



空肠弯曲杆菌生物膜形成和调控机理研究进展

吴清平^{1*}, 钟显^{1,2}, 张菊梅¹

¹ 广东省微生物研究所, 省部共建华南应用微生物国家重点实验室, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东省微生物应用新技术公共实验室, 广东 广州 510070

² 广东工业大学轻工化工学院, 化学工程专业, 广东 广州 510006

摘要: 空肠弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*)分泌胞外多糖和各种胞外蛋白和核酸等相互交联在一起构成生物膜, 可增强其在不利环境下的生存率, 尤其是对各种洗涤剂、抗生素和消毒剂的耐受力。本文从介质表面性质、温度、气体环境、以及基因的调控等多方面阐述了空肠弯曲杆菌生物膜结构及形成调控机制, 同时对各种去除生物膜的实际应用做了分析和展望, 为探寻生物膜的控制方法提供参考。

关键词: 空肠弯曲杆菌, 生物膜, 调控机制

空肠弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*)是一种革兰氏阴性的苛性营养菌, 对温度和氧气浓度等环境条件要求很高, 它不适宜生存在自然有氧的环境中。但事实上, 它却广泛传播, 可以从食物、水源等途径分离得到。那么它是如何克服各种不利因素, 穿过食物链途径, 最终使得人和动物致病的呢? 具体过程不得而知, 但生物膜的形成对其保护作用不容忽视。

生物膜是细菌之间通过彼此附着或是镶嵌在自身分泌的胞外基质里面所形成的细胞团体结构, 从形成到降解其过程分为5个阶段^[1]。研究表明, 生物膜形成以后, 其抗逆性大大增强, Joshua GP等^[2]证明生物膜态空肠弯曲杆菌可以在环境中存活比浮游态更久, 对抗生素的耐性也增

强。近年来, 食品生产中关于控制生物膜的研究成为了热点。本实验室近年来开展了全国性食品中空肠弯曲杆菌的污染调查和风险识别研究, 通过对污染进行追踪和溯源分析, 发现生物膜在空肠弯曲杆菌污染过程中充当重要角色, 它保护空肠弯曲杆菌在不利环境中生存下来并在有利条件下释放病菌。本文从空肠弯曲杆菌生物膜结构和形成、调控机理、以及生物膜的控制等方面对最新的研究进行归纳和总结, 以期对相关研究和食品生产中控制污染提供参考。

1 空肠弯曲杆菌生物膜的结构和形成

1.1 空肠弯曲杆菌生物膜形态及鉴定

空肠弯曲杆菌的生物膜有3种状态: (1)在固

基金项目: 粤港关键领域突破项目(2011A011303001); 广东省科技计划项目(2012B050800007)

*通信作者: Tel/Fax: +86-20-87688132; E-mail: wuqp203@163.com

收稿日期: 2015-05-26; 修回日期: 2015-07-08; 网络出版日期: 2015-09-11

体表面附着形成, 比如聚苯乙烯、玻璃、钢等介质表面; (2)在气液表面形成薄膜; (3)在液体内部形成絮状团块^[2]。目前主要采用结晶紫染色法^[3]并结合扫描电子显微镜(SEM)和激光共聚焦电子显微镜(CLSM)法鉴定空肠弯曲杆菌生物膜。经过扫描电子显微镜观察, 这3种状态均为相似结构。

1.2 空肠弯曲杆菌生物膜形成的介质表面性质

空肠弯曲杆菌生物膜一般都在与食品接触的表面, 比如不锈钢、塑料等表面或是在动物饲养的供水管道内侧。Ryan等^[4]验证各种食品生产过程可能遇到的介质表面包括亲水性质玻璃和铜表面, 以及疏水性质的聚苯乙烯塑料、ABS和PVC等发现, 每种界面成膜能力不一致但疏水性界面较好。空肠弯曲杆菌的这种性质与单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)、沙门氏菌(*Salmonella* spp.)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)等类似^[5-7]。Victoria等^[8]验证木材、不锈钢和玻璃3种物质发现木材表面最易成膜, 可能是木材表面空隙可以卡住细菌和颗粒物质。Helen等^[9]研究得到类似发现, 有鸡肉汁附着的不锈钢表面更易形成空肠弯曲杆菌生物膜。总之, 介质表面疏水性和粗糙度对空肠弯曲杆菌生物膜的形成非常重要。

