

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.17.006

ica 操纵子对表皮葡萄球菌在不同骨科植入物表面黏附和生物膜形成的影响*

陈鹏¹,李波¹,彭智¹,高淦¹,陈盛^{2△}

(1.贵州省人民医院骨科,贵阳 550002;2.陆军军医大学西南医院儿科,重庆 400038)

[摘要] **目的** 探讨 ica 操纵子对表皮葡萄球菌在骨科植入物表面黏附和生物膜形成能力的影响,为临床骨科材料的使用提供理论依据。**方法** 采用 PCR 扩增表皮葡萄球菌 ica 操纵子的 icaADBC 基因,荧光定量 PCR 检测 ica 操纵子基因的表达,苯酚-硫酸法检测细胞间多糖黏附素(PIA)的合成,黏附能力检测采用菌落平板计数法,生物膜形成能力检测采用结晶紫染色法。**结果** 11 株表皮葡萄球菌临床菌株扩增出 ica 操纵子的 icaADBC 基因,且在菌株中均有表达。ica 操纵子基因表达高的菌株其 PIA 分泌量较高。表皮葡萄球菌在骨组织上的黏附和生物膜形成能力最强,其次为钛合金和不锈钢。icaA 基因表达与细菌在 3 种生物材料上的生物膜形成相关。**结论** 表皮葡萄球菌在不同骨科植入物上具有不同的黏附和生物膜形成能力,ica 操纵子基因通过调节 PIA 分泌量而影响表皮葡萄球菌生物膜的形成。

[关键词] 表皮葡萄球菌;ica 操纵子基因;植入材料;细胞黏附;生物膜**[中图分类号]** R318.08 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)17-2275-04Effect of ica operator on adherence and biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* at orthopedic implantsCHEN Peng¹, LI Bo¹, PENG Zhi¹, GAO Gan¹, CHEN Sheng^{2△}

(1. Department of Orthopaedics, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550002, China; 2. Department of Pediatric, Southwest Hospital, Army Medical University, Chongqing 400038, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of ica operon on adherence and biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*(S. epidermidis)at orthopedic implants,and to provide theoretical basis for the use of clinical orthopedic materials. **Methods** The icaADBC genes of S. epidermidis were amplified by PCR. The expression of ica genes was detected by fluorescence quantitative PCR. The contents of polysaccharide intercellular adhesion (PIA) were determined by phenol-sulfuric acid method. The ability of bacterial adherence was detected by colony counting method and the ability of biofilm formation was measured by crystal violet staining method. **Results** The icaADBC genes were presented and expressed in eleven S. epidermidis strains. The strains with high icaADBC gene expression had higher PIA product. S. epidermidis isolates had the strongest adherence and biofilm formation ability on bone material, followed by titanium and stainless steel. The expression of icaA gene correlated with the biofilm formation of bacteria on three biomaterials. **Conclusion** S. epidermidis isolates had the different adherence and biofilm formation on different biomaterial implants. Ica gene regulates the biofilm formation of S. epidermidis by regulating the expression of PIA.

[Key words] staphylococcus epidermidis;ica gene;prostheses and implants;cell adhesion;biofilms

骨科植入物感染的发生率虽然较低,但是感染易依附植入材料形成生物膜,使感染迁延难愈导致感染治疗的失败^[1-2]。表皮葡萄球菌是骨科植入物感染的最常见病原菌^[3],其黏附和生物膜形成能力是致病能力的重要因素,将直接影响到治疗结果。而 ica 操纵子合成的胞间多糖黏附素(polysaccharide intercellu-

lar adhesion,PIA)是其黏附和生物膜形成的关键因素。有研究表明 ica 操纵子对细菌的黏附和生物膜形成能力均具有重要影响^[4-5],但目前尚未见有对骨科植入物及其黏附能力及生物膜形成能力的报道,据此本研究拟以临床分离株为研究对象,探讨 ica 操纵子基因表达对细菌在不同骨科植入物表面黏附和生物

