

论著

椰酵假单胞菌与唐菖蒲伯克霍尔德菌 16S~23S rRNA 基因间区序列的比较研究

焦振泉 曹 玮 余东敏 刘秀梅 王晓英
(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100050)

摘要:目的 研究比较我国分离的椰酵假单胞菌与唐菖蒲伯克霍尔德菌不同致病型菌株的 16S~23S rRNA 基因间区序列,分析不同菌株基因水平的差别,并阐述其系统发育关系。方法 设计 2 对伯克霍尔德菌属特异引物,扩增 16S~23S rRNA 基因间区序列。应用分子生物学软件,对 3 株分别代表唐菖蒲伯克霍尔德菌 3 种不同致病型的国际参考菌株(ATCC10248、NCPB 947、NCPB3580)、1 株伯克霍尔德菌属 *B. phenazinium* 种代表株(LMG2247)及 8 株从我国不同地域、不同食物样品中分离的椰酵假单胞菌(HN2y、Co14、Co8、Co36、Sx8801、90-3、56(2)、56(2))的 16S~23S rRNA 基因序列进行测定,并与核酸数据库(GenBank)中相关菌株序列进行比较分析。结果 通过不同菌株 16S~23S rRNA 间区序列的分析比较,发现分离的椰酵假单胞菌米酵菌酸产毒株存在 2 个序列高可变区及特异基因序列,阐述了我国椰酵假单胞菌与唐菖蒲伯克霍尔德菌的系统发育关系,将 DNA 测序结果在核酸数据库中注册,并绘制了系统发育进化树。结论 该研究结果为进一步鉴定椰酵假单胞菌米酵菌酸产毒株,从分子水平探讨其产毒机制及系统发育关系提供了新的、可靠的理论依据和技术支撑。

关键词:假单胞菌属;伯克霍尔德杆菌,唐菖蒲;基因,rRNA;研究;配对分析

Study on Comparison of 16S~23S rRNA Gene ISR Sequence of *Pseudomonas cocovenenans* subsp *farinifermentans* Strains and *Burkholderia gladioli* Strains

JIAO Zhen-quan, CAO Wei, YU Dong-min, LIU Xiu-mei, WANG Xiao-ying

(National Institute for Nutrition and Food safety, Chinese CDC, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective To study and analyze the differences among the strains in the genus *Burkholderia* at gene levels by comparing 16S~23S rRNA gene intergenic spacer region (ISR) sequences of *Pseudomonas cocovenenans* subsp *farinifermentans* strains isolated in Chinese foods and *Burkholderia gladioli* model strains. The phylogenetic relationships of them were expounded.

Method Two pairs of specific primers for the genus *Burkholderia* were designed and 16S~23S rRNA gene ISR sequences were amplified for the strains. 16-23S rRNA gene ISR sequences of 3 international reference strains representative of the three different pathogenic strains of *Burkholderia gladioli* (ATCC10248, NCPB 947, NCPB3580), and 1 strain of *B. phenazinium* (LMG2247) and 8 strains of *Pseudomonas cocovenenans* subsp *farinifermentans* isolates (HN2y, Co14, Co8, Co36, Sx8801, 90-3, 56(2), 56(2)) from the different samples of food-poisoning in China were determined. The total sequences were compared and analyzed with the relative strain sequences in the GenBank by the molecular biological analyzing software. **Results**

Two highly variable ISR regions and the DNA specific sequences associated with isolate strains produced the Bongkreikic acid were found. The results of the DNA sequences were submitted to the GenBank. The phylogenetic tree of the isolates and the *Burkholderia gladioli* were illustrated. **Conclusion** New and reliable theory and technology supports were provided for the further study of the identification of *Pseudomonas cocovenenans* subsp *farinifermentans* isolates produced Bongkreikic acid, research into their mechanisms in molecular levels and their phylogenetic relationships.

