

洋葱伯克氏细菌是我们的敌人还是朋友？

罗远婵 谢关林*

(浙江大学生物技术研究所 杭州 310029)

摘 要 简述了洋葱伯克氏细菌自 1949 年被鉴定为植物致病菌以来在国内外农业、工业、医学和环保方面对人类的害处和益处,对研究热点、难点及国外对其生物制剂的审批及管理作了讨论和分析,并提出了洋葱伯克氏细菌在我国的几点研究建议。

关键词 洋葱伯克氏细菌(*Burkholderia cepacia*) 洋葱伯克氏菌综合症 致病 生防 环保 风险,管理

中图分类号:Q939.95 文献标识码:A 文章编号:1001-6209(2005)04-0647-06

洋葱伯克氏菌(*Burkholderia cepacia*)是一种广泛存在于水、土壤、植物和人体中的革兰氏阴性细菌。1949 年美国的植物病理学家 Burkholder 首次发现它可以引起洋葱酸皮病^[1]。随后人们又发现该菌广泛存在于医院,污染了消毒剂、麻醉剂和多种医疗器械,并且可以使人类患上多种疾病,尤其是使囊性肺纤维化(Cystic fibrosis,简称 CF)病人感染 *B. cepacia* 而患“洋葱伯克氏菌综合症”致死^[2]。与此同时人们又发现它具有多种特有的功效,它可以分解土壤中残留的农药、净化污水,它还能促进植物的生长,在农业生产中用作生长激素和复合肥料,作为生防菌,它被制成生物杀虫剂和生物杀菌剂,能代替部分农业生产中常用的化学农药,它在农业生产和环境保护方面起着重要的作用。目前仍然有不少国家在生产和使用以它为原料制成的生物农药,我国也于 1996 年注册了类似的产品(商品名为“亚宝”)。但 *B. cepacia* 到底是敌是友?本文试图通过前人所作的研究作一综述,以全面了解 *B. cepacia* 与人类的关系。

1 *B. cepacia* 作为敌人

1.1 植物病致病菌

人类对 *B. cepacia* 的认识始于它引起洋葱酸皮病^[2]。该病菌主要分布在土壤和灌溉水中^[1,3],在洋葱鳞茎形成后,从其由于收割等原因造成的伤口侵入,或者是粘在叶部的菌被水冲刷进入组织内引起鳞茎腐烂。由于该病害也可在贮存期发生,给生产带来一定的损失。研究表明^[4],该病原菌在低 pH 值环境下可以产生一种内多聚半乳糖醛酸酶并将洋葱的组织泡软,以利于病原菌的入侵和扩展。

1.2 医院的污染菌

20 世纪 70 年代末期人们发现 *B. cepacia* 广泛的存在于医院,它在医院中常污染消毒剂、麻醉剂^[2]、自来水、体温表、喷雾器、静脉导管、导尿管、静脉输液管、医疗器械和管路

等^[5],造成院内传播,导致多种院内感染病,如败血症、心内膜炎、肺炎、伤口感染、深部脓肿、眼结膜炎等,尤其是有导管介入治疗者,更容易因其引起感染。*B. cepacia* 成为医院中免疫力低下的病人和医院感染病患者的一种重要病原体^[6]。

1.3 人体条件致病菌

B. cepacia 除了可以引起多种院内感染病外,1971 年有报道称该菌还可以引起脚气病,在北佛罗里达州进行沼泽地训练的部队以及驻扎在越南湄公河三角洲的部队中都分离到了该菌^[1]。自从 20 世纪 70 年代末期有研究者首次从 CF 病人的痰液中分离到该菌以来^[2],到 80 ~ 90 年代,在 CF 病人中患“洋葱伯克氏菌综合症”的数量大增(有些 CF 中心 *B. cepacia* 的感染率达到 40%),并在加拿大、英国和法国的一些地区发生大流行,导致多人死亡^[1,2]。另外还发现 *B. cepacia* 可以在 CF 患者间^[7]及 CF 患者与非 CF 患者间传播^[2]。由于 *B. cepacia* 对人类健康的威胁日益增加,为了控制该菌危害的进一步扩大,各国对 CF 患者的治疗及生活管理上都采取了严格的措施。例如:北美取消了 CF 患者夏令营,许多肺脏移植中心已经停止给感染了 *B. cepacia* 的 CF 患者提供肺脏移植的服务,最近成立的 CF 成人及 CF 家族国际协会(向 CF 患者提供会议、假期及支持的组织)发表言论,希望通过 CF 病人放弃多种活动和采取隔离措施来阻止 *B. cepacia* 的传播^[1]。另外,由于 *B. cepacia* 经过长期医院环境的筛选具有了抵抗多种抗生素的能力,给感染者的治疗带来很大的困难^[1,2,5,6]。

