

幽门螺杆菌生物被膜形成及其影响因素研究进展

马郁荃¹, 谷海瀛^{1,2*}

(1.宁波大学 医学院, 浙江 宁波 315211; 2.宁波大学医学院附属医院, 浙江 宁波 315020)

摘要: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)是人类慢性感染最常见的病原菌之一, 会引发多种消化系统和非消化系统疾病. 研究表明: *H. pylori* 能在多种表面形成生物被膜, 包括宿主胃黏膜表面、腺体及非生物表面等, 其耐药性、感染复发与生物被膜作用相关. 本文介绍了 *H. pylori* 生物被膜形成及其结构特点, 并对其影响因素进行了综述, 以期对 *H. pylori* 生物被膜作用机制研究以及临床感染防治提供参考.

关键词: 幽门螺杆菌; 生物被膜; 影响因素

中图分类号: R378.99

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2022) 03-0070-06

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)是一种有鞭毛、微需氧、主要定植于人类胃肠黏膜上皮细胞表面的革兰氏阴性杆菌^[1]. *H. pylori* 感染不仅与消化系统疾病密切相关, 而且在一些非消化系统疾病中同样扮演着重要角色, 例如缺铁性贫血、特发性血小板减少紫癜、菌血症、肺炎以及类风湿性关节炎等^[2]. 目前 *H. pylori* 感染的致病机制细节还不清楚^[3].

细菌生物被膜(Bacterial Biofilm, BBF)是由一些菌体细胞集团被自身细胞外聚合基质(Extracellular Polymeric Substances, EPS)包围构成的一种微菌落膜状物或结构性细菌细胞聚合体^[4], 这种附着在材料表面和/或气液界面上形成的细胞微菌落被认为是细菌为适应周围不利生存环境而产生的获得性变异. 据报道^[5], 每年有近 570 万人死于传染病, 并且这些感染中 65%~80% 由形成生物被膜的细菌引起, 例如空肠弯曲菌^[6]、大肠弯曲菌^[7]等. *H. pylori* 也在体内外形成生物被膜, 其作用机制包括可能促进胃内存活^[8]、对抗菌药物的耐药性大大增强^[9-10]等. 目前 *H. pylori* 生物被膜形成的致病和耐药机制尚未被完全破解.

国内外研究表明^[11-13], *H. pylori* 生物被膜模型的构建面临很多挑战, 例如培养条件、培养基成

分和菌株之间的差异. 对这些问题的探索将有助于实验设计 and 对其结果的解释. 通过了解 *H. pylori* 生物被膜形成及其影响因素可以进一步揭开 *H. pylori* 生物被膜作用机制, 进而规避生物被膜形成及制定合适的根除策略, 以应对耐药性增强的 *H. pylori* 慢性感染. 本文就 *H. pylori* 生物被膜形成及其影响因素进行综述.

1 *H. pylori* 生物被膜形成

Stark 等^[14]首次证实体外 *H. pylori* 生物被膜形成, 通过配制 *H. pylori* NCTC 11637 菌悬液, 在布鲁氏肉汤添加 0.1% β -环糊精和葡萄糖, 37 °C 下连续流动培养, 在试管壁上观察到不溶于水的含糖膜状物, 采用改良的高碘酸希夫染色法进行染色后使用光镜观察, 发现生物被膜只有较少的细菌细胞. Cole 等^[15]应用含 2% 血清和 0.3% 葡萄糖的布鲁氏肉汤培养基调制菌悬液加入微孔板中, 将盖玻片以一定角度放置在微孔中, 37 °C 微需氧振荡培养 3~5 d, 证明了临床分离菌株、实验室菌株和适应小鼠的菌株都能在气液界面产生生物被膜; 使用石碳酸复红染色结合光镜看到生物被膜由密集细菌细胞构成. 这与文献^[14]描述不一致, 其原因可能是 Stark 等将粗制的生物被膜在尿素中煮

收稿日期: 2022-02-08.

宁波大学学报(理工版) 网址: <http://journal.lg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 浙江省自然科学基金重点项目(LZ14H200001).

