

• 论 著 •

金黄色葡萄球菌 SaeRS 二元调控系统促进细菌凝集和生物被膜形成^{*}

胡刘平^{1,2}, 刘 倩^{1△}

1. 上海交通大学医学院附属仁济医院检验科, 上海 310115; 2. 上海交通大学附属第六人民医院检验科, 上海 201306

摘要:目的 探讨金黄色葡萄球菌 SaeRS 二元调控系统在人血浆蛋白调控细菌凝集和生物被膜形成中的作用机制。方法 收集金黄色葡萄球菌感染常见的临床克隆菌株, Newman(NM)菌株中由于 SaeS 第一个跨膜区点突变(L18P)导致 SaeRS 二元调控系统处于持续活化状态, 为了探索不同菌株中 SaeRS 系统的调控功能, 本研究分别以 USA300 和 NM 菌株为背景, 构建 SaeRS 二元调控系统敲除菌株 USA300 Δ sae 和 NM Δ sae, 在含有乏血小板血浆(PPP)和富血小板血浆(PRP)条件下分别检测不同菌株凝集和生物被膜形成的能力。采用反转录-聚合酶链反应检测不同菌株在 PPP 作用后其 SaeRS 二元调控系统调控的靶基因表达水平。结果 人血浆 PPP 可促进金黄色葡萄球菌不同临床分离菌株凝集, 人血浆 PPP 和 PRP 均可促进金黄色葡萄球菌不同临床分离菌株生物被膜形成, 但不同菌株之间存在差异, 如人血浆蛋白促进 NM 菌株凝集能力明显强于 USA300 菌株, 提示 NM 菌株中 SaeRS 系统的高度活化状态可能参与血浆蛋白促进细菌的凝集过程。进一步研究发现, 人血浆蛋白不能促进 sae 敲除菌株的凝集和生物被膜形成能力; sae 敲除菌株中互补表达 SaeRS 和高度活化状态的 SaeRS L18P 均可回复人血浆蛋白促进细菌凝集活性; USA300 菌株中 SaeRS 通过调控凝固酶 coa 表达促进金黄色葡萄球菌凝集和生物被膜形成, 而在 NM 菌株中, 高度活化的 SaeRS 二元调控系统通过调节多个基因(coa, eap, clfb, emp)的表达发挥功能。结论 人血浆蛋白可促进金黄色葡萄球菌凝集和生物被膜形成, SaeRS 二元调控系统单个氨基酸位点突变改变该系统的调控网络。

关键词:金黄色葡萄球菌; SaeRS 二元调控系统; 细菌凝集; 生物被膜

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.23.001

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2021)23-2817-06

文献标志码:A

Staphylococcus aureus SaeRS binary regulatory system promotes bacterial aggregation and biofilm formation^{*}

HU Liuping^{1,2}, LIU Qian^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Renji Hospital, Shanghai JiaoTong University School of Medicine, Shanghai 310115, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Sixth People's Hospital, Shanghai JiaoTong University, Shanghai 201306, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of the Staphylococcus aureus SaeRS binary regulation system in the regulation of bacterial aggregation and biofilm formation of human plasma proteins. **Methods** Collected common clinical cloned strains of Staphylococcus aureus infection, in the Newman (NM) strain, the SaeRS binary regulation system was continuously activated due to a point mutation in the first transmembrane region of SaeS (L18P). In order to explore the regulatory functions of the SaeRS system in different strains, this study used the USA300 and NM strains as the background to construct the SaeRS binary regulatory system knockout strains USA300 Δ sae and NM Δ sae. Under the conditions of platelet-poor plasma (PPP) and platelet-rich plasma (PRP), the ability of different strains to aggregate and form biofilm was detected respectively. Reverse transcription-polymerase chain reaction was used to detect the expression levels of target genes regulated by the SaeRS binary regulatory system of different strains after PPP action. **Results** Human plasma PPP could promote the agglutination of different clinical isolated strains of Staphylococcus au-