1.3 空肠弯曲杆菌生物膜形成的环境条件

空肠弯曲杆菌生物膜的形成还与氧气浓度、温度、液体流速、营养物质以及细菌组成等环境条件相关。尤其是对温度和氧气浓度, Reuter等^[10]通过实验发现空肠弯曲杆菌菌株NCTC11168在大气环境中比在微需氧时生物膜形成量高且更早。Asakura等^[11]发现类似结果, 但都只利用模式菌株NCTC11168。有趣的是, Ryan等^[4]却证明M129在越适宜生存的氧气条件下越利于空肠弯曲杆菌生物膜形成。那么一般的空肠弯曲杆菌在氧气压力下生物膜形成是怎样? Helen等^[9]通过对NCTC11168以及其它4株受试菌实验, 发现在玻璃材质上5株

受试菌在微需氧条件下生物膜形成能力均高于大气条件, 但在聚苯乙烯材质表面, 这5株空肠弯曲杆菌却一致有相反的结果, 所以介质与气体条件同时影响生物膜的形成。Dykes等^[12]发现生物膜在4 °C比在37 °C形成能力强, 但Ryan等^[4]发现37 °C形成能力高于25 °C, 可能是不同温度时不同菌株形成能力不同的缘故, 且对于研究空肠弯曲杆菌的温度很多实验设定在37 °C, 这个温度既不是家禽体内定殖的最适温度42 °C, 也不是一般食品生产过程中的合适温度25 °C, 研究可能更多的需要考虑现实意义。

营养物质也是影响空肠弯曲杆菌生物膜形成的重要原因。Ryan等^[4]采用MHB、布氏肉汤和Bolton肉汤, 发现在营养最贫乏的MHB中生物膜形成最多。且在添加各种不同程度增大渗透压的物质, 比如食盐、葡萄糖等都会使生物膜大大减少, 可能是渗透压的改变影响空肠弯曲杆菌生长和繁殖, 从螺旋杆状变成圆球状的活的不可培养(VBNC)状态。生物膜静态比动态容易形成, Joshua等^[2]发现, 在液体培养时, 正常转速80-100 r/min下组织培养瓶内壁没有细菌附着, 而静止培养时却出现附着的生物膜。由此也给食品加工行业预防细菌生物膜的形成提供启发。

在自然界中, 生物膜由多种不同细菌共同构成。生物膜的形成之初是主动粘附界面的阶段。空肠弯曲杆菌在混菌状态下构成生物膜是否是生物膜最初的发起者呢? Sanders等^[13]证明单一的空肠弯曲杆菌生物膜常在特定有利于它生长的状况下才形成, 因为在宿主体外, 它对环境的耐受力很弱, 成为原发性定殖形成生物膜的可能性很小。Hanning等^[14]也证明了这个观点, 并且发现过程中没有发生细胞间的信号分子交流, 属于一种物理过程。在生物膜中, 细菌细胞镶嵌在它分泌产生的胞外物质里拉近了细胞之间的交流, 可以分享营养物质、酶类以及二次代谢产物^[15]。空肠弯曲杆菌基因组相对比较小, 基本代谢产物的生

物合成能力有限,但运载系统发达,可以将其他细菌产生的二次代谢产物运输给自己^[14,16]。此外,Hilbert等^[17]在大气环境下将空肠弯曲杆菌和铜绿假单胞菌共生培养,发现空肠弯曲杆菌的生长良好,Ica等^[18]也得出相同结论,并对共生形成的生物膜作用机制进行探究,发现共生生物膜的形成不仅有利于空肠弯曲杆菌利用铜绿假单胞菌的次级代谢产物,铜绿假单胞菌消耗氧气还可以给空肠弯曲杆菌有利的微需氧环境。