Key word: *Pseudomonas*; *Burkholderia gladioli*; Genes, rRNA; Research; Matched-Pair Analysis

椰酵假单胞菌酵米面亚种 (*Pseudomonas cocovenenans* subsp *farinifermentans*) 简称椰酵假单胞菌,是我国学者发现的一种食物中毒菌,主要污染鲜

银耳、酵米面、醋凉粉及马铃薯粉等食物,平均死亡率高达 41.80%,是迄今我国病死率极高的一种微生物性食物中毒。经研究证实,该菌产生的毒素米酵菌酸(Bongkreikic Acid, BA)是引起食物中毒和死亡的主要毒性代谢产物。肝、脑、肾等脏器是该毒素作用的靶器官。米酵菌酸是一种不饱和脂肪酸,有关他的致病机制还不是很清楚。在对全国酵米面、

基金项目:教育部回国启动基金和国家自然科学基金(30571575)

作者简介:焦振泉 男 博士 副研究员

通讯作者:王晓英 女 研究员

银耳等食品进行的椰酵假单胞菌及其毒素污染调查中发现,在鲜银耳中,椰酵假单胞菌的检出率4.04%,而检出毒素的阳性率为8.21%,这说明并非所有椰酵假单胞菌都能产生米酵菌酸。1999年有学者根据细菌的系统分类将其划归为唐菖蒲伯克霍尔德菌的一个病原型。

唐菖蒲伯克霍尔德菌是一种植物病原菌,常常导致谷类等腐烂。唐菖蒲伯克霍尔德菌包括3个不同的致病型菌株,分别来源于腐烂的树叶、洋葱和蘑菇。已经有研究发现其与人类的肺部感染有关,如慢性肉芽肿和胆囊纤维化等。在我们的研究中发现,椰酵假单胞菌和唐菖蒲伯克霍尔德菌致病型菌株的典型株在生化特征上差异极微。在产毒培养和急性动物实验中发现,前者产生的米酵菌酸能够使小鼠致死,而后者则不能。目前已知椰酵假单胞菌能产生米酵菌酸,但唐菖蒲伯克霍尔德菌不同致病型菌株是否产生米酵菌酸还没有确定。

利用细菌16S~23S rRNA基因间区序列(Intergenic Spacer Region, ISR)来鉴别遗传关系上相近的菌株是目前国际研究热点^[1],可利用其对唐菖蒲伯克霍尔德菌不同致病型菌株进行鉴定,特别是对于米酵菌酸产毒株和不产毒株的鉴别。有关这种细菌不同致病性菌株鉴定方面的研究国内外尚未见报道。所以很有必要对唐菖蒲伯克霍尔德菌不同致病型菌株的产毒性能进行研究。考虑到米酵菌酸的毒性极强,所以对不同致病型菌株的鉴别就显得非常迫切和重要。

本研究将以16S~23S rRNA基因间区序列为基

础,设计特异引物,利用PCR、扩增产物测序分析等技术,对椰酵假单胞菌分离株及唐菖蒲伯克霍尔德菌不同致病型菌株DNA序列进行比较分析,以鉴定对人致病的产毒株,并绘制系统发育进化树。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株及生长条件 选用不同食物来源的椰酵假单胞菌分离株、唐菖蒲伯克霍尔德菌3个不同致病型菌株、椰毒伯克霍尔德菌模式株、伯克霍尔德菌属其他菌及阴性对照菌,共计16株。唐菖蒲伯克霍尔德菌(*B. gladioli* pv *gladioli*)模式株10248和椰毒伯克霍尔德菌模式株9450分别来源于美国菌种保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)和英国工业菌种保藏中心(National Collection of Industrial Bacteria, NCIB),唐菖蒲伯克霍尔德菌另2种致病型(*B. gladioli* pv *alliicola*和*B. gladioli* pv *aganicola*)参考菌株947和3580皆来源于英国植物病原菌菌种保藏中心(National Collection of Plant Pathogenic Bacteria, NCPPB),伯克霍尔德菌属中其他种*B. phenazinium*代表株LMG2247来源于日本岐阜大学,阴性对照菌株大肠杆菌52922来源于中国医学菌株保藏中心(CTCC),10株椰酵假单胞菌分离菌株分别来源于国内各类中毒食物及正常食物样品。所有菌株来源及特性详见表1。除大肠杆菌用营养琼脂培养外,其余菌株均生长于土豆培养基琼脂(PDA)斜面,于37℃培养18~24h,置4℃保存。

