



猪链球菌生物被膜形成的耐药机制

靳曼玉¹, 李金朋¹, 易力², 汪洋^{1*}

¹ 河南科技大学动物科技学院, 河南 洛阳 471003

² 洛阳师范学院生命科学学院, 河南 洛阳 471022

摘要: 猪链球菌病(*Streptococcus suis*)是一种严重影响各国养猪业发展和人类健康的人兽共患传染病, 可以引起败血症、关节炎、脑膜炎等多种疾病, 造成巨大的经济损失。猪链球菌生物被膜的形成是导致其致病性和耐药性增加的主要原因。为了预防和治疗猪链球菌病以及解析其耐药的可能机制, 深入了解和掌握猪链球菌生物被膜的形成和耐药机制具有重要意义。本文综述了猪链球菌生物被膜形成和耐药机制的最新科学知识, 着重从生化因素、生理因素、分子机制和环境改变等方面总结讨论猪链球菌生物被膜的耐药机制, 进一步为该病的防治提供科学的理论依据。

关键词: 猪链球菌, 生物被膜, 抗生素, 耐药机制

猪链球菌(*Streptococcus suis*, SS)是一种重要的人兽共患传染病病原体, 可以引起人和动物的关节炎、脑膜炎、支气管肺炎、败血病和心内膜炎等多种疾病, 严重危害了公共安全和畜牧养殖业, 导致了巨大的经济损失^[1]。根据其荚膜多糖(capsular polysaccharide, CPS)抗原性的不同, 猪链球菌分为33个血清型(1–31型, 33型, 1/2型)。其中猪链球菌2型(SS2)是引起人和猪发病最常见的血清型^[2–3]。在生猪免疫力下降的情况下, 猪链球菌生物被膜的形成可诱导持续的体内感染, 传播迅速, 难以治愈^[4]。现阶段, 随着抗生素的滥用, 使得猪链球菌耐药性越来越严重, 给该病的防控

带来了困难。而生物被膜的形成成为SS生存又增加了一层保护屏障, 对该病的防控变得更加困难。

生物被膜(biofilm, BF)是猪链球菌产生毒力和耐药性的重要原因之一。通过研究猪链球菌的生物被膜形成与耐药机制, 为进一步解析生物被膜的形成机制、致病机理以及防治猪链球菌病等提供理论依据。

1 猪链球菌生物被膜的形成

细菌生物被膜(biofilm, BF)是由微生物及其分泌物积聚而形成, 为适应自然环境且利于生存

基金项目: 国家自然科学基金(31902309, 31772761)

*通信作者。Tel/Fax: +86-379-64282431; E-mail: wangyocan@163.com

收稿日期: 2020-07-22; 修回日期: 2020-10-13; 网络出版日期: 2021-01-28

的一种生命现象。一般认为细菌生物被膜的形成过程分为 5 个阶段(图 1): 微生物的初始附着、不可逆附着、成熟 I、成熟 II 和分散^[5]。另外, 已有多个研究表明 SS 能够在体内、体外形成 BF, 并且在实验室中不同的生物模型上可以形成 BF。Meng 等通过试验证明大部分 SS 株系都能够产生 BF, 其 BF 成熟时间约为 60 h, 用培养基培养时发现葡萄糖的含量能够影响 BF 形成^[6]。同时, SS 生物被膜的形成受多种因素的影响, 如 OCT 蛋白、葡萄糖、自诱导分子 AI-2、*cbp40* 基因等, 主要集中于细菌的相关基因和蛋白上^[7]。这些因素可通过单一作用影响 BF 的形成, 亦可通过相互作用或共同作用来影响 BF 的形成。

2 猪链球菌生物被膜耐药机制

细菌 BF 的形成是细菌产生慢性和持续感染的重要原因之一, BF 的存在可能造成细菌对耐药性、耐酸性和耐饥饿性等的改变。对 SS 在 BF 下耐药程度的研究表明, 在 SS 的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)值下, 发现在 BF 状态下的猪链球菌比浮游细菌对青霉素 G 和氨苄青霉素的耐受性更强^[8]。存在于 BF 中的耐药固有机制, 主要是由促成 BF 抗生素耐药性的获得性和适应性机制的协同作用使得 BF 产生抗生素耐药性^[9]。本文主要从生化因素、生理因素、分子机制和环境因素 4 个方面(图 2)对猪链球菌生物被膜的耐药机制进行讨论。