2 空肠弯曲杆菌生物膜的调控机理

细菌本身的附属结构是形成生物膜的关键因素。比如说鞭毛、纤毛、菌柄等结构可以是生物膜形成初期粘附到介质表面有力的触手,同时也可以消除与界面产生的静电斥力,更好粘附。对于空肠弯曲杆菌,最重要的粘附结构便是鞭毛。对鞭毛的研究现在比较透彻,人们通过基因敲除的办法构建鞭毛基因 $flab$ 突变株,证实鞭毛基因在空肠弯曲杆菌早期粘附过程中有重要作用^[10,19-20]。此外,鞭毛还是空肠弯曲杆菌与运动相关的重要器官,Martin等^[21]通过比较浮游态与生物膜态蛋白表达情况,发现生物膜态与运动相关蛋白比浮游态高出很多倍,其中,这些在生物膜态时上调的运动相关蛋白主要是鞭毛基因 $flab$ 和趋向性蛋白CheA等。运动与生物膜形成相关,Reuter等^[10]发现运动能力缺失的菌株生物膜量减少。

生物膜的构成主要是胞外多糖、蛋白质、核酸以及小分子物质等。这些控制胞外分泌物的基因均有可能影响生物膜的形成。比如Asakura等^[11]通过敲除与粘附相关胞外蛋白PEB4基因,发现其对真核生物的侵袭定植能力和生物膜形成能力均下降。Helen等^[22]通过比较eDNA酶添加与未添加两种状况下成膜量,证明eDNA是空肠弯曲杆菌生物膜的重要组成成分。一类起应激调节作用的基因也发挥作用,特别是对氧的应激反应。比如

空肠弯曲杆菌调节对氧气适应力相关的烷基氢过氧化物还原酶基因 $ahpC$ (alkyl hydroperoxide reductase)主要是清除细胞内活性氧和脂质氢过氧化物,它的缺失表达可以使细菌运动能力略有降低,理论上运动能力降低会使生物膜减少,但事实上生物膜依然显著增加,说明不是运动导致生物膜的变化,主要是 $ahpC$ 基因缺失的影响,同时Oh等^[23]通过实验还证明了在 $ahpC$ 过表达时会降低生物膜的形成。此外,超氧化物歧化酶基因 $sodB$ 和 $sodC$,还有介导氧气应激反应的 $CrSA$ 神经酰胺合成酶(ceramide synthase)基因的表达可以增强空肠弯曲杆菌对氧气压力的耐受性,并使运动能力、粘附和定植肠上皮细胞的能力增加,促进生物膜的形成等^[23-24]。这类影响生物膜形成的相关基因表达是由应激反应调节系统有序调控作用的结果。细菌中最常见的调节系统叫双组分调节系统(TCRSs),它通过传感器组氨酸激酶(SK)和与其同源的胞质DNA结合反应调节蛋白(RR)之间的磷酸化转换来传递环境变化的信息^[25]。TCRSs在许多病原菌中控制与毒力和生存密切相关的表型,而在空肠弯曲杆菌中发现CprRS (Campylobacter planktonic growth regulation)双组分调节系统,它包含一个关键的应激反应因子(CprR),和对外界刺激感应的激酶CprS^[26]。CprS是一种组氨酸蛋白激酶,用来感受外界环境的刺激,通过自体磷酸化来传递信息给胞质内的反应调节蛋白CprR,CprR的N端含有能接受磷酸基团的天冬氨酸残基位点,相对保守,为调控序列,C端为效应区,有能与不同DNA序列特异性结合的位点。外界的刺激会首先使得CprS磷酸化,随后,因为CprS与CprR相邻且同源,它们共同构成一个转录操纵子,CprR的调控序列与磷酸化的组氨酸激酶相互作用,使得激酶上的磷酸基团转移到天冬氨酸位点上,激活CprR的效应区,使其构象改变,产生一系列反应,调控下游膜蛋白相关基因的表达。

