DOI:10.16016/j.2097-0927.202112073

信号分子 AI-2 通过密度感应系统促进铜绿假单胞菌生物被膜形成和毒力因子产生

李洪东[1],余加林[2],谭利平[1],艾 青[2],李兴渊[3] 400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院:急诊科,国家儿童健康与疾病临床医学研究中心,儿童发育疾病研究教育部重点实验室,儿科学重庆市重点实验室[1];新生儿研究室,国家儿童健康与疾病临床医学研究中心,儿童发育疾病研究教育部重点实验室,儿科学重庆市重点实验室[2];400020 重庆,重庆市江北区人民医院药剂科[3]

[摘要] **目的** 研究信号分子 AI-2 对铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*, *P. a*)野生株(PAO1)及其密度感应(quorum sensing, QS)系统基因 *lasR/rhlR* 缺失株(*ΔlasRΔrhlR*)生物被膜(biofilm,BF)形成和毒力因子产生的影响。**方法** 以 PAO1 和 PAO1 *LasRrhlR* QS 基因敲除菌株(*P. a ΔLasRΔrhlR*)建立生物被膜模型后分 4 组进行实验:单独 PAO1 组、AI-2+PAO1 组、单独 *P. a ΔLasRΔrhlR* 组、AI-2+*P. a ΔLasRΔrhlR* 组。结晶紫染色测量各组细菌生物被膜量;激光共聚焦显微镜观察 BF 形成;K-B 纸片扩散法行药敏实验;氯仿萃取法、刚果红法分别测定不同组产生毒力因子绿脓菌素和弹性蛋白酶的量或者活性。**结果** AI-2 的作用后,AI-2+PAO1 组生物被膜形成、毒力因子的产生都显著高于单独 PAO1 组,抗生素抑菌圈直径显著小于单独 PAO1 组($P<0.05$)。*P. a ΔLasRΔrhlR* 组生物被膜形成、毒力因子的产生都显著低于 PAO1 组,抗生素抑菌圈直径显著大于 PAO1 组($P<0.05$)。而单独 *P. a ΔLasRΔrhlR* 与 AI-2+*P. a ΔLasRΔrhlR* 两组相比,其生物被膜形成、毒力因子的产生和抗生素抑菌圈直径无明显差异($P>0.05$)。**结论** AI-2 通过*P. a* QS 系统表达促进其 BF 形成、毒力因子的产生。

[关键词] 铜绿假单胞菌;生物被膜;QS 系统;自诱导因子 2

[中图法分类号] R378.99; R394.2 [文献标志码] A

Signal molecule autoinducer 2 promotes biofilm formation and virulence production in *Pseudomonas aeruginosa* by quorum sensing system

LI Hongdong[1], YU Jialin[2], TAN Liping[1], AI Qing[2], LI Xingyuan[3] [1]Department of Emergency, [2]Department of Neonates, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Key Laboratory of Child Development and Disorders of Ministry of Education, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400014; [3]Department of Pharmacy, People's Hospital of Jiangbei District, Chongqing, 400020, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of signal molecule autoinducer 2 (AI-2) on the biofilm formation and virulence production in the wild type strain, PAO1 and the strain with deficient quorum sensing genes, *lasR* and *rhlR* (ΔlasRΔ*rhlR*) of *Pseudomonas aeruginosa* (*P. a*). **Methods** The wild strain PAO1 and the *P. a ΔLasRΔrhlR* strain were used to establish biofilm model. The following experiments were performed on 4 groups, including PAO1 group, AI-2+PAO1 group, *P. a ΔLasRΔrhlR* group and AI-2+*P. a ΔLasRΔrhlR* group. The biofilm formation was measured by crystal violet assay and observed with confocal laser scanning microscopy (CLSM). Kirby-Bauer disk diffusion was used for drug sensitivity test. Virulence factor pyocyanin and elastase production were measured by chloroform extraction method and Congo red assay, respectively. **Results** Compared to the wild type PAO1, the biofilm formation and virulence production were

[基金项目] 重庆市自然科学基金(cstc2020jcyj-msxmX0253)

