.01%刃天青钠溶液,继续培养6 h后观察颜色变化以判定最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentrations, MIC)。

1.2.2 淋球菌大观霉素耐药株的筛选及鉴定

采用大观霉素培养基培养淋球菌,用以筛选自发突变导致的大观霉素耐药株,具体方法如下:首先测定淋球菌WHO G的MIC(32 μg/mL),然后将淋球菌接种至GC琼脂平板(含大观霉素8 μg/mL),培养2代后将细菌接种于含16 μg/mL大观霉素的GC琼脂平板上培养2代,再将细菌接种于含32 μg/mL大观霉素的GC琼脂平板进行筛选。接种环挑取在32 μg/mL大观霉素GC琼脂平板上长出的菌落,接种在无抗生素的GC琼脂平板上,进行大观霉素、青霉素、头孢曲松、阿奇霉素、环丙沙星和四环素的MIC测定。提取细菌基因组DNA,PCR扩增*rpsE*基因的loop 2区域及其两端(约565 bp)和16S rDNA基因的helix 34区域及其两端(约562 bp),PCR产物进行Sanger测序鉴定。所用引物见表1。鉴定的突变耐药株命名为NG-SPT^R。

1.2.3 滴板法比较细菌生长速率

将GC琼脂平板上对数生长期的细菌(突变株NG-SPT^R和野生型WHO G)制成菌悬液,调整菌液浓度为

表 1 本研究所用引物
Table 1 Primers used in the study

Primer	Primer nucleotide sequence (5'→3')	Target gene	Product size
rps1	GGTGCGCGGTAGTCTGAAATCTGG	<i>rpsE</i> (-202-353)	565 bp
rps4	TCAAAAACCAAACGCATAGGTCCAC		
16S1	AGTACGGTCGCAAGATTAAC	16S <i>rDNA</i> (889-1450)	562 bp
16S4	GCGGTTACCTACTACTCTGG		

OD≈0.05。然后依次稀释为 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 和 10^{-7} 倍,每个稀释度取10 μL菌液滴加到GC琼脂平板上,置于37 °C、体积分数为5%CO₂培养箱中培养24 h,观察结果,比较细菌生长情况。

1.2.4 细菌生长曲线的绘制

将GC琼脂平板上对数生长期的细菌(突变株NG-SPT^R和野生型WHO G)制成菌悬液,调整菌液浓度为OD≈0.05。取80 μL菌液加入3 mL GCBL培养基中,置于37 °C、体积分数为5%CO₂培养箱中静置培养。分别于12 h、15 h、18 h、21 h和24 h时间点取80 μL菌液(取之前充分混匀),测定OD₆₀₀值。以培养时间为横坐标,OD₆₀₀值为纵坐标,绘制细菌生长曲线。两株细菌各做3次重复。

1.2.5 体外竞争实验研究NG-SPT^R生物适应度的变化

将GC琼脂平板上对数生长期的细菌(突变株NG-SPT^R和野生型WHO G)制成菌悬液,调整菌液浓度为OD≈0.05。将NG-SPT^R和WHO G的菌液1:1混合,然后取100 μL混合菌液接种于10 mL含不同质量浓度大观霉素的GCBL培养基中(大观霉素质量浓度分别为0、16、32、64、128 μg/mL),置于37 °C、体积分数为5%CO₂培养箱中静置培养。分别于0 h、6 h、12 h、18 h和24 h时间点取100 μL菌液,连续10倍稀释后涂布于GC琼脂平板(不含抗生素及含64 μg/mL大观霉素两种平板),37 °C、体积分数为5%CO₂培养箱中培养24 h,观察结果并进行菌落计数。NG-SPT^R可在两种(含或不含大观霉素)的平板上生长,而WHO G只能在不含大观霉素的平板上生长,通过计算得出每个时间点液体培养物中两种细菌的数量。0 h时间点的NG-SPT^R和WHO G的细菌数分别用R_s和W_s表示,此后时间点两者的细菌数分别用R_e和W_e表示。竞争指数(competitive index, CI)的计算公式为:CI=(R_e/W_e)/(R_s/W_s)。实验平行重复3次。