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81772139, 82072235)。

作者简介: 胡刘平, 男, 主管技师, 主要从事临床检验方面的研究。△ 通信作者, E-mail: qq2005011@163.com。

本文引用格式: 胡刘平, 刘倩. 金黄色葡萄球菌 SaeRS 二元调控系统促进细菌凝集和生物被膜形成[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(23):

reus, and both human plasma PPP and PRP could promote the biofilm formation of different clinical isolated strains of *Staphylococcus aureus*, but there were differences between different strains. For example, the ability of human plasma protein to promote the agglutination of the NM strain was significantly stronger than that of the USA300 strain, suggested that the highly activated state of the SaeRS system in the NM strain might be involved in the process of plasma protein promoting the agglutination of bacteria. Further research found that human plasma protein could not promote the agglutination and biofilm formation ability of *sae* knockout strains. The complementary expression of SaeRS and the highly activated SaeRS L18P in the *sae* knockout strain could restore the pro-bacterial agglutination activity of human plasma proteins. In the USA300 strain, SaeRS promoted *Staphylococcus aureus* agglutination and biofilm formation by regulating the expression of coagulase *coa*, while in the NM strain, the highly activated SaeRS binary regulatory system functions by regulating the expression of multiple genes (*coa*, *eap*, *clfB*, *emp*). **Conclusion** Human plasma protein could promote the agglutination and biofilm formation of *Staphylococcus aureus*. The mutation of a single amino acid site in the SaeRS binary regulatory system changes the regulatory network of the system.

Key words: *Staphylococcus aureus*; SaeRS binary regulatory system; bacterial aggregation; biofilm

金黄色葡萄球菌是一种可以引起人类和动物多种感染性疾病的革兰阳性菌,其致病性与细菌的凝集反应和生物被膜形成密切相关,细菌通过复杂的调控系统调节这些参与细菌凝集和生物被膜形成的毒力因子表达。据报道,金黄色葡萄球菌 *ArlRS* 二元调控系统调节 *ebh* 基因转录表达,抑制葡萄球菌表面蛋白表达,促进凝集^[1]。SaeRS 二元调控系统在细菌致病过程中发挥重要作用^[2-4]。目前,关于 SaeRS 调控细菌生物被膜的分子机制尚有争议,在不同菌株中调控方式不同^[5-8]。有研究发现,Newman(NM)菌株中由于 SaeS 第一个跨膜区点突变(L18P)导致其调控网络发生改变,从而影响细胞外黏附蛋白 *eap* 表达,促进细菌凝集,但在 USA300 菌株中并未发生这种变化^[9],提示金黄色葡萄球菌不同菌株调控方式不同。本研究通过外源性加入人血浆蛋白,探讨不同金黄色葡萄球菌菌株的 SaeRS 在人血浆蛋白促进细菌凝集和生物被膜形成中的作用。有研究发现,人血浆蛋白通过促进 SaeRS 调控靶基因的表达,促进金黄色葡萄球菌的凝集和生物被膜形成^[10];SaeRS 突变影响其调控方式,如在 USA300 菌株中,人血浆蛋白促进凝固酶 *coa* 的高表达促进细菌凝集;在 NM 菌株中,由于 SaeS 点突变,人血浆蛋白调控细菌凝集机制存在差异。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 菌株 USA300、NM、ST398 09-1059、ST239 09-770、ST59 RJ2、ST9 2014-58、ST5 05-72、NM Δ *coa*、USA300 Δ *coa*、NM Δ *eap* 和 USA300 Δ *eap*。

1.1.2 人血浆蛋白制备 收集 10 例健康体检人员的静脉抗凝(枸橼酸钠)血,男、女各 5 例,平均年龄 29.9 岁。排除标准:(1)患有全身性疾病和感染;(2)血红蛋白水平低于 110 g/L;(3)血小板计数低于 150×10^9 /L;(4)有吸烟习惯和在采血前 5 d 内服用非

甾体抗炎药物。收集每例健康体检人员 2.7 mL 静脉血,每管含有 0.3 mL 枸橼酸钠溶液作为抗凝血剂。 $460 \times g$ 离心 8 min,乏血小板血浆(PPP)、富血小板血浆(PRP)、浓缩红细胞分层^[10]。在无菌条件下,每管 PPP 约 0.3 mL,位于分层溶液的顶部被抽吸。然后小心地收集位于红细胞颗粒上的类似体积的 PRP,以避免白细胞混入。PRP 中血小板计数为 $285(183, 386) \times 10^9$ /L;PPP 中血小板计数为 $6(4, 7) \times 10^9$ /L。血小板检测采用 Sysmex XN2800 全自动血细胞分析仪。

1.2 仪器与试剂 Molecular Devices Spectra-Max250 酶标仪;ABI7500 实时荧光定量聚合酶链反应仪;气浴恒温振荡器(SHZ-82);胰蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB);RNeasy Mini Kit RNA 抽提试剂盒;Reverse Transcription Kit 试剂盒。