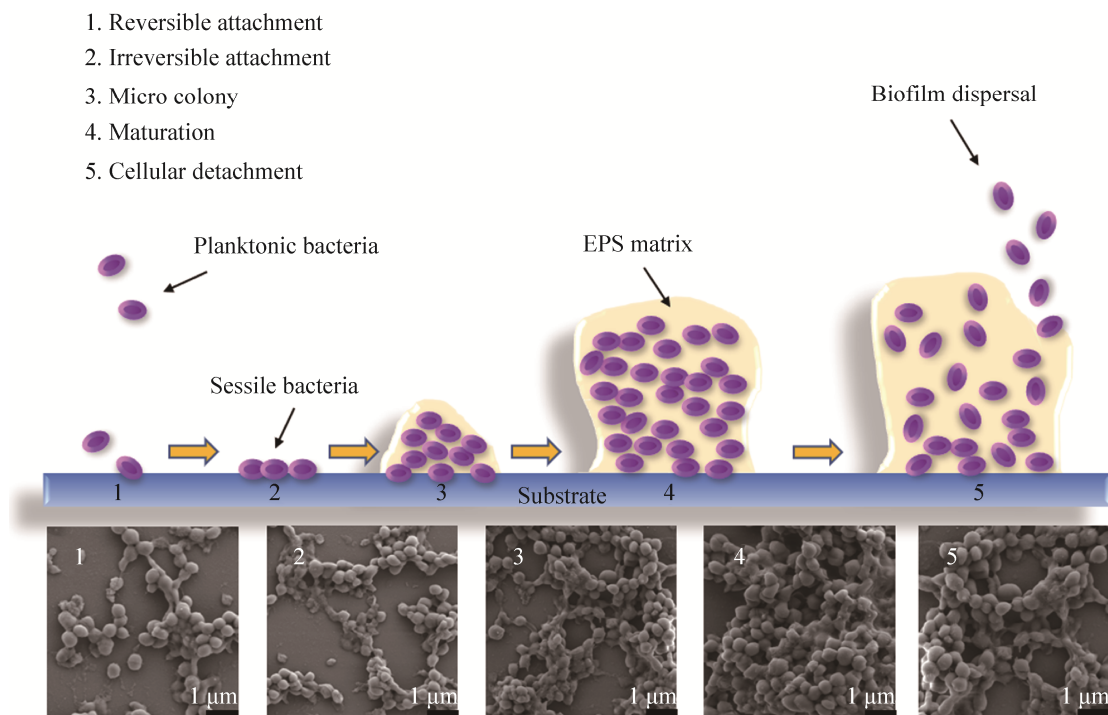


图 1. 猪链球菌生物被膜的形成过程中不同阶段的示意图和电镜图

Figure 1. Schematic diagram and scanning electron micrograph of different steps in the biofilm formation of *S. suis*. The different stages in biofilm formation include initial attachment to the substrate, formation of a monolayer along the substrate with formation of micro-colonies, biofilm maturation with formation of a three-dimensional structure, and cell dispersion.