Svensson^[26]等构建 Δ CprS突变株,发现生物膜显著增强,因为CprS缺失导致了与其同源相邻的CprR磷酸化程度减少,使得下游与膜蛋白相关基因表达异常。CprRS TCRSSs系统主要是通过控制空肠弯曲杆菌关键的生物合成进程、抗逆性以及生物膜的形成来调节其生存能力和发病机制相关的表型,是空肠弯曲杆菌调控细胞膜表面相关基因表达的首要调节系统,使得这种脆弱的病原菌能够在环境中生存下来^[25]。生物膜的形成和调控是多种调控系统以及对应的大量基因协同作用的结果,目前研究得较多的调节系统还有群体感应系统。它也可以调节细菌各项生命活动,包括胞外蛋白和各种酶的合成、生物膜的生长、抗生素的生物合成、生物表面活性剂的合成、胞外多糖的合成以及革兰氏阴性细菌的胞外毒力基因的表达等^[27],其中起作用的物质被称为信号分子。信号分子调控机制在副溶血性弧菌上^[28]研究较多,由Luxs基因产生AI-2类信号分子调控机制最为常见。Eivers等^[29]证实了空肠弯曲杆菌的Luxs基因在突变菌株中不产生AI-2信号分子,而且还证明在生长的不同阶段信号分子的表达情况也不一样。AI-2信号分子受体有两类,在其它菌株中已被证实,一类受体感受信号分子通过双组分信号系统,另一类受体通过内化和磷酸化AI-2信号分子,但在空肠弯曲杆菌中暂未发现有受体存在,Linda等^[30]对空肠弯曲菌内的信号分子AI-2做了深入研究,通过实验否定了内化作用的影响,并提出以后的研究应该更多的转向双组分信号系统的研究上来。信号分子是细胞间的一种交流方式,通过信号分子的表达,可以使细胞间的交流增多,甚至使DNA发生转移,比如某些空肠弯曲杆菌携带的抗生素抗性基因会在生物膜膜内不同菌株间发生传递^[31],从而增强整个群体的抗生素抗性,还可以调节生物膜的形成及裂解。

3 空肠弯曲杆菌生物膜形成的控制方法

3.1 物理化学清洗法

在食品行业中,机械冲洗是减少生物膜的重要手段,但难以解决死角残留的问题。利用各种不同的表面活性剂和强力去污剂以及酸碱或氧化剂等,时间长了又会对食品加工机械不锈钢的表面造成腐蚀,改变金属表面原本光滑不易粘附的结构,造成更为严重的生物膜粘附,且化学物质很难穿透已经形成的生物膜到达内部杀灭细菌^[32]。

3.2 生物防治法

生物防治包括生物酶、噬菌体等。生物酶洗涤剂被称为是一种绿色的清洗剂,能高效去除特定的生物膜。但生物膜是由各种不同的蛋白和多糖等构成,而酶的专一性使得降解过程需要大量不同的酶类,过程复杂。噬菌体在自然界中无所不在,用噬菌体去侵染形成生物膜的细菌可行性很高,精确又无毒性^[33]。但要确定生物膜形成的细菌种类相当困难,目前这种方法还并未成功运用到实际生产中。总的来说用生物防治法去除某类病原菌的生物膜过程非常复杂。

3.3 天然植物提取物添加法

天然植物法是指利用自然界的各种天然植物或其抽提物来抑制生物膜的形成,其好处在于绿色且可行性高。Salaheen等^[34]发现黑莓和蓝莓果渣可显著抑制空肠弯曲杆菌的生长,添加在肉制品和饮用水中,既能改善风味还能杀菌,最重要的是无公害。还有很多已经被发现及证实有抑制甚至杀灭空肠弯曲杆菌功效的物质比如桔类抽提物以及卡拉胶和芥末^[35-36]等。这些无毒无害的天然产物杀菌作用显示了美好的前景,但是其抑制生物膜的功效还要进一步研究和改善。

3.4 纳米氧化物处理法

近年来,有关纳米抗菌材料的研究已经成为

了热点。Aruoja等^[37]通过比较纳米ZnO、CuO、TiO₂的杀菌效果,发现氧化锌效果最好。氧化锌是一种常用的化学添加剂,广泛地应用于塑料、油漆涂料、药膏、食品等产品的制造中。氧化锌能带隙和激子束缚能较大,在自然光下就能产生电子跃迁起到杀菌效果,如果用在食品行业还可以给人体补充微量元素^[39],特别是对空肠弯曲杆菌的抑制效果非常好^[37]。

它的杀菌机理为^[38]: ZnO在可见光或者紫外光下受到激发产生电子空穴对e⁻和h⁺, h⁺将水分子劈开成为羟基自由基·OH与氢离子H⁺,溶解氧分子则变成超氧化物自由基阴离子·O⁻²,反过来与H⁺结合产生HO₂·随后在与电子e⁻的碰撞中产生HO₂⁻;最后与H⁺结合形成H₂O₂。