表1 实验菌株的来源及特性

菌株	序号	菌株号	来源	样本来源	产毒特性(米酵菌酸)
参考菌株	1	ATCC 10248	美国	Leaf	不产毒(或弱产毒) ^a
	2	NCPB 947	英国	洋葱	不产毒(或弱产毒) ^a
	3	NCPB 3580	英国	蘑菇	不产毒(或弱产毒) ^a
	4	NCIB 9450	英国	发酵椰子	+ ^a
国内分离的椰酵假单胞菌	5	HN2y	河南	正常鲜银耳	+ ^a
	6	G614	黑龙江	酵米面中毒样品	+ ^a
	7	G68	辽宁	酵米面中毒样品	+ ^a
	8	G636	吉林	酵米面中毒样品	+ ^a
	9	1A	河北	变质银耳中毒样品	+ ^a
	10	90-3		酵米面中毒样品	+ ^a
	11	Sx8801	陕西	凉粉中毒样品	+ ^a
	12	1(2)		正常酵米面	不产毒(或弱产毒) ^a
	13	56(2)	河北	正常酵米面	不产毒(或弱产毒) ^a
14	56(5)	河北	正常酵米面	不产毒(或弱产毒) ^a	
其他	15	LMG2247	日本	土壤	- ^b
	16	大肠杆菌52922	CTCC		- ^b

注:米酵菌酸测定^a薄层层析(TLC)法及动物实验,见参考文献[2,3,43];^b根据菌株背景资料。CTCC:中国医学菌株保藏中心。

1.1.2 主要试剂和仪器 10 ×PCR 缓冲液、Taq 酶、dNTPs、DNA 分子量标准品和细菌染色体 DNA 提取试剂盒购于美国 Promega 公司;琼脂糖和溴化乙锭 (EB) 购于美国 Sigma 公司;测序反应试剂 ABI PRISM^R BigDyeTM Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kit with Amplitaq^R DNA polymerase FS 购于美国 PERKIN ELMER 公司;测序引物分别为 Pgl a 2 - 16S 和 Pgl a 1 - 23S, 序列见表 2;PCR 扩增仪为德国 Whatman Biometra 公司产品;自动凝胶成像系统为美国 Bio - Rad 公司产品;恒温振荡培养箱 THZ - 82 江苏太仓医疗器械厂产品;测序仪 ABI PRISMTM 377XL DNA sequencer 为美国 PERKIN ELMER 公司产品;恒温恒流电泳仪 DYY - III - 5 型北京六一厂产品;旋

涡混合器 MS2 为德国 IKA 公司产品。

1.1.3 DNAMAN 5.0 及 TreView32 分子生物学分析软件均为美国 Lynnon Biosoft 生物软件公司产品。

1.2 方法

1.2.1 PCR 引物设计 以伯克霍尔德菌属及相近菌属的 16S 和 23S rDNA 基因及其间区序列为基础,应用 DNAMAN 软件检索基因数据库,比较数据库中相关菌株的 16S~23S rRNA 基因核苷酸序列,根据引物设计原则,设计并筛选出 2 对伯克霍尔德菌属特异性引物 Pgl a 1 - 16S/Pgl a 2 - 23S 和 Pgl a 2 - 16S/Pgl a 1 - 23S, 引物序列见表 2, 分别扩增 745 bp 和 699 bp 的 DNA 片段。

表 2 引物的名称、来源及核苷酸序列

引物名称	来源	方向	引物序列
Pgl a 1 - 16S	16S rDNA	正向	5' > ATC AGC ATG CCG CCG TGA AT < 3'
Pgl a 2 - 16S	16S rDNA	正向	5' > CGT CAC ACC ATG GGA GT < 3'
Pgl a 1 - 23S	23S rDNA	反向	5' > TCC ACC ACA TGC ACT TGT TC < 3'
Pgl a 2 - 23S	23S rDNA	反向	5' > CCA CAT GCA CTT GIT CGC TT < 3'

1.2.2 模板 DNA 的提取 用无菌吸管取 0.1 ml 冻存于 -80 的菌液于 PDA 斜面,置 35 培养 24~48 h,用接种环刮取少量培养物于无菌水中制成菌悬液,采用商品化的细菌染色体 DNA 提取试剂盒,提取 DNA。取 1 μl 作为 PCR 扩增模板。