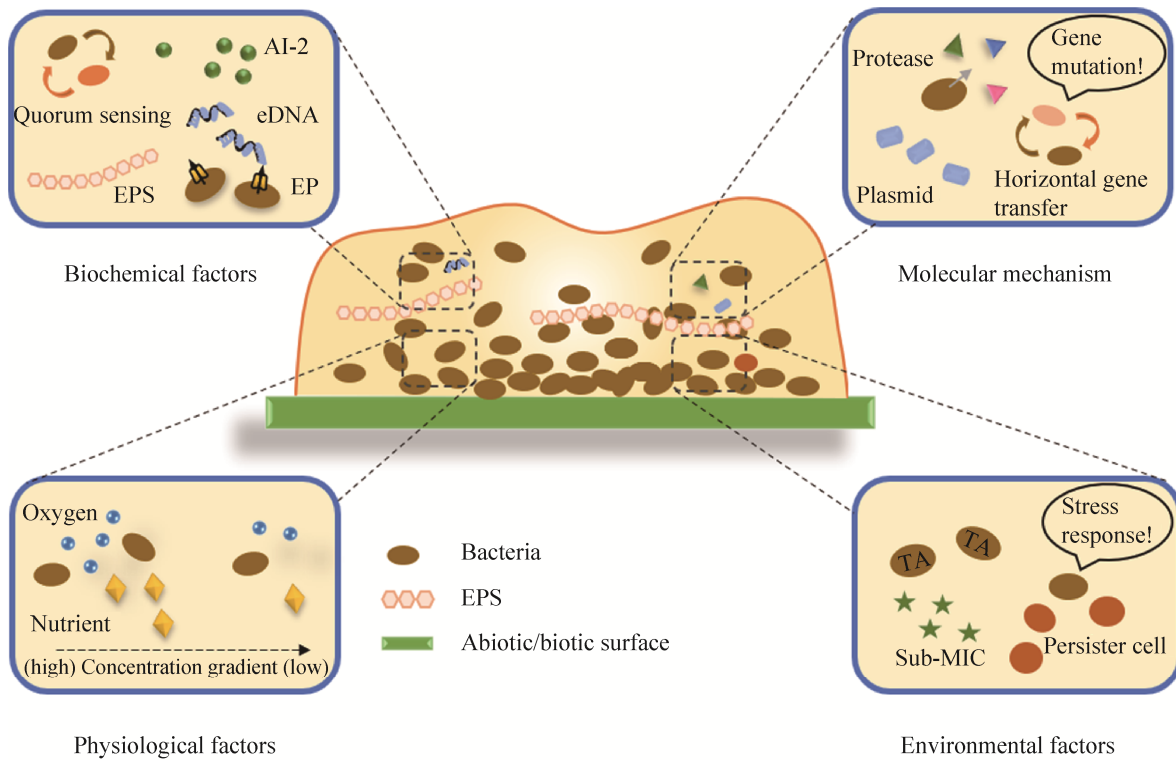


图 2. 猪链球菌生物被膜主要耐药机制示意图

Figure 2. Schematic diagram of the main resistance mechanisms of *S. suis* biofilm. *S. suis* (in brown) is found in the yellow semicircular matrix. The biofilm is attached to the surface of the green rectangular abiotic/biotic surface. The biofilm contains the gradient nutrient from high to low (indicated by the color gradient from deep to shallow here). The illustrations of the four main resistance mechanisms of *S. suis* biofilms are shown in the figure: biochemical factors; molecular mechanism; physiological factors; environmental factors.

2.1 生化因素

2.1.1 群体感应(QS)系统: 群体感应(quorum sensing, QS)系统对细菌 BF 的形成和发展具有明显的调控作用。当细菌受到恶劣环境的影响时, QS 系统在细胞间传递信息, 增加细菌数量, 促进 BF 的形成和胞外基质的产生, 从而增强细菌对环境的适应性^[7]。许多细菌之间可以通过合成并释放自诱导物质(autoinducer, AI)的信号分子进行信息交流, 胞外的 AI 浓度随着细菌群体密度的改变, 启动菌体中相关基因进行表达, 调控细菌生物行为来适应环境变化^[10]。目前在 SS 上研究较多的是

LuxS/AI-2 型 QS 系统。本课题组研究发现, AI-2 信号分子不仅可能通过 Tn916 转座子调控 *tet*(M) 基因参与猪链球菌对四环素类(TCs)的耐药性, 而且当 SS 在四环素类抗生素的亚 MIC 下生长时, 添加外源 AI-2, SS 生长速度和 BF 形成能力明显增强, 从而进一步增强 SS 生物被膜的耐药性^[11-12]。

2.1.2 EPS、胞外 DNA 和外排泵: 细菌的胞外聚合基质(extracellular polymeric matrix, EPS)由细胞间多糖黏附素(polysaccharide intercellular adhesion, PIA)、磷壁酸、胞外 DNA (eDNA)和蛋白质等组成^[13]。EPS 的存在为细菌提供了一个物

理保护屏障,可以阻止抗生素或杀菌物质到达细菌,保障细菌正常生长。有研究发现,细菌的耐药性是由于抗生素运输受到限制,即带负电的EPS(如铜绿假单胞菌生物被膜中的海藻酸钠)与带正电的抗生素(如氨基糖苷类)相中和,延缓了抗生素的渗透^[14],这种抗生素渗透的延缓为细菌实现适应性应激反应提供了更多的时间。

胞外DNA在稳定生物被膜基质中起着核心作用,有助于阳离子梯度分布、基因组DNA释放和诱导抗生素耐药性。同时,eDNA作为一种阴离子大分子,其在BF中的螯合阳离子(Mg^{2+})特性可以诱导对阳离子抗菌肽的耐药性^[15]。当变异链球菌的感受态突变株产生eDNA的能力明显减弱时,其形成BF能力也会明显减弱。

外排泵(efflux pump, EP)广泛存在于细菌中,在多种细菌生物被膜耐药机制中起主要作用,其膜蛋白结构可以将大多数抗生素排出膜外^[16]。在SS的耐药菌株中,协助转运超家族MFS家族外排泵Tet(B)可将四环素类抗生素排出膜外,ABC家族外排泵MefA可将四环素、红霉素和克林霉素抗生素排出膜外等^[17-18]。耐多药外排泵作为当前细菌耐药性研究热点之一,在过度表达时会产生高水平的抗性。此外,外排泵与其他调控系统也可以进行协同作用,加强细菌的耐药性。本课题组研究发现添加外源性AI-2的猪链球菌中*satA*和*satB*的mRNA表达水平显著增加,LuxS/AI-2介导的QS系统可以通过调控外排泵SatAB相关基因的表达,进而增强了SS对氟喹诺酮类抗生素的耐药性^[19]。