膜形成的影响。

1 材料与方法

1.1 菌株来源和材料 17 株表皮葡萄球菌中 7 株来源于贵州省人民医院的植入物感染分离株,10 株来源于陆军军医大学西南医院骨科植入物感染分离株。骨组织、钛合金和不锈钢生物材料被切割成直径为 10 mm,厚度为 2 mm 的圆盘形状。骨组织材料采用新西兰白兔的脊椎骨,用蒸馏水冲洗去除骨髓内容物,然后在室温用含 0.1% 乙二胺四乙酸(EDTA)的 1×磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,70%乙醇和紫外线灭菌处理后在 DMEM 培养基上进行无菌检查,孵育 2 周以排除培养基中的任何其他细菌生长。

1.2 试剂和仪器 血琼脂平板购自重庆庞通公司,胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)培养基购自英国 Oxoid 公司,结晶紫购自美国 Sigma 公司,DNA、RNA 提取试剂盒和琼脂糖购自北京天根生物科技有限公司,2×Es Taq MasterMix 购自北京康为世纪生物科技有限公司,反转录试剂盒和 SYBR Green MasterMix 购自上海海洋生物科技有限公司,三通道 Flowcell 购自美国 IBI Scientific 公司,酶标仪购自美国 MD 公司,PCR 扩增仪、电泳仪及凝胶成像系统购自美国 Bio-Rad 公司,ica A、D、B、C 基因引物^[6]由美国 Invitrogen 公司合成。

1.3 方法

1.3.1 表皮葡萄球菌 ica 操纵子的基因检测 表皮葡萄球菌划线接种于血琼脂平板,37 °C 恒温培养过夜。从平板上挑取一个单菌落于 10 mL TSB 培养基中,37 °C、180 r/min 振荡培养 24 h。细菌 DNA 提取按照 DNA 提取纯化试剂盒说明书进行。20 μL PCR 反应体系:2×Es Taq MasterMix 10.0 μL,DNA 0.4 μL,上、下游引物各 0.3 μL,ddH₂O 9.0 μL。扩增反应条件:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s,57 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,30 个循环;最后 72 °C 延伸 10 min。扩增完毕,取 10 μL PCR 反应产物电泳,然后用凝胶成像系统观察结果。

1.3.2 表皮葡萄球菌 icaADBC 操纵子基因表达分析 采用荧光定量 PCR 检测表皮葡萄球菌 icaADBC 基因表达情况。采用 Trizol 试剂提取细菌总 RNA,并用紫外分光光度计测定 RNA 浓度。cDNA 合成按照反转录试剂盒说明书进行。PCR 反应体系(20 μL):2×SYBR Green 10.0 μL,cDNA 2.0 μL,上、下游引物各 0.3 μL,ddH₂O 7.4 μL。扩增条件:首先 94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s,57 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,共 40 个循环。扩增反应完毕后以 16S rRNA 作为内参、标准菌株 ATCC35984 作为对照进行分析。所有实验均重复 3 次。

1.3.3 表皮葡萄球菌 PIA 水平测定 PIA 水平检测采用苯酚-硫酸法^[7]。按 1% 接种量将表皮葡萄球菌

过夜培养物转种于 100 mL TSB 培养基中,37 °C、150 r/min 条件下振荡培养 8 h。4 °C、4 000 r/min 条件下将菌液离心 15 min 并弃掉上清液。用蒸馏水重悬菌体,加入 37% 甲醛 300 μL,4 °C 保存 3 h。然后加入 1 mol/L NaOH 20 mL,4 °C 再次保存 3 h。4 °C、12 000 r/min 离心 20 min,吸除上清液,留取沉淀待查。首先用标准葡萄糖溶液作为底物制作标准曲线,然后将待测沉淀稀释后按同样的方法进行显色,酶标仪 490 nm 处测定光密度(OD)值并根据标准曲线计算出相应的 PIA 水平。