1.4 有害的冰核细菌

在植物体上广泛存在着一些细菌,它们都具有诱发植物体内水分结冰的作用,称为冰核细菌。国内外许多研究证明这些细菌是引起植物发生霜冻害的关键因素,在没有冰核细菌存在的植物能耐 -7 ~ -8℃ 的低温而不发生霜冻,但是在一些 *B. cepacia* 细菌存在的情况下,同样条件的植物在

基金项目 国家自然科学基金(30370951);比利时-中国政府国际合作项目

* 通讯作者。Tel:86-571-86971412;E-mail:glxie@zju.edu.cn

作者简介:罗远婵(1978-),女,广西合浦县人,博士研究生,主要从事微生物学研究。

收稿日期:2004-10-08,修回日期:2005-01-05

-2 ~ -5℃下就发生冻害^[8]。

1.5 潜在威胁

B. cepacia 全基因组大小为 4 ~ 9Mb (为大肠杆菌的 2 倍多), 其间含有 2 ~ 4 个大复制子和许多小的插入序列, 这些插入序列起到促进基因组重组和调节邻近基因表达的作用^[7]。拥有如此庞大且复杂的基因组使得 *B. cepacia* 具有很强的改变自身以适应环境的能力, 因此在不同的选择压力下难以预测 *B. cepacia* 的发展方向, 它极有可能从无害的菌株迅速变为人体致病菌株^[7]。例如, *B. cepacia* 和一种土壤腐生菌 *B. pseudomalle* 非常相似, 两者在环境中极有可能发生遗传物质的交换, 形成致病力更强、能在寄主细胞间存活的后代。因为 *B. pseudomalle* 可以促使类鼻疽病的上升, 该病主要发生在东南亚, 是一种致命的疾病, 该菌在医院里有很广泛的致病谱, 而且在引起脓血症和死亡之前可以潜伏数年^[2]。因此, *B. cepacia* 一旦获得 *B. pseudomalle* 的致病基因将会产生一种对人类危害更大的菌株。目前已有试验为这一推测提供依据: 有学者^[2]在传播性和遗传性都较高的 *B. cepacia* 菌株中检测到了 *B. pseudomalle* 的插入序列。

2 *B. cepacia* 作为朋友

2.1 促进植物生长

B. cepacia 可以从多个方面促进植物生长。首先, 萎蔫酸 (Fusaric acid) 是 *Pythium* 菌侵染植物后引起植物受害的重要物质, *B. cepacia* 可以通过代谢活动分解萎蔫酸来减轻植物受害程度^[9]。其次, *B. cepacia* 可以产生一种专门结合铁的小分子蛋白-铁载体 (Siderophore)^[1]。产生铁载体被认为是植物促生菌最主要的直接和间接促进植物生长的有效途径之一^[9]。因为一方面根际促生菌铁载体的产生很快耗尽了病原菌生存所需要的铁, 从而使病原菌的繁衍和侵染能力大大下降; 另一方面根际促生菌通过铁-铁载体复合体向植物提供铁营养, 从而使植物获益; 植物促生菌所产生的铁载体还可诱导某些植物的系统抗御反应, 从而使植物具有更好的抗御病原的能力^[9]。另外, *B. cepacia* 还可以产生抗生素有效地抑制周围其它微生物的繁衍, 从而保护植物健康地生长发育^[1, 10]。最后, 还有研究表明 *B. cepacia* 的一些菌株具有固氮和产生吲哚乙酸 (IAA) 的作用^[11], 这也是促进植物生长的一大要素。

2.2 分解有毒物质

B. cepacia 有非常独特的新陈代谢能力, 它能以 200 多种有机物为碳源^[1]。由于它的这一特殊能力使它成为了环保卫士。它可以降解土壤中残留的有毒且难降解的物质, 比如除草剂、含氯的有机物、邻苯二甲酸盐等^[1, 2]。*B. cepacia* 还能净化污水。三氯乙烯目前已成为地表水和地下水中分布最广的污染物之一, 对生物的毒害作用很强并具致癌作用, 而 *B. cepacia* 的一个菌株 G4 可以通过由苯酚诱导的芳香族降解途径将它降解^[11]。*B. cepacia* 对工业污水中常见的环境污染物——苯酚也有很强的降解能力^[12]。此外, *B. cepacia* 产生的脂酶可以催化拆分外消旋化学农药, 使其变为

光学活性农药, 从而成倍地提高了药效, 而且减轻了生物体内的积累与毒副作用, 避免了不必要的环境污染^[13]。

2.3 用于生物防治

B. cepacia 用于生物防治主要有两方面: 一是作为生物杀虫剂, 二是作为生物杀菌剂。

目前在美国已经注册的 *B. cepacia* 生物杀虫剂有“type Wisconsin”、“Blue Circle”、“Deny”, 其中“Blue Circle”、“Deny”也可以用于杀线虫^[1, 9]。另有报道认为 *B. cepacia* 作为冰核细菌具有害的一面, 但也可以用于防治储粮害虫^[8]。