2.2 生理因素

2.2.1 缓慢生长:营养物质缺乏是生物被膜的关键生理特征之一。BF的存在可以阻挡营养物质的

进入,导致膜内营养物质和氧供给的减少,细菌生长缓慢,进入生长静止期,使得细菌对抗生素的敏感性降低。有研究表明,(p)ppGpp可通过抑制核糖体RNA的产生来控制菌体的生长速度^[20]。例如,当缺氧和氨基酸饥饿时,细菌会降低自身生长速率,并且将细胞内本来用于核糖体生物合成的物质和能量用来维持基础的生长代谢,同时增强自身对抗生素的耐药性^[21]。

2.2.2 代谢适应:在高度结构化的生物被膜群体中,异质性空间中存在着不同基因型和表型的细胞,意味着生物被膜中的局部环境条件表达不同的代谢途径。同时,生活在生物被膜中的细菌呈梯度分布于BF的顶部与底部,也常常面临氧气和营养物质缺乏的情况,在这些条件下生存所需的代谢适应和低代谢活性导致细菌耐药性增加^[14]。在许多情况下,代谢适应可以通过降低质子动力(proton motive force, PMF),限制抗生素流入细胞内,比如,通过下调TCA循环基因和/或降低进入TCA循环的代谢物水平^[22]。也有许多导致耐药性增加的代谢适应是通过降低电子供体NADH和FADH₂的产生来介导的。电子供体的产生减少会降低PMF和/或可能降低细胞内源性杀菌活性氧(reactive oxygen species, ROS)的形成。因此,细菌在生物被膜内部具有低代谢活性时会出现抗生素耐药性增加的现象。

2.3 分子机制

2.3.1 水平基因转移:由可移动基因元件(mobile genetic elements, MGEs)介导的水平基因转移(horizontal gene transfer, HGT)普遍存在于细菌之间。以MGEs如质粒、转座子、整合子和整合性接合元件(integrative and conjugative elements, ICEs)为耐药基因的载体,介导各种耐药基因在细

菌间传递,使细菌耐药性迅速蔓延。有研究表明,细菌 DNA 的释放和转移是 BF 合成过程中的一部分,HGT 不仅提高 BF 的合成效率,稳定 BF 的结构,还促进了抗生素耐药性的传播^[23]。SS 具有开放的全基因组,并具有基因转移频繁和丰富多样性的特点,其 BF 内水平基因的转移也较为频繁。同时,细菌在不同药物基因和金属耐药基因的交换下可能使 SS 具有多重耐药性。

其中,质粒在细菌之间基因的水平转移中具有主导作用,抗生素抗性质粒通过水平基因转移赋予生物被膜抗性。在生物被膜密集的群体结构中,抗性质粒通过接合机制增加扩散,促进生物被膜耐药性的形成。在转座子进行转座时,在很多位点和质粒上都存在插入序列,其中间区域可以携带多种耐药基因,为耐药基因的水平转移提供了更多的可能。表 1 列出了与 SS 生物被膜有关

的耐药基因。当细菌 DNA 损伤时,既可以引起细菌发生 SOS 反应,也可以诱导一些 ICEs 的活化,使细菌维持一种低水平基因转移的方式,减少过度代谢对整个群体造成的负担^[24-25]。在 SS 生物被膜中,抗菌素耐药性(antimicrobial resistance, AMR)基因可随着 ICEs 从染色体上切除通过接合发生自主转移,增强耐药性的传播^[26]。例如,SS 强毒株 CZ130302 中的整合共轭元素可从染色体上切下,并通过接合从血清型 Chz 菌株 CZ130302 转移到血清型 2 菌株 P1/7,赋予血清型 2 菌株 P1/7 抗生素抗性基因(如四环素、强力霉素、红霉素、林可霉素等)^[27]。

2.3.2 基因突变:由于 BF 内的细菌群落含有多物种且具有异质性,即使在特定的细菌群落中,发生基因突变的概率也很高^[22]。基因发生突变有多种途径,通常是多步遗传物质的改变使细菌产生

表 1. 与猪链球菌生物被膜相关的抗生素耐药基因

Table 1. Antibiotic resistance genes associated with *Streptococcus suis* biofilm

