

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2306157

综述

A 族链球菌体内耐受 β -内酰胺类药物的机制研究进展

郭孟杨 综述 姚开虎 审校

(国家儿童医学中心/首都医科大学附属北京儿童医院/北京市儿科研究所微生物研究室/
国家呼吸系统疾病临床医学研究中心/教育部儿科重大疾病研究重点实验室, 北京 100045)

[摘要] 包括青霉素在内的 β -内酰胺类药物用于治疗 A 族链球菌 (group A *Streptococcus*, GAS) 感染已有 80 余年, 虽然体外试验尚未发现对其耐药的 GAS 菌株, 但自 20 世纪 50 年代以来, 时有 β -内酰胺类药物临床治疗 GAS 感染失败的报道。GAS 体内耐受 β -内酰胺类药物的机制尚未明确。已有研究提示, GAS 体内耐受 β -内酰胺类药物与菌株对药物的敏感性降低、细菌的接种效应、生物膜的形成、共存菌的作用、细菌滞留性及细菌可内化入胞内等因素有关。该文回顾了 β -内酰胺类药物临床治疗 GAS 感染失败的主要报道, 以及与 GAS 体内耐受 β -内酰胺类药物机制相关的重要研究, 为后续研究及临床用药提供参考。

[中国当代儿科杂志, 2024, 26 (1): 92-97]

[关键词] A 族链球菌; 化脓性链球菌; 青霉素; β -内酰胺类药物; 治疗失败

Research progress on the mechanism of β -lactam resistance in group A *Streptococci* *in vivo*

GUO Meng-Yang, YAO Kai-Hu. National Center for Children's Health/Beijing Children's Hospital, Capital Medical University/Laboratory of Microbiology, Beijing Pediatric Research Institute/National Clinical Medical Research Center for Respiratory Diseases/Key Laboratory of Major Diseases in Children, Ministry of Education, Beijing 100045, China (Yao K-H, Email: yaokaihu@bch.com.cn)

Abstract: β -lactams, including penicillin, have been used for over 80 years in the treatment of group A *Streptococcus* (GAS) infections. Although β -lactam-resistant GAS strains have not been identified *in vitro* tests, clinical treatment failures have been reported since the 1950s. The mechanism underlying the clinical failure of β -lactam treatment in GAS infections remains unclear. Previous research has suggested that β -lactam resistance in GAS *in vivo* is associated with reduced drug susceptibility of strains, bacterial inoculation effects, biofilm formation, the effect of coexisting bacteria, bacterial persistence, and bacterial internalization into host cells. This article reviews the main reports on β -lactam treatment failure in GAS infections and analyzes the possible mechanisms of β -lactam resistance *in vivo*. The findings aim to contribute to future research and clinical approaches in the field.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2024, 26(1): 92-97]

Key words: Group A *Streptococcus*; *Streptococcus pyogenes*; Penicillin; β -lactam; Treatment failure

A 族链球菌 (group A *Streptococcus*, GAS) 可导致多种临床疾病, 包括咽炎、猩红热、脓疱病、蜂窝织炎在内的非侵袭性急性疾病, 亦包括坏死性筋膜炎和链球菌中毒性休克综合征等侵袭性疾病。此外, 感染 GAS 还可引起免疫介导性疾病, 如急性风湿热 (acute rheumatic fever, ARF)、风湿

性心脏病、链球菌感染后肾小球肾炎等, 严重影响人体健康^[1]。目前尚无针对 GAS 的疫苗投入临床应用, 其感染治疗主要依靠抗菌药物^[2]。青霉素作为一线药物治疗 GAS 疾病已有 80 余年, 体外试验还从未确认过有对青霉素耐药的 GAS 菌株, 指南或共识目前仍推荐使用青霉素等 β -内酰胺类

[收稿日期] 2023-07-03; [接受日期] 2023-12-11

[基金项目] 兵团财政科技计划项目新疆重点产业创新发展支撑计划 (2021DB020)。

[作者简介] 郭孟杨, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 姚开虎, 男, 教授。Email: yaokaihu@bch.com.cn。