B. cepacia 还作为生物杀菌剂用于防治多种病害。防治土传病害: *B. cepacia* 可以防治由卵菌和其他真菌引起的多种土传病害^[1, 2], 如引起的多种农作物以及森林苗木的根腐、茎腐、猝倒和纹枯等^[10, 14, 15]。目前认为 *B. cepacia* 防治土传病害的机制主要是由于它产生了抗真菌的代谢物: 抗生素和铁载体。其中抗生素有 Cepacin, Cepaciamid, Xylocandins (= Cepacidines), Pseudanes (= Quinolones), Phenylkroles, Phenazine 和 Pyrrolnitrin 等; 铁载体包括水杨酸、Ornibactins, Pyochelin 和 Cepabactin^[2]。此外, 有学者认为 *B. cepacia* 的一些菌株产生的细胞壁降解酶、IAA 以及一些菌株的固氮作用也与其防治土传病害的能力有关。防治叶部病害: 常见的 *B. cepacia* 能有效防治的叶部病害主要是由 *Alternaria* spp. 引起的叶部和茎部萎蔫。其作用机制主要是抑制孢子的萌发。防治产后病害: *B. cepacia* 还可以有效的防治多种产后病害。如苹果和梨的灰霉病、梨青霉病、桃褐腐病和柑桔的各种产后病害^[1, 10]。此外, 还有研究表明 *B. cepacia* 可以减轻采后棉子受到黄曲霉素的污染^[1]。

目前美国注册的 *B. cepacia* 杀菌剂有 Intercept^[8], 中国注册的有“亚宝”。前面提到的“Blue Circle”和“Deny”也可以防治多种真菌病害。

2.4 用于工业生产

B. cepacia 除了对农业生产有很多益处外, 在工业生产中也有它的特长。它被用来降解煤 (褐煤, 经过强氧化剂处理、呈高氧化状态的煤烟及无烟煤) 从而制取石油、其他形式的燃料以及获得某些工业原料 (如: 甲醇)^[16]。此外, *B. cepacia* 可以产生脂酶。脂酶能够对油和脂进行加工, 因而被广泛用于食品和饲料工业; 利用分子克隆技术克隆脂酶基因, 然后经过发酵工程, 可以得到大量的廉价脂酶^[17]。目前 *B. cepacia* 的脂酶基因已经被部分的克隆, 经分析与其他微生物的脂酶基因相同, 因此有工业化开发利用的潜力。

3 *B. cepacia* 的研究热点和难点

3.1 分类地位研究

B. cepacia 原名 *Pseudomonas cepacia*, 后来由于它在营养方面与其他 *Pseudomonas* 的种相差很大 (它可以在以氨基酸为唯一碳源的培养基上生长), 1992 年与其他几个属于 rRNA 第二组的 *Pseudomonas* 种一起从 *Pseudomonas* 中划分出来, 并归入新建立的真细菌 β 组的 *Burkholderia* 属中, 正式命名为 *B. cepacia*。随后由于“洋葱伯克氏菌综合症”的发现, 欧美

的医学和微生物学研究者进行了深入研究,根据基因特征和表型特征将 *B. cepacia* 分为 9 个基因型,通称为“洋葱伯克

氏菌复合型”(Bcc)^[1,3,18-20]。其中基因型 I 仍保留 *B. cepacia* 种名,其他 8 个基因型均被命名为不同的种(表 1)。

表 1 洋葱伯克氏菌复合型 (Bcc) 中各基因型的来源及其在美国 CF 病人中的分布

Table 1 Sources of Bcc and it's distribution of species among US CF patients

<i>B. cepacia</i> complex member	Species designation	Source	Distribution of species among US CF patients with Bcc/%
Genomovar I	<i>B. cepacia</i>	Plant pathogen(onion),rhizosphere ,soil ,water ,human(non-CF and CF) [1 3]	2.6
Genomovar II	<i>B. multivorans</i>	Rhizosphere ,human(non-CF and CF) [1 3]	37.8
Genomovar III	<i>B. cenocepacia</i>	Hospital enviroment ,human(non-CF and CF),rhizosphere ,soil [2 3 , 18 ,19]	50.0
Genomovar IV	<i>B. stabilis</i>	Hospital enviroment ,human(non-CF and CF) [1 3 ,17]	0.2
Genomovar V	<i>B. vietnamiensis</i>	Rhizosphere ,soil ,human(non-CF and CF), Fixes nitroger [1 3]	5.1
Genomovar VI	<i>B. dolosa</i>	Human(CF) [1 21]	2.0
Genomovar VII	<i>B. ambifaria</i>	Rhizosphere ,soil ,human(CF).Includes many biocontrol strain [1]	0.7
Genomovar VIII	<i>B. anthina</i>	Rhizosphere ,human(CF) [20]	—
Genomovar IX	<i>B. pyrrocinia</i>	Soil [1]	0.0