具体反应方程式: $ZnO+h\nu\rightarrow e^{-}+h^{+}$;

$h^{+}+H_2O\rightarrow\cdot OH+H+e^{-}+O_2\rightarrow\cdot O^{-2}$;

$\cdot O_2+H^{+}\rightarrow HO_2\cdot$;

$HO_2\cdot+H^{+}+e^{-}\rightarrow H_2O_2$ 。

羟基自由基与超氧化物自由基均带有负电荷,无法穿透生物膜杀灭细菌,但是过氧化氢可以。氧化锌纳米颗粒比表面积大,性质稳定,可以持续杀灭细菌,在以后食品加工设备上用作涂层既方便实用又可有效控制空肠弯曲杆菌及其它一些病原菌的生长。纳米氧化锌杀灭空肠弯曲杆菌的机理已有研究^[39],但对空肠弯曲杆菌的生物膜作用还未见报道。本文作者通过实验发现纳米氧化锌对空肠弯曲杆菌的生物膜有很好抑制效果,正在研究其抑制生物膜的内在机理。纳米氧化锌颗粒因其有这些独特的优势,有望在未来控制食品空肠弯曲杆菌污染中进行应用。

4 问题和展望

目前国内外对于空肠弯曲杆菌生物膜形成的分子机理的研究尚有待深入,与生物膜形成相关的群体感应系统信号分子的受体研究不够清晰;

另外在CprRS TCRSs系统中,由于在体外很难纯化CprS,CprS是否直接导致CprR磷酸化还没有被证实。由于生物膜的调控本身就是一个复杂的过程,今后的研究要结合各种因素,包括形成生物膜的外部条件以及内在不同的调控系统和基因进行综合分析。

近年来,本实验室的李辉、陈谋通^[40]相继初步摸索了阪崎肠杆菌和单增李斯特菌生物膜形成和调控机理。随着实验室陆续对全国范围内食品中食源性致病菌(包括空肠弯曲杆菌)的采样调查研究的完成和污染溯源分析,目前已建立起包括空肠弯曲杆菌在内的食源性致病菌标准菌种资源库,保藏菌株超过16000株,下一步将对分离得到的我国代表性空肠弯曲杆菌优势菌株进行全基因组测序,挖掘新的分子靶标,在建立快速高通量检测技术的同时,将对其生物膜形成的信号转导和调控机制进行进一步研究,以期为预防和控制空肠弯曲杆菌在食品中的污染提供理论依据和技术支持。

参考文献

- [1] Winkelströter LK, dos Reis Teixeira FB, Silva EP, Alves VF, de Martinis ECP. Unraveling microbial biofilms of importance for food microbiology. *Microbial Ecology*, 2014, 68(1): 35–46.
- [2] Joshua GWP, Guthrie-Irons C, Karlyshev AV, Wren BW. Biofilm formation in *Campylobacter jejuni*. *Microbiology*, 2006, 152(2): 387–396.
- [3] Naito M, Frirdich E, Fields JA, Pryjma M, Li J, Cameron A, Gilbert M, Thompson SA, Gaynor EC. Effects of sequential *Campylobacter jejuni* 81-176 lipooligosaccharide core truncations on biofilm formation, stress survival, and pathogenesis. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(8): 2182–2192.
- [4] Reeser RJ, Medler RT, Billington SJ, Jost BH, Joens LA. Characterization of *Campylobacter jejuni* biofilms under defined growth conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(6): 1908–1913.
- [5] Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging*