第一作者: 马郁荃(1996-), 女, 山西晋城人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 临床检验诊断. E-mail: 532715773@qq.com

*通信作者: 谷海瀛(1966-), 男, 吉林长春人, 教授, 主要研究方向: 临床微生物. E-mail: guhaiying@nbu.edu.cn

沸破坏了细菌结构, 因此仅发现较少的细菌细胞. 除上述玻璃表面外, 其他材料表面也可形成 *H. pylori* 生物被膜, 如聚苯乙烯^[8]、MDCK 上皮细胞^[16]、AGS 细胞^[17]、不锈钢^[18]、蔬菜^[19]等, 甚至在池塘、河水、浅层地下水、污水和井水等水源中同样被证实存在这种结构^[20-22].

Carron 团队通过扫描电子显微镜(SEM)确认了人胃黏膜中 *H. pylori* 生物被膜的存在^[23], 该团队报告消化性溃疡患者(*H. pylori* 脲酶阳性)生物被膜的阳性率为 97.3%, 而脲酶阴性患者 *H. pylori* 生物被膜的阳性率为 1.64%, 证实脲酶阳性患者的生物被膜密度和覆盖率明显增加^[24]. 小鼠模型中 *H. pylori* 形成典型生物被膜的能力反映了人类胃部的同样状况^[25]. *H. pylori* 生物被膜不仅可以在宿主胃窦上皮表面存在, 也可在腺体内存在^[26]. 但是人类食管以及十二指肠等部位是否存在生物被膜形式的 *H. pylori* 尚未见报道. 荧光原位杂交(FISH)结合共聚焦扫描电镜图像证实浮游态 *H. pylori* 可以与生物被膜态 *H. pylori* 在定植中共存^[26], 两者比例有待进一步研究.

2 *H. pylori* 生物被膜结构特点

生物被膜中的菌体细胞紧密排列并被包裹在被膜基质中, 肉眼观察生物被膜可见一层斑块膜状物, 但随着观察仪器的进步, 可发现生物被膜并不是简单的细菌之间的黏附聚集, 而是一个动态的生物系统, 是具有功能异质性的有组织的微菌落^[27]. *H. pylori* 生物被膜形成过程包括定植、不可逆黏附、结构分化、发展成熟、解聚集再定植 5 个阶段. 定植与黏附是由疏水或静电相互作用以及特定的细菌表面分子驱动. 接着细菌繁殖, 不断分化, 形成微菌落. 在发展成熟过程中, 生物被膜越来越厚, 形成蘑菇状或塔状结构. 最后, 生物被膜局部溶解并释放出浮游细菌细胞扩散到其他位置形成新的生物被膜(图 1). 生物被膜中存在可以使营养物质循环的通道, 其结构和代谢的复杂性导致生物被膜类似于高等生物的组织. 生物被膜中细胞形态不仅有常规的“S”型, 还存在球状、“甜甜圈状”等异形 *H. pylori*^[28]. 在聚集体结构中还存在外膜囊泡(Outer Membrane Vesicle, OMV)、鞭毛等特殊结构^[17,29].