[通信作者] 余加林,E-mail:yujialin468@163.com

谭利平, E-mail:tanlp0825@hotmail.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

significantly increased in AI-2+PAO1 group, as well as the diameter of inhibition zone was significantly decreased($P<0.05$), the biofilm formation and virulence production were significantly reduced in AI-2+ *P. a ΔLasRΔrhlR* group, and the diameter of inhibition zone was significantly enlarged ($P<0.05$). However, there were no significant differences between the *P. a ΔLasRΔrhlR* group and AI-2+ *P. a ΔLasRΔrhlR* group in biofilm formation, virulence production and the diameter of inhibition zone ($P>0.05$). **Conclusion** AI-2 enhances the biofilm formation and virulence production of *P. a* by the quorum sensing system.

[**Key words**] *Pseudomonas aeruginosa*; biofilm; quorum sensing system; autoinducer 2

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (cstc2020jcyj-msxmX0253). Corresponding author: YU Jialin, E-mail: yujialin468@163.com; TAN Liping, E-mail: tanlp0825@hotmail.com.

随着机械通气在重症监护室(ICU)应用的日益广泛,危重病人存活率显著提高。然而机械通气并发症如呼吸机相关性肺炎(ventilator-associated pneumonia, VAP)严重影响病人的预后。ICU中VAP的发生率为5%~40%,死亡率约为10%[1]。VAP的发生与气管导管表面形成生物被膜(biofilm,BF)有巨大的关系[2-3]。BF是指细菌为适应生存环境而形成的一种对应于浮游细菌的生长方式,通过分泌多糖基质、纤维蛋白和eDNA等多糖蛋白复合物,并将其自身包绕其中所形成的复杂的三维立体结构。正是由于BF的形成,可以使细菌避免抗生素的杀灭作用[4]。

铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*, *P. a*)作为院内感染的常见病原菌之一,我们前期通过分子生物学方法研究发现在气管导管上的检出率可高达93%[5],克雷伯杆菌属、假单胞菌属和链球菌属是气管导管上最常见的3种菌属,且一个有趣的现象是VAP组患儿中克雷伯菌属及链球菌属与条件致病菌*P. a*广泛共存。研究证实细菌BF的形成和调控依赖于不同细菌之间的交流——群体感应系统(quorum sensing, QS)。QS系统通过感受环境中细菌所分泌产生的自诱导因子(autoinducer,AI)来调节细菌的行为变化,对细菌BF的形成、毒力因子的产生都有重要作用。而AI-2作为目前公认的"细菌公共语言",可介导种内、种间细菌的交流[6]。国内外研究发现*P. a*可通过感应外源性AI-2或其他细菌产生的AI-2信号分子调控毒力因子和生物被膜的产生,增加致病性[7-9],但具体作用机制尚不清楚。因此,本研究选取*P. a*的野生株PAO1及其QS系统*lasR/rhlR*基因缺失株(*P. a ΔlasRΔrhlR*)作为观察菌株,建立体外BF模型,对比组间BF生物被膜形成、毒力因子(绿脓菌素和弹性蛋白酶)产生及细菌药敏试验的差异;以证实AI-2是否可通过*P. a* QS系统来调控BF的形成和毒力因子的产生。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验菌株 铜绿假单胞菌野生株PAO1,QS系统*lasR/rhlR*基因缺失株(*P. aΔlasRΔrhlR*)由重医附属儿童医院新生儿实验室保存。

1.1.2 实验材料及试剂 96孔培养板、24孔培养板(Corning公司,美国);聚乙烯片消毒备用(COSMO公司,美国),均充当生物被膜载体;自诱导因子-2(AI-2)(Omm Scientific公司,美国)(浓度为10 nm)[4];LIVE/DEAD L13152荧光染色液(Invitrogen Molecular Probes公司,美国);胰蛋白胨肉汤培养基(LB培养基,上海生工,中国);产绿脓菌素培养基(PPB培养基,上海生工,中国);蛋白胨大豆肉汤培养基(PTSB培养基,Oxid公司,英国);结晶紫(上海碧云天,中国);PBS(北京中杉金桥,中国);氯仿、HCL(稀盐酸)(成都科龙化工公司,中国);刚果红(SIGMA公司,德国)。