- Infectious Diseases*, 2002, 8(9): 881–890.
- [6] Mariani C, Oulahal N, Chamba JF, Dubois-Brissonnet F, Notz E, Briandet R. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by resident biofilms present on wooden shelves used for cheese ripening. *Food Control*, 2011, 22(8): 1357–1362.
- [7] September SM, Els FA, Venter SN, Brözel VS. Prevalence of bacterial pathogens in biofilms of drinking water distribution systems. *Journal of Water and Health*, 2007, 5(2): 219–227.
- [8] Adetunji VO, Isola TO. Crystal violet binding assay for assessment of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp on wood, steel and glass surfaces. *Global Veterinaria*, 2011, 6(1): 6–10.
- [9] Brown HL, Reuter M, Salt LJ, Cross KL, Betts RP, van Vliet AHM. Chicken juice enhances surface attachment and biofilm formation of *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(22): 7053–7060.
- [10] Reuter M, Mallett A, Pearson BM, van Vliet AHM. Biofilm formation by *Campylobacter jejuni* is increased under aerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(7): 2122–2128.
- [11] Asakura H, Yamasaki M, Yamamoto S, Igimi S. Deletion of *peb4* gene impairs cell adhesion and biofilm formation in *Campylobacter jejuni*. *FEMS Microbiology Letters*, 2007, 275(2): 278–285.
- [12] Dykes GA, Sampathkumar B, Korber DR. Planktonic or biofilm growth affects survival, hydrophobicity and protein expression patterns of a pathogenic *Campylobacter jejuni* strain. *International Journal of Food Microbiology*, 2003, 89(1): 1–10.
- [13] Sanders SQ, Boothe DH, Frank JF, Arnold JW. Culture and detection of *Campylobacter jejuni* within mixed microbial populations of biofilms on stainless steel. *Journal of Food Protection*, 2007, 70(6): 1379–1385.
- [14] Hanning I, Jarquin R, Slavik M. *Campylobacter jejuni* as a secondary colonizer of poultry biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, 105(4): 1199–1208.
- [15] Xavier JB, Foster KR. Cooperation and conflict in microbial biofilms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(3): 876–881.
- [16] Parkhill J, Wren BW, Mungall K, Ketley JM, Churcher C, Basham D, Chillingworth T, Davies RM, Feltwell T, Holroyd S, Jagels K, Karlyshev AV, Moule S, Pallen MJ, Penn CW, Quail MA, Rajandream MA, Rutherford KM, van Vliet AHM, Whitehead S, Barrell BG. The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences. *Nature*, 2000, 403(6770): 665–668.
- [17] Hilbert F, Scherwitzel M, Paulsen P, Szostak MP. Survival of *Campylobacter jejuni* under conditions of atmospheric oxygen tension with the support of *Pseudomonas* spp.. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(17): 5911–5917.
- [18] Ica T, Caner V, Istanbulu O, Nguyen HD, Ahmed B, Call DR, Beyenal H. Characterization of mono-and mixed-culture *Campylobacter jejuni* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(4): 1033–1038.
- [19] Barrero-Tobon AM, Hendrixson DR. Flagellar biosynthesis exerts temporal regulation of secretion of specific *Campylobacter jejuni* colonization and virulence determinants. *Molecular Microbiology*, 2014, 93(5): 957–974.
- [20] Svensson SL, Pryjma M, Gaynor EC. Flagella-mediated adhesion and extracellular DNA release contribute to biofilm formation and stress tolerance of *Campylobacter jejuni*. *PLoS One*, 2014, 9(8): e106063.
- [21] Kalmokoff M, Lanthier P, Tremblay T-L, Foss M, Lau PC, Sanders G, Austin J, Kelly J, Szymanski CM. Proteomic analysis of *Campylobacter jejuni* 11168 biofilms reveals a role for the motility complex in biofilm formation. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(12): 4312–4320.
- [22] Brown HL, Reuter M, Hanman K, Betts RP, van Vliet AHM. Prevention of biofilm formation and removal of existing biofilms by extracellular DNases of *Campylobacter jejuni*. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0121680.
- [23] Oh E, Jeon B. Role of alkyl hydroperoxide reductase (AhpC) in the biofilm formation of *Campylobacter jejuni*. *PLoS One*, 2014, 9(1): e87312.
- [24] Fields JA, Thompson SA. *Campylobacter jejuni* CsrA mediates oxidative stress responses, biofilm formation, and host cell invasion. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(9): 3411–3416.
- [25] Svensson SL, Davis LM, MacKichan JK, Allan BJ, Pajaniappan M, Thompson SA, Gaynor EC. The CprS sensor kinase of the zoonotic pathogen *Campylobacter jejuni* influences biofilm formation and is required for optimal chick colonization. *Molecular Microbiology*, 2009, 71(1): 253–272.