1.3 生物被膜形成与测定 所用培养基为 TSB(30 g/L)添加 0.5%葡萄糖注射液。接种前预先在 96 孔板微滴板上加入 200 μ L 20%的健康人 PPP,并在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。弃上清液加入 200 μ L 新配置的菌悬液后,盖上盖子,于 37 $^{\circ}$ C 条件下恒温恒湿培养 24 h,弃去 96 孔板中的培养物,用 200 μ L 无菌磷酸盐缓冲液(PBS,pH 值 7.3)冲洗 3 次,去除培养基和浮游状态的细菌。在 96 孔板中每个孔加入乙醇 200 μ L 加盖静置 15 min,吸除乙醇后在 30 $^{\circ}$ C 环境下自然风干,固定生物膜。然后在每个孔中加入 1 滴 1%结晶紫溶液,静置染色 30 min 后弃去染色液,用水冲洗直至无色,晾干。在染色的孔中加入 200 μ L 5%冰乙酸溶液,以 200 μ L 5%冰乙酸溶液作为空白孔,测定各个检测孔 590 nm 波长的吸光度值(A 值)。

1.4 细菌凝集实验 挑取血平板上单个菌落于 3 mL TSB 培养基中振荡培养过夜,然后吸取 80 μ L 菌液加入到 8 mL TSB 培养基中继续振荡培养 4 h, PBS 洗涤 3 次后配置成 A 值为 1.0 的菌悬液 2 管,其

中一管加入 2.5% 的 PPP,室温静置培养 2 h,每隔 15 min 吸取上清液检测 A_{600} 值直至 2 h。

1.5 反转录-聚合酶链反应 分别收集 NM 和 USA300 及其敲除 *sae* 菌株对数生长期(2 h)的菌落,加入磁珠管内用破碎机振荡 2 次(频率:1 600 次/分)进行金黄色葡萄球菌破壁,然后用 RNeasy Mini Kit RNA 抽提试剂盒提取 RNA。利用 IDT 在线软件根据已发表的金黄色葡萄球菌序列设计 *emp*、*eap*、*clfb*、*coa*、*gyrb* 引物,寡核苷酸引物序列见表 1。取 1 μ g RNA 配成 7 μ L 体系用 Hifair™ III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (gDNA digester plus)进行反转录得到 cDNA;然后取 2.5 μ L cDNA 加入 22.5 μ L [引物+SYBR Green Master(ROX)+H₂O]体系中,采用 ABI7500 实时荧光定量聚合酶链反应仪进行扩增,条件如下:50 $^{\circ}$ C 2 min,94 $^{\circ}$ C 15 min,40 个循环(94 $^{\circ}$ C 15 s,55 $^{\circ}$ C 15 s,72 $^{\circ}$ C 32 s),绘制解离曲线(95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 1 min,95 $^{\circ}$ C 30 s,60 $^{\circ}$ C 15 s)。所有标本均重复 3 次,以 *gyrb* 作为参考基因。

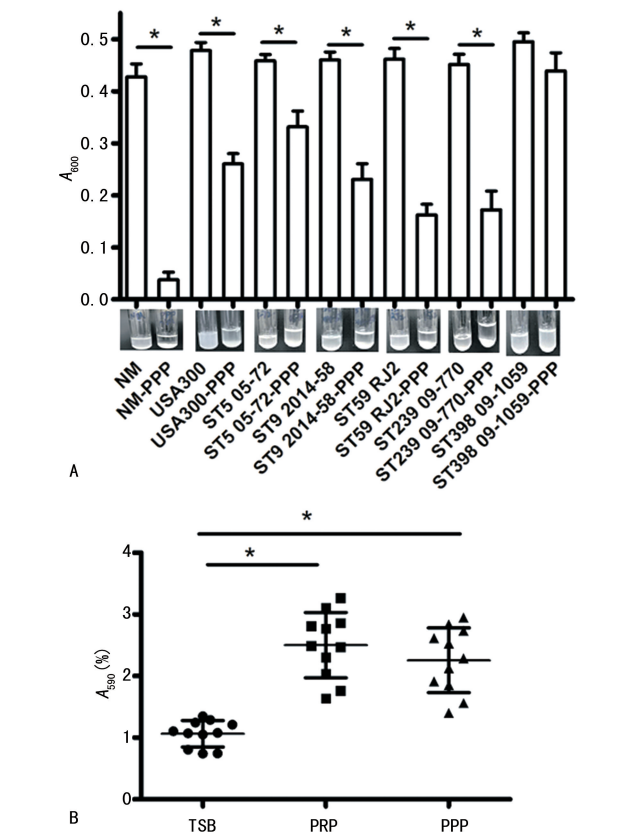
表 1 引物序列		
基因	引物序列(5'-3')	扩增长度 (bp)
<i>emp</i>	Forward: CACGCTAAAGCATCAGTGACAG	22
	Reverse: CTAGCTGCCGATGAATCTGC	20
<i>eap</i>	Forward: CAGTACTGAAGCATGATAGAG	21
	Reverse: CTCTTAACATCTTTGCGCATGAAC	23
<i>clfb</i>	Forward: GCAAACAGTATTTGTTAACCC	21
	Reverse: GGATCTGCATAGTAGTATCTG	22
<i>coa</i>	Forward: CTACGGCTGGTAAAGCTGAAG	21
	Reverse: TGAGCTACCTTCAAGACCTTC	21
<i>gyrb</i>	Forward: CAAATGATCACAGCATTTGGTACAG	25
	Reverse: CGGCATCAGTCATAATGACGAT	22