1.1.2 实验仪器 激光共聚焦显微镜NikonA1R(日本Nikon公司);紫外分光光度计TU 1810(北京普析公司);EPOCH酶标仪(美国BioTek);恒温振荡摇床THZ-28A(江苏常州电器公司);恒温培养箱(上海跃进医疗公司);KQ-250DE数控超声波清洗器(江苏超声医疗公司)。

1.2 方法

1.2.1 结晶紫法测定BF生物量 取$D(600)$值为0.05的菌液加入无菌96孔板,每孔200 μL。实验分为4组:单独PAO1组、AI-2+PAO1组、单独*P. a ΔlasRΔrhlR*组、AI-2+*P. a ΔlasRΔrhlR*组,每组重复6孔。放入37 ℃恒温培养箱孵育24 h,弃掉游离菌液,无菌PBS清洗,待自然干燥后加入结晶紫(80 μL/孔)染色10 min,无菌PBS清洗掉未结合的染料,共3次,置于37 ℃孵箱烘干,加入95%乙醇溶液溶解,酶标仪测定$D(570)$。

1.2.2 CLSM观察BF形成 取$D(600)$值为0.05的菌液加入盛有聚乙烯片的无菌24孔板中,每孔1 mL。实验同1.2.1分为4组,每组重复3孔。放入37 ℃恒温培养箱孵育48 h后,弃掉游离菌液,每张标本滴加50 μL SYTO9和PI混合染液,避光染色15~20 min,激光共聚焦扫描显微镜观察,由BF游离面向

最底层逐层扫描,每个标本分别取3个随机视野,每个视野扫描8~20层。

1.2.3 BF细菌药敏实验 按上述方法构建体外PAO1 BF模型,实验同1.2.1分为4组。于建模后第3天使用无菌PBS冲洗去掉聚乙烯片表面浮游菌,聚乙烯片置于2 mL无菌PBS中,漩涡震荡5 min,取BF中的细菌,然后使用Kirby-Bauer(K-B)纸片扩散法行阿米卡星、左氧氟沙星、环丙沙星3种抗生素药敏实验。

1.2.4 氯仿萃取法测定绿脓菌素 取摇菌过夜的*D*(600)值为0.5的菌液,加入PPB培养基调整为*D*(600)值为0.05的菌液。实验同1.2.1分为4组,每组重复3管。37 ℃、200 r/min恒温摇床震荡培养24 h,15 000 r/min高速离心10 min后,取3 mL上清液,加入3 mL氯仿相混合,漩涡震荡1 min,静置取氯仿下层蓝色液体移入另一支干净试管,加入1 mL 0.2 mol/L HCL。轻微震荡后,取上层红色液体于96孔板中,在酶标仪下测*D*(520)值。绿脓菌素浓度=*D*(520)×17.07(单位为μg/mL)。

1.2.5 刚果红法测定弹性蛋白酶 取摇菌过夜的*D*(600)值为0.5的菌液,加入PTSB培养基调整为*D*(600)值为0.05的菌液,实验同1.2.1分为4组,每组重复3管。37 ℃,200 r/min恒温摇床震荡培养24 h,15 000 r/min高速离心10 min后,取100 μL上清液于1.5 mL EP管中,加入900 μL刚果红溶液混合,37 ℃、200 r/min恒温摇床震荡培养2 h,5 000 r/min离心去除未结合的刚果红,取上清液于96孔板中,在酶标仪下测*D*(495)值。

1.3 统计学分析

采用SPSS 21.0软件对实验数据进行统计分析。数据经正态分布及方差齐性检验,符合正态分布且方差齐则用*t*检验或单因素方差分析(ANOVA);若不符合,则用非参数检验方法(Kruskal-Wallis检验),Mann-Whitney检验用于两组间比较。$P<0.05$表示有统计学差异。