1.2.3 PCR 的扩增 PCR 反应体积 (50 μl) : 5 μl 10 ×PCR 缓冲液、1 μl 25 mmol/L 氯化镁、0.2 μl Taq 酶、1 μl 10 mmol/L dNTPs、1 μl 10 mmol/L 引物对、1 μl 模板 DNA 和 40.8 μl 无菌水,设无 DNA 的阴性对照。PCR 扩增条件:94 变性 5 min;接着 33 个循环:94 变性 30 s,55 复性 30 s,72 延伸 1 min,最终 72 延伸 10 min。

1.2.4 琼脂糖凝胶电泳 取 PCR 扩增产物进行电泳,每孔载样 10 μl,同时以 100 bp DNA Ladder 作为分子量对照。琼脂糖凝胶、EB 染色液及电泳缓冲液的配制见文献 [10]。电泳条件为 75 V (5 V/cm) 电泳 2 h,EB 染色 (0.5 μg/ml),在波长为 258 nm 的紫外光下,用自动凝胶成像系统观察、扫描并储存电泳结果。

1.2.5 PCR 产物的纯化和测序 PCR 产物的纯化和测序,由大连宝生物公司完成。采用 Chromas 软件校对并输出 PCR 产物序列。以上游引物所测 PCR 产物序列为正链,根据与下游引物所测序列逆向互补链的重叠部分,以 DNAMAN 软件拼接出完整的产物 DNA 序列。

1.2.6 测序结果分析 应用 Chromas 软件校对并输出测序结果,在 Genbank 中注册。应用序列分析软

件 DNAMAN,分析所测菌株的输出序列,并与 Genbank 中伯克霍尔德菌相关的序列进行比较分析,应用 DNA Star 及 Treview 分子生物学软件,绘制系统进化树。

2 结果

2.1 PCR 反应的特异性

分别应用 2 对引物 Pgl a 1 - 16S/Pgl a 2 - 23S 和 Pgl a 2 - 16S/Pgl a 1 - 23S,以大肠埃希菌参考株 25922 为阴性对照,应用唐菖蒲伯克霍尔德菌模式株 ATCC 10248 及其他 2 个不同致病型菌株 NCPPB 947 和 NCPPB 3580、3 株从我国中毒食物样品分离的产米酵菌酸菌株 HN2y、Co14 和 Sx8801,进行 PCR 扩增,筛选适合引物,并验证 PCR 方法的特异性。结果表明,所有引物对除阴性对照外,都可扩增出相应片段,具有较好的特异性。引物对 Pgl a 2 - 16S/Pgl a 1 - 23S 的敏感性好于其他引物对,见图 1,同等反应条件下,Pgl a 2 - 16S/Pgl a 1 - 23S 对菌株 Co14 可扩增出较清晰的条带。

2.2 参考菌株和椰酵假单胞菌分离菌株的 PCR 扩增结果

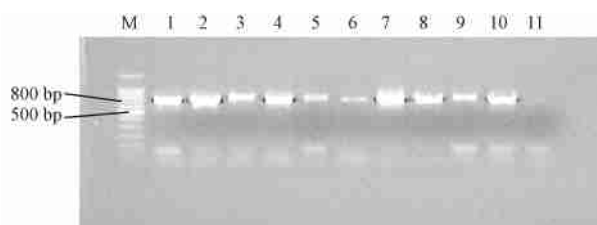
通过比较分析,选择引物对 Pgl a 2 - 16S/Pgl a 1 - 23S,对所有参考菌株和椰酵假单胞菌分离菌株进行 PCR 扩增,获得菌株的 16S~23S rRNA 基因间区 DNA 片段,部分菌株的 PCR 扩增结果见图 2。

2.3 菌株 16S~23S rRNA 基因间区序列测定及注册



M: DNA marker ,100 bp ladder ; 1,2,3,4,5,6,7 依次为菌株 ATCC10248、HN2y、Co14、Sx8801、NCPBB 947、NCPBB 3580 和阴性对照大肠杆菌 25922。