1.6 统计学处理 采用 GraphPad Prism5 软件分析实验结果并绘制图表。组间差异采用单因素方差分析进行比较。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 金黄色葡萄球菌凝集和生物被膜形成检测 首先通过外源性加入人血浆蛋白,体外检测细菌凝集和生物被膜的形成。收集目前金黄色葡萄球菌临床感染不同 ST 分型的临床分离株(ST398 09-1059、ST239 09-770、ST59 RJ2、ST9 2014-58、ST5 05-72)和 2 株实验室菌株 UAS300 和 NM。加入 PPP 血浆蛋白进行检测,结果显示,在培养细菌中加入 PPP,所有检测的金黄色葡萄球菌菌株相对于 PBS 对照组,均表现出更强的凝集效应。PPP 促进不同菌株的凝集表型有差异,PPP 促进 NM 菌株凝集能力最强,而 ST398 09-1059 凝集能力最弱(图 1A),提示人血浆蛋白可以促进金黄色葡萄球菌的凝集发生,但不同临床分离菌株中存在差异。细菌凝集和生物被膜的形成密切相关,本研究进一步在人血浆蛋白中搭建了观察

金黄色葡萄球菌的生物被膜形成的检测体系显示,无论是在培养基中加入 PRP 或 PPP,所有检测的金黄色葡萄球菌体外生物被膜形成能力均明显增强(图 1B),提示人血浆蛋白促进金黄色葡萄球菌生物被膜形成具有广谱性。

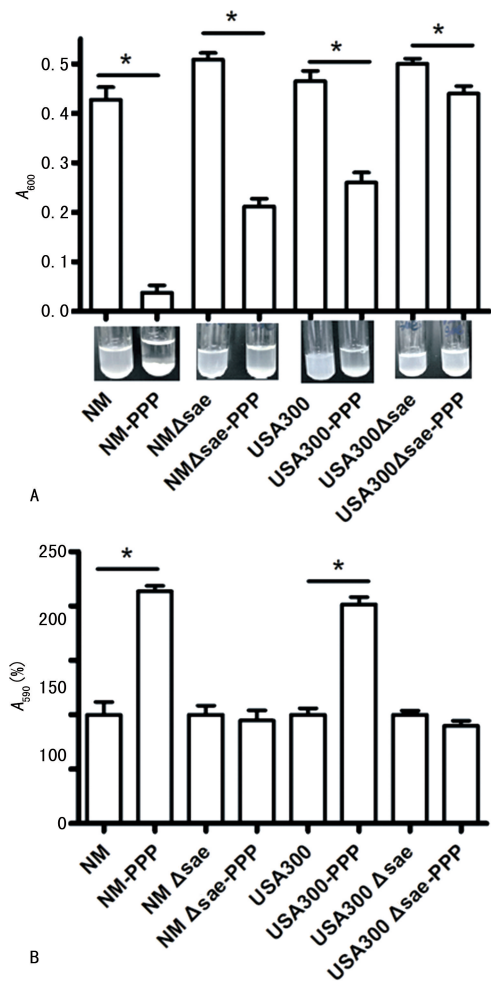


注:A 为金黄色葡萄球菌不同临床菌株在 PBS 和 PPP 中的凝集表型比较,* $P<0.05$;B 为金黄色葡萄球菌不同临床菌株在 PRP 和 PPP 培养基中的生物膜结果,* $P<0.05$ 。