1.3.4 表皮葡萄球菌对不同生物材料的黏附能力分析 采用菌落平板计数法检测表皮葡萄球菌的黏附能力^[8]。取表皮葡萄球菌过夜培养物 100 μL 转种于 10 mL TSB 肉汤中,37 °C、180 r/min 恒温振荡培养 24 h。然后将菌液用 TSB 培养基调整至 1×10⁷ CFU/mL。将 3 种无菌的生物材料圆盘放入 Flowcell 孔道,每个孔道中加入 200 μL 菌液,共 3 个通道,静置培养 1 h。上游储液瓶中加入 TSB 培养基,使培养基充满整个流动管,待静置完毕后,启动 Flowcell 蠕动泵,4.2 mL/h 流速,37 °C 培养 4 h。培养完毕,取出生物材料放入无菌的 24 孔板中,加入 1 mL PBS 轻柔冲洗 2 次。然后再加入 PBS 超声处理 5 min,使黏附的细胞脱落。最后按 10 倍稀释法将细胞悬浮液稀释至合适的倍数后,取 100 μL 菌液涂布于 TSB 固体培养基,37 °C 培养 24 h 后计数。每个样本设置 3 个平行组,实验重复 3 次。

1.3.5 表皮葡萄球菌对不同生物材料的生物膜形成能力分析 取表皮葡萄球菌过夜培养物 100 μL 转种于 10 mL TSB 肉汤中,37 °C、180 r/min 恒温振荡培养 24 h。然后将菌液用 TSB 培养基调整至 1×10⁷ CFU/mL。Flowcell 每个孔道中加入 200 μL 菌液,共 3 个通道,静置培养 1 h。上游储液瓶中加入 TSB 培养基,使培养基充满整个流动管,待静置完毕后,启动 Flowcell 蠕动泵,4.2 mL/h 流速,37 °C 培养 24 h。培养完毕,取出生物材料放入无菌的 24 孔板中,每孔加入 1 mL PBS 轻柔冲洗 2 次后,在通风阴凉处风干。然后每孔加入 1 mL 1% 结晶紫溶液进行染色,自来水冲洗干净后,于通风阴凉处再次风干。最后每孔加入 30% 冰乙酸 500 μL 进行溶解,取 100 μL 在酶标仪 590 nm 处测定 OD 值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件对实验数据进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。表皮葡萄球菌 icaA 基因表达与不同生物材料上生物膜形成能力之间的相关性采用 Spearman 相关系数分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 表皮葡萄球菌 ica 操纵子的基因检测 17 株表皮葡萄球菌临床菌株中,SE157、SE159、SE160、

SE162、SE164、SE165、SE166、SE167、SE169、SE171、SE172 共 11 株菌株携带 *icaADBC* 4 种基因,其他 6 株扩增结果为阴性。

2.2 表皮葡萄球菌 *ica* 操纵子基因表达分析 11 株 *ica* 操纵子基因阳性菌株的基因表达情况如图 1 所示。所有临床菌株 *icaADBC* 4 种基因均有不同程度的表达,且其基因表达均高于标准菌株 ATCC35984。

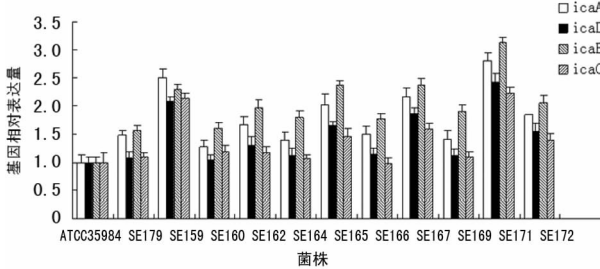


图 1 表皮葡萄球菌 *icaADBC* 操纵子基因表达

2.3 表皮葡萄球菌 PIA 水平测定 *ica* 操纵子基因阳性菌株 PIA 水平测定结果如图 2 所示。所有临床菌株 PIA 表达水平均大于标准菌株 ATCC35984,且 *ica* 操纵子基因表达水平高的菌株其 PIA 表达水平也高,即 PIA 表达水平与 *ica* 操纵子基因表达水平一致。

