

葡萄球菌生物膜形成机制与 *ica* 之间的关系

唐俊妮^{1,2} 周 锐² 王红宁^{1*} 史贤明³ 陈焕春²

(1. 四川大学生命科学学院动物疾病防控生物工程研究中心 成都 610065)

(2. 华中农业大学农业微生物国家重点实验室 武汉 430070)

(3. 上海交通大学食品科学与工程系陆伯勋食品安全研究中心 上海 200240)

摘 要: *ica* 位点编码的胞外多糖(PIA/PNAG)对理解葡萄球菌生物膜相关感染病理学方面具有重要的意义。关于 *ica* 位点与 PIA/PNAG 之间如何调节的研究还不全面, 另外一种独立于 *ica* 的生物膜形成机制存在于表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌中; 细胞表面相关蛋白也能调节生物膜的形成, 这些发现为探究它们在生物膜形成机制的潜在作用提供了重要基础。

关键词: 葡萄球菌, 生物膜, 形成机制, PIA/PNAG, *ica*

The Relationship Between Staphylococcal Biofilm Formation Mechanism and *ica* locus

TANG Jun-Ni^{1,2} ZHOU Rui² WANG Hong-Ning^{1*} SHI Xian-Ming³ CHEN Huan-Chun²

(1. Bioengineering Research Center for Animal Disease Prevention and Control,
School of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610065)

(2. State Key Laboratory of Agricultural Microbiology and College of Veterinary Medicine,
Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

(3. Department of Food Science and Technology and Bor Luh Food Safety Center,
Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240)

Abstract: The role of the *ica* locus-encoded polysaccharide intercellular adhesin (PIA/PNAG) has contributed a lot to the pathogenesis of device-related infections of staphylococcal biofilm. Understanding of how the *ica* locus and PIA/PNAG biosynthesis are regulated is not enough. Another biofilm formation mechanism of *ica*-independent in both *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* exists. The cell surface associated proteins are capable of mediating biofilm formation. Future research about their potential role in biofilm development will be very important.

Keywords: *Staphylococcus*, Biofilm, Formation mechanisms, PIA/PNAG, *ica*

细菌生物膜是一种重要的毒力因子, 在慢性感染中占有非常重要的作用, 大多数医院病人体内都有植入外来装置的经历, 导致医院获得性耐药细菌进入体内, 引发潜在的疾病和炎症。金黄色葡萄球

菌和表皮葡萄球菌能够形成生物膜, 所以, 对它们生物膜形成机制的研究具有重要意义^[1]。葡萄球菌生物膜形成机制与 *ica* 相关, 但也有独立于 *ica* 之外的机制出现, 金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌生物

膜形成与调控方面也具有明显差异。本文通过近期最新研究进展分别对葡萄球菌生物膜形成不同机制以及它们与*ica*之间的关系进行详细综述,为进一步探究葡萄球菌生物膜的形成与调控以及由装置引起相关感染的治疗和生物膜的消除打下基础。

1 *ica* 与生物膜的形成

*ica*操纵子编码的胞外粘附多糖(PIA/PNAG)是理解生物膜形成机制的最好桥梁。*ica*最初是应用转座子突变技术在表皮葡萄球菌生物膜形成缺陷菌株中分离得到的,随后通过对*ica*位点的研究表明它与表皮葡萄球菌生物膜形成有关^[2]。表皮葡萄球菌的*ica*基因群在装置相关的感染病理学中占有重要作用。最近,体外研究提供的证据表明PIA/PNAG是表皮葡萄球菌逃逸免疫攻击和毒力所必需的^[3]。虽然大多数临床分离的金黄色葡萄球菌都含有*ica*操纵子,但是,在体外条件下,*ica*操纵子的表达以及生物膜的产生是受调控限制的^[4],在体内感染的环境中,*ica*操纵子的表达明显受到上调。*icaA*编码一种转膜蛋白,生物膜的形成要求*icaD*编码的产物具有最佳活性,当*icaAD*与*icaC*共表达时,*icaAD*产生的N-乙酰葡萄糖胺寡聚物可达到20个残基的最大长度,*icaC*编码一种未被确定的膜蛋白质,可以合成一条更长的寡聚链^[5],*IcaC*很可能涉及到把不断合成的多糖物质转运至细胞的表面,而*IcaB*负责脱去多聚-N-乙酰葡聚糖胺分子的乙酰基,在*icaB*等位基因突变株中,未脱乙酰基的多聚-N-乙酰葡聚糖胺分子不能附着到细菌细胞表面介导生物膜的形成^[3]。表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌的*icaR*位于*icaADBC*操纵子的上游区域,是tetR家族转录调节因子的一员,*icaR*编码一种转录阻遏物,当表皮葡萄球菌受环境因素影响时,这种转录阻遏物对调节*ica*操纵子的表达起着中心作用。例如,加入NaCl或乙醇到培养基中改变了细菌的生长环境时,发现*ica*操纵子的激活是通过一个依赖*icaR*的分支调节通路完成的^[6],利用DNA酶I印迹分析法,Jefferson等证明金黄色葡萄球菌纯化的*IcaR*蛋白质能接近*icaA*起始密码子,从而结合到*ica*操纵子的启动子区域,应用DNA亲和层析已经分离到与*ica*启动子区域相结合的蛋白质,Jefferson等也识别到*TcaR*蛋白可作为*ica*操纵子转录的一个弱阻遏物,仅*icaR*的缺失对PIA/PNAG产生或生物膜形成不会