药物治疗 GAS 感染^[3-4]。但是，自 20 世纪 50 年代开始，便时有青霉素治疗 GAS 感染失败的报道^[5]。关于 GAS 体内耐受 β-内酰胺类药物的机制至今尚无定论，研究者从不同方面对这一现象产生的原因进行了假设和研究。本文就 GAS 体内耐受 β-内酰胺类药物的现象及可能机制进行回顾和总结，以期引起国内同行对相关情况的重视，为临床用药和后续研究提供参考。

1 GAS 体内耐受 β-内酰胺类药物的现象

至今为止，β-内酰胺类药物治疗 GAS 感染失败的主要临床报道见表 1。Markowitz 等^[6]回顾了 1953—1993 年间报道的青霉素治疗 GAS 所致咽扁桃体炎失败的情况，经咽拭子细菌培养证实，为期 10 d 的口服青霉素治疗失败率为 19.1%~21.7%。Gastanaduy 等^[7]研究发现，对于 GAS 所致咽喉炎

患者，依据细菌培养结果，口服或肌注青霉素治疗的失败率为 25% 左右，且治疗失败组的抗链球菌溶血素 O 和抗链球菌 DNA 酶 B 的滴度在治疗前高于治疗成功组，可能该类患者发病前为 GAS 携带者，而青霉素对处于增殖活跃期的细菌清除效果更好，治疗失败（细菌清除失败）或许与是否为 GAS 携带状态有关^[12]。当 GAS 所致咽炎治疗不及时或不彻底时，或会引起风湿热、心内膜炎、脑膜炎等危及生命健康的严重疾病。有研究发现，GAS 咽部和皮肤感染或携带状态会增加 ARF 的发病风险，但应用 β-内酰胺类、大环内酯类和磺胺类等抗生素并不能降低该风险，尚不能确定其是否与药物不能彻底清除感染或携带菌有关^[13]。近几十年来，时有 β-内酰胺类药物治疗 GAS 感染失败的相关报道，虽然各研究中关于治疗失败的判定标准不一，但用药后未彻底清除体内 GAS 的现象基本一致，该现象及其背后的机制值得关注。

表 1 β-内酰胺类药物治疗 GAS 感染失败的情况

疾病	研究时期	研究例数	治疗药物	治疗失败判定依据	失败率 (%)
咽扁桃体炎 ^[6]	1953—1993 年	2 640	青霉素（口服治疗 10 d，剂量不详）	10 d 疗程后 1~60 d 内咽拭子培养阳性	19.1~21.7
咽喉炎 ^[7]	1977 年	169	苄星青霉素（静脉注射、口服给药 10 d，剂量不详）	10 d 疗程后咽拭子培养阳性（菌株血清型与前次培养相同且无相关流行病学接触史）	25.0
咽炎 ^[8]	1984 年	204	青霉素（口服治疗 10 d，125~250 mg/次，3~4 次/d）	10 d 疗程后咽拭子培养阳性（菌株血清型与治疗前培养相同）	20.6
急性扁桃体炎 ^[9]	-	144	青霉素（口服治疗 10 d，12.5 mg/kg，2 次/d）	疗程后 3~5 d 咽拭子培养阳性（菌株 T 抗原分型与治疗前培养相同）	21.0
咽炎 ^[10]	2006—2007 年	5 017	阿莫西林/青霉素（剂量不详）	初诊后 1~4 周内再次因 GAS 咽炎就诊（即有临床症状且经实验室确诊）	6.4
预防性治疗 ARF ^[11]	2012—2017 年	1 360	苄星青霉素（每 4 周肌肉注射 1 次，剂量不详）	青霉素治疗至少 8 周后，ARF 复发	13.9

注：[GAS] A 族链球菌；[ARF] 急性风湿热。-表示未明确说明。

2 GAS 体内耐受 β-内酰胺类药物的机制

关于 β-内酰胺类药物治疗 GAS 感染/清除体内 GAS 失败的原因，研究者提出了不同观点。总结既往文献，可从致病菌株的药物敏感性和其他作用两个方面进行考虑：一是 GAS 菌株对 β-内酰胺类药物敏感性降低；二是其他微生物与药物在人体内发生相互作用，或菌株在机体内出现不同于体外试验的其他特性，如滞留性（persistence）、产生物膜的能力等，使得 GAS 无法被完全清除。