1.2.6 统计学方法

生长曲线实验数据采用软件GraphPad Prism7.00进行统计和绘图。采用重复测量双因素方差分析(repeated-measures 2-way ANOVA)、Tukey法多重比较(Tukey's multiple comparisons)分析组间差异,P<0.05为差异有统

计学意义。

2 结果

2.1 淋球菌大观霉素耐药株的筛选及鉴定结果

在含32 μg/mL大观霉素的GC琼脂平板上长出2个菌落,菌落形态与野生型相比无明显变化,如图1所示。经抗生素MIC表型鉴定和DNA测序鉴定,这两个菌落MIC表型及突变位点一致,命名为NG-SPT^R。不同抗生素对WHO G和NG-SPT^R的MIC结果如表2所示,主要的变化是大观霉素的耐药性,由野生型的32 μg/mL变成了突变株的2048 μg/mL,为高水平大观霉素耐药。测序结果显示16S *rDNA*基因无突变,*rpsE*基因发生删除突变(88_90delGTT),导致其编码产物核糖体蛋白5S第30位氨基酸(Gly)缺失(按大肠杆菌编号为27)。测序结果及对比如图2所示。

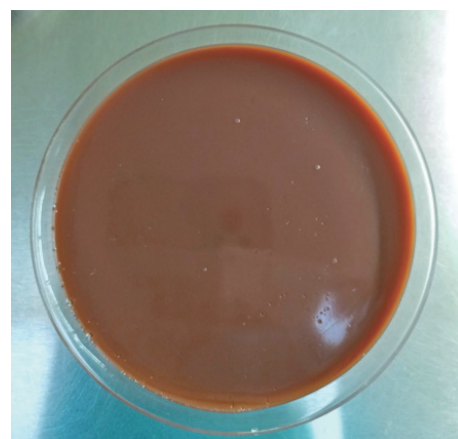


图 1 大观霉素筛选到的淋球菌耐药菌落

Fig 1 Antibiotic resistant colonies selected using spectinomycin

表 2 不同抗生素对WHO G和NG-SPT^R的MIC结果

Table 2 Minimum inhibitory concentrations of WHO G and NG-SPT^R strains against various antibiotics

Strains	MIC/(μg/mL)					
	SPT	PEN	CRO	AZM	CIP	TET
WHO G	32	0.5	0.016	0.25	0.125	32
NG-SPT ^R	2048	0.5	0.032	0.25	0.125	32

SPT: spectinomycin; PEN: penicillin; CRO: ceftriaxone; AZM: azithromycin; CIP: ciprofloxacin; TET: tetracycline.

2.2 NG-SPT^R与野生型WHO G的生长速率比较

图3所示为滴板法比较NG-SPT^R和WHO G的生长速率,在初始接种菌量一致且在同样的培养条件下,NG-SPT^R的生长速率低于野生型WHO G。图4所示,在GCBL液体培养条件下,NG-SPT^R的生长速率低于野生型WHO G,两组间的OD值比较差异有统计学意义(P<0.05)。

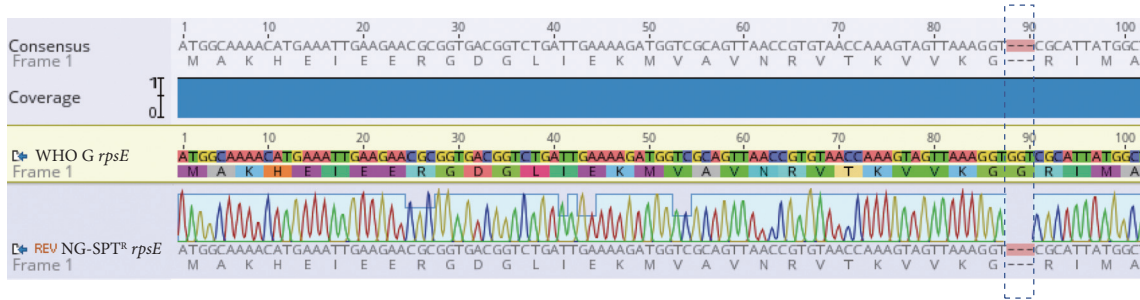


图 2 耐大观霉素淋球菌株 *rpsE* 基因测序结果及比对

Fig 2 The sequencing results and alignment of *rpsE* gene of spectinomycin-resistant gonococcal strain in the study