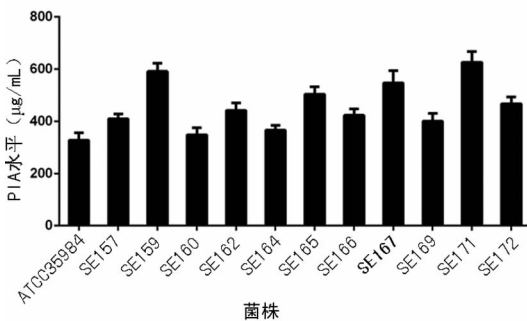


图 2 表皮葡萄球菌 PIA 水平测定

2.4 表皮葡萄球菌对不同生物材料的黏附能力分析 表皮葡萄球菌在不同生物材料上的黏附能力见表 1。结果显示,表皮葡萄球菌菌株对骨组织的黏附能力最强,对钛合金的黏附能力大于不锈钢金属材料。此外,17 株临床菌株对 3 种生物材料的黏附能力均大于标准菌株 ATCC35984。

表 1 表皮葡萄球菌在不同生物材料上的黏附能力 ($\bar{x} \pm s$, CFU/mL)

菌株	不锈钢	钛合金	骨组织
SE156	281.38 ± 36.46	368.31 ± 45.37	696.79 ± 65.46
SE157	588.67 ± 50.91	737.02 ± 53.04	1 359.12 ± 54.65
SE158	473.37 ± 60.94	533.38 ± 48.97	1 085.59 ± 50.59
SE159	848.44 ± 45.98	910.52 ± 69.35	799.33 ± 586.13
SE160	434.51 ± 52.54	545.35 ± 35.76	1 105.19 ± 74.71
SE161	592.19 ± 66.00	620.44 ± 41.38	1 390.14 ± 71.79
SE162	340.77 ± 57.58	462.96 ± 70.55	1 110.96 ± 85.09
SE163	514.01 ± 73.75	625.75 ± 42.01	1 311.96 ± 69.41
SE164	575.45 ± 61.67	632.74 ± 39.20	1 498.49 ± 75.59

续表 1 表皮葡萄球菌在不同生物材料上的黏附能力 ($\bar{x} \pm s$, CFU/mL)

菌株	不锈钢	钛合金	骨组织
SE165	754.58 ± 42.21	942.09 ± 52.25	1 910.55 ± 65.59
SE166	275.15 ± 57.51	378.41 ± 54.15	837.75 ± 54.80
SE167	530.79 ± 68.08	610.48 ± 57.88	1 418.17 ± 54.83
SE168	384.79 ± 61.75	349.41 ± 35.10	892.02 ± 71.01
SE169	561.19 ± 81.75	626.55 ± 42.70	1 302.58 ± 56.08
SE170	354.36 ± 51.08	458.50 ± 51.83	926.84 ± 69.08
SE171	758.31 ± 45.18	765.35 ± 40.08	1 633.87 ± 64.07
SE172	666.69 ± 36.73	732.24 ± 42.22	1 410.89 ± 50.86
ATCC35984	206.92 ± 47.94	290.49 ± 44.50	638.54 ± 53.83

2.5 表皮葡萄球菌对不同生物材料的生物膜形成能力分析 所有表皮葡萄球菌菌株在骨组织上的生物膜形成能力最强,且在钛合金上的生物膜形成能力高于不锈钢。此外,所有临床菌株的生物膜形成能力均高于标准菌株 ATCC35984,见图 3。

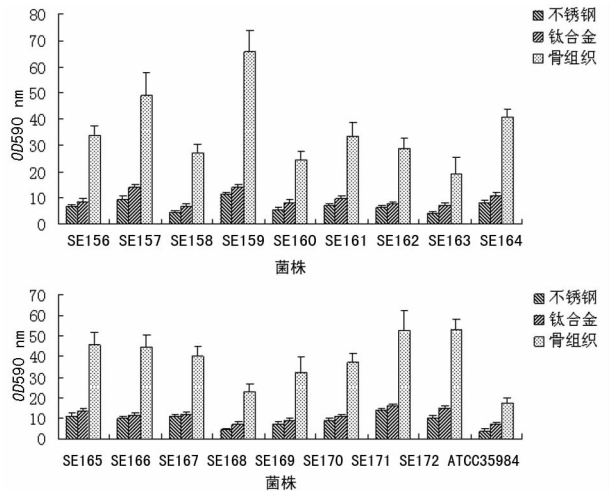


图 3 表皮葡萄球菌在不同生物材料的生物膜形成能力

2.6 表皮葡萄球菌 *icaA* 基因表达与生物膜形成能力的相关性分析 通过 Spearman 相关系数分析 *icaA* 基因表达与细菌生物膜的相关性,结果显示,11 株 *icaA* 阳性菌株基因表达与其在不锈钢、钛合金及骨组织上的生物膜形成之间存在正相关关系 ($r=0.891$ 、 0.700 、 0.627 , $P=0.000$ 、 0.016 、 0.039)。

