

# 神秘伯克霍尔德氏菌：主要的工业污染洋葱伯克霍尔德氏菌复合群成员及其毒力分析

张淑瑶<sup>1</sup>, 文霞<sup>1</sup>, 苏皓庭<sup>1</sup>, 黄迪<sup>1</sup>, 陶宏兵<sup>2</sup>, 张桂芳<sup>1</sup>, 许炎坤<sup>2</sup>, 谢小保<sup>1\*</sup>

1 广东省科学院微生物研究所, 广东省微生物分析检测中心, 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 广州

2 广东迪美生物技术有限公司 广东 广州

张淑瑶, 文霞, 苏皓庭, 黄迪, 陶宏兵, 张桂芳, 许炎坤, 谢小保. 神秘伯克霍尔德氏菌：主要的工业污染洋葱伯克霍尔德氏菌复合群成员及其毒力分析[J]. 微生物学报, 2025, 65(11): 5037-5053.

ZHANG Shuyao, WEN Xia, SU Aiting, HUANG Di, TAO Hongbing, ZHANG Guifang, XU Yankun, XIE Xiaobao. Virulence profiling of *Burkholderia aenigmatica*: a predominant member of the *Burkholderia cepacia* complex in industrial contamination[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(11): 5037-5053.

**摘要：**【目的】对 2022–2023 年间从不同工业产品及生产环境中分离的 120 株洋葱伯克霍尔德氏菌复合群(*Burkholderia cepacia* complex, Bcc)进行物种鉴定及多样性分析, 并对本实验室一株新分型的神秘伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia aenigmatica*) ST2120 的全基因组数据进行分析, 预测其毒力和致病性。【方法】采用多位点分型研究方法(multilocus sequence typing, MLST)确定 Bcc 的分型(sequence types, ST); 利用多位点序列分析(multilocus sequence analysis, MLSA)对未知分型的 Bcc 进行系统发育分析和物种鉴定。选取 ST2120 菌株, 使用 Nanopore 测序平台进行全基因组测序, 并对测序数据进行基因组组装、基因预测、功能注释以及次级代谢产物基因簇预测等。【结果】120 株 Bcc 菌株中共鉴定出 7 个物种, 分别为神秘伯克霍尔德氏菌(*B. aenigmatica*)、新洋葱伯克霍尔德氏菌(*B. cenocapacia*)、洋葱伯克霍尔德氏菌(*B. cepacia*)、污染伯克霍尔德氏菌(*B. contaminans*)、越南伯克霍尔德氏菌(*B. vietnamiensis*)、稳定伯克霍尔德氏菌(*B. stabilis*)和多噬伯克霍尔德氏菌(*B. multivorans*), 共 38 个不同的 ST 分型。在分类过程中发现 22 个新等位基因和 20 个新 ST 分型, 本研究中的新分型 Bcc 以 *B. aenigmatica* 和 *B. vietnamiensis* 为主。*B. aenigmatica* 在工业污染 Bcc 的占比高达 55%, 是主要的污染物种。*B. aenigmatica* ST2120 菌株基因组全长为 8 909 914 bp, G+

资助项目：广东省重点领域研发计划(2022B1111040002); 广东省自然科学基金(2023A1515030059, 2023A1515012057); 广东省技术合同(2025440001000077); 广州市科技计划(2024A04J5025); 广东省科学院发展专项资金项目(2022GDASZH-2022010101)

This work was supported by the Research and Development Plan in Key Areas of Guangdong Province (2022B1111040002), the Natural Science Foundation of Guangdong Province (2023A1515030059, 2023A1515012057), the Guangdong Province Technical Contract (2025440001000077), the Guangzhou Science and Technology Planning (2024A04J5025), and the Guangdong Academy of Sciences (GDAS)' Project of Science and Technology Development (2022GDASZH-2022010101).

\*Corresponding author. E-mail: xiaobaoxie@126.com

Received: 2025-04-09; Accepted: 2025-05-20; Published online: 2025-06-27

C 含量为 65.73%，包含 8 192 个编码基因。将全基因组数据上传至 NCBI，获得登录号为 CP184468–CP184476。基因组分析预测到该菌株存在与铁载体相关的次级代谢产物(如 ornibactin C8, chromobactin)合成基因簇，注释到 5 种与外排泵相关的抗生素抗性基因，以及涉及分泌系统、黏附、入侵宿主、免疫调节和群体感应等功能的毒力基因。【结论】*B. aenigmatica* 已成为主要的工业污染 Bcc，*B. aenigmatica* 菌株 ST2120 基因组中存在较为全面的致病因子，具有潜在致病性。