引起任何改变,如果同时缺失*tcaR*和*icaR*基因,就能发现它们对一些表型的影响具有协同效应^[7]。除了*IcaR*和*TcaR*,插入序列元件IS256对表皮葡萄球菌生物膜形成也会起到负面的调控作用。Ziebuhr等首次证明了IS256序列能可逆地整合到*ica*基因座中,导致生物膜从阳性表型转变成为阴性表型^[8]。随后的研究又证明,把IS256序列插入到*sigB*操纵子的编码基因*rsbU*或*sarA*上均可导致*ica*操纵子表达的消失,且与生物膜形成表型的转变相关^[9]。很显然,全面调节子中,IS256引起的突变将会影响葡萄球菌的多种性状,表明IS256这个基因元件可在对具体的外部环境信号做出快速反应过程中发挥着更为广泛的作用。

2 调节蛋白与*ica*的关系及对生物膜的影响

细菌生物膜的一个重要功能就是利用群体感应系统彼此传递信息。葡萄球菌最重要和最显著的群体感应系统是*agr*,它不影响*ica*的表达和PIA/PNAG的产生。第二个群体感应系统是LuxS,被认为是表皮葡萄球菌生物膜形成过程中的负调节子,*luxS*基因是合成AI-2(自我诱导分子)所必需的,它的突变可正调控*ica*操纵子的表达、PIA/PNAG产生以及生物膜形成。全面效应调节蛋白*sigB*和*RsbU*(*sigB*的激活调节物)控制表皮葡萄球菌生物膜形成,而不能控制金黄色葡萄球菌生物膜形成^[10]。*sigB*控制表皮葡萄球菌*ica*操纵子的表达是通过一个未识别的中间调节产物来抑制*icaR*的转录。表皮葡萄球菌*rsbU*基因的突变株,NaCl诱导时生物膜会削弱,而乙醇介导时生物膜的活性却不受影响,表明控制生物膜的形成可能存在两种调控途径,这与乙醇介导的*icaR*抑制不依赖于*sigB*的事实相符合^[11]。表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌*sigB*对*ica*操纵子表达的不同影响至少可部分地解释,这两个种的生物膜形成存在调控方面的差异。*sigB*似乎在保持表皮葡萄球菌生物膜长期稳定上也具有重要的意义。此外,金黄色葡萄球菌的Spx蛋白可直接与RNA聚合酶的一个亚单位相互作用来调节*icaR*转录的起始,同时,也有利于增强细菌抗逆性和生物膜的调控。具体地说,Spx蛋白可激活*icaR*的转录,从而导致*ica*操纵子表达降低,Spx蛋白通常是由ClpXP蛋白酶进行降解的,*clpX*的突变使生物膜形成受到削弱,