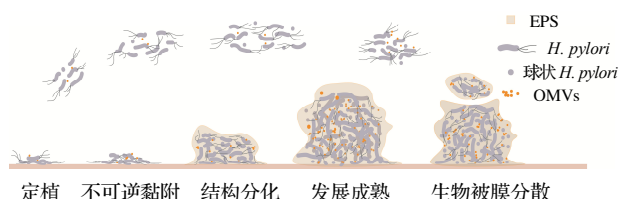


图 1 *H. pylori* 生物被膜形成过程模式

3 *H. pylori* 生物被膜形成的影响因素

3.1 菌体因素

Cole 等^[15]发现小猪适应菌株(N6)、小鼠适应菌株(SS1、SPM314 和 SPM326)、临床菌株(SD3、SD4、SD7 和 SD14)以及 ATCC26695 菌株和 ATCC43504 菌株都能形成生物被膜, 且具有类似的三维结构. Yonezawa 等^[30]研究了 4 株 *H. pylori* 参考菌株(SS1、ATCC49503、ATCC43579、NCTC11638)和 4 株临床菌株(TK1029、TK1402、KR2003、KR2005)的生物被膜形成能力, 结果表明, 从日本复合性溃疡患者中分离得到的 TK1402 菌株比其他菌株具有更强的生物被膜形成能力; 进一步研究发现, Alp β 蛋白在 *H. pylori* 生物被膜形成中发挥了重要作用^[31]. 扫描电镜证实生物被膜较薄的 *H. pylori* SS1 菌株为弱生物被膜形成菌株, 主要由泡状或无定形结构和较多自溶细胞组成, 而强生物被膜形成的 TK1402 菌株生物被膜主要由较厚的完整细胞和层状结构细菌聚集体组成^[32]. 这可能是由于强生物被膜形成菌株可以在相对较长时间内处于活跃代谢状态, 故能保持细胞结构完整^[32]. 进一步研究发现, 细菌的内源性代谢影响菌株形成生物被膜的能力^[33]. 此外, *H. pylori* TK1402 菌株定植能力强, 能在无菌小鼠、C57BL/6 小鼠和蒙古沙鼠的胃中成功定植. Yonezawa 等^[30]推测这种定植能力可能与其生物被膜形成能力强有关, 但弱生物被膜形成菌株 SS1 也能在小鼠和蒙古沙鼠定植^[34], 所以菌株定植能力可能与其生物被膜形成能力无关. 研究发现^[8,30], 强和弱生物被膜形成菌株的疏水性、运动性和自聚集性方面差异不显著. 而比较基因组学对菌株生物被膜形成能力研究发现, 强弱生物被膜形成菌株在 α -(1,3)-岩藻糖基转移酶、鞭毛蛋白、Hypothetical 蛋白、外膜蛋白、cagPAI 蛋白等基因方面存在差异^[35].

3.2 材料表面电荷

H. pylori 可在不同材料表面形成生物被膜. 聚

苯乙烯材质的 96 孔微孔板最为常用,通常用来结合结晶紫法对 *H. pylori* 生物被膜形成进行半定量检测. 使用结晶紫定量法(OD590)比较未经处理的聚苯乙烯(疏水性表面)、聚二甲基赖氨酸涂层的聚苯乙烯(亲水性, 正电荷), 或组织培养处理的聚苯乙烯(亲水性, 负电荷)3 种情况下 *H. pylori* G27 生物被膜形成, 发现在组织培养处理的聚苯乙烯上生物被膜形成最多, 说明 *H. pylori* G27 生物被膜形成受聚苯乙烯表面电荷影响, 负电荷的聚苯乙烯表面更能促进 *H. pylori* 生物被膜的形成^[12]. 但其他菌株以及材料表面电荷影响未见相关报道.

3.3 培养基

目前研究 *H. pylori* 生物被膜形成常用的培养基是布鲁氏肉汤、脑心浸液(BHI)肉汤或 Ham's F-12 培养基. 文献[36]通过结晶紫定量法证明培养基对幽门螺杆菌形成生物被膜的能力影响很大. 结合罗丹明-ConA 荧光染色观察证明组成生物被膜 EPS 基质的碳水化合物的数量与培养基相关, 在不加血清的 Ham's F-12 中形成生物被膜最多, EPS 基质最丰富. 由于胃内不存在血清, 因此不添加血清的 Ham's F-12 合成培养基似乎更能反映细菌在宿主体内定植和/或 *H. pylori* 感染胃黏膜时的环境, 更适合用来进行体外 *H. pylori* 生物被膜实验. 培养基添加的血清浓度似乎具有菌株依赖性, 文献[32]研究表明, TK1402 菌株在补充 7% 胎牛血清的布鲁氏肉汤中生物被膜形成最多, 而且观察到大量 OMV 结构, 不加血清培养基中形成的生物被膜中未见 OMV, 生物被膜形成较少^[32]. 原因可能是血清浓度影响 OMV 数量, 而 OMV 中 Alp β 蛋白有助于生物被膜的形成^[31]. 不同于 TK1402 菌株, SS1 菌株则在 2% 胎牛血清中形成生物被膜更多^[37], G27 菌株生物被膜相对稳定, 不受培养基轻微变化的影响, 也不受胎牛血清浓度的影响^[12,38]. 关于血清种类, 添加胎牛血清比马血清使菌株生物被膜形成能力更好^[32], 但其是否具有菌株差异性有待进一步研究.

另有, 研究表明^[12], 培养基中添加阿拉伯糖、丙酮酸钠、丙氨酸、天冬酰胺不同碳源对生物被膜形成影响不显著. 原因可能是 *H. pylori* 基因组中缺乏碳分解抑制(Carbon Catabolite Repression, CCR)的相关基因, 这是 *H. pylori* 与其他细菌物种之间的

关键区别之一. 但 *H. pylori* 生长受葡萄糖、淀粉和 2,6-二甲基- β -环糊精等多种氨基酸影响, 这些因素对 *H. pylori* 生物被膜形成有何影响有待研究.