Genes	Gene products	Functions	Antibiotics	References
<i>dltABCD</i>	Enzymes related to D-alanine of teichoic acid	Reduce negative cell wall charges	Gentamicin	[30]
<i>tet(M)</i>	Tet(M) resistance protein	Actively block tetracycline targets in 30S ribosomal subunits; related to conjugative transposon Tn916	Tetracycline	[11]
<i>tet(B)</i>	TetB protein	Unknown	Tetracycline	[17]
<i>mefA</i>	MefA protein	Unknown	Tetracycline, erythromycin, clindamycin	[18]
<i>Lsa(E)</i>	Encoding ABC transporter	Drugs flow from bacterial cells to target antibiotics	Lincosamides, streptogramin A, pleuromutilins (LSAP phenotype), erythromycin, clindamycin and tetracycline	[31-32]
<i>Erm(B)</i>	[adenine(2058)-N(6)]-methyltransferase	Unknown	Erythromycin	[33]
<i>Lnu(B)</i> (or <i>linB</i>)	lincosamide nucleotidyltransferase	Lincosamide inactivation by adenylation	Lincosamides, erythromycin, clindamycin and tetracycline	[32]
<i>gyrA</i>	Encodes 41-amino-acid quinolone resistance determining regions (QRDR)	Amino-acid substitutions caused by allelic mutations in the <i>gyrA</i> gene may reduce susceptibility to fluoroquinolones	Fluoroquinolone	[34]
<i>satA</i> and <i>satB</i>	Efflux pump SatAB	Efflux pump upregulation	Norfloxacin, enrofloxacin	[19]

耐药性。在基因水平转移中,转座子进行转座时,会使原有的基因结构发生改变,导致细菌基因突变的产生。除了对特定化学物质的固有耐药性之外,该特定基因产物的突变还通过减少或防止抗生素与靶蛋白结合而产生抗性。

2.3.3 蛋白的表达:在BF生长的过程中,一些基因优先表达,导致与抗生素抗性和毒力相关蛋白质的产生逐渐增加,这可能导致BF抗性特征的改变^[22]。在抗生素渗透时,积聚在EPS中的抗生素降解酶(β -内酰胺酶)会使抗生素失活,进而保护BF下的细菌。与此同时,膜内的细胞也会分泌过氧化氢酶,防止过氧化氢完全渗透。Bonifait等在培养基中补充纤维蛋白原,结果发现SS以剂量依赖的方式形成BF,且BF状态下的SS比浮游态更耐受青霉素G;同时发现,纤维蛋白原也可能通过刺激诱导粘附分子的表达促进BF的形成,这些粘附分子有助于SS细胞更好地相互粘附,减少抗生素的渗透^[28]。本实验组研究发现鸟氨酸氨甲酰转移酶(OCT)能提高SS形成生物被膜的能力及能降低粘附细胞的作用,进而增强细菌耐药性^[29]。

2.4 环境因素

2.4.1 应激反应:应激反应在细菌中普遍存在,BF中的细菌在营养物质、细菌密度、温度、pH值或渗透压等变化的环境应激下,诱导应激反应基因表达,会形成更耐受的表型。这种压力可能诱导BF发生突变并产生特异性高抗性。并且通过QS系统、(p)ppGpp或多聚磷酸激酶(polyphosphate kinase, PPK)等相互作用的信号网络进行调节。据相关研究报道,SS在小鼠体内连续传代后,在转录调控因子(参与抗氧化应激和毒力)调控下,与亲本菌株相比,小鼠适应菌株对氧化应激和高温压力应激更具有耐受性,应激耐受性和生物被膜形

成能力明显增强^[35]。本课题组研究发现,SS中*pdh*基因缺失株对细胞的粘附和侵袭能力、生物被膜形成和抗应激能力明显降低,*pdh*基因可以通过降低SS2的耐应激性和生物被膜的形成来调节其自身毒力,增强对抗生素的耐药性^[36]。

氧化应激是由于生理条件的改变而导致细菌产生耐药性。现如今,细菌已发展出复杂的氧化应激抵抗机制,包括多种酶清除ROS和蛋白质与游离铁的结合等。同时,有研究表明细菌中Sigma因子也是应激反应里的关键因素,它的存在可以对应激反应进行调节并降低氧化应激的易感性^[37]。