图 1 伯克霍尔德菌 PCR 反应的特异性



M 为 DNA marker ,100 bp ladder ; 1,2 和 10 分别为国际参考菌株 ATCC 10248、NCIB 9450 和 LMG 2247 ; 3,4,5,6,7,8 和 9 依次为分离菌株 Co8、Co36、Co14、56(2)、HN2y、56(5) 和 90 - 3 ; 11 为阴性对照大肠杆菌 25922。

图 2 参考菌株和部分分离菌株的 PCR 扩增结果

选择有代表性的参考菌株 ATCC 10248、NCPBB 947、NCPBB 3580、LMG 2247 和椰酵假单胞菌分离菌株 Sx8801、HN2y、56(2)、56(5)、90 - 3、Co8、Co14、Co36 的 PCR 扩增产物,送交生物公司进行 DNA 测序。并将测序结果提交核酸数据库(GenBank)进行注册,详细结果见表 3。注册网址为:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BankIt/nph-bankit.cgi>

表 3 12 株参考菌株及分离菌株 16S ~ 23S rRNA 基因间区序列注册结果

基因数据库 序列号	菌株名称	序列长度 (bp)
EF 552059	Sx8801	773
EF 552060	HN2y	681
EF 552061	56(2)	716
EF 552062	56(5)	716
EF 552063	90 - 3	687
EF 552064	Co8	717
EF 552065	Co14	770
EF 552066	Co36	725
EF 552067	LMG 2247 (<i>B. phenazinium</i>)	692
EF 552068	NCPBB 3580 (<i>B. gladioli pv agaricola</i>)	715
EF 552069	NCPBB 947 (<i>B. gladioli pv allicola</i>)	724
EF 552070	ATCC 10248 (<i>B. gladioli pv gladioli</i>)	715