3.2 分离和鉴定

目前,*B. cepacia* 的分离和鉴定一般遵循以下程式(1)用选择培养基培养样本^[22-25](2)用 Biolog 阴性细菌检测试剂盒或专门的 *B. cepacia* 检测试剂盒^[3]等生理生化手段检测(1)中分离到的菌株(3)对(2)中的菌株进行全细胞蛋白电泳,*recA* 基因的特异引物 PCR 检测、RFLP、AFLP 及 DNA-DNA 杂交等分子检测以确定菌株的基因型^[3,19,21,26]。

3.2.1 选择培养基的研究 由于 *B. cepacia* 的菌落没有荧光等特殊表征,用普通培养基分离时很难与其他多种阴性细菌区分开,给医学诊断和科研工作带来诸多不便和巨大的工作量。为了解决这个问题,许多医学和微生物学界的 *B. cepacia* 研究者在不同阶段研究出了不同的 *B. cepacia* 选择性培养基。这些选择性培养基应用的原理是(1)*B. cepacia* 可以利用多种有机物作为碳源,并且有一些是一般细菌不可以利用的有机物,用这些特殊的有机物作为选择性培养基的碳源来过滤掉其他细菌(2)*B. cepacia* 天生对多种抗生素有抗性,在选择性培养基中加入这些抗生素抑制别的细菌的生长。早期(1982~1987)^[22]的选择性培养基有 PCAT、TB-T;中期(1997)^[23]有 BCSA。这些培养基虽然对 *B. cepacia* 具有较高的选择性,但是并非所有基因型的 *B. cepacia* 都可以在其上生长,严重影响研究结果的真实性和可靠性。最近 Vermis 等^[24]就 *B. cepacia* 对多种碳源的利用情况和对多种抗菌物的耐受性进行了较全面的研究,获得了可以培养 *B. cepacia* 所有基因型的选择性培养基。其间还有一些选择性培养基已经被开发成商品销售,例如:Mast *B. cepacia* medium, LAB M *B. cepacia* medium 和 Oxoid *B. cepacia* medium^[25]。然而,据作者对上述培养基的测试后发现,它们虽然能部分区分 *B. cepacia* 菌株与其他相近菌株,但专化性还不是很好,其他菌株仍能在其上生长;另,有些已知 *B. cepacia* 菌株不能在 Vermis 等研制出来的新选择培养基上生长,未能达到 Vermis

等所说的可以培养 *B. cepacia* 所有基因型的效果。因此,更有效的选择培养基还有待研究。

3.2.2 *B. cepacia* 的鉴定 传统依赖于形态和生理生化检测的细菌鉴定方法只能将 *B. cepacia* 鉴定到复合型(Bcc),无法区分 *B. cepacia* Bcc 内各个基因型,而且如果对该法掌握不好常会将其他相近种、属的细菌误鉴定为 *B. cepacia*,而分子技术的发展为解决这一问题提供了可能。自 1999 年以来发表的关于 *B. cepacia* 的分子鉴定方法大部分是以 PCR 为基础发展起来的,如:16S rDNA、23S rDNA 序列的多态性(Polymorphism)快速 PCR 测定,16S rRNA 的 RFLP 测定等。然而,这些方法都只能将 Bcc 的部分基因型鉴定出来,而且很难将基因型 I 和 III 区分开。由于 *B. cepacia* 分类地位的复杂性,目前还没有既简单又可以一步到位的方法将 Bcc 各基因型的菌株鉴定出来。2001 年 Peter 等^[3]较系统的提出了用分子手段鉴定 *B. cepacia* 的策略:第一步,全细胞蛋白质电泳。这个方法虽然对基因型 I、III、VII、VIII、IX 的区分能力较差,但是比较简便可以用于初步鉴定。第二步,*recA* 基因的 RFLP 测定,虽然它只能用于区分 *B. cepacia* 的基因型,但是由于它较高的专化性,不失为较好的进一步鉴定的手段。第三步,AFLP 测定。这个方法在 *Burkholderia* 和 *B. cepacia* 中都表现了较高的小种专化性,但是由于太复杂,一般只用于鉴定后进一步结果的确定。遵循这一策略他们于 2003 年用 *recA* 基因的 RFLP 测定方法成功的区分开了基因型 I 和 III^[26]。除此之外,也有较多试验采用了 *recA* 基因特异引物(表 2)PCR 检测的方法,该法具有操作简便、专化性较高的优点。但是,据作者的试验结果(未发表)来看一些引物的专化性也不是很好,尤其是基因型 IV 引物的特异性不高,且目前还没有基因型 IX 的 *recA* 特异引物。另外,由于基因型 VI 的特殊性,可以用选择性培养基 PCAT 简单的将它与其他基因型的菌株区分开,因为除了基因型 VI 以外,其他基因型的