3 讨论

表皮葡萄球菌是细菌生物膜感染的最常见菌株之一,是骨科移植物和导管感染中首要病原菌^[9-10]。生物膜主要由细菌和自身分泌的胞外基质构成,而胞外基质包括胞外多糖、各种蛋白等^[11]。PIA 是表皮葡萄球菌生物膜形成聚集阶段最重要的物质基础^[12]。表皮葡萄球菌 *ica* 操纵子基因座包括调节基因 *icaR* 及串联存在的 *icaA*、*icaD*、*icaB* 和 *icaC* 4 个基因。*icaA*、*icaD*、*icaB*、*icaC* 基因构成一个操纵子,共同完成 PIA 的合成,因此可以通过检测 *icaA*、*icaD*、*icaB*、*icaC*

基因来反映 *ica* 操纵子的存在^[13]。本研究分别扩增 *icaA*、*icaD*、*icaB*、*icaC* 操纵子中的 4 个基因发现该操纵子无单个基因缺失的情况存在,与国外报道一致^[14]。有研究表明血液、导管、人工关节分离的表皮葡萄球菌中 *ica* 操纵子检出率明显高于正常皮肤黏膜来源的菌株^[15-16]。本研究中有 11 株(73%)*ica* 操纵子表达阳性,高于文献报道的 16.5%~53.4%^[17-18],笔者认为这种差异可能是病原菌来源不同导致的,由于本研究的菌株均来源于骨科生物材料相关感染且药物治疗失败的患者,该类菌可能具有较强的生物膜形成能力,因此具有较高的 *ica* 操纵子携带比例。此外,本研究中并未发现携带 *ica* 操纵子基因但是并不表达 PIA 的菌株,且 *ica* 操纵子基因表达高的菌株其 PIA 表达水平也较高,表明 *ica* 操纵子基因的转录表达水平与 PIA 的表达水平密切相关,*ica* 操纵子基因通过调节 PIA 表达水平来影响细菌生物膜的形成。表皮葡萄球菌生物膜形成的调节机制包括 *icaADBC* 依赖和非 *icaADBC* 依赖两种途径。本研究中 *ica* 操纵子基因的表达与细菌在 3 种材料上生物膜形成能力相关,但是并非 *icaA* 高表达的菌株就有较强的生物膜形成能力,提示 *ica* 操纵子在细菌生物膜形成过程中具有重要作用,但不是惟一因素,可能还有其他基因及其产物对生物膜形成和 PIA 合成有重要作用。

本研究对临床分离表皮葡萄球菌黏附和生物膜的观察采用了“流室法”(Flowcell),该方法具有可连续观察细菌生物膜形成过程的优点,且在流动的液体培养基的冲刷作用下,因沉积附于生物膜的细菌会被培养基带走,而避免了浮游菌大量沉积对生物膜形成的影响,同时避免了细菌沉积生物膜表面导致对生物膜形成检测结果的影响^[19]。本研究中同组别细菌生物膜形成差异较小,表明 Flowcell 研究生物膜形成的方法具有结果稳定可靠的特点,因此在国外应用极其广泛,但国内配套仪器不足和配套耗材较贵,在国内研究报道较少。

研究发现与标准菌株 ATCC35984 比较,骨科植入物相关感染表皮葡萄球菌具有较强的黏附和生物膜形成能力,尤其对骨组织具有较强的黏附和生物膜形成能力,对钛的黏附和生物膜形成能力均强于不锈钢,与文献^[20-21]报道一致。骨组织在处理后的粗糙并存在小孔,可能是导致表皮葡萄球菌易于黏附的主要原因。但是在体内由于免疫细胞和免疫分子可在骨组织中分布,因此体内外的结果可能会有不同,本研究为临床骨科材料的使用提供了理论依据。

参考文献

[1] JORDAN R P, MARSH L, AYRE W N, et al. An assess-

ment of early colonisation of implant-abutment metal surfaces by single species and co-cultured bacterial periodontal pathogens[J]. *J Dent*, 2016, 53: 64-72.