2.4 不同菌株 16S ~ 23S rRNA 基因间区 DNA 序列比较分析

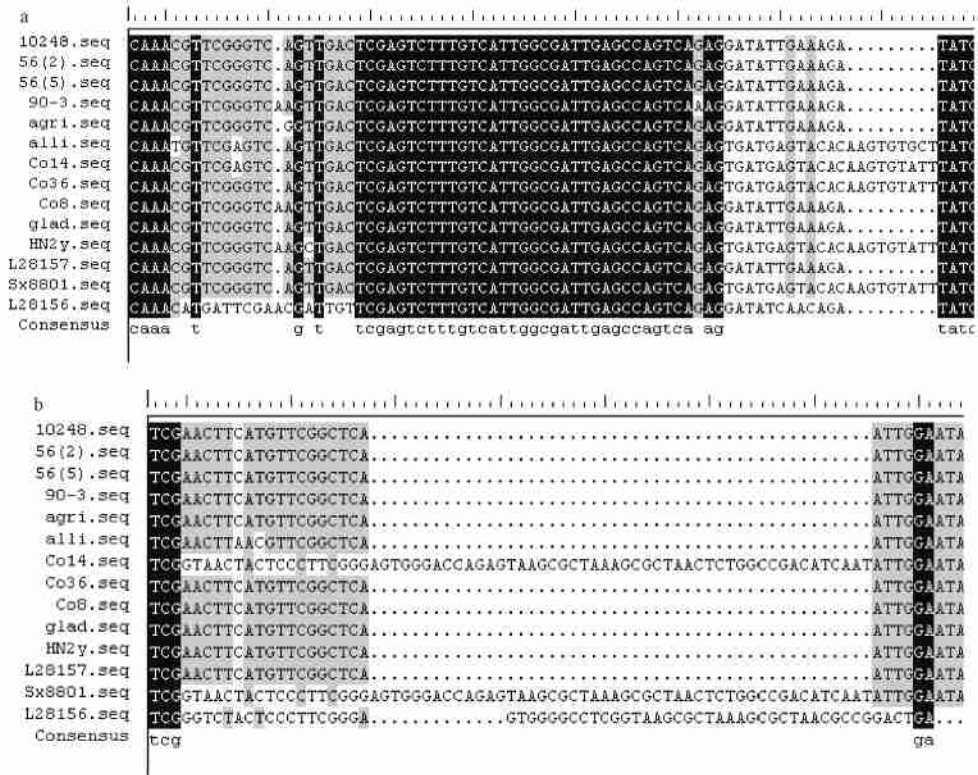
2.4.1 椰酵假单胞菌分离株与唐菖蒲伯克霍尔德

菌 16S ~ 23S rDNA 间区序列的比较 用从我国食物样品中分离的椰酵假单胞菌与基因库中唐菖蒲伯克霍尔德菌进行 16S ~ 23S rDNA 间区序列比较,所有菌株的 DNA 序列同源性为 89.87%,有 2 个高可变区序列差异较大,见图 3 的 a 和 b。两个高可变区分别在 466 ~ 485 bp 和 609 ~ 676 bp 位置。米酵菌酸产毒株 HN2y、Sx8801、Co14、Co36 在第 1 可变区存在特异序列 - TGATGAGTACACAAAGTGTATT -,另外产毒株 HN2y、Co8 和 90 - 3 在 421 bp 位置较其他菌株多 1 个碱基 A 的突变;强产毒株 Sx8801 和 Co14 在第 2 可变区存在特异的插入序列 - GTAAGTACTCCC TTCGGGA GTGGGACCA GA GTAA GCGCTAAA GCGCTAA CTCTGCCCCGACATCAAT-。通过分析确证了椰酵假单胞菌米酵菌酸产毒株与唐菖蒲伯克霍尔德菌模式株 ATCC 10248 的 DNA 序列同源性为 92.3%,属高度同源;不产毒(或弱产毒)株 56(2) 和 56(5) 的序列与唐菖蒲伯克霍尔德菌模式株 ATCC 10248 的同源性为 99.86%。图中 glad、alli、agri 分别代表所测的菌株 ATCC 10248、NCPBB 947、NCPBB 3580 的 16S ~ 23S rRNA 基因间区序列,L28156 和 L28157 为基因数据库中唐菖蒲伯克霍尔德菌的序列。

2.4.2 椰酵假单胞菌分离株与伯克霍尔德菌属细菌 16S ~ 23S rDNA 间区序列的比较 比对基因数据库(GenBank)中存在的及我们测定的伯克霍尔德菌属中 14 个相关菌株和 8 个椰酵假单胞菌分离菌株的 16S ~ 23S rRNA 基因间区序列的结果表明,这些菌株的 DNA 碱基序列同源性为 71.67%,具有许多高度保守序列,几乎所有菌株都具有这样相同的 DNA 序列;另外还存在同属细菌不同种间各异的插入序列,插入序列的不同区域分别见图 4 中 a、b、c、d、e。与其他种菌株相比,所有椰酵假单胞菌分离株与唐菖蒲伯克霍尔德菌序列基本一致,仅部分产毒株与不产毒(或弱产毒)株序列间有所不同。尤其在 405 ~ 494 bp 位置,与伯克霍尔德菌属其他菌株相比,椰酵假单胞菌分离株和唐菖蒲伯克霍尔德菌缺失相同部分的插入序列,在 460 ~ 485 bp 位置的共有序列仅存在 1 ~ 2 个碱基差别,且与同属其他种菌株完全不同。

2.5 系统进化树的绘制

为研究我国椰酵假单胞菌分离株的产毒株与人类致病的唐菖蒲伯克霍尔德菌株的系统进化关系,通过 DNA Star 及 Treview 32 分子生物学软件,比较了不同食物中毒样品中分离的菌株和伯克霍尔德菌属中相关菌株的 16S ~ 23S rRNA 基因间区序列,计算不同菌株之间的遗传距离,并绘制系统发育进化树,见图 5。



a 为 410 ~ 419 bp 和 466 ~ 485 bp 位置插入序列比较; b 为 609 ~ 676 bp 位置插入序列比较

图 3 椰酵假单胞菌分离株 16S-23S rDNA 间区高可变区序列比较

ATCC 10248 为美国菌种保藏中心保藏的唐菖蒲伯克霍尔德菌模式株;agri、alli、glad、phen 分别代表 NCPPB 3580、NCPPB 947、ATCC 10248 和 LMG 2247;L28151~L28165 分别为 GenBank 中相关菌株的 16S~23S rRNA 基因间区序列;其余为我国分离的椰酵假单胞菌。