2.4.2 抗生素的亚抑菌浓度(sub-MIC)、毒素-抗毒素系统(TA)和持留菌:BF在防止抗生素渗透的同时,还会产生低于抗生素MIC的区域。大多数亚抑菌浓度(sub-MIC)的抗生素均可诱导细菌产生耐药性。本课题组研究发现,在加入亚抑菌浓度诺氟沙星(1/4MIC)、强力霉素(1/4和1/8MIC)和庆大霉素(1/2MIC和1/4MIC)后,SS生物被膜的形成能力和被膜下活细胞数量明显增加,进而促进了细菌耐药性的产生^[38]。毒素-抗毒素系统(toxin-antitoxin, TA)广泛存在于细菌中,是由两个共同表达基因组成的操纵子,分别编码稳定的毒素蛋白和不稳定的抗毒素。TA在应激条件下可以介导生物被膜下持留菌的形成^[39]。持留菌生长缓慢、耐高浓度的抗生素以及其他不利条件造成的毒害作用,产生持留现象,并且对多种药物具有耐药性。目前研究发现主要是II型TA系统与细菌的持留现象有关。II型TA系统介导HipBA、dinJ-yafQ、relBE、mazEF、mqsRA和ccdAB等操纵子的表达使细胞产生毒素,积累的毒素影响细胞内蛋白质的翻译、DNA和RNA的合成,抑制细胞形成,有利于生物被膜内形成持留菌,进一

步增加生物被膜对抗生素的耐药性^[40]。

3 展望

近年来, 细菌生物被膜的研究开辟了微生物学的一个新领域, 对微生物的生存方式有了进一步的认识。细菌生物被膜的广泛存在导致了细菌的多药耐药性、毒力增加和慢性感染, 这一事实对生物被膜感染的处理提出了挑战。因此, 猪链球菌生物被膜的形成是导致其致病性和耐药性增加的重要原因之一。为了预防和治疗猪链球菌病, 深入了解和掌握猪链球菌生物被膜的形成和耐药机制具有重要意义。目前, 关于猪链球菌生物被膜的相关研究热点主要集中在 LuxS/AI-2 型 QS 系统上, 其中 AI-2 与生物被膜形成和耐药机制的关系最为密切。本课题组研究发现调节 LuxS/AI-2 介导的 QS 系统具有可以抑制或清除猪链球菌生物被膜的潜力。尽管对猪链球菌生物被膜耐药机制的研究尚处于起步阶段, 但从现有研究中发现, 猪链球菌生物被膜的耐药性在 EPS、生长速度降低、代谢适应、水平基因转移、基因突变和应激反应等因素作用下产生。这些影响猪链球菌生物被膜形成耐药机制的因素, 为靶向抑制猪链球菌生物被膜耐药性的产生提供支持, 也有助于指导未来的研究药物如何影响猪链球菌生物被膜的耐药性。然而, 对猪链球菌生物被膜形成和耐药机制的研究仍有许多悬而未决的问题, 如是否存在影响猪链球菌生物被膜的新型耐药机制? 现有耐药机制之间是否存在相互调控? 如何从猪链球菌生物被膜耐药机制调控网络中找到切入点, 设计新型抗菌药物对抗猪链球菌生物被膜感染? 为了更好地控制猪链球菌生物被膜引发的感染, 对生物被膜耐药机制的研究还需进一步深入, 为新型

抗生素及靶向药物的开发、制定有效的疾病防控策略提供新的方法和思路。

参考文献

- [1] Segura M, Fittipaldi N, Calzas C, Gottschalk M. Critical *Streptococcus suis* virulence factors: are they all really critical? *Trends in Microbiology*, 2017, 25(7): 585–599.
- [2] Vötsch D, Willenborg M, Weldearegay YB, Valentin-Weigand P. *Streptococcus suis* - The "two faces" of a pathobiont in the porcine respiratory tract. *Frontiers in Microbiology*, 2018(9): 480.
- [3] Wang Y, Wang YX, Sun LY, Grenier D, Yi L. The LuxS/AI-2 system of *Streptococcus suis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(17): 7231–7238.
- [4] Waack U, Nicholson TL. Subinhibitory concentrations of amoxicillin, lincomycin, and oxytetracycline commonly used to treat swine increase *Streptococcus suis* biofilm formation. *Frontiers in Microbiology*, 2018(9): 2707.
- [5] Sauer K, Camper AK, Ehrlich GD, Coserterton JW, Davies DG. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(4): 1140–1154.
- [6] Meng XP, Shi YB, Ji WH, Meng XL, Zhang J, Wang HG, Lu CP, Sun JH, Yan YX. Application of a bacteriophage lysin to disrupt biofilms formed by the animal pathogen *Streptococcus suis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(23): 8272–8279.
- [7] Wang Y, Wang YX, Sun LY, Grenier D, Yi L. *Streptococcus suis* biofilm: regulation, drug-resistance mechanisms, and disinfection strategies. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(21): 9121–9129.
- [8] Grenier D, Grignon L, Gottschalk M. Characterisation of biofilm formation by a *Streptococcus suis* meningitis isolate. *The Veterinary Journal*, 2009, 179(2): 292–295.
- [9] Taylor PK, Yeung ATY, Hancock REW. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: towards the development of novel anti-biofilm therapies. *Journal of Biotechnology*, 2014(191): 121–130.