菌株均可在 PCAT 上生长^[24]。

目前已有一些 *B. cepacia* 的鉴定系统商品化,如 Peter^[3]报道一个利用生化反应来区分 *B. cepacia* 和一些相近的种、属的系统及 Henry 等研发出的 *B. cepacia* 鉴定系统。然而,

由于 *B. cepacia* 分类地位的复杂性,目前这些系统虽能区分 Bcc 内的一些种,但难以区分 *B. cepacia* 的各个基因型。因此,准确可靠而简便的鉴定系统的开发将是今后 Bcc 研究的热点和难点之一。

表 2 洋葱伯克氏菌复合型 (Bcc) 中各基因型 *recA* 基因的特异引物

Table 2 Bcc -specific *recA* primer

<i>B. cepacia</i> complex member	Name of prime	Sequence of primer	Annealing temperature/°C	Size of production/bp	Source of reference
<i>B. cepacia</i> complex	BCR1	5'-TGACCGCCGAGAAGAGCAA-3'	58	1000	[27]
	BCR2	5'-CTCTTCTTCGTCCATCGCCTC-3'			
Genomovar I	BCRG11	5'-CAGGTGCTCTCCACGGGT-3'	62	492	[27]
	BCRG12	5'-CACGCCGATCTTCATACGA-3'			
Genomovar II	BCRBM1	5'-CGGCGTCAACGTGCCGGAT-3'	62	714	[27]
	BCRBM2	5'-TCCATCGCCTCGGCTTCGT-3'			
Genomovar III -A	BCRG3A1	5'-GCTCGACGTTCAATATGCC-3'	62	378	[27]
	BCRG3A2	5'-TCGAGACGCCACCGACGAG-3'			
Genomovar III -B	BCRG3B1	5'-GCTGCAAGTCATCGTGAA-3'	60	781	[27]
	BCRG3B2	5'-TACGCCATCGGGCATGCT-3'			
Genomovar IV	BCRG41	5'-ACCGCGGAGCAGCGCTT-3'	64	647	[27]
	BCRG42	5'-ACGCCATCGGGCATGGCA-3'			
Genomovar V	BCRBV1	5'-GGGCGACGGCGACGTGAA-3'	62	378	[27]
	BCRBV2	5'-TCGGCCTTCGGCACCACT-3'			
Genomovar VI	BCR1	5'-TGACCGCCGAGAAGAGCAA-3'	67	135	[21]
	G6N	5'-CGAGCCGACCGGTCCAT-3'			
Genomovar VII	BCRGC1	5'-GTCGGGTTAAAACCACGCTG-3'	62	810	[28]
	BCRGC2	5'-ACCGCAGCCGCACCTTCA-3'			
Genomovar VIII	BCRC81	5'-TACGCTCCGGAATCGTCG-3'	61	473	[29]
	BCRC82	5'-CGCACCGACGCATAGAAT-3'			

3.3 *B. cepacia* 致病性与非致病性菌株的区分

能否区分 Bcc 中致病与非致病菌株是 *B. cepacia* 生物农药和环保菌风险评估的一个关键性问题,也是目前 *B. cepacia* 研究的一个难题。现今生产 *B. cepacia* 生物农药的菌株都来源于环境,但这并不能保证 *B. cepacia* 生物农药使用的安全性。因为除了 Bcc 基因型 VI 只能从 CF 病人中分离到,基因型 IX 只从土壤中分离到以外,其他所有基因型的 *B. cepacia* 均可从环境和医院中分离到(表 1);John 等甚至从土壤中分离到了在 CF 病人中经常造成“洋葱伯克氏菌综合症”大爆发的 *B. cepacia* 基因型 III 菌株^[3]。因此,菌株来源不能用作 *B. cepacia* 生物农药安全性评估的参数。为了发掘 *B. cepacia* 群体中可以安全使用的菌株,许多研究者做了大量的工作,Peter^[26]和 Tabacchioni 等^[30]的研表明,用包括 16S 核糖体 rDNA 测序、Southern 杂交在内的多种分子手段证明了植物根分离到的菌株与医院中分离到的相应菌株存在一定差异。然而,他们的研究不但样本较少,而且也没有对这些菌株在植物或动物上作致病性测定。所以 *B. cepacia* 菌株来源与植物和人体致病及非致病菌的关系需要更进一步和更大范围的研究。