图 1 人血浆蛋白促进金黄色葡萄球菌的凝集和生物膜形成

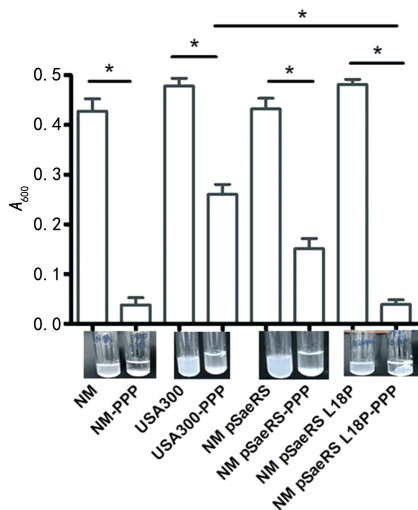
2.2 人血浆蛋白通过调控 SaeRS 二元调控系统促进细菌凝集和生物被膜形成 本研究分别向 NM 和 USA300 菌株的 PBS 培养基中加入 PPP,在 PPP 组这两种菌株均出现了凝集效应,NM 菌株的凝集效果明显强于 USA300 菌株。在 NM 和 USA300 菌株中引入 *sae* 基因突变后,对应的凝集效应均明显降低。结果显示,*sae* 的存在能够明显影响金黄色葡萄球菌的凝集能力(图 2A)。进一步通过体外生物被膜研究发现,人血浆蛋白不能促进 NM Δ *sae* 或者是 USA300 Δ *sae* 敲除菌株的生物被膜形成(图 2B)。为了进一步证实 SaeRS 调控细菌凝集过程,本研究在 NM Δ *sae* 菌株中分别回补 SaeRS 和 SaeRS L18P 的表达,构建了互补菌株 NMpSaeRS 和 NMpSaeRS L18P。本研究显示,SaeRS 和 SaeRS L18P 菌株在人血浆蛋白中均可回复 *sae* 敲除菌株细菌凝集活性,并且回复活化状态的 SaeRS L18P 的菌株,其凝集活性明显强于 pSaeRS(图 3),进一步证实人血浆蛋白通过

调控 SaeRS 二元调控系统影响细菌凝集, NM 菌株中 SaeRS 系统的高度活化导致 NM 菌株的高度凝集状态。



注: A 为金黄色葡萄球菌(USA300 和 NM)*sae* 敲除菌株的凝集表型比较, * $P < 0.05$; B 为金黄色葡萄球菌(USA300 和 NM)*sae* 敲除菌株的生物膜结果, * $P < 0.05$ 。