3.4 黏蛋白

黏蛋白可促进肉汤培养基中 *H. pylori* 生长^[39]. Cole 等^[15]将黏蛋白加入培养基中发现其只促进浮游态细胞生长, 对 *H. pylori* 生物被膜的形成或黏附细菌量无影响. 而 Attaran 等^[8]将黏蛋白涂抹至空板底部发现能显著增加 *H. pylori* 生物被膜形成. 这表明黏蛋白可能只是通过改变细菌之间的黏附促进生物被膜的形成, 而不是作为一种培养基的补充剂发挥作用. 另一原因可能是 Cole 等采用高压灭菌方法, 使黏蛋白结构遭到破坏; 而 Attaran 等采用伽马辐照灭菌法保证了黏蛋白分子的完整性. 但这些研究都忽略了一个问题, 即黏蛋白只能溶于碱性水, 在培养基中添加黏蛋白会使培养基碱性增加, 可能会对 *H. pylori* 生物被膜形成造成影响.

3.5 金属离子、pH、气体环境

3.5.1 金属离子

金属离子是细菌生长必需的微量营养素, 细菌生命过程的酶大都依赖金属离子作为辅因子. 有文献报道^[40-41], 铁离子浓度影响金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌生物被膜的形成. *H. pylori* 铁摄取调节器(Fur)在铁稳态、氧分压、pH 以及胃黏膜定植中起作用^[42]. 研究证实 *fur* 基因在生物被膜中高表达, 但在 Fe^{2+} 存在情况下, *H. pylori fur* 基因被下调^[42]. 加入 Fe^{2+} 螯合剂 2, 2'-dipyridyl 能促进 *H. pylori luxS* 基因表达^[43], 而 *H. pylori luxS* 基因缺失导致生物被膜形成增加^[15]. 因此, Fe^{2+} 具体如何影响 *H. pylori* 生物被膜形成有待探讨. 关于 Fe^{3+} 研究表明, 在富含三价铁离子培养条件下, *H. pylori* 脱落的 OMV 富含脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS), 而加入 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铁剂会导致 Fe^{3+} 缺乏时脱落 OMV 的 LPS 含量显著降低^[44], LPS 作为一种胞外多糖影响细菌的自聚集性, 进而促进生物被膜的形成^[45]. 因此, 富含 Fe^{3+} 培养是否会通过增加 LPS 含量, 从而促进生物被膜的形成有待进一步研究.

环境中缺乏 Zn^{2+} 时, *H. pylori* 通过转录后水平调节 *lpxF*、*lpxL* 或 *lpxR* 基因使脂质 A 修饰途径和细胞表面特征改变, 从而促进生物被膜形成^[46]. 其他如 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cl^- 、 Na^+ 对 *H. pylori* 生物被膜形

成的影响尚未见报道。

3.5.2 气体环境和 pH

Attaran 等^[8]利用 Placket-Burman Design 探究 *H. pylori* 临床分离菌株形成生物被膜的有利因素时发现, 在 pH 为 2 时生物被膜的形成减少, 在微需氧环境和 pH 为中性时, *H. pylori* 能更好地形成生物被膜。文献^[39]证实了这一结果。渗透压有利于营养物质的渗透和扩散, 从而促进细菌生长。培养基渗透压同样能影响生物被膜形成, 在培养基中分别添加 0.5%、1.0% 和 2.0% 氯化钠, 生物被膜的形成逐渐减少^[35]。表明生物被膜形成的最佳条件应根据最大生物被膜形成, 而不是促进细菌生长条件来选择。