- [26] Svensson SL, Hyunh S, Parker CT, Gaynor EC. The *Campylobacter jejuni* CprRS two-component regulatory system regulates aspects of the cell envelope. *Molecular Microbiology*, 2015, 96(1): 189–209.
- [27] Simões M, Simões LC, Vieira MJ. A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT-Food Science and Technology*, 2010, 43(4): 573–583.
- [28] Bassler BL, Wright M, Silverman MR. Multiple signalling systems controlling expression of luminescence in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes encoding a second sensory pathway. *Molecular Microbiology*, 1994, 13(2): 273–286.
- [29] Elvers KT, Park SF. Quorum sensing in *Campylobacter jejuni*: detection of a luxS encoded signalling molecule. *Microbiology*, 2002, 148(5): 1475–1481.
- [30] Adler L, Alter T, Sharbati S, Gözl G. The signalling molecule Autoinducer-2 is not internalised in *Campylobacter jejuni*. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 2015, 128(3/4): 111–116.
- [31] Bae J, Oh E, Jeon B. Enhanced transmission of antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* biofilms by natural transformation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014, 58(12): 7573–7575.
- [32] Simões M, Simões LC, Machado I, Pereira MO, Vieira MJ. Control of flow-generated biofilms with surfactants: evidence of resistance and recovery. *Food and Bioprocess Technology*, 2006, 84(4): 338–345.
- [33] Sutherland IW, Hughes KA, Skillman LC, Tait K. The interaction of phage and biofilms. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 232(1): 1–6.
- [34] Salaheen S, Nguyen C, Hewes D, Biswas D. Cheap extraction of antibacterial compounds of berry pomace and their mode of action against the pathogen *Campylobacter jejuni*. *Food Control*, 2014, 46: 174–181.
- [35] Castillo S, Heredia N, Arechiga-Carvajal E, García S. Citrus extracts as inhibitors of quorum sensing, biofilm formation and motility of *Campylobacter jejuni*. *Food Biotechnology*, 2014, 28(2): 106–122.
- [36] Olaimat AN, Fang Y, Holley RA. Inhibition of *Campylobacter jejuni* on fresh chicken breasts by κ -carrageenan/chitosan-based coatings containing allyl isothiocyanate or deodorized oriental mustard extract. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 187: 77–82.
- [37] Aruoja V, Dubourguier HC, Kasemets K, Kahru A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Science of the Total Environment*, 2009, 407(4): 1461–1468.
- [38] Padmavathy N, Vijayaraghavan R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles-an antimicrobial study. *Science and Technology of Advanced Materials*, 2008, 9(3): 035004.
- [39] Xie YP, He YP, Irwin PL, Jin T, Shi XM. Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(7): 2325–2331.
- [40] Chen MT, Wu QP, Zhang JM, Yan ZA, Wang J. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from retail-level ready-to-eat foods in South China. *Food Control*, 2014, 38: 1–7.

Research progress in biofilm formation and regulatory mechanism of *Campylobacter jejuni*

Qingping Wu^{1*}, Xian Zhong^{1,2}, Jumei Zhang¹

¹ State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Open Laboratory of Applied Microbiology, Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou 510070, Guangdong Province, China

² Department of Chemical Engineering, School of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

Abstract: Biofilm of *Campylobacter jejuni* was formed by cross-linking its extracellular secretion, polysaccharides, various extracellular proteins, nucleic acids etc to enhance its survival in hostile environments, especially for detergents, antibiotics and disinfectants. This paper elaborated *C. jejuni* biofilm formation and regulation mechanisms in the surface properties of the media, temperatures, gas environment, the regulation of gene etc, also analysed and discussed a variety of biofilm removal practical applications. We hope it can provide a reference for studies on biofilm control of *C. jejuni*.

Keywords: *Campylobacter jejuni*, biofilm, regulatory mechanism

(本文责编: 李磊)

Supported by the Guangdong Province, Chinese Academy of Comprehensive Strategic Cooperation Project (2011A011303001) and by the Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, China (2012B050800007)

*Corresponding author. Tel/Fax : +86-20-87688132; E-mail: wuqp203@163.com

Received: 26 May 2015; Revised: 8 July 2015; Published online: 11 September 2015