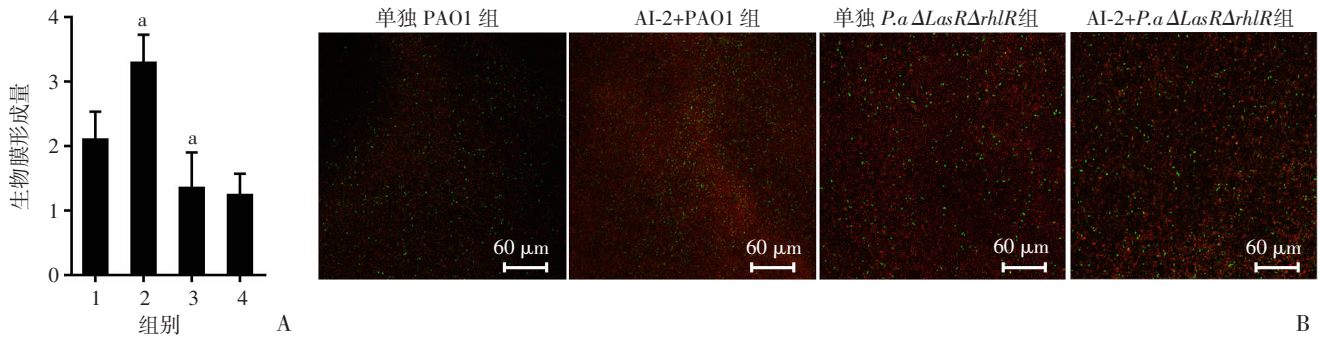
2 结果

2.1 AI-2对不同铜绿假单胞菌BF形成的影响

结晶紫染色结果显示(图1A):QS系统基因*lasR/rhlR*缺失菌株*P. a ΔLasRΔrhlR*BF生物量(Biomass=1.5±0.5)显著低于其野生株PAO1 BF生物量(Biomass=2.1±0.4,$P<0.05$),证明QS系统对BF形成起着重要作用。单独PAO1组BF生物量显著低于AI-2+PAO1组($P<0.05$),证明AI-2对PAO1野生株BF的形成具有促进作用。而单独*P. a ΔLasRΔrhlR*组与AI-2+*P. a ΔLasRΔrhlR*组BF生物量无明显差异。激光共聚焦显微镜观察显示(图1B):*P. a ΔLasRΔrhlR*BF内生物被膜内活菌数少于野生株PAO1,而AI-2+PAO1组BF内活菌数明显多于单独PAO1组。单独*P. a ΔLasRΔrhlR*组与AI-2+*P. a ΔlasRΔrhlR*组BF内活菌数无明显差异。以上结果均说明AI-2不能增强*P. a ΔlasRΔrhlR*的BF形成。

2.2 AI-2对不同铜绿假单胞菌BF内细菌药敏的影响

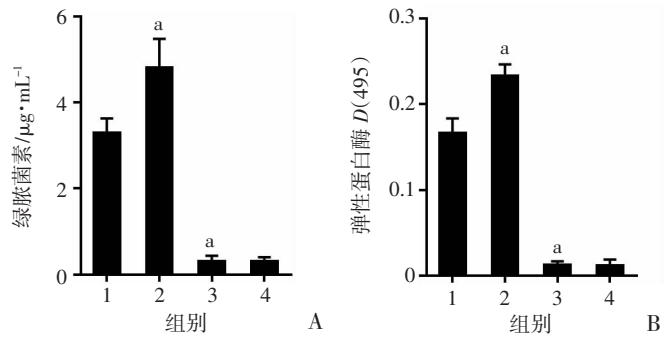
采用K-B药敏纸片扩散法测定对阿米卡星、左氧氟沙星、环丙沙星等3种药物的耐药性。结果显示:与单独PAO1组比较,PAO1+AI-2组阿米卡星、左氧氟沙星、环丙沙星抑菌圈直径均显著减小($P<0.05$)。单独*P. a ΔLasRΔrhlR*组抑菌圈直径均显著增大($P<0.05$),而单独*P. a ΔLasRΔrhlR*与AI-2+*P. a ΔLasRΔrhlR*两组间抑菌圈无明显差异(表1)。