3.6 群体感应

群体感应(Quorum Sensing, QS)是生物被膜中细胞之间的一种有效通讯方式, 通过合成自诱导剂(Autoinducer, AI)作为信号分子来调控微生物间的群体行为。Cole 等^[15]通过构建 *H. pylori* 群体感应基因 *luxS* 缺陷的 *H. pylori* 突变体发现生物被膜形成增加, 表明其与生物被膜形成能力有关。LuxS 可以产生 QS 信号分子 AI-2(Autoinducer-2), AI-2 不仅可以通过化学感受器 TlpB 感知信号启动 QS 感应影响生物被膜形成^[21], 而且可以通过趋化反应影响生物被膜内黏附细胞的比例和均匀度。不能产生 AI-2 的菌株或趋化性有缺陷的菌株形成的生物被膜更加均匀, 黏附细胞更多。加入外源性 AI-2 导致浮游细胞增多, 生物被膜部分扩散^[16]。因此 QS 信号分子 AI-2 的趋化作用是 *H. pylori* 生物被膜空间组织和分散的决定因素。此外, 另一种 QS 信号分子 DSFs(Diffusible Signal Factor, DSFs)促进 *H. pylori* 向球状形式转换, 在生物被膜形成时细菌的自聚集过程发挥重要作用^[21]。QS 除能增加生物被膜抵御宿主的免疫防御外^[21], 还与耐药机制有关^[13]。因此, 有待寻找群体感应抑制剂(Quorum Sensing Inhibitors, QSIs)阻断菌体间信息交流, 抑制群体感应现象, 从而减少生物被膜形成。

4 总结与展望

随着生物被膜研究的深入, 发现其形成过程复杂, 影响因素众多, 具体机制尚不明确。目前关于生物被膜的研究多为体外实验, 所用菌株、材料

表面、培养基等不同为实验结果比较带来困难, 对研究 *H. pylori* 生物被膜的最佳菌株及理想方法还缺乏共识^[47]。0.4% 酵母提取物和 1% β -环糊精的 BHI 肉汤在 pH 为 7.0 和微需氧条件曾被认为是研究 *H. pylori* 生物被膜形成的最佳条件^[35]。G27 能在常规实验条件下形成较好的生物被膜且不受血清浓度影响^[12,17], 有望成为 *H. pylori* 生物被膜研究的最佳菌株。聚苯乙烯材质微孔板经组织培养处理更易形成生物被膜, 是对体外生物被膜定量的非生物表面的较好选择, 但其与胃内上皮条件相差甚远, 贴近体内条件的生物表面和动物模型有待研究。通过对 *H. pylori* 生物被膜的形成及其影响因素的研究有助于寻找新的作用靶点, 如针对强弱生物被膜形成菌株差异基因寻找靶向药物、针对环境理化因素干扰生物被膜形成、寻找 QSIs 抑制生物被膜等, 可为提高 *H. pylori* 根除率提供新思路。

参考文献:

- [1] Gu H Y. Role of flagella in the pathogenesis of *Helicobacter pylori*[J]. Current Microbiology, 2017, 74(7):863-869.
- [2] 赵明明, 罗微, 谷海瀛. 幽门螺杆菌感染引起非消化系统疾病的研究进展[J]. 宁波大学学报(理工版), 2020, 33(3):116-120.
- [3] Waskito L A, Salama N R, Yamaoka Y. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection[J]. Helicobacter, 2018, 23(S1):e12516.
- [4] Vestby L K, Grønseth T, Simm R, et al. Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease[J]. Antibiotics (Basel, Switzerland), 2020, 9(2):59.
- [5] Kalia V C, Patel S K S, Kang Y C, et al. Quorum sensing inhibitors as antipathogens: Biotechnological applications [J]. Biotechnology Advances, 2019, 37(1):68-90.
- [6] Joshua G W P, Guthrie-Irons C, Karlyshev A V, et al. Biofilm formation in *Campylobacter jejuni*[J]. Microbiology (Reading, England), 2006, 152(Pt 2):387-396.
- [7] Lynch C, O'Connor J A, O'Brien D, et al. First reported detection of biofilm formation by *Campylobacter fetus* during investigation of a case of prosthetic valve endocarditis[J]. Journal of Clinical Pathology, 2019, 72(8):554-557.
- [8] Attaran B, Falsafi T. Identification of factors associated with biofilm formation ability in the clinical isolates of *Helicobacter pylori*[J]. Iranian Journal of Biotechnology, 2017, 15(1):58-66.