图 2 *sae* 敲除菌株在人血浆中凝集和生物膜形成能力

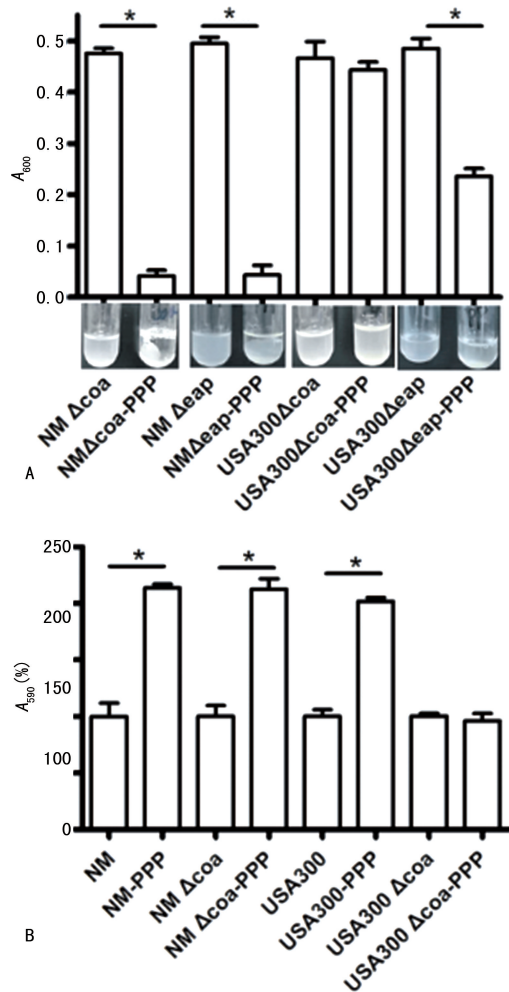


注: * $P < 0.05$ 。

图 3 *SaeRS* 和 *SaeRS* L18P 回复 *sae* 敲除菌凝集活性

2.3 人血浆蛋白调控 *coa* 和 *eap* 敲除菌株凝集检

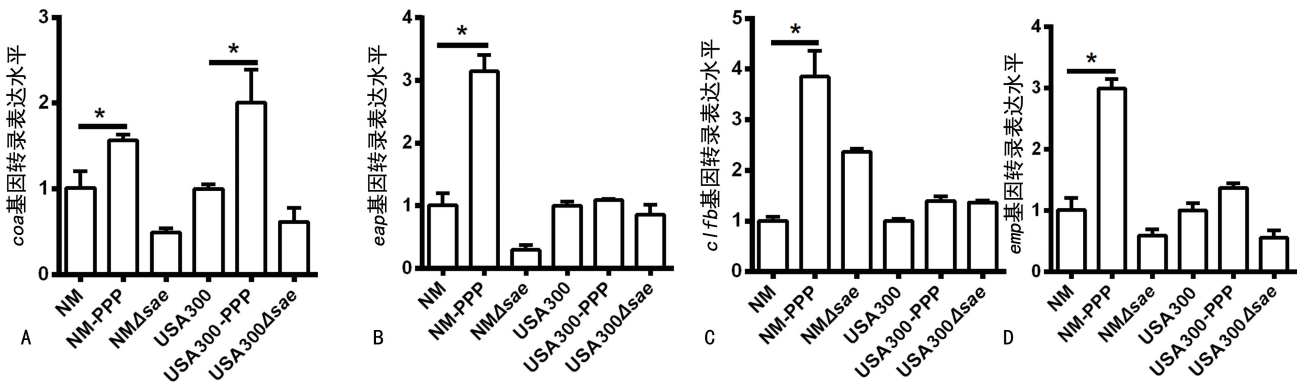
测 为了探讨在不同菌株中人血浆蛋白调控 SaeRS 系统的分子机制,本研究分别构建了 SaeRS 系统调控的靶基因 *coa* 和 *eap* 敲除菌株并检测其凝集活性,研究发现,PPP 可以促进 NMΔ*coa* 敲除菌株的凝集活性,但不能促进 USA300Δ*coa* 敲除菌株的凝集活性,PPP 仍然可以促进 NMΔ*eap* 和 USA300Δ*eap* 敲除菌株的凝集活性,见图 4A、4B。



注: A 为金黄色葡萄球菌(NM 和 USA300)*coa* 和 *eap* 敲除菌株在观察终点(2 h)的凝集结果, * $P < 0.05$; B 为金黄色葡萄球菌(NM 和 USA300) *coa* 敲除菌株的生物膜结果, * $P < 0.05$ 。

图 4 金黄色葡萄球菌 *coa* 和 *eap* 敲除菌株在人血浆蛋白中的凝集表型

2.4 金黄色葡萄球菌在人血浆蛋白作用时不同基因转录表达水平 USA300 菌株 SaeRS 可能通过调控靶基因 *coa* 的表达发挥功能,但是 NM 菌株中 SaeRS 靶基因 *coa* 和 *eap* 敲除后均不影响人血浆蛋白对细菌凝集表型的影响。为了进一步探讨人血浆蛋白调控细菌凝集的分子机制,本研究进一步检测了人血浆蛋白作用下 USA300 和 NM 菌株中 SaeRS 调控靶基因的表达水平,结果表明,USA300 菌株中人血浆蛋白明显促进 *coa* 基因的转录表达,而在 NM 菌株中人血浆蛋白作用下, SaeRS 调控的多个靶基因(*coa*、*eap*、*clfb*、*emp*)的转录表达水平均明显增强。见图 5。



注: * $P < 0.05$ 。

图 5 金黄色葡萄球菌在人血浆蛋白作用时不同基因转录表达水平

3 讨论

金黄色葡萄球菌可以利用宿主血浆蛋白促进自身凝集,本研究发现,人血浆蛋白可促进金黄色葡萄球菌不同来源的临床分离菌株的凝集及生物被膜形成,但是不同临床分离菌株对人血浆蛋白的效果不同。据报道,NM 菌株中 SaeRS L18P 点突变使其处于高度活化状态^[11-13]。本研究发现,人血浆蛋白促进 NM 菌株凝集活性最强,推测是否是因为 SaeRS 二元调控系统高度活化导致的这种现象,进一步分别以 USA300 和 NM 为背景构建 *sae* 敲除菌株发现,在 NM 和 USA300 菌株中引入 *sae* 基因突变后,对应的凝集效应和生物被膜形成能力均明显降低,提示 SaeRS 二元调控系统在人血浆蛋白促进细菌凝集和生物被膜形成过程中发挥重要作用。