**关键词：**洋葱伯克霍尔德氏菌复合群；多位点序列分析；神秘伯克霍尔德氏菌；工业微生物污染；基因组分析

## Virulence profiling of *Burkholderia aenigmatica*: a predominant member of the *Burkholderia cepacia* complex in industrial contamination

ZHANG Shuyao<sup>1</sup>, WEN Xia<sup>1</sup>, SU Aiting<sup>1</sup>, HUANG Di<sup>1</sup>, TAO Hongbing<sup>2</sup>, ZHANG Guifang<sup>1</sup>, XU Yankun<sup>2</sup>, XIE Xiaobao<sup>1\*</sup>

1 Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Detection Center of Microbiology, Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou, Guangdong, China

2 Guangdong Demay Biological Technology Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong, China

**Abstract: [Objective]** To identify the species and investigate the diversity of 120 *Burkholderia cepacia* complex (Bcc) strains isolated from industrial products and their production environments between 2022 and 2023. Additionally, the whole genome of a novel sequence type (ST) strain, *Burkholderia aenigmatica* ST2120, was analyzed to assess its virulence and pathogenicity. **[Methods]** Multilocus sequence typing (MLST) was employed to assign sequence types (STs) of Bcc strains. Multilocus sequence analysis (MLSA) was conducted for phylogenetic analysis and species identification of novel ST Bcc strains. Whole genome sequencing of ST2120 was performed on the Nanopore platform, followed by genome assembly, gene prediction, functional annotation, and prediction of biosynthetic gene clusters (BGCs) for secondary metabolites. **[Results]** Among the 120 Bcc strains, seven species (*B. aenigmatica*, *B. cenocepacia*, *B. cepacia*, *B. contaminans*, *B. vietnamiensis*, *B. stabilis*, and *B. multivorans*) and 38 STs were identified. Twenty-two novel alleles and 20 new STs were discovered. The novel ST strains were predominantly identified as *B. aenigmatica* and *B. vietnamiensis*. *B. aenigmatica* accounted for 55% of Bcc strains associated with industrial contamination, representing the most prevalent species within the industrial contamination-related Bcc. The genome (8 909 914 bp, G+C content: 65.73%) of *B. aenigmatica* ST2120 comprised 8 192 protein-coding genes, and the genome data were deposited in NCBI under the accession number CP184468–CP184476. Genomic analysis predicted siderophore-related BGCs for secondary metabolites (e.g., ornibactin C8 and

chromobactin), five efflux pump-associated antibiotic resistance genes, and virulence genes linked to secretion systems, host adhesion/invasion, immune modulation, and quorum sensing. **[Conclusion]** *B. aenigmatica* has emerged as a predominant Bcc species in industrial contamination. The genome of *B. aenigmatica* ST2120 contains comprehensive virulence genes, indicating significant pathogenicity.

**Keywords:** *Burkholderia cepacia* complex; multilocus sequence analysis; *Burkholderia aenigmatica*; industrial microbial contamination; genome analysis

洋葱伯克霍尔德氏菌复合群(*Burkholderia cepacia* complex, Bcc)是一组由超过 20 个紧密相关物种组成的细菌群, 这些物种在基因层面极为相似, 但在表型和致病性方面存在显著差异。Bcc 细菌的分类主要基于其基因特征, 包括 16S rRNA 基因、*recA* 基因、*hisA* 基因, 以及采用多位点序列分析 (multilocus sequence analysis, MLSA) 方法。16S rRNA 基因分析常用于初步分类, 然而由于该基因相似性较高, 其分辨率有限<sup>[1]</sup>。MLSA 通过分析多个位点的序列信息进行分类, 能够提供更高的分辨率<sup>[2]</sup>。随着全基因组测序成本降低且应用程序增多, 较易获取的基因组学数据可提供更高分辨率。

Bcc 细菌可引起囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)患者感染<sup>[3]</sup>、参与植物发病机制<sup>[4]</sup>, 在生物技术领域于生物修复和生物控制<sup>[5]</sup>等方面发挥作用, 同时也会成为导致工业损失的污染物。工业产品涵盖日化品、个人护理产品以及药品等, 与人们的日常生活紧密相关。Bcc 污染不仅会造成经济损失, 对于从工业产品中获得的致病性 Bcc 引发的获得性感染也不容忽视。2025 年, 巴西报道了一起重症监护病房中伯克霍尔德菌污染病例暴发事件, 该事件与受污染的洗浴液有关<sup>[6]</sup>; 2020 年, 中国香港暴发了由多个品牌受污染的氯己定引起的洋葱伯克霍尔德氏菌复合菌感染<sup>[7]</sup>; 2018 年 3 月, 美国食品药品监督管理局启动了对 60 例洋葱伯克霍尔德菌复合体 (Bcc) 感染暴发事件的调查, 发现感染事件与制造商 A 生产的免冲洗清洁泡沫产品相关, 该产品用于医疗机构患者的皮肤护理<sup>[8]</sup>。因此, 了解