2.1 GAS 对青霉素敏感性降低及其机制

已有研究报道了对 β-内酰胺类药物敏感性降低的 GAS 菌株^[14-19]。目前，美国临床和实验室标准协会（Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI）只有 GAS 对青霉素敏感的判定界值（MIC≤0.12 μg/mL 为敏感），没有 GAS 对青霉素中介或耐药的判定界值^[20]。与 CLSI 不同，欧洲抗菌药物敏感性试验委员会（European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST）关于 GAS 体外药敏试验结果的判读包括敏感和耐药而无中介的标准，具体标准如下：敏感为 MIC

$\leq 0.125 \mu\text{g/mL}$ (脑膜炎)、 $\text{MIC} \leq 0.25 \mu\text{g/mL}$ (非脑膜炎); 耐药为 $\text{MIC} > 0.125 \mu\text{g/mL}$ (脑膜炎)、 $\text{MIC} > 0.25 \mu\text{g/mL}$ (非脑膜炎)^[21], 且有系统综述表明并未有以此为判定标准的耐药菌株报道^[14]。

尚未见确证的青霉素耐药 GAS 菌株的报告, 但青霉素最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 升高的 GAS 菌株时有出现^[14]。Vannice 等^[15] 发现 2 株 GAS 菌株对氨苄青霉素、阿莫西林和头孢噻肟的 MIC 值升高, 分别为 $0.25 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.25 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.06 \mu\text{g/mL}$, 比对照菌株的 MIC 值高 3~6 倍, 且其青霉素结合蛋白 2x (penicillin binding protein 2x, PBP2x) 发生了 Thr553Lys 氨基酸替换。美国一项多中心研究报道, GAS 菌株中 PBP2x 存在 Pro601Leu 氨基酸替换的青霉素 MIC 值 ($0.023 \sim 0.032 \mu\text{g/mL}$) 是野生型 GAS 菌株 ($0.012 \mu\text{g/mL}$) 的 2~3 倍; 具有 Phe599Tyr 和 Gly600Asp 双氨基酸替换的 GAS 菌株青霉素 MIC 值 ($0.023 \mu\text{g/mL}$) 大于或等于仅具有 Gly600Asp 氨基酸替换的 GAS 菌株青霉素 MIC 值 ($0.016 \mu\text{g/mL}$), 双氨基酸替换可能对 MIC 值的增加具有累积效应。以上研究提示 PBP2x 中某些氨基酸替换导致 GAS 菌株对 β -内酰胺类药物的敏感性降低, 且有报道提出该种现象在 GAS 流行的 emm 型别中更常见^[16]。有研究亦证明, 具有停乳链球菌似马亚种 (*Streptococcus dysgalactiae subspecies equisimilis*, SDSE) 4 Kb 重组基因片段的 PBP2x 嵌合体可导致 GAS 在体外试验中对 β -内酰胺类药物敏感性降低, 且经相同剂量的青霉素治疗之后, 感染突变菌株的坏死性肌炎小鼠四肢的细菌载量更高^[17]。1995—2016 年冰岛一项对 1 515 株耐红霉素 GAS 菌株的研究发现, 具有 Met593Thr 氨基酸替换的 GAS 菌株青霉素和氨苄青霉素 MIC 值 (青霉素: $0.023 \mu\text{g/mL}$, 氨苄青霉素: $0.032 \mu\text{g/mL}$) 是野生型 GAS 菌株 (青霉素: $0.012 \mu\text{g/mL}$, 氨苄青霉素: $0.016 \mu\text{g/mL}$) 的 2 倍^[18]。2015—2021 年美国一项涵盖侵袭性 GAS 感染菌株的研究发现, 具有 PBP2x 中 Thr553Lys 氨基酸替换的 GAS 菌株, 其氨苄青霉素和阿莫西林 MIC 值是无此替换菌株的 5~10 倍, 提示 PBP2x 的氨基酸改变与 GAS 对 β -内酰胺类药物 (氨苄青霉素、青霉素 G、头孢噻肟、头孢西丁和美罗培南等) 敏感性降低有关^[19]。