3.4 在医学临床和机理方面的研究

目前 *B. cepacia* 在医学方面的研究主要侧重于它对人体的侵染机制研究及 CF 病人临床症状和肺内 Bcc 定殖量关

系的研究。Keig 等^[31]的研究表明,Bcc 中各基因型的菌株对人体呼吸道表皮细胞的侵染有差异。参与试验的基因型 I ~ V 中,基因型 II 和 III 对人体呼吸道表皮细胞的侵染能力比基因型 I、IV、V 强。用 *B. cepacia* H₁₁₁ 菌株防治病原线虫 *Caenorhabditis elegans* 时发现线虫在临近死亡时有大量 H₁₁₁ 在体内积累^[32],同理 CF 病人的临床症状应该和 Bcc 在肺内的定殖量有一定的关系,然而,病理解剖的真实状况是否如此还有待进一步的研究,以便为 CF 病人的诊断和治疗提供一个最佳时期。

4 *B. cepacia* 作为生防菌株在美国的注册及管理

20 世纪 80 年代,第一个 Bcc 生物杀虫剂 type Wisconsin 提交美国环保署(EPA),EPA 根据有毒物质管理法(Toxic Substances Control Act)对其进行审核,在经过生化、急性毒性/致病性、血清型、核酸型及细菌素等一系列测定,认为该菌株可与来自医院的菌株区分后正式注册^[33-35]。在此原则下,1992~1996 年,Deny、Blue Circle、Intercept 也陆续注册,它们的有效成分包含 Bcc 菌株:M36、M54、J82 中的一个或一个以上^[33-35]。然而,随后进一步的多相分类研究(Polyphasic taxonomic studies)发现 Bcc 的医院菌株与环境菌株间的区分很模糊^[3]因而促使重新评估已经登记的 Bcc 菌株在农业上使用的风险。为此,1999 年 7 月 20 日成立了包括医学家、医

学微生物学家和植物病理学家在内的顾问团(Scientific Advisory Panel)^[7, 36]。经过研究,顾问团最后达成两点主要共识^[36](1)没有任何一个 Bcc 菌株被确定对 CF 病人没有潜在的致病威胁。(2)假设生防菌株本身所带的毒性对 CF 病人的影响不比土壤或根际菌株大,生防菌株在使用浓度不大于环境菌株含量水平的情况下,则不会给 CF 病人带来接触机率增大的危险。但实际上,生物农药的施用浓度往往高于施用地这类菌株的水平,虽然已有研究表明,生防菌株使用后最终会降低到环境本来含有菌株的水平,但施用点的菌株水平在一段时间内(几天或几个星期)还是比环境菌株水平高。因此顾问团中的大部分成员认为由于对环境 Bcc 的数量及基因型地位了解不够,尚无法对它的使用风险进行评估,不建议该菌继续在农业中使用。与此同时,顾问团中少数成员则认为对于 Bcc 种群动态的了解已经清楚,并且如果 Bcc 生防菌株只在土壤中施用,则它给 CF 病人带来接触机率增大的危险可以忽略不计。这些成员还认为,实际上在土壤和根际存在的 Bcc 并不像以前认为的那么普遍^[36]。

EPA 在自身及顾问团研究结论的基础上,对已经注册的 Bcc 实行以下管理^[1, 7](1)限制使用方式。Bcc 制剂限于用于拌种、沟施或滴灌,避免使用烟雾剂型产品,另为了减少接触的可能性,禁止在草地使用 Bcc 制剂。(2)根据 Bcc 制剂使用后菌株的存活率与施用地 Bcc 种群基线的比较,调节 Bcc 的菌量。如调节使用后与采收间的时间长短,以使 Bcc 在作物上的残留量不高于当地本身 Bcc 的种群水平。(3)撤销登记。BCESM(Burkholderia cepacia Epidemic Strain Marker)是 Bcc 中一种与人体致病性/毒性连锁的遗传标记,对已经注册的 Bcc 菌株,一旦发现该类标记的存在,则撤销注册,如上文提到的菌株 M36。使用后引起的危险不能被大众接受的,或按说明使用后种群数量不能降低到要求的水平的菌株也一律撤销注册。(4)禁止使用。对经常感染人体和携带高毒性基因型的菌株禁止使用,如 CF 病人中常分离到的基因型 II 和 III Bcc 菌株。除此以外,含 Bcc 的生物杀虫剂的使用说明书中规定 CF 病人及其家属最好不要使用该产品。目前 EPA 对新的 Bcc 菌株的态度是不予注册^[1]。