从进化树可以看出,分离菌株与本属的相关菌株在进化过程中主要形成 3 个分支,分离菌株与唐菖蒲伯克霍尔德菌不同致病型菌株处于第 I 分支。产毒株 Co36、HN2y、Co14、Sx8801 与唐菖蒲伯克霍尔德菌致病型菌株 NCPPB 947 亲缘关系最近,产毒株 Co8 和 90-3 与之亲缘关系较近。不产毒(或弱产毒)株 56(2)、56(5)与唐菖蒲伯克霍尔德菌模式株 ATCC 10248 亲缘关系较近。

3 讨论

随着细菌系统分类学的发展,16S rRNA 序列分析已经成为细菌种属分类和鉴定的标准方法。但随着遗传进化距离的不断缩小,16S rRNA 已没有足够的碱基差异来对特定的菌种或菌株,特别是相近的菌种或同一菌种的不同菌株进行鉴定。所以 16S~23S rRNA 基因 ISR 以其无特定功能和进化速率比 16S rRNA 大 10 倍而成为细菌分类和鉴定的新热点^[1]。一些细菌的 16S~23S rRNA 基因 ISR 的数

目、大小和序列已经得到,他们之间的不同使其在细菌系统发育学,特别是相近菌种和菌株的区分和鉴定方面占据了一席之地。细菌包含 16S rRNA、23S rRNA 和 5S rRNA 基因及其 ISR^[5]。细菌不同菌株之间 16S~23S rRNA ISR 长度是不同的,而所包含 tRNA 的数量和类型也有所不同,大多数革兰阴性菌的 16S~23S rRNA ISR 都含有 tRNA^{Ala} 和 tRNA^{Ile},但一些其他菌只含有 tRNA^{Glu}。

1987 年孟昭赫等对以 Co8、Co14 为代表的我国椰酵假单胞菌分离菌株进行了大量的研究工作,并以从印尼可可豆食品中分离的中毒菌椰毒假单胞菌(NCIB 9450 椰毒伯克霍尔德菌)、铜绿假单胞菌、洋葱假单胞菌(洋葱伯克霍尔德菌)等为对照,从生理生化、血清学、分子杂交、毒素的化学测定等方面进行了实验^[4]。结果表明,这些分离菌株与椰毒假单胞菌一致,只是对侧金盏花醇的分解结果不同,前者能分解,而后者则不能分解。1989 年刘秀梅在美国 ATCC 的研究发现,椰酵假单胞菌在生物学性状上与唐菖蒲伯克霍尔德菌 ATCC 10248 比与椰毒假单胞菌更为相近;邱茂锋^[6,7]等利用 rDNA 指纹图对椰酵假单胞菌、椰毒假单胞菌和唐菖蒲伯克霍尔德菌进行了研究,也得出相同的结论;焦振泉等^[2,8,9]研究比较 16S rRNA 基因序列,对椰酵假单胞菌进行了系统分类学研究,也得到类似结论。