工业污染中 Bcc 物种的多样性、预测并分析其毒性和致病性不仅有助于减少工业损失, 还能及时预防 Bcc 对人类健康构成的威胁。

在 2020 年以前, *B. aenigmatica* 曾被归类到 *B. contaminans* 和宽广伯克霍尔德氏菌(*B. lata*) 中。Depoorter 等<sup>[9]</sup>对 Bcc 重新分类后确立了 *B. aenigmatica* 的新分类地位。目前, 关于 *B. aenigmatica* 的研究仅停留在分类和耐药性方面<sup>[10-12]</sup>, 在代谢产物利用和致病因子方面的研究较少。本研究基于近 2 年从工业产品及生产环境中分离的 120 株 Bcc 的分析数据发现 *B. aenigmatica* 已成为主要的污染性 Bcc。为研究 *B. aenigmatica* 的潜在危害和致病可能性, 选取实验室新分型的 ST2120 菌株进行全基因组测序, 从耐药性、次级代谢基因簇以及毒力基因等方面对其潜在致病性进行分析和预测, 旨在唤起工业产品生产和检测人员对 Bcc 污染菌的重视, 以预防和减少由工业来源的 *B. aenigmatica* 引发的疾病暴发。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和仪器

大豆酪蛋白琼脂(soy casein agar, TSA), 广东环凯微生物科技有限公司; AmPure Microbial DNA Kit, 广州美基生物科技有限公司; 2× Rapid Taq Master Mix, 南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

恒温培养箱, 上海精宏实验设备有限公司; PCR 仪, Bio-Rad 公司; Nanopore 测序平台, Oxford Nanopore Technologies 公司。

## 1.2 菌种来源、培养以及保存

本研究所用的 Bcc 菌株为 2022–2023 年本检测中心从日化产品中分离的菌株，以及广东迪美生物技术有限公司从日化产品、工业生产环境和原料中分离出的污染性 Bcc。

将 Bcc 菌株用 TSA 平板置于 30 °C 培养箱中培养，24–48 h 后进行分离纯化，将纯化的单菌落扩增并收集于 20% 甘油管中，置于–80 °C 冰箱保存。

## 1.3 菌株基因组的提取

使用 AmPure Microbial DNA Kit 快速提取纯菌种培养物的基因组，以通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCA-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') 进行 16S rRNA 基因片段的 PCR 扩增。PCR 反应体系(50 μL): 2× Rapid Taq Master Mix 25 μL, 上、下游引物 (10 μmol/L) 各 2 μL, DNA 模板 2 μL, ddH<sub>2</sub>O 19 μL。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 2 min; 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 60 s, 共 35 个循环; 72 °C 终延伸 5 min。将扩增产物送至北京擎科生物科技股份有限公司测

序，将 BLAST 比对结果为 *Burkholderia* sp. 的菌株进行 MLST 鉴定。

## 1.4 MLST 分型鉴定

七个管家基因的引物序列来源于 Bcc PubMLST 网站 (<https://pubmlst.org/organisms/burkholderia-cepacia-complex>)<sup>[13-14]</sup>，具体引物序列见表 1。管家基因的 PCR 扩增条件参照张淑瑶等<sup>[12]</sup>的研究。将获得的 7 个管家基因序列 (*atpD*、*gltB*、*gyrB*、*recA*、*lepA*、*phaC* 和 *trpB*) 上传至 Bcc PubMLST 网站获取相应等位基因号，并匹配到 ST 分型。

## 1.5 MLSA 发育树构建方法

将新分型菌株的 7 个管家基因分别由系统剪切至对应长度: *atpD* 443 bp、*gltB* 400 bp、*gyrB* 454 bp、*recA* 393 bp、*lepA* 397 bp、*phaC* 385 bp 和 *trpB* 301 bp，串联 7 个管家基因，标准菌株的 7 个管家基因从 Bcc PubMLST 网站下载，利用 MEGA 11 采用最大似然法构建系统发育树，具体构建方法参照张淑瑶等<sup>[12]</sup>的研究。