然而, ClpP蛋白的缺失可增强生物膜的形成^[12]。金黄色葡萄球菌的 *sarA* 基因是 *ica* 操纵子转录、PIA/PNAG产生和生物膜形成所必需的, *SarA*是多种毒力因子的一个主要全面调节子, 应用基因芯片分析表明, 这种蛋白质至少能影响金黄色葡萄球菌120个基因的转录^[13]。鉴于*SarA*蛋白能调节*agr*, *agr*的突变对生物膜形成的影响也能得到验证, 与野生型菌株相比, *agr*突变株与野生菌株具有相似的生物膜形成能力, 说明*SarA*蛋白通过不依赖*agr*的途径来影响和调节生物膜的形成^[14,10], *sigB*可调节*sarA*基因的表达, 表皮葡萄球菌的*sigB*突变体中, *ica*操纵子转录效率降低, Valle等同时构建了*sigB*单突变和*sarA-sigB*两个基因的双突变体, *sigB*突变体能够形成生物膜^[10], 这与Rachid等人得出*sigB*基因能正调节菌株M12生物膜形成的结论相矛盾^[15], 这可能暗示*sigB*调节生物膜的形成具有菌株依赖性。表皮葡萄球菌的*SarA*蛋白和金黄色葡萄球菌的*SarA*蛋白有84%的相似性, 金黄色葡萄球菌*sarA*的3个启动子P1, P2和P3同样出现在表皮葡萄球菌中, 但这些启动子之间的排列顺序和空间间隔与金黄色葡萄不同, 表明*SarA*蛋白在两个种之间的调节与活性可能存在显著的差异。应用Tn917插入到表皮葡萄球菌*purR*基因中, 证明*purR*及其类似物可调节G⁺细菌的嘌呤合成, 对*ica*的表达和生物膜的形成起负调控作用。然而, 由于无法辨别出*PurR*蛋白与*icaA*或*icaR*结合的上游序列, 或者嘌呤合成和生物膜表型上的相关性, 暗示*PurR*蛋白可能在*ica*的调节中起着间接的作用^[16]。尽管生化合成途径和PIA/PNAG产生之间的相互关联并不十分明显, 但外界的应激会增加PIA/PNAG产生并激活生物膜的形成, 也可能抑制中间的代谢反应。此外, Vuong等报告, 表皮葡萄球菌生长在有TCA循环抑制剂—氟代柠檬酸亚抑菌浓度的培养基中, 其PIA/PNAG产生显著增加, 导致研究者们提出各种有意义的见解, 生物合成过程中中间产物的浓度、ATP的浓度或细胞对外界信号的氧化还原状态的改变等都可能影响到PIA/PNAG生物合成^[17]。最近把一个Mu转座子插入到医院儿科分离的金黄色葡萄球菌菌株S30中, 筛选文库揭示出*icaADBC*基因座外的大多数插入突变都可导致生物膜表型的削弱以及PIA/PNAG产量的减少^[18]。很显然, 其他调节子对生物膜形成的影响说明了存在有不依赖*ica*的生物膜形成机制。

3 细胞表面蛋白介导的 *ica* 不依赖型生物膜形成

尽管*icaADBC*位点在金黄色葡萄球菌生物膜形成和控制PIA/PNAG产物产生的调节通路中具有重要的作用, 但最近的研究已经表明, 在金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌中存在着独立于PIA/PNAG的生物膜形成机制^[19]。应用能引起牛乳腺炎的金黄色葡萄球菌分离菌株V329证实了生物膜相关蛋白Bap在生物膜形成的起始粘附和胞间聚集过程是必须的。这株分离菌株的*ica*位点突变对生物膜形成的表型没有任何影响^[20]。调节因子*SarA*是*bap*的转录激活剂, 因此, *SarA*可成为Bap介导生物膜形成的正调控子。同样, Bap蛋白的类似物也可调节独立于*ica*的生物膜形成, 这已经在一些表皮葡萄球菌和其他的凝固酶阴性的葡萄球菌菌株中证实。Bap蛋白是众多表面蛋白的一员, 这类表面蛋白具有保守的结构和相似的功能特征, 它们在生物膜的形成和发展中占有重要的作用。研究证实生物膜形成阳性的金黄色葡萄球菌临床分离菌株UAMS-1的*ica*位点缺失对生物膜的形成没有任何影响^[14], 相反, 该菌株的*sarA*突变可导致生物膜形成能力明显削弱。独立于*icaADBC*生物膜形成现象在临床上耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)分离菌株中也被发现, 通过研究生物膜形成环境和调节因素以及应用噬菌体转导技术等来构建*ica*缺失突变株, 在耐甲氧西林(MRSA)分离菌株和甲氧西林敏感分离菌株(MSSA)中得出了不同的生物膜形成机制^[4]。特别是NaCl可诱导MSSA生物膜的形成比MRSA要显著, NaCl是*ica*操纵子转录的激活剂, 与这个结论相一致的是, MSSA生物膜的形成发展是依赖于*icaADBC*, 并且涉及到PIA/PNAG的产生。而MRSA的生物膜形成主要是由葡萄糖诱导, 属于*ica*不依赖型, 它很明显涉及到蛋白质的吸附。这些数据 and 资料揭示了一些先前不知道的复合物对金黄色葡萄球菌生物膜形成机制和调节层面上的作用。最近, 在8株MRSA和7株MSSA菌株中又证实*sarA*位点的突变能够破坏生物膜的发展。*SarA*对于控制*ica*介导的生物膜形成作用取得了相当大的进展, *SarA*可能作为一个主要的调节子, 即控制*ica*依赖型的生物膜形成机制, 又控制*ica*不依赖型的生物膜形成机制。与*SarA*作用相反, 全面调节因子*agr*的突变对生物膜的发展起中立作用^[14], 在不同生长条件下, *agr*对生物膜形成的影响有着很