据报道,金黄色葡萄球菌 SaeRS 调控系统的靶基因 *coa* 可促进细菌凝集^[14]。NM 菌株中三磷酸腺苷依赖蛋白酶 FtsH 通过促进 SaeRS 靶基因 *eap* 的高表达促进细菌凝集^[9]。本研究发现,SaeRS 二元调控系统在不同菌株中通过调控靶基因的转录表达,从而影响细菌凝集和生物被膜形成。在 USA300 菌株中人血浆蛋白主要通过调控 SaeRS 调控因子 *coa* 的表达促进细菌凝集,但在 NM 菌株中人血浆蛋白调控 SaeRS 下游 *eap* 的表达并不是促进细菌凝集的唯一机制,人血浆蛋白可能通过调控 SaeRS 下游多个靶基因的表达协同作用而促进细菌凝集。

细菌的凝集反应和生物被膜形成与金黄色葡萄球菌的致病性密切相关^[15-16],但 SaeRS 调控细菌生物被膜的分子机制尚有争议。PAHARIK 等^[17]研究发现,SaeRS 通过促进核酸酶表达降解细菌 DNA 抑制生物被膜形成。本研究通过对不同临床分离菌株研究发现,人血浆蛋白通过 SaeRS 二元调控系统调节细菌凝集和生物被膜形成。本研究利用人血浆蛋白成功建立了用于检测金黄色葡萄球菌的凝集活性和生物被膜形成的体系,具体通过检测 A 值及相应百分比进行量化。本研究分别采用两种不同的血浆蛋白进行作用,结果表明,人血浆蛋白促进金黄色葡萄球菌凝集发生和生物被膜的形成具有广谱性,并且与血浆

中血小板无关,提示主要是因为人纤维蛋白原在这个过程中发挥功能。进一步研究发现,由于 SaeRS 二元调控系统活性变化会导致人血浆蛋白调控机制发生改变。NM 菌株中 SaeS 的点突变导致 SaeRS 系统呈高活化状态时,人血浆蛋白调控机制发生变化,提示毒力调控蛋白单个氨基酸改变可以导致整个调控网络的变化。

据报道,凝固酶通过降解宿主纤维蛋白原转变为纤维蛋白促进细菌凝集和生物被膜形成^[18]。本研究发现,NM 菌株中 SaeRS 对 *coa* 的调控并不是其唯一的调控机制,一方面提示细菌中还有其他毒力因子参与宿主蛋白相互作用;另一方面提示宿主其他一些未知血浆蛋白也参与细菌的凝集过程。后期需要通过构建可能参与凝集的细菌毒力因子多敲除菌株进一步探寻细菌与宿主相互作用的主要分子,为治疗金黄色葡萄球菌感染提供新的药物靶标及理论依据。

参考文献

- [1] WALKER J N, CROSBY H A, SPAULDING A R, et al. The *Staphylococcus aureus* ArlRS two-component system is a novel regulator of agglutination and pathogenesis[J]. PLoS Pathog, 2013, 9(12): e1003819.
- [2] BAE I G, KIM J S, KIM S, et al. Genetic correlation of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from carriers and from patients with clinical infection in one region of Korea[J]. J Korean Med Sci, 2010, 25(2): 197-202.
- [3] BROWN S, SANTA MARIA J P, WALKER S. Wall teichoic acids of gram-positive bacteria[J]. Annu Rev Microbiol, 2013, 67(3): 313-336.
- [4] BUFFIE C G, BUCCI V, STEIN R R, et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*[J]. Nature, 2015, 517(7533): 205-208.
- [5] ADHIKARI R P, NOVICK R P. Regulatory organization of the *Staphylococcal sae* locus[J]. Microbiology (Reading), 2008, 154(3): 949-959.
- [6] SCHAFER D, LAM T T, GEIGER T, et al. A point mutation in the sensor histidine kinase SaeS(下转第 2829 页)