1:单独PAO1组;2:AI-2+PAO1组;3:单独*P. a ΔLasRΔrhlR*组;4:AI-2+*P. a ΔLasRΔrhlR*组

A:结晶紫法检测不同组BF的生物量($n=9,\bar{x}\pm s$) a:$P<0.05$,与单独PAO1组比较;B:激光共聚焦显微镜观察不同种PAO1 BF形成(绿色代表活菌,红色代表死菌)

图1 AI-2对不同铜绿假单胞菌BF形成的影响



a:$P<0.05$,与单独 PAO1 组比较;1: 单独 PAO1 组;2:AI-2+PAO1 组;3:单独 *P. a ΔLasRΔrhlR* 组;4:AI-2+*P. a ΔLasRΔrhlR* 组
A:绿脓菌素;B:弹性蛋白酶

图 2 AI-2 对不同铜绿假单胞菌毒力因子产生的影响 ($n=9,\bar{x}\pm s$)

表 1 AI-2 干预 3 d 后铜绿假单胞菌 BF 内细菌的药敏实验结果 ($n=9$,mm,$\bar{x}\pm s$)

组别	阿米卡星	左氧氟沙星	环丙沙星
单独 PAO1 组	26.0±0.6	24.7±0.3	31.9±1.0
PAO1+AI-2 组	23.8±0.4[a]	21.6±0.5[a]	29.5±0.6[a]
单独 *P. a ΔLasRΔrhlR* 组	31.6±0.5[a]	29.6±0.7[a]	34.9±0.4[a]
AI-2+*P. aΔLasRΔrhlR* 组	31.8±0.4	29.2±0.5	34.5±0.6

a: $P<0.05$,与 PAO1 组比较

2.3 AI-2 对不同铜绿假单胞菌毒力因子的影响

测定结果显示:*P. a ΔLasRΔrhlR* 几乎不产生毒力因子绿脓菌素[(0.15±0.05)μg/mL)]和弹性蛋白酶[$D(495)=0.05\pm0.01$];单独 *P. a ΔLasRΔrhlR* 组绿脓菌素毒力因子产生量[(0.20±0.01)μg/mL *vs.* (3.6±0.30)μg/mL]和弹性蛋白酶活性[$D(495)$:(0.03±0.002) *vs.* (0.18±0.03)]显著低于单独 PAO1 组($P<0.05$)。AI-2 对 PAO1 野生株毒力因子绿脓菌素和弹性蛋白酶的产生均具有促进作用,其量或者活性显著高于单独 PAO1 组。而单独 *P. a ΔLasRΔrhlR* 组与 AI-2+*P. a ΔLasRΔrhlR* 组比较,绿脓菌素产生量或者弹性蛋白酶活性无明显差异(图 2);说明 AI-2 不能增强 *P. a ΔlasRΔrhlR* 的毒力因子的产生。

3 讨论

本课题组前期已经证实外源性 AI-2 和轻型链球菌(可分泌产生 AI-2)能增强野生菌株 PAO1 BF 的形成和毒力因子的产生[7, 10],但研究机制不清。本实验证实了 AI-2 直接通过作用于 *P. a* QS 系统调控 BF 的形成和毒力基因的表达,敲除 PAO1 QS 基因后,AI-2 不能增强基因缺陷菌株 *P. a ΔlasRΔrhlR* 的 BF 形成与毒力因子的产生。

P. a 的 QS 系统是 BF 形成和毒力因子产生的关键因素,控制着超过 10%基因表达[11-12]。*P. a* QS 系统主要包括 3 种:*Las*I/R、*Rhl*I/R 和 PQS 系统,其中 *Las* 和 *Rhl* 分别编码产生特征性的 N-酰基高丝氨酸内酯信号分子(N-acylhomoserine lactone, AHL)、N-丁酰基-L-高丝氨酸内酯(N-butyryl-L-homoserinelactone,BHL)和 N-(3-氧代十二酰)-L-高丝氨酸内酯(N-oxododecanoyl-L-homoserinelaetone,OdDHL),这两种系统对铜绿假单胞菌 BF 的形成和毒力因子的产生具有重要作用,PQS 系统已经被证实能通过 NF-κB 通路下调宿主的免疫应答来控制毒力因子,而突变体则不能分泌信号分子诱导 TNF-a 和 IL-6 的表达[13-14]。