细菌外排泵亦与耐药性密切相关, 有研究发现, 青霉素不敏感 GAS 菌株中编码外排泵相关的基因表达上调, 但同时与蛋白质合成和菌细胞生

长相关的基因表达下调, 这亦表明 GAS 菌株对青霉素产生抗性也需付出一定的生存代价^[22]。

实际临床工作中普遍以 CLSI 或 EUCAST 规定的标准判定 GAS 菌株是否耐药/不敏感, 而该标准的制定以患者临床疗效为参考, 虽然青霉素对于大部分 GAS 感染仍有较好疗效, 且 CLSI 无 GAS 对青霉素中介或耐药的判定界值, 无法确定“耐药株”, 但近年来不断有关于青霉素 MIC 值增加的 GAS 菌株的报道^[14-19], MIC 值增加提示菌株具有耐药倾向, 需要警惕体外试验耐药菌株的出现。

2.2 接种效应

接种效应 (inoculum effect) 指体外试验中当细菌接种量高于药敏试验使用量时, 抗菌药物对其抗菌活性减弱的现象^[23]。当抗生素杀死细菌并破坏细菌细胞壁时, 死亡菌体释放出能破坏抗生素的酶, 从而减少抗生素进入仍存活细菌的浓度, 产生接种效应。虽然 GAS 不产生 β -内酰胺酶, 但近年来研究表明其亦存在对青霉素的接种效应。Eagle^[5] 在 20 世纪 50 年代发现, 若给小鼠接种 GAS 后 24 h 内给药或细菌接种量低于 10^7 CFU/mL, 则青霉素治疗通常有效, 若 GAS 接种浓度达到 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL, 则细菌清除效果不佳, 认为此现象可能与细菌处于不同生长周期有关。不同生长周期的 GAS 表达青霉素结合蛋白 (penicillin binding protein, PBP) 的量不同, 给小鼠接种 GAS 24~48 h 后, 其 PBP 表达量明显低于前 24 h, 青霉素主要与 PBP 结合以达到抗菌效果, 因此青霉素治疗 GAS 失败或与用药开始的时间有关^[23]。有研究表明, GAS 菌株对青霉素的接种效应明显, 即在高细菌密度和生长平台期, 细菌对青霉素的敏感性明显降低^[24]。采用中空纤维感染模型 (可体外模拟体内感染) 研究发现, 输注青霉素减少 GAS 菌落数量的幅度与首次接种剂量有关, 在青霉素 20 mg/q4h 的相同给药方案下, 高剂量接种组的细菌量减少幅度较小; 青霉素连续输注 24 h 后, 接种效应最为显著, 此后再应用青霉素降低细菌量的作用没有前 24 h 用药作用明显^[24], 此现象与不同增殖期 GAS 的 PBP 表达量不同的研究结果一致^[23], 这些研究突显了早期治疗的必要性。

2.3 共存细菌的作用

处于同一环境中的其他细菌产生 β -内酰胺酶对 GAS 可提供间接保护作用。有研究发现, 应用阿莫西林治疗 GAS 引起的咽扁桃体炎时, 在患者咽部检测到了耐阿莫西林的流感嗜血杆菌, 其分泌

包裹 β -内酰胺酶的外膜囊泡对 GAS 具有保护作用，在肉汤培养基中分别加入 724 $\mu\text{g/mL}$ 和 1.2 mg/mL 的外膜囊泡蛋白时，GAS 阿莫西林 MIC 值从原来的 0.016 $\mu\text{g/mL}$ 升至 4 $\mu\text{g/mL}$ 和 16 $\mu\text{g/mL}$ ，且用 β -内酰胺酶抑制剂克拉维酸盐处理后，该种保护作用消失^[25]。该研究表明感染部位其他菌群分泌的包裹 β -内酰胺酶的外膜囊泡与 β -内酰胺类药物治疗 GAS 感染失败有关。

Geyrhofer 等^[26]认为，菌群存活与菌群死亡率及抗生素清除率均有关。首先，一部分细菌因暴露于抗生素而死亡，同时，存活细菌会产生分解或灭活抗生素的酶，从而降低抗生素浓度，当抗生素浓度在所有细菌被清除前降低到某一不足以杀死细菌的浓度或以下时，则会有抗性菌群的存活，要有抗性细菌存活就需达到最小接种量。产 β -内酰胺酶共存细菌要产生 GAS 保护作用也必需达到一定的接种量，即这些在 GAS 感染部位共存的其他菌群数量与其为 GAS 提供的保护作用有关。