- 感染所致脓毒症患者病情严重程度的相关性分析[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27(6): 448-453.
- [42] 邹秀丽, 吴铁军, 崔玉静, 等. 降钙素原与不同菌种血流感染致脓毒症早期诊断价值的探讨[J]. 中华急诊医学杂志, 2017, 26(3): 297-301.
- [43] JAFARZADEH S R, THOMAS B S, WARREN D K, et al. Longitudinal study of the effects of bacteremia and sepsis on 5-year risk of cardiovascular events[J]. Clin Infect Dis, 2016, 63(4): 495-500.
- [44] LILLIE P J, ALLEN J, HALL C, et al. Long-term mortality following bloodstream infection[J]. Clin Microbiol Infect, 2013, 19(10): 955-960.
- [45] AL-HASAN M N, ECKEL-PASSOW J E, BADDOUR L M. Recurrent Gram-negative bloodstream infection; a 10-year population-based cohort study[J]. J Infect, 2010, 61(1): 28-33.
- [46] SHORR A F, MICEK S T, WELCH E C, et al. Inappropriate antibiotic therapy in Gram-negative sepsis increases hospital length of stay[J]. Crit Care Med, 2011, 39(1): 46-51.
- [47] GRADEL K O, JENSEN U S, SCHØNHEYDER H C, et al. Impact of appropriate empirical antibiotic treatment on recurrence and mortality in patients with bacteraemia; a population-based cohort study[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1): 122-128.
- [48] WACKER C, PRKNO A, BRUNKHORST F M, et al. of *Staphylococcus aureus* strain newman alters the response to biocide exposure[J]. J Bacteriol, 2009, 191(23): 7306-7314.
- [7] COOK L C, LASARRE B, FEDERLE M J. Interspecies communication among commensal and pathogenic streptococci[J]. MBio, 2013, 4(4): e00382-13.
- [8] ZAPOTOCZNA M, MCCARTHY H, RUDKIN J K, et al. An essential role for coagulase in *Staphylococcus aureus* biofilm development reveals new therapeutic possibilities for device-related infections[J]. J Infect Dis, 2015, 212(12): 1883-1893.
- [9] LIU Q, HU M, YEO W S, et al. Rewiring of the FtsH regulatory network by a single nucleotide change in *saeS* of *Staphylococcus aureus*[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 8456-8459.
- [10] MARIANI E, FILARDO G, CANELLA V, et al. Platelet-rich plasma affects bacterial growth in vitro[J]. Cytotherapy, 2014, 16(9): 1294-1304.
- [11] GEIGER T, GOERKE C, MAINIERO M, et al. The virulence regulator *Sae* of *Staphylococcus aureus*; promoter activities and response to phagocytosis-related signals[J]. J Bacteriol, 2008, 190(10): 3419-3428.
- [12] JEONG D W, CHO H, LEE H, et al. Identification of the P3 promoter and distinct roles of the two promoters of the *SaeRS* two-component system in *Staphylococcus aureus*[J]. J Bacteriol, 2011, 193(18): 4672-4684.
- [13] MAINIERO M, GOERKE C, GEIGER T, et al. Differential target gene activation by the *Staphylococcus aureus* two-component system *saeRS*[J]. J Bacteriol, 2010, 192(3): 613-623.
- [14] MCADOW M, KIM H K, DEDENT A C, et al. Preventing *Staphylococcus aureus* sepsis through the inhibition of its agglutination in blood[J]. PLoS Pathog, 2011, 7(10): e1002307.
- [15] DASTGHEYB S, PARVIZI J, SHAPIRO I M, et al. Effect of biofilms on recalcitrance of *Staphylococcal* joint infection to antibiotic treatment[J]. J Infect Dis, 2015, 211(4): 641-650.
- [16] SPEZIALE P, PIETROCOLA G, FOSTER T J, et al. Protein-based biofilm matrices in *Staphylococci*[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2014, 4(1): 171-179.
- [17] PAHARIK A E, HORSWILL A R. The *Staphylococcal* biofilm; adhesins, regulation, and host response[J]. Microbiol Spectr, 2016, 4(2): 10-18.
- [18] CROSBY H A, KWIECINSKI J, HORSWILL A R, et al. *Staphylococcus aureus* aggregation and coagulation mechanisms, and their function in host-pathogen interactions[J]. Adv Appl Microbiol, 2016, 96: 1-41.

(收稿日期: 2021-05-22 修回日期: 2021-09-27)

(收稿日期: 2021-04-18 修回日期: 2021-09-27)