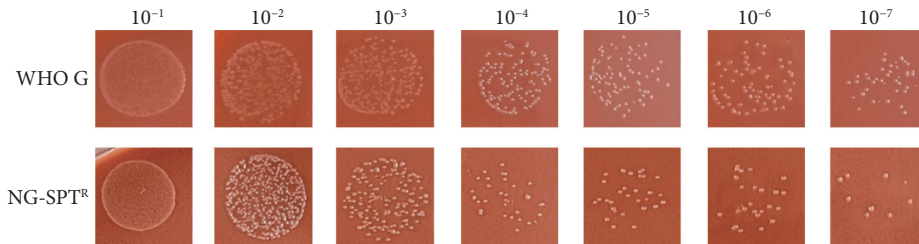


图 3 滴板法比较不同稀释倍数 NG-SPT^R 和 WHO G 生长速率的结果

Fig 3 Results of the growth rates compared between NG-SPT^R and WHO G by the drop plate method

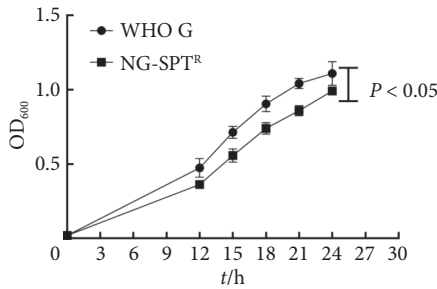


图 4 NG-SPT^R 和 WHO G 的生长速率有差异 (n=3)

Fig 4 The growth curves of NG-SPT^R and WHO G showed significant differences (n=3)

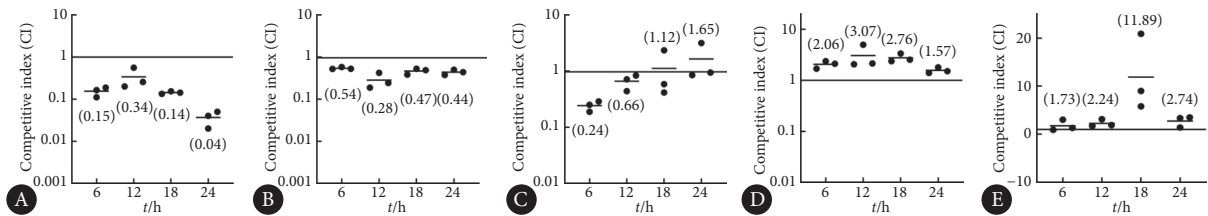


图 5 NG-SPT^R 相较 WHO G 体外竞争实验的结果

Fig 5 Competition index of *in vitro* competition experiments between NG-SPT^R and WHO G under different antibiotic conditions

A-E, GCBL with spectinomycin at 0, 16, 32, 64, and 128 μg/mL, respectively.

3 讨论

大观霉素对 WHO G 的 MIC 为 16 μg/mL (琼脂稀释法)^[15]。本研究采用刃天青微量稀释法^[14]测定大观霉素对 WHO G 的 MIC 为 32 μg/mL, 后续实验也表明在液体培养

2.3 NG-SPT^R 生物适应度的变化受抗生素的影响

如图 5A 所示, 在无抗生素的 GCBL 中, NG-SPT^R 在与野生型 WHO G 的竞争中处于劣势, 整个生长过程中 CI 均小于 1, 在培养至 24 h 时 CI 低至 0.04。在 GCBL 培养基中加入大观霉素后, NG-SPT^R 的生物适应度会随着大观霉素质量浓度的变化而变化。质量浓度为 16 μg/mL 时, NG-SPT^R 相较于 WHO G 的 CI 仍小于 1, 但与无抗生素的 CI 相比已有明显上升 (图 5B)。质量浓度为 32 μg/mL 时, 生长早期 CI 仍小于 1, 在 18 h 后 NG-SPT^R 竞争优势明显上升 (CI > 1) (图 5C)。质量浓度为 64 μg/mL 和 128 μg/mL 时, NG-SPT^R 相较于 WHO G 的 CI 均大于 1 (图 5D、5E)。

条件下, WHO G 在 16 μg/mL 大观霉素质量浓度下仍能生长。

本研究在大观霉素培养基中筛选到自发突变的高水平大观霉素耐药淋球菌, 其大观霉素的 MIC 为 2048 μg/mL; 测序鉴定发现耐药株 NG-SPT^R 突变位点为 *rpsE* 基因发生 88_90delGTT 突变, 16S rDNA 基因无突变, 导致其编码产