有研究发现，虽然大肠杆菌单独存在时对氨苄青霉素敏感，但当与非耐药枯草芽孢杆菌共存时，其可免受氨苄青霉素的清除，并对其他细菌的生长产生抑制作用^[27]。该现象的具体机制尚不明确，GAS 感染患者感染部位的非耐药共存菌是否会导致其免受 β -内酰胺类药物的清除需要进一步的调查研究。

2.4 细菌滞留性及生物膜的形成

细菌的滞留性在抗生素治疗失败中也扮演了重要角色。2018 年，欧洲分子生物学组织定义了细菌“滞留性”，即细菌一个细胞亚群在杀菌性抗生素治疗中存活下来，但其并没有产生耐药性，且当无抗生素时，其恢复增殖并保持药物敏感性的特性。抗生素诱导是细菌产生滞留性的触发因素之一，诱导产生具有滞留性菌群的 MIC 值并无改变，但其最低杀菌浓度（minimum bactericidal concentration, MBC）值高于其他菌群。这可以解释为何青霉素治疗对药物敏感的 GAS 感染仍会失败的情况^[28]。有研究表明，GAS 被接种到非生物表面形成高细菌负荷的团聚状态（生物膜样环境）时具有形成滞留性的能力，并证明此现象与外排泵和菌细胞自身生长停滞有关^[22]。临床中严重 GAS 感染患者即使接受了正规青霉素治疗，但由于感染部位可达高细菌载量形成生物膜样环境，产生的滞留性细菌无法被清除，可能会因此导致治疗失败。

生物膜与抗生素不能清除 GAS 密切相关。无症状患者口咽部的 GAS 携带状态与生物膜形成相关，皮肤和咽部的 GAS 感染部位均可发现生物膜^[29]。不同于 MIC 及 MBC，清除生物膜中的细菌，药物需要达到最低生物膜根除浓度（minimum biofilm eradication concentration value, MBEC）。生物膜可使 GAS 对青霉素的耐受性提高 2 500~5 000 倍。有研究发现，应用外切糖苷酶去除咽细胞（pharyngeal cell）的聚糖物质后，其表面所形成的 GAS 生物膜 MBEC 是未处理咽细胞表面 GAS 生物膜的 2 倍余，说明聚糖物质可降低 GAS 生物膜 MBEC，增加生物膜中 GAS 对青霉素的敏感性^[30]。此外，亦有研究证明精氨酸脱亚氨酶（arginine deiminase, ADI）促进细菌生物膜的形成^[31]。若能以咽细胞表面聚糖为基础，研发具有相似结构或抑制 ADI 途径的药物，将其与青霉素联用或可避免治疗失败。

2.5 GAS 可内化入细胞

通常将 GAS 定义为胞外菌，但它亦会侵入细胞并在胞内持续存在，以躲避免疫清除和抗生素作用^[32]。研究表明，链球菌可通过多种机制粘附并内化（internalization）入细胞^[33]。青霉素脂溶性较低，对人体细胞膜的透过率低，不能有效清除胞内菌。内化入胞的 GAS 免受青霉素清除，可引起反复感染和无症状的咽部携带状态^[34]。喹诺酮类抗生素在细胞内与细胞外浓度的比值，比 β -内酰胺类抗生素高约 8 倍，具有较强的组织细胞渗透性。对 GAS 侵入的细胞应用阿莫西林和喹诺酮类药物拉库沙星（lascufloxacin, LSFx）后发现，阿莫西林不能减少胞内 GAS 量，而 LSFx 可有效减少内化入宿主细胞内的 GAS^[35]。近年来，有学者针对 β -内酰胺类药物不能清除胞内 GAS 的问题进行研究，探寻新的 GAS 感染治疗方向。Lu 等^[36]发现血管内皮生长因子可通过增强内皮细胞中溶酶体活性及促进异体吞噬从而有助于胞内 GAS 的清除。