AI-2 由 LuxS 基因编码合成,具有很强的保守性。AI-2 作为近年来细菌交流信号研究的热点,其具体作用机制也尚不清楚。如 AI-2 既可抑制蜡样芽孢杆菌、白色念珠菌的 BF 形成,并影响细菌生物被膜的空间结构[15-16],另一方面,AI-2 也可以促进肺炎链球菌、啮蚀艾肯菌、杀鱼爱德华氏菌等生物被膜形成[17-19]。也有研究发现伤寒沙门氏菌内存在同源 *LuxS* 基因,当敲除 *LuxS* 基因后,细菌的生长不受影响,但细菌的运动能力明显受限[20]。DUAN 等[9]曾在肺囊性纤维化病人痰液中发现 AI-2 的存在,并且这些痰液可以增强铜绿假单胞菌毒力作用及上调某些毒力基因的表达,但作用机制不明确。本实验中,AI-2 能促进 PAO1 BF 的形成,说明 PAO1 能接受外源性 AI-2 的作用,PAO1 细菌内无 LuxS 基因,天然不能合成 AI-2,也无 LuxP 受体(AI-2 作用受体),那么 PAO1 内是否有其他受体参与调节作用? 可能与 AI-2 可以作为“平行自诱导因子”有关,因为研究发现鸟分枝杆菌也不能产生 AI-2,但仍可以接受 AI-2 的调节作用[21]。

综上所述,AI-2 可通过 *P. a* QS 系统增强 BF 的形成和毒力因子的产生。作为生物被膜内细菌间沟通的关键环节,产 AI-2 细菌克雷伯菌属及链球菌属与 *P. a* 广泛共存,提示我们这些细菌广泛共存可能依赖

于 AI-2 作为沟通桥梁,那么以 AI-2 作为作用靶点将为 VAP(包括其他的导管相关感染)的防治提供了新的思路。

参考文献:

[1] PAPAZIAN L, KLOMPAS M, LUYT C E. Ventilator-associated pneumonia in adults: a narrative review[J]. Intensive Care Med, 2020, 46(5): 888-906. DOI: 10.1007/s00134-020-05980-0.

[2] FERNÁNDEZ-BARAT L, TORRES A. Biofilms in ventilator-associatedpneumonia[J]. Future Microbiol, 2016, 11: 1599-1610. DOI: 10.2217/fmb-2016-0040.

[3] DEXTER A M, SCOTT J B. Airway management and ventilator-associatedevents[J]. Respir Care, 2019, 64(8): 986-993. DOI: 10.4187/respcare.07107.

[4] RABIN N, ZHENG Y, OPOKU-TEMENG C, *et al*. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents[J]. Future Med Chem, 2015, 7(4): 493-512. DOI: 10.4155/fmc.15.6.

[5] LI H D, SONG C, LIU D, *et al*. Molecular analysis of biofilms on the surface of neonatal endotracheal tubes based on 16SrRNA PCR-DGGE and species-specific PCR[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(7): 11075-11084.

[6] WANG Y, LIU BB, GRENIER D, *et al*. Regulatory mechanisms of the LuxS/AI-2 system and bacterial resistance[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63(10): e01186-e01119. DOI: 10.1128/AAC.01186-19.

[7] LI H D, LI X Y, WANG Z L, *et al*. Autoinducer-2 regulates Pseudomonas aeruginosa PAO1 biofilm formation and virulence production in a dose-dependent manner[J]. BMC Microbiol, 2015, 15: 192. DOI: 10.1186/s12866-015-0529-y.

[8] WANG Z L, XIANG QQ, YANG T, *et al*. Autoinducer-2 of Streptococcus mitis as a target molecule to inhibit pathogenic multi-species biofilm formation in vitro and in an endotracheal intubation rat model[J]. Front Microbiol, 2016, 7: 88. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00088.