物核糖体蛋白S5 loop 2区域发生改变,从而表现出对大观霉素耐药。截至目前,尚未有该突变介导大观霉素耐药在临床菌株中的报道。值得注意的是,淋球菌 $rpsE$ 基因序列的85~90为2次重复的GTT,突变株在该处删除了GTT 3个碱基,这种突变方式非常符合奈瑟菌属中极为常见的相变异(phase variation)^[16-17]。如果该突变属于相变异,那么意味着淋球菌可以非常容易在宿主体内形成突变株和野生型的混合体,以便快速适应不同的抗生素环境。

本研究采用不同的方法测定了NG-SPT^R的生长速率,结果显示相较于野生菌株NG-SPT^R生长速率变慢,这也一定程度上解释了头孢曲松对NG-SPT^R的MIC也略有升高(由0.016 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 升至0.032 $\mu\text{g}/\text{mL}$),因为头孢曲松主要作用于生长旺盛的细菌。同时,生长速率降低也是耐药菌生物适应度代价的显著标志^[10]。竞争实验结果也显示,在无抗生素的培养基中,突变株与野生型相比,CI远低于1,证明耐药菌的确有适应度代价。在不同质量浓度的大观霉素培养基中,突变株的CI逐渐升高。值得注意的是,在大观霉素质量浓度为32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (大观霉素对WHO G的1 \times MIC)时,细菌培养的前18 h,突变株的CI仍小于1,在18 h之后CI才逐渐上升至大于1。在高质量浓度(≥ 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的大观霉素培养基中,突变株的CI均远高于1。这说明突变株NG-SPT^R的适应度代价极为显著,需要高质量浓度的大观霉素方能扭转其竞争劣势。以上结果也从理论上解释了大观霉素在临床菌株中的耐药率从低到高,又从高到低的原因,即耐大观霉素的淋球菌适应度代价导致传播能力降低,但在大观霉素广泛使用的条件下,耐大观霉素的淋球菌会在大观霉素的选择压力下形成竞争优势,从而维持临床菌株中的高耐药率。在头孢曲松作为最常用的一线药物的情况下,目前尚未发现淋球菌出现对大观霉素耐药性的补偿性突变,但在大观霉素使用率逐渐增加的未来,这种可能性不能排除。

综上所述,本研究发现了介导淋球菌高水平耐大观霉素的一种新的基因突变,该突变可能属于相变异。该基因突变会导致细菌出现显著的适应度代价,需要在高质量浓度大观霉素条件下才具有竞争优势,但需要注意淋球菌进化出补偿性突变的可能。本研究检测到淋球菌 $rpsE$ 基因新突变,为临床淋病治疗中大观霉素的广泛应用提供了理论依据。