3 结语

尽管体外试验中 GAS 总是对青霉素等敏感，但 GAS 体内耐受青霉素等 β -内酰胺类药物也已得到确证。GAS 体内耐受青霉素等 β -内酰胺类药物的机制尚无定论，可能与 GAS 菌株的药物敏感性有关，也可能与机体内的其他因素，包括 GAS 的接种效应、共存菌的作用、GAS 生物膜和细菌持

留性, 以及细菌内化入细胞等。需要注意的是, 虽然有青霉素等药物清除细菌失败的情况, 但仍然少见, 包括青霉素在内的 β -内酰胺类药物对大部分 GAS 感染仍然有效, 换用其他药物不论是从经济还是疗效考虑, 均于患者无益^[37]。临床需要持续对治疗失败的情况保持警惕, 并监测 GAS 分离株体外药物敏感状况, 为 GAS 体内耐受 β -内酰胺类药物的机制研究提供更多线索和证据, 促进预防和治疗 GAS 感染新策略的研发。

作者贡献声明: 郭孟杨查阅及整理分析文献、撰写文章; 姚开虎把握选题、修改文章、经费支持。

利益冲突声明: 所有作者声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Moore HC, Cannon JW, Kaslow DC, et al. A systematic framework for prioritizing burden of disease data required for vaccine development and implementation: the case for group A streptococcal diseases[J]. Clin Infect Dis, 2022, 75(7): 1245-1254. PMID: 35438130. PMID: PMC9525082. DOI: 10.1093/cid/ciac291.
- [2] Brouwer S, Rivera-Hernandez T, Curren BF, et al. Pathogenesis, epidemiology and control of group A *Streptococcus* infection[J]. Nat Rev Microbiol, 2023, 21(7): 431-447. PMID: 36894668. PMID: PMC9998027. DOI: 10.1038/s41579-023-00865-7.
- [3] Centers for Disease Control and Prevention. Group A Streptococcal (GAS) disease[EB/OL]. (2022-06-27) [2023-05-18]. <https://www.cdc.gov/groupastrep/diseases-hcp/strep-throat.html#treatment>.
- [4] 禹定乐, 郑跃杰, 申昆玲, 等. 《中国儿童 A 族链球菌感染相关疾病的诊断、治疗与预防专家共识》解读[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2023, 38(5): 327-330. DOI: 10.3760/cma.j.cn101070-20230109-00017.
- [5] Eagle H. Experimental approach to the problem of treatment failure with penicillin: I. group A streptococcal infection in mice[J]. Am J Med, 1952, 13(4): 389-399. PMID: 12985596. DOI: 10.1016/0002-9343(52)90293-3.
- [6] Markowitz M, Gerber MA, Kaplan EL. Treatment of streptococcal pharyngotonsillitis: reports of penicillin's demise are premature[J]. J Pediatr, 1993, 123(5): 679-685. PMID: 8229474. DOI: 10.1016/s0022-3476(05)80840-6.
- [7] Gastanaduy AS, Kaplan EL, Huwe BB, et al. Failure of penicillin to eradicate group A *Streptococci* during an outbreak of pharyngitis[J]. Lancet, 1980, 2(8193): 498-502. PMID: 6105559. DOI: 10.1016/s0140-6736(80)91832-2.
- [8] Smith TD, Huskins WC, Kim KS, et al. Efficacy of beta-lactamase-resistant penicillin and influence of penicillin tolerance in eradicating *Streptococci* from the pharynx after failure of penicillin therapy for group A streptococcal pharyngitis[J]. J Pediatr, 1987, 110(5): 777-782. PMID: 3106607. DOI: 10.1016/s0022-3476(87)80023-9.
- [9] Stjernquist-Desatnik A, Orrling A, Schälén C, et al. Penicillin tolerance in group A *Streptococci* and treatment failure in streptococcal tonsillitis[J]. Acta Otolaryngol Suppl, 1992, 492: 68-71. PMID: 1632256. DOI: 10.3109/00016489209136813.