大的变化,起的作用可能从正面调控,到中立,再到负面影响,从某些方面反映了Agr系统对外在环境变化所做出的响应^[21]。表皮葡萄球菌中agr系统的突变与生物膜形成增加相联系,部分是通过 δ -毒素起作用,不依赖于PIA/PNAG产生的变化。表皮葡萄球菌的表面蛋白SSP-1和SSP-2在生物膜形成的最初吸附阶段起到某种作用,与聚集相关的蛋白Aap在表皮葡萄球菌中涉及生物膜的聚集,Aap最初是被Hussain研究小组识别,这个蛋白质是生物膜聚集所必须的,应用抗Aap的抗体可抑制PIA/PNAG依赖型生物膜的形成,表明Aap可能以某种方式将PIA/PNAG锚定在细胞表面^[22]。Aap可被葡萄球菌源的蛋白酶的和热蛋白酶切割,将蛋白质转化为吸附素,可有效的介导PIA/PNAG不依赖型生物膜形成机制。金黄色葡萄球菌Aap类似物SasG也可介导与鼻腔表皮细胞的表面相结合,但是它在生物膜中的潜在作用还没有被很好的研究。这些数据反映了细胞表面分子在介导吸附和生物膜形成发展中的重要性^[1]。

4 蛋白吸附素介导的 *ica* 不依赖型生物膜形成

磷壁酸是葡萄球菌细胞壁的一种重要成分,在生物膜表型中也占有重要的作用。金黄色葡萄球菌*dlt*操纵子的突变可以介导D-丙氨酸整合入磷壁酸中,引起生物膜阴性和PIA/PNAG产生不足。与野生菌株相比,*dlt*操纵子突变降低了吸附作用,归因于细胞壁负电荷的增加,产生一种脉冲力阻止细菌吸附到多聚物或玻璃表面,表明细菌细胞和粘附表面之间电荷的改变可能影响生物膜的形成能力^[23]。近年来,已经发现许多转录调节子涉及到*ica*不依赖型生物膜的形成。Lim等报道金黄色葡萄球菌生物膜的聚集是由一个叫*araC*类的转录调节子控制的,将这个转录调节子命名为生物膜形成调节子(*rbf*)。Rbf调控一个190 kD蛋白质的表达。*ica*操纵子的转录不受*rbf*突变株的影响^[24],说明*rbf*控制生物膜的形成与发展是通过一个新的调节通路。应用系统突变方法和转座子随机突变方法筛选到金黄色葡萄球菌生物膜阳性突变株15981,尽管能够形成生物膜,但这株菌在无蛋白培养基中不能形成生物膜。新的方法揭示了与自动裂解相关的ArlRS二元系统突变可导致最初的附着和PIA/PNAG的增加,*arlRS*突变株生物膜的激活不受*ica*ADBC缺失的影