- [2] PHILLIPS C B, BARRETT J A, LOSINA E, et al. Incidence rates of dislocation, pulmonary embolism, and deep infection during the first six months after elective total hip replacement[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2003, 85-A(1): 20-26.
- [3] HAMAD T, HELLMARK B, NILSDOTTER-AUGUSTINSSON A, et al. Antibiotic susceptibility among *Staphylococcus epidermidis* isolated from prosthetic joint infections, with focus on doxycycline[J]. *APMIS*, 2015, 123(12): 1055-1060.
- [4] FLUCKIGER U, ULRICH M, STEINHUBER A, et al. Biofilm formation, *icaADBC* transcription, and polysaccharide intercellular adhesin synthesis by staphylococci in a device-related infection model[J]. *Infect Immun*, 2005, 73(3): 1811-1819.
- [5] WU Y, WANG J X, XU T, et al. The two-component signal transduction system *ArlRS* regulates *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation in an *ica*-dependent manner[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40041.
- [6] ARCIOLA C R, GAMBERINI S, CAMPOCCIA D, et al. A multiplex PCR method for the detection of all five individual genes of *ica* locus in *Staphylococcus epidermidis*. A survey on 400 clinical isolates from prosthesis-associated infections[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2005, 75(2): 408-413.
- [7] 孙凤军, 冯伟, 刘耀, 等. 亚抑菌浓度头孢他啶对大肠埃希菌胞外多糖和 *pga* 基因的影响[J]. *解放军药学学报*, 2016, 32(6): 494-496.
- [8] 孙凤军, 洪海, 冯伟, 等. 尿路感染分离金黄色葡萄球菌生物膜形成能力及相关基因的分析[J]. *重庆医学*, 2016, 45(19): 2617-2619.
- [9] CAMPOCCIA D, MONTANARO L, ARCIOLA C R. A review of the clinical implications of anti-infective biomaterials and infection-resistant surfaces[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(33): 8018-8029.
- [10] WILKINS M, HALL-STOODLEY L, ALLAN R N, et al. New approaches to the treatment of biofilm-related infections[J]. *J Infect*, 2014, 69(Suppl 1): S47-52.
- [11] LIMOLI D H, JONES C J, WOZNIAK D J. Bacterial extracellular polysaccharides in biofilm formation and function[J]. *Microbiol Spectr*, 2015, 3(3): 1-30.
- [12] STEWART E J, GANESAN M, YOUNGER J G, et al. Artificial biofilms establish the role of matrix interactions in staphylococcal biofilm assembly and disassembly[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 13081.
- [13] WU Y, LIU J, JIANG J, et al. Role of the two-component regulatory system *arlRS* in *ica* operon and *aap* positive but non-biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis* isolates from hospitalized patients[J]. *Microb Pathog*, 2014, 76: 89-98.

(下转第 2282 页)