- [10] Gidengil CA, Kruskal BA, Lee GM. Initial antibiotic choice in the treatment of group a streptococcal pharyngitis and return visit rates[J]. J Pediatric Infect Dis Soc, 2013, 2(4): 361-367. PMID: 26619498. DOI: 10.1093/jpids/pit043.
- [11] de Dassel JL, Malik H, Ralph AP, et al. Four-weekly benzathine penicillin G provides inadequate protection against acute rheumatic fever in some children[J]. Am J Trop Med Hyg, 2019, 100(5): 1118-1120. PMID: 30915960. PMID: PMC6493956. DOI: 10.4269/ajtmh.18-0907.
- [12] 韦朝华, 俞黎黎, 霍江华, 等. 青霉素作用机制的研究进展及其假说[J]. 科技资讯, 2018, 16(19): 230-232, 234. DOI: 10.16661/j.cnki.1672-3791.2018.19.230.
- [13] Oliver J, Bennett J, Thomas S, et al. Preceding group A *Streptococcus* skin and throat infections are individually associated with acute rheumatic fever: evidence from New Zealand[J]. BMJ Glob Health, 2021, 6(12): e007038. PMID: 34887304. PMID: PMC8663084. DOI: 10.1136/bmjgh-2021-007038.
- [14] Yu DL, Guo DC, Zheng YJ, et al. A review of penicillin binding protein and group A *Streptococcus* with reduced- β -lactam susceptibility[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 13: 1117160. PMID: 37065204. PMID: PMC10102528. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1117160.
- [15] Vannice KS, Ricaldi J, Nanduri S, et al. *Streptococcus pyogenes* *pbp2x* mutation confers reduced susceptibility to β -lactam antibiotics[J]. Clin Infect Dis, 2020, 71(1): 201-204. PMID: 31630171. PMID: PMC7167332. DOI: 10.1093/cid/ciz1000.
- [16] Musser JM, Beres SB, Zhu L, et al. Reduced *in vitro* susceptibility of *Streptococcus pyogenes* to β -lactam antibiotics associated with mutations in the *pbp2x* gene is geographically widespread[J]. J Clin Microbiol, 2020, 58(4): 01919-01993. PMID: 31996443. PMID: PMC7098749. DOI: 10.1128/JCM.01993-19.
- [17] Olsen RJ, Zhu L, Mangham RE, et al. A chimeric penicillin binding protein 2x significantly decreases *in vitro* beta-lactam susceptibility and increases *in vivo* fitness of *Streptococcus pyogenes*[J]. Am J Pathol, 2022, 192(10): 1397-1406. PMID: 35843262. PMID: PMC9552024. DOI: 10.1016/j.ajpath.2022.06.011.
- [18] Southon SB, Beres SB, Kachroo P, et al. Population genomic molecular epidemiological study of macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* in Iceland, 1995 to 2016: identification of a large clonal population with a *pbp2x* mutation conferring reduced *in vitro* β -lactam susceptibility[J]. J Clin Microbiol,