响,在无蛋白培养基中,突变株15981菌株中PIA/PNAG是生物膜基质的不必要成分,自动裂解素基因*atl*的缺失对*arlRS*突变株的生物膜表型没有影响。*arlRS*突变株的生物膜激活是*sarA*依赖型的,*SarA*负调控胞外蛋白酶的产生,暗示着在*arlRS*调节的生物膜表型中,*SarA*涉及到调节细胞壁的锚定和胞外蛋白。与*sarA*突变相反,*agr*的缺失在*arlRS*突变株中可提高生物膜的激活。*ArlRS*系统可负调节*dlt*操纵子的转录,*dlt*操纵子是磷壁酸合成所必须的^[25]。磷壁酸的作用是在最初的附着过程^[23],这种发现说明了*ArlRS*可调节金黄色葡萄球菌生物膜表型。进一步洞察*SarA*在*ica*不依赖型生物膜形成机制中的作用还需要识别其他新的生物膜调节子。Aap和Bap介导的生物膜表型明显涉及到蛋白质粘附,*arlS*突变与蛋白酶产生降低相联系,通过一个蛋白吸附素可介导葡萄糖诱导的MRSA生物膜形成,*SarA*对生物膜调节的影响与它的活性相关,胞外蛋白酶产生可抑制它的作用。*SarA*可抑制金黄色葡萄球菌四种主要的胞外蛋白酶的产生(*SspA*, *SspB*, *Aur*和*ScpA*),导致细胞纤维粘结合蛋白和蛋白A的水平减少^[1]。蛋白吸附素介导*ica*不依赖型生物膜的形成还需进一步研究。

5 存在的问题

目前存在的问题是,几乎所有的金黄色葡萄球菌临床分离菌株,在不同的生长条件下都拥有和表达*ica*操纵子,但是许多菌株在相同的条件下并不能形成生物膜^[4]。如果*ica*操纵子在大多数金黄色葡萄球菌中是保守和表达的,那么它为什么不能介导生物膜的形成与发展^[1]?因此,理解表面蛋白在生物膜粘附中的作用可能会帮助回答这些问题。另外,在某些适宜的条件下,蛋白质和其他的表面分子也可能与PIA/PNAG协调发挥作用来调节细胞间的粘附。在作者正在开展的研究中,也发现了某些类似的结果,我们的研究将同样可以部分回答为什么*ica*操纵子总在葡萄球菌临床分离菌株中存在、表达和调节,而有些金黄色葡萄球菌生物膜形成却独立于*ica*操纵子之外?

6 结论

*ica*位点编码的胞外多糖PIA/PNAG在生物膜形成和装置相关病理学方面作用的研究已经取得了很大进步。然而,*ica*位点和PIA/PNAG合成是如何

调节生物膜形成的知识还远远不够全面, 存在许多新的问题。除了 *ica*, 新的进展已经揭示了在金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌 *ica* 缺陷株中, 表面蛋白 Aap 和 Bap 能够介导独立于 PIA/PNAG 途径的细胞积累。这些发现打开了一种新的思路 and 观点, 可能葡萄球菌中还有新的表面蛋白也涉及到生物膜的形成与发展, 这些表面蛋白在生物膜粘附中的作用还需要进一步探索, 目的是为了提高我们对装置相关感染病理学的进一步理解。