5 小结

洋葱伯克氏菌作为人类的敌人,在农业生产中引起植物病害和霜冻,在医院不但污染药品和器具,而且引起可怕的“洋葱伯克氏菌综合症”。作为人类的朋友,它也是一种重要的生防、环保和工业用菌,不少国家把它作为生物农药和环保制剂使用。目前 *B. cepacia* 到底是人类的敌人还是朋友还难以定论。所有这些从医院、环境和农业生态系统中分离到的不同基因型的 Bcc 菌还不能明确哪些是人体致病菌、哪些是植物致病菌、哪些是生防或环保菌,而且由于 Bcc 拥有一个很容易变异的基因组^[2, 7],容易与环境中的其他微生物杂交产生新的有害物种。为此,作者对该菌在我国的使用和研究提出 3 建议(1)洋葱伯克氏菌作为有益菌使用需要特别谨慎并应开展有关的风险评估,如果滥用有可能会发生难以预测的危险(2)应密切注视和监测病原的发展和流行动态,特别在农业和环保方面需作更多的研究(3)该细菌涉

及的范围广,需要医学、农学、环保、微生物学和其他学科的学者紧密合作,对其进行更深入的研究,以明确区分人体致病菌、植物病原菌、生防和环保菌并阐明它们之间的关系,为安全使用微生物提供有力保障。

参 考 文 献

- [1] Jennifer L P, Doug G S. Diversity of the *Burkholderia cepacia* complex and implications for risk assessment of biological control strains. *Ann Rev Phytopathol*, 2001, **39**: 225 - 258.
- [2] Alison H, Govan J, Richard G. Could the agricultural use of *Burkholderia cepacia* pose a threat to human health? *Emerging Infectious Diseases*, 1998, **4**: 221 - 227.
- [3] Peter A R V. Polyphasic Taxonomy in Practice: the *Burkholderia cepacia* challenge. *WFCC Newsletter*, 2001, **34**: 17 - 25.
- [4] Ulrich J M. Pectic enzymes of *Pseudomonas cepacia* and penetration of polygalacturonase into cells. *Physiol Plant Pathol*, 1975, **5**: 37 - 44.
- [5] 吴明,商卫林,时凤丽,等. 洋葱伯克霍尔德菌医院感染临床调查. *中华医院感染学杂志*, 2003, **13**(7): 684 - 685.
- [6] Huang C H, Jang T N, Liu C Y, et al. Characteristics of patients with *Burkholderia cepacia* bacteremia. *Microbiol Immunol Infect*, 2001, **34**(3): 215 - 219.
- [7] Jennifer L P. *Burkholderia cepacia*: Friend or Foe? *The Plant Health Instructor*, 2000, http://www.apsnet.org/education/feature/Burkholderia_cepacia/top.html.
- [8] 张耀东,杨文超,贾翔,等. 郑州地区植物上冰核活性细菌的分离和鉴定. *郑州粮食学院学报*, 1996, **17**(3): 34 - 38.
- [9] 黄晓东,季尚宁, Bernard Glick, 等. 植物促生菌及其促生理(续)现代化农业, 2002, **7**: 13 - 15.
- [10] 庞学群,张昭其,黄雪梅. 果蔬采后病害的生物防治. *热带亚热带植物学报*, 2000, **10**(2): 186 - 192.
- [11] 程惠民,金洪钧. 生物降解三氯乙烯的研究及其进展. *上海环境科学*, 1997, **16**(11): 20 - 31.
- [12] 刘涛,刘正学,张长乾,等. 苯酚高效降解菌 L68 菌株的分离及分类鉴定. *山东大学学报(理学版)*, 2002, **37**(4): 369 - 372.
- [13] 丁永学,张铭俊,虞星炬. 有机相固定化脂肪酶催化拆分环戊烯酮的研究. *化学反应工程与工艺*, 2000, **16**(1): 67 - 71.
- [14] 谢关林,金扬秀,徐传雨等. 我国水稻纹枯病拮抗细菌种类研究. *中国生物防治*, 2003, **19**(4): 166 - 170.
- [15] 谢关林, Mew T W. 浙江晚稻稻种非致病细菌多样性初步研究. *生物多样性*, 2002, **10**(3): 311 - 318.
- [16] 袁红莉,蔡亚岐,周希贵,等. 降解褐煤菌种选育及降解产物研究. *应用与环境生物学报*, 1999, (增): 21 - 24.
- [17] 李宁,陈永福. *Pseudomonas cepacia* 脂酶的分子克隆. *农业生物技术学报*, 1995, **3**(4): 42 - 47.
- [18] Kerry J G, Yasmin N P, Kwanjit D, et al. Sequence divergence in type III secretion gene clusters of the *Burkholderia cepacia* complex. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, **235**: 229 - 235.
- [19] Elizabeth J S, Carlos F G, Thomas C, et al. *Burkholderia cenocepacia* phage BcepMu and a family of Mu-like phages encoding potential pathogenesis factors. *J Mol Biol*, 2004, **340**: 49 - 65.
- [20] Coenye T, Peter A R V, Govan J R W, et al. An updated version of the *Burkholderia cepacia* complex experimental strain panel. *J Clin Microbiol*, 2003, **41**: 2797 - 2798.