- 2020, 58(9): e00638-20. PMID: 32522827. PMCID: PMC7448646. DOI: 10.1128/JCM.00638-20.
- [19] Chochua S, Metcalf B, Li Z, et al. Invasive group A streptococcal penicillin binding protein 2x variants associated with reduced susceptibility to β -lactam antibiotics in the United States, 2015-2021[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2022, 66(9): e0080222. PMID: 35969070. PMCID: PMC9487518. DOI: 10.1128/aac.00802-22.
- [20] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 performance standards for antimicrobial susceptibility testing 33rd ed[EB/OL]. (2023-03-03)[2023-05-18]. https://clsi.org/media/te4b1paf/m10033_samplepages-1.pdf.
- [21] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters [EB/OL]. (2023-01-01)[2023-04-20]. <http://www.eucast.org>.
- [22] Martini CL, Coronado AZ, Melo MCN, et al. Cellular growth arrest and efflux pumps are associated with antibiotic persisters in *Streptococcus pyogenes* induced in biofilm-like environments[J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 716628. PMID: 34621249. PMCID: PMC8490960. DOI: 10.3389/fmicb.2021.716628.
- [23] Lenhard JR, Bulman ZP. Inoculum effect of β -lactam antibiotics[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2019, 74(10): 2825-2843. PMID: 31170287. PMCID: PMC6753498. DOI: 10.1093/jac/dkz226.
- [24] Marum D, Manning L, Raby E. Revisiting the inoculum effect for *Streptococcus pyogenes* with a hollow fibre infection model[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2021, 40(10): 2137-2144. PMID: 33948751. DOI: 10.1007/s10096-021-04262-x.
- [25] Bielaszewska M, Daniel O, Nyč O, et al. *In vivo* secretion of β -lactamase-carrying outer membrane vesicles as a mechanism of β -lactam therapy failure[J]. *Membranes (Basel)*, 2021, 11(11): 806. PMID: 34832035. PMCID: PMC8625792. DOI: 10.3390/membranes11110806.
- [26] Geyrhofer L, Ruelens P, Farr AD, et al. Minimal surviving inoculum in collective antibiotic resistance[J]. *mBio*, 2023, 14(2): e0245622. PMID: 37022160. PMCID: PMC10128016. DOI: 10.1128/mbio.02456-22.
- [27] Galera-Laporta L, Garcia-Ojalvo J. Antithetic population response to antibiotics in a polybacterial community[J]. *Sci Adv*, 2020, 6(10): eaaz5108. PMID: 32181369. PMCID: PMC7060062. DOI: 10.1126/sciadv.aaz5108.
- [28] Balaban NQ, Helaine S, Lewis K, et al. Definitions and guidelines for research on antibiotic persistence[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(7): 441-448. PMID: 30980069. PMCID: PMC7136161. DOI: 10.1038/s41579-019-0196-3.
- [29] Vyas HKN, Proctor EJ, McArthur J, et al. Current understanding of group a streptococcal biofilms[J]. *Curr Drug Targets*, 2019, 20(9): 982-993. PMID: 30947646. PMCID: PMC6700754. DOI: 10.2174/1389450120666190405095712.
- [30] Vyas HKN, Indraratna AD, Everest-Dass A, et al. Assessing the role of pharyngeal cell surface glycans in group A *Streptococcus* biofilm formation[J]. *Antibiotics (Basel)*, 2020, 9(11): 775. PMID: 33158121. PMCID: PMC7694240. DOI: 10.3390/antibiotics9110775.
- [31] Freiberg JA, Le Breton Y, Harro JM, et al. The arginine deiminase pathway impacts antibiotic tolerance during biofilm-mediated *Streptococcus pyogenes* infections[J]. *mBio*, 2020, 11(4): e00919-e00920. PMID: 32636245. PMCID: PMC7343988. DOI: 10.1128/mBio.00919-20.
- [32] Valderrama JA, Nizet V. Group A *Streptococcus* encounters with host macrophages[J]. *Future Microbiol*, 2018, 13(1): 119-134. PMID: 29226710. PMCID: PMC5771463. DOI: 10.2217/fmb-2017-0142.
- [33] Jiang QS, Zhou XD, Cheng L, et al. The adhesion and invasion mechanisms of *Streptococci*[J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2019, 32: 521-560. PMID: 31166179. DOI: 10.21775/cimb.032.521.
- [34] Brook I. Treatment challenges of group a beta-hemolytic streptococcal pharyngo-tonsillitis[J]. *Int Arch Otorhinolaryngol*, 2017, 21(3): 286-296. PMID: 28680500. PMCID: PMC5495595. DOI: 10.1055/s-0036-1584294.
- [35] Kono M, Sakatani H, Kinoshita T, et al. Bactericidal effect of lasciproloxacin on HEp-2 cell-internalized group A *Streptococcus*[J]. *J Infect Chemother*, 2023, 29(4): 401-406. PMID: 36681190. DOI: 10.1016/j.jiac.2023.01.008.
- [36] Lu SL, Omori H, Zhou Y, et al. VEGF-mediated augmentation of autophagic and lysosomal activity in endothelial cells defends against intracellular *Streptococcus pyogenes*[J]. *mBio*, 2022, 13(4): e0123322. PMID: 35862783. PMCID: PMC9426552. DOI: 10.1128/mbio.01233-22.
- [37] Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic prescribing and use[EB/OL]. (2017-02-01)[2023-12-06]. <https://www.cdc.gov/antibiotic-use/clinicians/pediatric-treatment-rec.html>.

(本文编辑: 杨丹)

(版权所有©2023 中国当代儿科杂志)