参 考 文 献

- [1] O'Gara JP. *ica* and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett*, 2007, **270**(2): 179–88.
- [2] Cramton SE, Ulrich M, Gotz F, *et al*. Anaerobic conditions induce expression of polysaccharide intercellular adhesin in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Infect Immun*, 2001, **69**(6): 4079–4085.
- [3] Vuong C, Kocianova S, Voyich JM, *et al*. A crucial role for exopolysaccharide modification in bacterial biofilm formation, immune evasion, and virulence. *J Biol Chem*, 2004, **279**(52): 54881–54886.
- [4] Fitzpatrick F, Humphreys H, O'Gara JP. Environmental regulation of biofilm development in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J Hosp Infect*, 2006, **62**(1): 120–122.
- [5] Gerke C, Kraft A, Sussmuth R, *et al*. Characterization of the N-acetylglucosaminyltransferase activity involved in the biosynthesis of the *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin. *J Biol Chem*, 1998, **273**(29): 18586–18593.
- [6] Conlon KM, Humphreys H, O'Gara JP. Inactivations of *rsbU* and *sarA* by IS256 represent novel mechanisms of biofilm phenotypic variation in *Staphylococcus epidermidis*. *J Bacteriol*, 2004, **186**(18): 6208–6219.
- [7] Jefferson KK, Pier DB, Goldmann DA, *et al*. The teicoplanin-associated locus regulator (TcaR) and the intercellular adhesin locus regulator (IcaR) are transcriptional inhibitors of the *ica* locus in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2004, **186**(8): 2449–2456.
- [8] Ziebuhr W, Heilmann C, Gotz F, *et al*. Detection of the intercellular adhesion gene cluster (*ica*) and phase variation in *Staphylococcus epidermidis* blood culture strains and mucosal isolates. *Infect Immun*, 1999, **65**(3): 890–896.
- [9] Handke LD, Conlon KM, Slater SR, *et al*. Genotypic and phenotypic analysis of biofilm phenotypic variation in multiple *Staphylococcus epidermidis* isolates. *J Med Microbiol*, 2004, **53**(5): 367–374.
- [10] Valle J, Toledo-Arana A, Berasain C, *et al*. SarA and not sigmaB is essential for biofilm development by *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol*, 2003, **48**(4): 1075–1087.
- [11] Knobloch JK, Jager S, Horstkotte MA, *et al*. RsbU-dependent regulation of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation is mediated via the alternative sigma factor sigmaB by repression of the negative regulator gene *icaR*. *Infect Immun*, 2004, **72**(7): 3838–3848.
- [12] Pamp SJ, Frees D, Engelmann S, *et al*. Spx is a global effector impacting stress tolerance and biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2006, **188**(13): 4861–4870.
- [13] Dunman PM, Murphy E, Haney S, *et al*. Transcription profiling-based identification of *Staphylococcus aureus* genes regulated by the *agr* and/or *sarA* loci. *J Bacteriol*, 2001, **183**(24): 7341–7353.
- [14] Beenken KE, Dunman PM, McAleese F, *et al*. Global gene expression in *Staphylococcus aureus* biofilms. *J Bacteriol*, 2004, **186**(14): 4665–4684.
- [15] Rachid S, Ohlsen K, Wallner U, *et al*. Alternative transcription factor sigma(B) is involved in regulation of biofilm expression in a *Staphylococcus aureus* mucosal isolate. *J Bacteriol*, 2000, **182**(23): 6824–6826.
- [16] Mack D, Davies AP, Harris LG, *et al*. Microbial interactions in *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Anal Bioanal Chem*, 2007, **387**(2): 399–408.
- [17] Vuong C, Kidder JB, Jacobson ER, *et al*. *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin production significantly increases during tricarboxylic acid cycle stress. *J Bacteriol*, 2005, **187**(9): 2967–2973.
- [18] Tu Quoc PH, Genevaux P, Pajunen M, *et al*. Isolation and characterization of biofilm formation-defective mutants of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*, 2007, **75**(3): 1079–1088.
- [19] Rohde H, Burandt EC, Siemssen N, *et al*. Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections. *Biomaterials*, 2007, **28**(9): 1711–1720.
- [20] Cucarella C, Tormo MA, Ubeda C, *et al*. Role of biofilm-associated protein Bap in the pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*, 2004, **72**(4): 2177–2185.
- [21] Yarwood JM, Bartels DJ, Volper EM, *et al*. Quorum sensing in *Staphylococcus aureus* biofilms. *J Bacteriol*, 2004, **186**(6): 1838–1850.
- [22] Rohde H, Burdelski C, Bartscht K, *et al*. Induction of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation via proteolytic processing of the accumulation-associated protein by staphylococcal and host proteases. *Mol Microbiol*, 2005, **55**(6): 1883–1895.
- [23] Gross M, Cramton SE, Gotz F, *et al*. Key role of teichoic acid net charge in *Staphylococcus aureus* colonization of artificial surfaces. *Infect Immun*, 2001, **69**(5): 3423–3426.
- [24] Lim Y, Jana M, Luong TT, *et al*. Control of glucose and NaCl-induced biofilm formation by *rbf* in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2004, **186**(3): 722–729.
- [25] Koprivnjak T, Mlakar V, Swanson L, *et al*. Cation-induced transcriptional regulation of the *dlt* operon of *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2006, **188**(10): 3622–3630.