- [10] Williams P, Camara M, Hardman A, Swift S, Milton D, Hope VJ, Winzer K, Middleton B, Pritchard DI, Bycroft BW. Quorum sensing and the population-dependent control of virulence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2000, 355(1397): 667–680.
- [11] Liu BB, Yi L, Li JP, Wang YX, Mao CL, Wang Y. Autoinducer-2 influences tetracycline resistance in *Streptococcus suis* by regulating the *tet(M)* gene via transposon Tn916. *Research in Veterinary Science*, 2020(128): 269–274.
- [12] Yi L, Li JP, Liu BB, Wang Y. Advances in research on signal molecules regulating biofilms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2019, 35(8): 130.
- [13] Venkatesan N, Perumal G, Doble M. Bacterial resistance in biofilm-associated bacteria. *Future Microbiology*, 2015, 10(11): 1743–1750.
- [14] Walters MC III, Roe F, Bugnicourt A, Franklin MJ, Stewart PS. Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003, 47(1): 317–323.
- [15] Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 2017, 41(3): 276–301.
- [16] Soto SM. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. *Virulence*, 2013, 4(3): 223–229.
- [17] Chander Y, Oliveira SR, Goyal SM. Identification of the *tet(B)* resistance gene in *Streptococcus suis*. *Veterinary Journal*, 2011, 189(3): 359–360.
- [18] Chu YW, Cheung TK, Chu MY, Tsang VYM, Fung JTL, Kam KM, Lo JYC. Resistance to tetracycline, erythromycin and clindamycin in *Streptococcus suis* serotype 2 in Hong Kong. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2009, 34(2): 181–182.
- [19] Wang Y, Liu BB, Li JP, Gong SL, Dong X, Mao CL, Yi L. LuxS/AI-2 system is involved in fluoroquinolones susceptibility in *Streptococcus suis* through overexpression of efflux pump SatAB. *Veterinary Microbiology*, 2019(233): 154–158.
- [20] Potrykus K, Cashel M. (p)ppGpp: still magical? *Annual Review of Microbiology*, 2008, 62(1): 35–51.
- [21] Pabst B, Pitts B, Lauchnor E, Stewart PS. Gel-entrapped *Staphylococcus aureus* bacteria as models of biofilm infection exhibit growth in dense aggregates, oxygen limitation, antibiotic tolerance, and heterogeneous gene expression. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2016, 60(10): 6294–6301.
- [22] Crabbé A, Jensen PØ, Bjarnsholt T, Coenye T. Antimicrobial tolerance and metabolic adaptations in microbial biofilms. *Trends in Microbiology*, 2019, 27(10): 850–863.
- [23] Molin S, Tolker-Nielsen T. Gene transfer occurs with enhanced efficiency in biofilms and induces enhanced stabilisation of the biofilm structure. *Current Opinion in Biotechnology*, 2003, 14(3): 255–261.
- [24] Beaver JW, Hochhut B, Waldor MK. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes. *Nature*, 2004, 427(6969): 72–74.
- [25] Sitkiewicz I, Green NM, Guo N, Mereghetti L, Musser JM. Lateral gene transfer of streptococcal ICE element RD2 (region of difference 2) encoding secreted proteins. *BMC Microbiology*, 2011, 11(1): 65.
- [26] Libante V, Nombre Y, Coluzzi C, Staub J, Guédon G, Gottschalk M, Teatero S, Fittipaldi N, Leblond-Bourget N, Payot S. Chromosomal conjugative and mobilizable elements in *Streptococcus suis*: major actors in the spreading of antimicrobial resistance and bacteriocin synthesis genes. *Pathogens*, 2019, 9(1): 22.
- [27] Pan ZH, Liu J, Zhang Y, Chen SS, Ma JL, Dong WY, Wu ZF, Yao HC. A novel integrative conjugative element mediates transfer of multi-drug resistance between *Streptococcus suis* strains of different serotypes. *Veterinary Microbiology*, 2019(229): 110–116.
- [28] Bonifait L, Grignon L, Grenier D. Fibrinogen induces biofilm formation by *Streptococcus suis* and enhances its antibiotic resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(15): 4969–4972.
- [29] Wang Y, Yi L, Sun LY, Liu YC, Wen WY, Li XK, Mei JJ, Ding K, Wu TC, Grenier D. Identification and characterization of a *Streptococcus suis* immunogenic