- 2017,8(21):34258-34267.
- [3] POHL R, HABERL E M, REIN-FISCHBOECK L, et al. Hepatic chemerin mRNA expression is reduced in human nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Eur J Clin Invest*, 2017, 47(1):7-18.
- [4] HORN P, METZING U B, STEIDL R, et al. Chemerin in peritoneal sepsis and its associations with glucose metabolism and prognosis: a translational cross-sectional study [J]. *Critical Care*, 2016, 20(1):39.
- [5] WENG C Y, SHEN Z J, LI X B, et al. Effects of chemerin/CMKLR1 in obesity-induced hypertension and potential mechanism[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(6):3096-3104.
- [6] LOPEZ-GUADAMILLAS E, MUÑOZMARTIN M, MARTINEZ S, et al. PI3K α inhibition reduces obesity in mice[J]. *Aging (Albany NY)*, 2016, 8(11):2747-2753.
- [7] LI X F, WU Y K, ZHANG W F, et al. Pre-conditioning with tanshinone II A attenuates the ischemia/reperfusion injury caused by liver grafts via regulation of HMGB1 in rat Kupffer cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89:1392-1400.
- [8] VISSER J G, SMITH C. Development of a transendothelial shuttle by macrophage modification[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017(14):1889-1898.
- [9] ZHANG W F, WU Y K, MU D, et al. Kupffer cells: increasingly significant role in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Ann Hepatol*, 2014, 13(5):489-495.
- [10] RANGWALA F, GUY C D, LU J Y, et al. Increased pro-duction of sonic hedgehog by ballooned hepatocytes[J]. *J Pathol*, 2011, 224(3):401-410.
- [11] GRUBEN N, APARICIO V M, KLOOSTERHUIS N J, et al. Chemokine-like receptor 1 deficiency does not affect the development of insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in mice [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e96345.
- [12] ZHOU D X, HUANG C, LIN Z, et al. Macrophage polarization and function with emphasis on the evolving roles of coordinated regulation of cellular signaling pathways[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(2):192-197.
- [13] BILANCIO A, RINALDI B, OLIVIERO M A, et al. Inhibition of p110 δ PI3K prevents inflammatory response and restenosis after artery injury[J]. *Biosci Rep*, 2017, 37(5):bsr2017112.
- [14] HE K, ZHU X, LIU Y, et al. Inhibition of NLRP3 inflammasome by thioredoxin-interacting protein in mouse Kupffer cells as a regulatory mechanism for non-alcoholic fatty liver disease development [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(23):37657-37672.
- [15] BONDUE B, HENAU O D, LUANGSAY S, et al. The chemerin/ChemR23 System does not affect the pro-inflammatory response of mouse and human macrophages ex vivo[J]. *Plos One*, 2012, 7(6):e40043.

(收稿日期:2017-12-21 修回日期:2018-02-27)

(上接第 2278 页)

- [14] ARGUDIN M A, VANDERHAEGHEN W, VANDEN-DRIESSCHE S, et al. Biofilm formation of ica operon-positive *Staphylococcus epidermidis* from different sources[J]. *APMIS*, 2015, 123(12):1081-1089.
- [15] MERTENS A, GHEBREMEDHIN B. Genetic determinants and biofilm formation of clinical *Staphylococcus epidermidis* isolates from blood cultures and indwelling devices[J]. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*, 2013, 3(2):111-119.
- [16] CHO S H, NABER K, HACKER J, et al. Detection of the icaADBC gene cluster and biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* isolates from catheter-related urinary tract infections [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2002, 19(6):570-575.
- [17] TANG Q, YUAN B, HUANG Y, et al. [Biofilm and role of icaA, icaD, and accumulation-associated protein in *Staphylococcus epidermidis* isolated in breast surgery] [J]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2014, 28(2):244-249.
- [18] JUAREZ-VERDAYES M A, RAMON-PEREZ M L, FLORES-PAEZ L A, et al. *Staphylococcus epidermidis* with the icaA⁻/icaD⁻/IS256⁻ genotype and protein or protein/extracellular DNA biofilm is frequent in ocular infections[J]. *J Med Microbiol*, 2013, 62(Pt 10):1579-1587.
- [19] PAPANITRIOU-OLIVGERI I, GIORMEZIS N, PAPANITRIOU-OLIVGERIS M, et al. Number of positive blood cultures, biofilm formation, and adhesin genes in differentiating true coagulase-negative staphylococci bacteremia from contamination[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2016, 35(1):57-66.
- [20] RIOOL M, DE BOER L, JASPERS V, et al. *Staphylococcus epidermidis* originating from Titanium implants infects surrounding tissue and immune cells [J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(12):5202-5212.
- [21] PEREZ-TANOIRA R M, HYYRYNEN T. Effect of S53P4 bone substitute on staphylococcal adhesion and biofilm formation on other implant materials in normal and hypoxic conditions[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2015, 26(9):239.

(收稿日期:2017-12-21 修回日期:2018-02-23)