- [21] Karen V , Tom C , John J L , *et al.* Proposal to accommodate *Burkholderia cepacia* genomovar VI as *Burkholderia dolosa* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* , 2004 , **54** , 689 – 691 .
- [22] Hagedorn C , Gould W D , Bardinelli T R , *et al.* A selective medium for enumeration and recovery of *Pseudomonas cepacia* biotypes from soil. *Applied and Environmental Microbiology* , 1987 , **53** :2265 – 2268 .
- [23] Henry D A , Campbell M E , Lipuma J , *et al.* Identification of *Burkholderia cepacia* isolates from patients with cystic fibrosis and use of a simple new selective medium. *Journal of Clinical Microbiology* , 1997 , **35** :614 – 619 .
- [24] Vermis K , Peter A R V , Nelis H J . *Burkholderia cepacia* Complex Genomovars : utilization of carbon sources , susceptibility to antimicrobial agents and growth on selective media. *Journal of Applied Microbiology* , 2003 , **95** :1191 – 1199 .
- [25] Karen V , Mariya B , Peter V , *et al.* Isolation of *Burkholderia cepacia* complex genomovars from waters. *System Appl Microbiol* , 2003 , **26** :595 – 600 .
- [26] Peter V , Barry H , Coenye T , *et al.* *Burkholderia cenocepacia* sp. nov. – a new twist to an old story. *Research in Microbiology* , 2003 , **154** :91 – 96 .
- [27] Eshwar M , Jocelyn B , Sean K B , *et al.* DNA-based diagnostic approaches for identification of *Burkholderia cepacia* complex , *Burkholderia vietnamiensis* , *Burkholderia multivorans* , *Burkholderia stabilis* , and *Burkholderia cepacia* genomovars I and III . *Journal of Clinical Microbiology* , 2000 , **38** :3165 – 3173 .
- [28] Tom C , Eshwar M , Deborah H , *et al.* *Burkholderia ambifaria* sp. nov. , a novel member of the *Burkholderia cepacia* complex including biocontrol and cystic fibrosis-related isolates. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* , 2001 , **51** :1481 – 1490 .
- [29] Peter V , Deborah H , Tom C , *et al.* *Burkholderia anthina* sp. nov. and *Burkholderia pyrrocinia* , two additional *Burkholderia cepacia* complex bacteria , may confound results of new molecular diagnostic tools. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* , 2002 , **33** :143 – 149 .
- [30] Tabacchioni S , Visca P , Chiarini L , *et al.* Molecular characterization of rhizosphere and clinical isolates of *Burkholderia cepacia* . *Res Microbiol* , 1995 , **146** :531 – 542 .
- [31] Keigl P M , Ingham I E , Peter A R V , *et al.* Differential invasion of respiratory epithelial cells by members of the *Burkholderia cepacia* complex. *Clin Microbiol Infect* , 2002 , **8** :47 – 49 .
- [32] Manuela K , Melanie A , Birgit H , *et al.* Killing of *Caenorhabditis elegans* by *Burkholderia cepacia* is controlled by the *cep* quorum-sensing system. *Cellular Microbiology* , 2003 , **5** :343 – 351 .
- [33] Govan J R , Harris G . Typing of *Pseudomonas cepacia* by bacteriocin susceptibility and production. *Journal of Clinical Microbiology* , 1985 , **22** :490 – 494 .
- [34] Heidt A , Monteil H , Richard C . O and H secretotyping of *Pseudomonas cepacia* . *Journal of Clinical Microbiology* , 1983 , **18** :738 – 740 .
- [35] Nakamura Y , Hyodo S , Chonan E , *et al.* Serological classification of *Pseudomonas cepacia* by somatic antigen. *Journal of Clinical Microbiology* , 1986 , **24** :152 – 154 .
- [36] EPA . *Burkholderia cepacia* : risk assessment of a biopesticide with affinities to a human opportunistic pathogen. *SAP Rep* , 1999 , <http://www.epa.gov/scipoly/sap/1999/july/final.htm> .

Burkholderia cepacia :our enemy or friend ?

LUO Yuan-chan XIE Guan-lin*

(*Institute of Biotechnology , Zhejiang University , Hangzhou 310029 , China*)

Abstract : It was briefly described the beneficial and harmful effects of *Burkholderia cepacia* in agriculture , industry , medical science and environment protection since the bacterium was identified as causal organism of a crop in 1949. The hot-points and problems in research and regulation of the bacterium were discussed and analyzed as well as the research suggestions in China.

Key words : *Burkholderia cepacia* , Cepacia syndrome , Pathogenic , Biocontrol , Environmental protection , Risk , Regulation

Foundation item :National Natural Science Foundation of China(30370951) ; Cooperative Research Project of Belgium and China

* Corresponding author. Tel : 86-571-86971412 ; E-mail : glxie@zju.edu.cn

Received date :10-08-2004