- ornithine carbamoyltransferase involved in bacterial adherence. *Journal of Microbiology, Immunology Infection*, 2020, 53(2): 234–239.
- [30] Nilsson M, Rybtke M, Givskov M, Høiby N, Twetman S, Tolker-Nielsen T. The *dlt* genes play a role in antimicrobial tolerance of *Streptococcus mutans* biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2016, 48(3): 298–304.
- [31] Wendlandt S, Lozano C, Kadlec K, Gomez-Sanz E, Zarazaga M, Torres C, Schwarz S. The enterococcal ABC transporter gene *lsa(E)* confers combined resistance to lincosamides, pleuromutilins and streptogramin A antibiotics in methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2013, 68(2): 473–475.
- [32] Bojarska A, Molska E, Janas K, Skoczyńska A, Stefaniuk E, Hryniewicz W, Sadowy E. *Streptococcus suis* in invasive human infections in Poland: clonality and determinants of virulence and antimicrobial resistance. *European Journal of Clinical Microbiology and Infection Diseases*, 2016, 35(6): 917–925.
- [33] Hoa NT, Chieu TTB, Nghia HDT, Mai NTH, Anh PH, Wolbers M, Baker S, Campbell JI, Chau NV, Hien TT, Farrar J, Schultz C. The antimicrobial resistance patterns and associated determinants in *Streptococcus suis* isolated from humans in southern Vietnam, 1997-2008. *BMC Infectious Diseases*, 2011(11): 6.
- [34] Waters B, Davies J. Amino acid variation in the GyrA subunit of bacteria potentially associated with natural resistance to fluoroquinolone antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1997, 41(12): 2766–2769.
- [35] Hu YL, Hu Q, Wei R, Li RC, Zhao D, Ge M, Yao Q, Yu XL. The XRE family transcriptional regulator SrtR in *Streptococcus suis* is involved in oxidant tolerance and virulence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2019(8): 452.
- [36] Wang Y, Wang YX, Liu BB, Wang SH, Li JP, Gong SL, Sun LY, Yi L. *pdh* modulate virulence through reducing stress tolerance and biofilm formation of *Streptococcus suis* serotype 2. *Virulence*, 2019, 10(1): 588–599.
- [37] Dufour D, Leung V, Lévesque CM. Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance. *Endodontic Topics*, 2010, 22(1): 2–16.
- [38] Wang JY, Liu BB, Zhang GC, Li JP, Mao CL, Fan QY, Wang Y. Sub-MIC of doxycycline or gentamicin affect *S. suis* biofilm formation and virulence factors expression. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2020, 42(5): 494–499. (in Chinese)
王嘉怡, 刘宝宝, 张港琛, 李金朋, 毛晨龙, 樊擎莹, 汪洋. 亚抑菌浓度强力霉素或庆大霉素影响猪链球菌生物被膜形成和毒力因子表达的研究. *中国预防兽医学报*, 2020, 42(5): 494–499.
- [39] Lewis K. Persister cells: molecular mechanisms related to antibiotic tolerance. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 2012(211): 121–133.
- [40] Keren I, Kaldalu N, Spoering A, Wang YP, Lewis K. Persister cells and tolerance to antimicrobials. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 230(1): 13–18.

Biofilm-associated drug resistance in *Streptococcus suis*

Manyu Jin¹, Jinpeng Li¹, Li Yi², Yang Wang^{1*}

¹ College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, Henan Province, China

² College of Life Sciences, Luoyang Normal University, Luoyang 471022, Henan Province, China

Abstract: *Streptococcus suis* is a human-zoonotic infectious disease that seriously affects the pig industry and human health in various countries. It can cause septicemia, arthritis, meningitis and other diseases, thus causing huge economic losses. The biofilm formation is the main cause of increasing pathogenicity and drug resistance of *S. suis*. It is of great significance to understand and master the biofilm formation and drug resistance mechanism of *S. suis*, and to find the effective method of removing biofilm for the prevention and treatment of *S. suis*. This review updates the latest scientific knowledge about the formation and drug resistance mechanism of *S. suis* biofilm, focusing on biochemical factors, physiological factors, molecular mechanism and environmental changes, etc., to summarize and discuss the drug resistance mechanism of *S. suis* biofilm, to provide a scientific theoretical basis for the prevention and treatment of the disease.

Keywords: *Streptococcus suis*, biofilm, antibiotic resistance, drug resistance mechanisms

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31902309, 31772761)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-379-64282431; E-mail: wangyocan@163.com

Received: 22 July 2020; Revised: 13 October 2020; Published online: 28 January 2021