- [9] Yonezawa H, Osaki T, Hojo F, et al. Effect of *Helicobacter pylori* biofilm formation on susceptibility to amoxicillin, metronidazole and clarithromycin[J]. Microbial Pathogenesis, 2019, 132:100-108.
- [10] Fauzia K A, Miftahussurur M, Syam A F, et al. Biofilm formation and antibiotic resistance phenotype of *Helicobacter pylori* clinical isolates[J]. Toxins, 2020, 12(8):473.
- [11] Hathroubi S, Servetas S L, Windham I, et al. *Helicobacter pylori* biofilm Formation and its potential role in pathogenesis[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2018, 82(2):e00001-e00018.
- [12] Windham I H, Servetas S L, Whitmire J M, et al. *Helicobacter pylori* biofilm formation is differentially affected by common culture conditions, and proteins play a central role in the biofilm matrix[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2018, 84(14):e00391-18.
- [13] 张恩恩, 叶晖, 刘宇, 等. 幽门螺杆菌生物膜效应的研究进展及中医药干预展望[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(10):97-100.
- [14] Stark R M, Gerwig G J, Pitman R S, et al. Biofilm formation by *Helicobacter pylori*[J]. Letters in Applied Microbiology, 1999, 28(2):121-126.
- [15] Cole S P, Harwood J, Lee R, et al. Characterization of mono species biofilm formation by *Helicobacter pylori*[J]. Journal of Bacteriology, 2004, 186(10):3124-3132.
- [16] Anderson J K, Huang J Y, Wreden C, et al. Chemorepulsion from the quorum signal autoinducer-2 promotes *Helicobacter pylori* biofilm dispersal[J]. mBio, 2015, 6(4):e00379-15.
- [17] Hathroubi S, Hu S, Ottemann K M. Genetic requirements and transcriptomics of *Helicobacter pylori* biofilm formation on abiotic and biotic surfaces[J]. Npj Biofilms and Microbiomes, 2020, 6:56.
- [18] Mackay W G, Gribbon L T, Barer M R, et al. Biofilms in drinking water systems—A possible reservoir for *Helicobacter pylori*[J]. Water Science and Technology, 1998, 38(12):181-185.
- [19] Ng C G, Loke M F, Goh K L, et al. Biofilm formation enhances *Helicobacter pylori* survivability in vegetables [J]. Food Microbiology, 2017, 62:68-76.
- [20] Batté M, Appenzeller B M R, Grandjean D, et al. Biofilms in drinking water distribution systems[J]. Reviews in Environmental Science and Bio, 2003, 2(2/3/4):147-168.
- [21] Challa N, Neelapu N R R. Quorum sensing in *Helicobacter pylori*: Role of biofilm and its implications for antibiotic resistance and immune evasion[EB/OL]. [2022-01-10]. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2429-1_18.
- [22] Watson C L, Owen R J, Said B, et al. Detection of *Helicobacter pylori* by PCR but not culture in water and biofilm samples from drinking water distribution systems in England[J]. Journal of Applied Microbiology, 2004, 97(4):690-698.
- [23] Carron M A, Tran V R, Sugawa C, et al. Identification of *Helicobacter pylori* biofilms in human gastric mucosa[J]. Journal of Gastrointestinal Surgery, 2006, 10(5):712-717.
- [24] Coticchia J M, Sugawa C, Tran V R, et al. Presence and density of *Helicobacter pylori* biofilms in human gastric mucosa in patients with peptic ulcer disease[J]. Journal of Gastrointestinal Surgery: Official Journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract, 2006, 10(6):883-889.
- [25] Attaran B, Falsafi T, Moghaddam A N. Study of biofilm formation in C57Bl/6J mice by clinical isolates of *Helicobacter pylori*[J]. Saudi Journal of Gastroenterology: Official Journal of the Saudi Gastroenterology Association, 2016, 22(2):161-168.
- [26] Rizzato C, Torres J, Kasamatsu E, et al. Potential role of biofilm formation in the development of digestive tract cancer with special reference to *Helicobacter pylori* infection[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10:846.
- [27] Costerton J W, Stewart P S, Greenberg E P. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections[J]. Science, 1999, 284(5418):1318-1322.
- [28] Cellini L, Grande R, Traini T, et al. Biofilm formation and modulation of *luxS* and *rpoD* expression by *Helicobacter pylori*[J]. Biofilms, 2005, 2(2):119-127.
- [29] Servetas S L, Doster R S, Kim A, et al. ArsRS-dependent regulation of *homB* contributes to *Helicobacter pylori* biofilm formation[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9:1497.
- [30] Yonezawa H, Osaki T, Kurata S, et al. Assessment of *in vitro* biofilm formation by *Helicobacter pylori*[J]. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2010, 25:S90-S94.
- [31] Yonezawa H, Osaki T, Fukutomi T, et al. Diversification of the AlpB outer membrane protein of *Helicobacter pylori* affects biofilm formation and cellular adhesion[J]. Journal of Bacteriology, 2017, 199(6):e00729-16.
- [32] Yonezawa H, Osaki T, Kurata S, et al. Outer membrane vesicles of *Helicobacter pylori* TK1402 are involved in biofilm formation[J]. BMC Microbiology, 2009, 9:197.
- [33] Wong E H J, Ng C G, Goh K L, et al. Metabolomic analysis of low and high biofilm-forming *Helicobacter pylori* strains[J]. Scientific Reports, 2018, 8:1409.