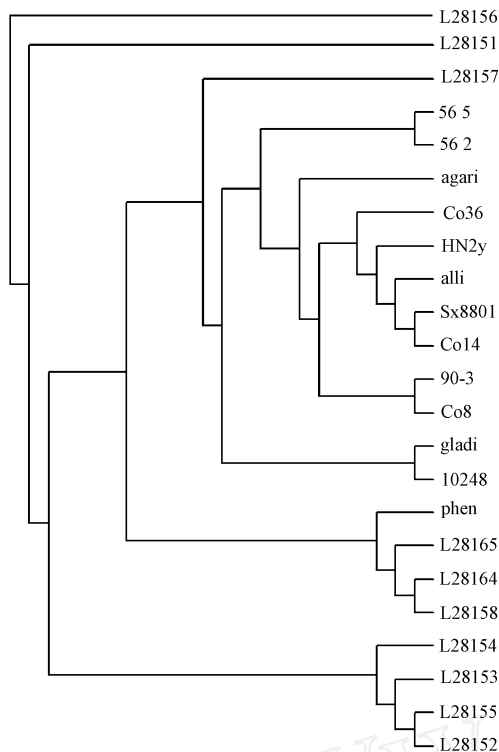


图5 椰酵假单胞菌系统发育进化树

我们根据对椰酵假单胞菌分离株 16S~23S rRNA 基因间区 DNA 序列的比较分析,进一步支持了椰酵假单胞菌与唐菖蒲伯克霍尔德菌更为近缘这一结论。同时揭示大部分分离的椰酵假单胞菌米酵菌酸产毒株存在特异的插入序列,为鉴定米酵菌酸产毒株提供了可靠的科学理论依据。根据我们的研究结果,建议划分椰酵假单胞菌米酵菌酸产毒株及不产毒株为唐菖蒲伯克霍尔德菌的一个或几个生物变种或新的生物型。

国际上尚未见唐菖蒲伯克霍尔德菌产毒(米酵

菌酸)的报道,本研究及本科室对我国食物中毒样品分离的米酵菌酸产毒株的系列研究^[2-4,6-9],为分析探讨我国分离菌株的分类学地位、产毒机制及其存在的特异 16S~23S rRNA 基因间区插入序列与产毒性的关系等,提供了可靠的支持。

参考文献

- [1] SIMON L J, STUBBS L, JON, et al. PCR targeted to the 16S - 23S rRNA gene intergenic spacer region of clostridium difficile and construction of a library consisting of 116 different PCR ribotypes [J]. Journal of Clinical Microbiology, 1999, 37(2): 461-463.
- [2] 焦振泉. 椰酵假单胞菌酵米面亚种系统分类学研究[D]. 博士学位论文,1999.
- [3] 王静. 椰酵假单胞菌基因组及糖分与产毒性能关系的初步研究[D]. 博士学位论文,1995.
- [4] 孟昭赫. 食品卫生检验方法注解微生物学部分[M]. 北京: 人民卫生出版社,1988: 384-395.
- [5] PAUL W, WHITBYL, LAUREN C, et al. Species-Specific PCR as a Tool for the Identification of Burkholderia gladioli [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2000, 38(1):282-285.
- [6] 邱茂峰,刘秀梅,杨瑞馥. 椰酵假单胞菌 rDNA 指纹图分析方法的建立[J]. 中华预防医学杂志, 1996, 30(4): 231-233.
- [7] 邱茂峰,刘秀梅,杨瑞馥. 用 rDNA 指纹图分析我国部分椰酵假单胞菌的分子流行病学特征[J]. 卫生研究, 1998, 27(1): 57-60.
- [8] 焦振泉,刘秀梅. 椰酵假单胞菌酵米面亚种的 16s rDNA 序列的测定和分析[J]. 卫生研究,1999,28(4):232-235.
- [9] JIAO Z, KAWAMURA Y, MISHIMA N, et al. Need to differentiate lethal toxin-producing strains of Burkholderia gladioli, which cause severe food poisoning: description of B. gladioli pathovar cocovenenans and an emended description of B. gladioli [J]. Microbiol Immunol. 2003, 47(12):915-925.
- [10] 王晓英,刘秀梅. 串珠镰刀菌伏马菌素产毒株 PCR 检测方法的研究[J]. 卫生研究,2003,32(3):228-231.

[收稿日期:2008-03-02]

中图分类号:R15; R379; Q949.32

文献标识码:A

文章编号:1004-8456(2008)03-0197-07

消息(二)

科学家们的统计结果表明,幽门螺旋杆菌在许多情况下会引起胃粘膜慢性发炎,并导致胃炎和溃疡的发生,而他生活在大约地球上 50% 居民的胃里。导致动脉粥样硬化因素之一的肺炎衣原体,可以在 10%~50% 的居民机体内发现。根据 WHO 的资料显示,超过 90% 的居民都不同程度地患有牙周疾病。如果这些疾病不进行治疗的话,可能会导致牙齿周围及其支持组织被破坏。最新的研究资料发现,口腔有害菌要对成人 75% 的牙齿脱落负责,甚至还被怀疑在许多情况下会引起其他疾病,如动脉粥样硬化、糖尿病恶化,或者是孕妇感染后的早产。