[9] DUAN K M, DAMMEL C, STEIN J, *et al*. Modulation of Pseudomonas aeruginosa gene expression by host microflora through inter species communication[J]. Mol Microbiol, 2003, 50(5): 1477-1491. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2003.03803.x.

[10] 傅雅琨, 余加林, 芦起, 等. 铜绿假单胞菌与轻型链球菌混合生物膜体外模型的建立[J]. 中国抗生素杂志, 2015, 40(4): 278-284. DOI: 10.13461/j.cnki.cja.005528.
FU Y K, YU J L, LU Q, *et al*. Establishment of *in vitro* mixed-biofilm model formed by Pseudomonas aeruginosa and Streptococcus mitis[J]. Chin J Antibiot, 2015, 40(4): 278-284. DOI: 10.13461/j.cnki.cja.005528.

[11] FAZLI M, ALMBLAD H, RYBTKE M L, *et al*. Regulation of biofilm formation in Pseudomonas and Burkholderia species[J]. Environ Microbiol, 2014, 16(7): 1961-1981. DOI: 10.1111/1462-2920.12448.

[12] HOLM A, VIKSTRÖM E. Quorum sensing communication between bacteria and human cells: signals, targets, andfunctions[J]. Front Plant Sci, 2014, 5: 309. DOI: 10.3389/fpls.2014.00309.

[13] KIM C, KIM J, PARK H Y, *et al*. Structural understanding of quorum-sensing inhibitors by molecular modeling study in Pseudomonas aeruginosa[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2009, 83(6): 1095-1103. DOI: 10.1007/s00253-009-1954-3.

[14] PENA R T, BLASCO L, AMBROA A, *et al*. Relationship between quorum sensing and secretionsystems[J]. Front Microbiol, 2019, 10: 1100. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01100.

[15] BACHTIAR E W, BACHTIAR B M, JAROSZ L M, *et al*. AI-2 of Aggregatibacter actinomycetemcomitans inhibits Candida albicans biofilm formation[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2014, 4: 94. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00094.

[16] LEE N R, KIM M D, LIM M C. Autoinducer-2 could affect biofilm formation by food-derived Bacilluscereus[J]. Indian J Microbiol, 2021, 61(1): 66-73. DOI: 10.1007/s12088-020-00918-y.

[17] KARIM MM, HISAMOTO T, MATSUNAGA T, *et al*. LuxS affects biofilm maturation and detachment of the periodontopathogenic bacterium Eikenella corrodens[J]. J Biosci Bioeng, 2013, 116(3): 313-318. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2013.03.013.

[18] YADAV M K, VIDAL J E, GO YY, *et al*. The LuxS/AI-2 quorum-sensing system of Streptococcus pneumoniae is required to cause disease, and to regulate virulence- and metabolism-related genes in a rat model of middle ear infection[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2018, 8: 138. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00138.

[19] SUN Y C, LI Y, LUO Q, *et al*. LuxS/AI-2 quorum sensing system in Edwardsiella piscicida promotes biofilm formation and pathogenicity[J]. Infect Immun, 2020, 88(5): e00907-e00919. DOI: 10.1128/IAI.00907-19.

[20] 罗哲, 王敏, 杜鸿, 等. LuxS/AI-2 对伤寒沙门菌基因表达的调节[J]. 江苏大学学报(医学版), 2011, 21(1): 34-41. DOI: 10.13312/j.issn.1671-7783.2011.01.005.
LUO Z, WANG M, DU H, *et al*. Analysis of genes expression regulation controlled byluxS/AI-2 in Salmonella enterica serovar Typhi[J]. J Jiangsu Univ Med Ed, 2011, 21(1): 34-41. DOI: 10.13312/j.issn.1671-7783.2011.01.005.

[21] GEIER H, MOSTOWY S, CANGELOSI G A, *et al*. Autoinducer-2 triggers the oxidative stress response in Mycobacteriumavium, leading to biofilm formation[J]. Appl Environ Microbiol, 2008, 74(6): 1798-1804. DOI: 10.1128/AEM.02066-07.

(**收稿**:2021-12-09;**修回**:2022-04-01)

(编辑 邓强庭)