- [34] 朱媚, 马郁荃, 谷海瀛. 幽门螺杆菌感染小鼠模型的应用进展[J]. 宁波大学学报(理工版), 2021, 34(3):91-95.
- [35] Wong E H J, Ng C G, Chua E G, et al. Comparative genomics revealed multiple *Helicobacter pylori* genes associated with biofilm formation *in vitro*[J]. PLoS One, 2016, 11(11):e0166835.
- [36] Bessa L J, Grande R, Iorio D D, et al. *Helicobacter pylori* free-living and biofilm modes of growth: Behavior in response to different culture media[J]. APMIS, 2013, 121(6):549-560.
- [37] Hathroubi S, Zerebinski J, Ottemann K M. *Helicobacter pylori* biofilm involves a multigene stress-biased response, including a structural role for flagella[J]. mBio, 2018, 9(5):e01973-18.
- [38] Hathroubi S, Zerebinski J, Ottemann K M. *Helicobacter pylori* biofilm cells are metabolically distinct, express flagella, and antibiotic tolerant[EB/OL]. [2022-01-10]. <https://doi.org/10.1101/728766>.
- [39] Jiang X, Doyle M P. Growth supplements for *Helicobacter pylori*[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2000, 38(5):1984-1987.
- [40] Lin M H, Shu J C, Huang H Y, et al. Involvement of iron in biofilm formation by *Staphylococcus aureus*[J]. PLoS One, 2012, 7(3):e34388.
- [41] Oliveira F, França Â, Cerca N. *Staphylococcus epidermidis* is largely dependent on iron availability to form biofilms[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2017, 307(8):552-563.
- [42] de la Cruz M A, Ares M A, von Bargen K, et al. Gene expression profiling of transcription factors of *Helicobacter pylori* under different environmental conditions[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8:615.
- [43] 胡浩然. 缺铁环境对幽门螺杆菌 *luxS* 基因表达的影响[D]. 福州: 福建医科大学, 2018.
- [44] Keenan J I, Davis K A, Beaugie C R, et al. Alterations in *Helicobacter pylori* outer membrane and outer membrane vesicle-associated lipopolysaccharides under iron-limiting growth conditions[J]. Innate Immunity, 2008, 14(5):279-290.
- [45] Sorroche F, Bogino P, Russo D M, et al. Cell autoaggregation, biofilm formation, and plant attachment in a *Sinorhizobium meliloti lpsB* mutant[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2018, 31(10):1075-1082.
- [46] Gaddy J A, Radin J N, Cullen T W, et al. *Helicobacter pylori* resists the antimicrobial activity of calprotectin via lipid A modification and associated biofilm formation[J]. mBio, 2015, 6(6):e01349-15.
- [47] Hathroubi S, Zerebinski J, Clarke A, et al. *Helicobacter pylori* biofilm confers antibiotic tolerance in part via a protein-dependent mechanism[J]. Antibiotics (Basel, Switzerland), 2020, 9(6):355.

Progress in the study of *Helicobacter pylori* biofilm formation and its influencing factors

MA Yuquan¹, GU Haiying^{1,2*}

(1.School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2.The Affiliated Hospital of Medical School, Ningbo University, Ningbo 315020, China)

Abstract: *Helicobacter pylori* is one of the most common pathogens of chronic human infections and is commonly responsible for a wide range of digestive and non-digestive diseases. *H. pylori* has been shown to form biofilms on a variety of surfaces, including host gastric mucosal surfaces, glands and abiotic surfaces. Increased drug resistance and recurrence of infection have been linked to the action of the biofilm. In this article, we introduce the formation of *H. pylori* biofilm and its structural characteristics. The article also reviews the factors influencing the formation of *H. pylori*. The article is aimed to provide a method and reference for the study of the mechanism of *H. pylori* biofilm, in order to serve the prevention and treatment of infection in clinical settings.

Key words: *Helicobacter pylori*; biofilm; influencing factors

(责任编辑 史小丽)