* * *

作者贡献声明 李梦欢和杨桂琴负责数据编、正式分析、调查研究、研究方法和初稿写作,王有为和雍刚负责提供资源,王红仁负责论文构思、数据编、经费获取、研究项目管理、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,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution LI Menghuan and YANG Guiqin are responsible for data curation, formal analysis, investigation, methodology, and writing--original draft. WANG Youwei and YONG Gang are responsible for resources. WANG Hongren is responsible for conceptualization, data curation, funding acquisition, project administration, 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 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] WANG H, WANG Y, YONG G, *et al.* Emergence and genomic characterization of the ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* FC428 clone in Chengdu, China. *J Antimicrob Chemother*, 2020, 75(9): 2495-2498. doi: 10.1093/jac/dkaa123.
- [2] SHIMUTA K, OHAMA Y, ITO S, *et al.* Emergence of ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* through horizontal gene transfer among *Neisseria* species. *J Infect Dis*, 2025, 232(1): 152-161. doi: 10.1093/infdis/jiaf008.
- [3] XIU L, WANG L, LI Y, *et al.* Molecular screening to track ceftriaxone-resistant FC428-like *Neisseria gonorrhoeae* strains' dissemination in four provinces of China, 2019 to 2021. *Euro Surveill*, 2025, 30(6): 2400166. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2025.30.6.2400166.
- [4] 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.
- [5] KAMATH D, GREGORY S T, O'CONNOR M. The loop 2 region of ribosomal protein uS5 influences spectinomycin sensitivity, translational fidelity, and ribosome biogenesis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(2): e01186-16. doi: 10.1128/AAC.01186-16.
- [6] 杜煜, 陈晓辉, 姚佳, 等. 细菌耐药机制及新型抗菌药物研究进展. *中国病原生物学杂志*, 2025, 20(3): 397-400. doi: 10.13350/j.cjpb.250326.
- [7] DU Y, CHEN X H, YAO J, *et al.* Research progress on bacterial resistance mechanisms and new antibacterial drugs. *J Pathog Biol*, 2025, 20(3): 397-400. doi: 10.13350/j.cjpb.250326.
- [8] 杨桂琴, 李梦欢, 王有为, 等. 淋病奈瑟菌大观霉素耐药基因检测方法的建立与评价. *四川大学学报(医学版)*, 2025, 56(1): 262-267. doi: 10.12182/20250160402.
- [9] YANG G Q, LI M H, WANG Y W, *et al.* Establishment and evaluation of a nucleic acid amplification test for spectinomycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2025, 56(1): 262-267. doi: 10.12182/20250160402.
- [10] 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.
- [11] KORRY B J, LEE S Y E, CHAKRABARTI A K, *et al.* Genotoxic agents produce stressor-specific spectra of spectinomycin resistance mutations based on mechanism of action and selection in *Bacillus subtilis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021, 65(10): e0089121. doi: 10.1128/AAC.00891-21.
- [12] VINCENT L R, KERR S R, TAN Y, *et al.* *In vivo*-selected compensatory mutations restore the fitness cost of mosaic penA alleles that confer ceftriaxone resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *mBio*, 2018, 9(2): e01905-17. doi: 10.1128/mBio.01905-17.
- [13] TU M M, CARFRAE L A, RACHWALSKI K, *et al.* Exploiting the fitness cost of metallo- β -lactamase expression can overcome antibiotic resistance in bacterial pathogens. *Nat Microbiol*, 2025, 10(1): 53-65. doi: 10.1038/s41564-024-01883-8.

- [12] 罗晶晶, 戎成婷, 惠磊, 等. 淋球菌耐药机制和治疗策略研究进展. *解放军药学报*, 2024, 37(1): 80-83. doi: [10.3969/j.issn.1008-9926.2024.01.019](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-9926.2024.01.019).
LUO J J, RONG C T, HUI L, *et al.* Countermeasures against drug resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: research advance. *Pharm J Chin PLA*, 2024, 37(1): 80-83. doi: [10.3969/j.issn.1008-9926.2024.01.019](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-9926.2024.01.019).
- [13] JENSEN J S, UNEMO M. Antimicrobial treatment and resistance in sexually transmitted bacterial infections. *Nat Rev Microbiol*, 2024, 22(7): 435-450. doi: [10.1038/s41579-024-01023-3](https://doi.org/10.1038/s41579-024-01023-3).
- [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](https://doi.org/10.12182/20240160209).
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](https://doi.org/10.12182/20240160209).
- [15] UNEMO M, GOLPARIAN D, SANCHEZ-BUSO L, *et al.* The novel 2016 WHO *Neisseria gonorrhoeae* reference strains for global quality assurance of laboratory investigations: phenotypic, genetic and reference genome characterization. *J Antimicrob Chemother*, 2016, 71(11): 3096-3108. doi: [10.1093/jac/dkw288](https://doi.org/10.1093/jac/dkw288).
- [16] HOLMES J, MUNJOMA L, BAYLISS C D. Novel method for prediction of combinatorial phase-variable gene expression states. *MethodsX*, 2023, 11: 102392. doi: [10.1016/j.mex.2023.102392](https://doi.org/10.1016/j.mex.2023.102392).
- [17] WILLIAMS E, SEIB K L, FAIRLEY C K, *et al.* *Neisseria gonorrhoeae* vaccines: a contemporary overview. *Clin Microbiol Rev*, 2024, 37(1): e0009423. doi: [10.1128/cmr.00094-23](https://doi.org/10.1128/cmr.00094-23).

(2025-06-24收稿, 2025-07-08修回)

编辑 余琳



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)*