表1 七个管家基因的引物及退火温度

Table 1 Primers and annealing temperatures for seven housekeeping genes

Gene	Primer sequences (5'→3')	Annealing temperature (°C)	Allele size (bp)
<i>atpD</i>	F: ATGAGTACTRCTGCTTTGGTAGAAGG R: CGTGAAACGGTAGATGTTGTCG	56	756
<i>gltB</i>	F: CTGCATCATGATGCGCAAGTG R: CTTGCCGCGGAARTCGTTGG	58	652
<i>gyrB</i>	F: ACCGGTCTGCAYCACCTCGT R: YTCGTTGWARCTGTCGTTCCACTGC	60	738
<i>recA</i>	F: AGGACGATTCATGGAAGAWAGC R: GACGCACYGAYGMRTAGAACTT	55	975
<i>lepA</i>	F: CTSATCATCGAYTCSTGGTTCG R: CGRTATCCTTGAACCTCGTARTCC	58	525
<i>phaC</i>	F: GCACSAGYATYTGCCAGCG R: CCATSTCSGTRCCRATGTAGCC	58	704
<i>trpB</i>	F: CGCGYTTCCGGVATGGARTG R: ACSGTRTGCATGTCCTTGTCG	58	787

## 1.6 全基因组分析

全基因组测序基于 Nanopore 测序平台进行。使用 Canu v1.5 软件对过滤后的 reads 进行组装, 然后使用 Circulator v1.5.5 对组装基因组进行环化。编码基因预测采用 Prodigal v2.6.3 完成。次级代谢生物合成基因簇 (biosynthesis gene clusters, BGC) 的预测采用 antiSMASH 7.0<sup>[15]</sup> 完成。

利用预测的基因序列分别与以下功能数据库进行 BLAST v2.2.29 比对: Nr (NCBI non-redundant protein sequences; <ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/db/FASTA/>); KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes; <https://www.genome.jp/kegg/>); eggNOG (evolutionary genealogy of genes: non-supervised orthologous groups; <http://eggnog45.embl.de/>); Swiss-Prot (curated protein sequence database; <https://www.uniprot.org/help/downloads>); TrEMBL (unreviewed protein sequence database; <https://www.uniprot.org/help/downloads>) 获得基因功能注释结果。基于 Nr 数据库比对结果, 应用软件 Blast2GO v2.5 进行 GO 数据库的功能注释 (<http://geneontology.org/docs/download-ontology/>)。利用预测得到的基因的蛋白序列与抗生素抗性基因数据库 CARD (comprehensive antibiotic resistance database, <http://geneontology.org/docs/download-ontology/>)、毒力因子 VFDB 数据库 (virulence factor database, [https://www.mgc.ac.cn/VFs/search\\_VFs.htm](https://www.mgc.ac.cn/VFs/search_VFs.htm)) 等功能数据库进行 BLAST 比对, 得到相应的注释结果。

为进行基于全基因组的分类分析, 将基因组序列数据上传到 Type (菌株) 基因组服务器 (TYGS, <https://tygs.dsmz.de/>)<sup>[16]</sup>。利用 FastME 2.1.6.1 算法构建了系统基因组树, 并利用基因组爆炸距离系统发育距离 (genome blast distance phylogeny, GBDP) 通过子树修剪与重连后处理, 为分支提供支持。

## 2 结果与分析

### 2.1 MLST 及菌种鉴定结果

#### 2.1.1 MLSA 发育树分析

本发育树选取 14 株工业污染中常见 Bcc 物种的标准菌株作为参考, 对 20 株未知分型的工业污染 Bcc 进行系统发育分析和鉴定 (图 1)。根据 MLSA 系统发育树进行聚类分析, 本研究中的大部分新分型菌株聚类于 *B. aenigmatica* 和 *B. vietnamiensis*。其中, 新分型菌株 BC35、BC66、BC118、BC120、BC27 和 BC05 聚类于 *B. aenigmatica*, 新分型菌株 BC79、BC54、BC74、BC76、BC06 和 BC71 聚类于 *B. vietnamiensis*, BC12、BC119、BC100 聚类在 *B. cepacia*; BC116、BC69 聚类于 *B. cenocepacia*, BC80 聚类于 *B. contaminans*, BC103 聚类于 *B. multivorans*, BC88 聚类于 *B. stabilis*。

#### 2.1.2 新等位基因及新 MLST 分型

对 Bcc 菌株的 7 个管家基因分别测序后, 将无法在 MLST 系统上匹配的基因序列上传至 pubMLST *Burkholderia cepacia* complex 系统, 经审核后分配新的等位基因号, 并将基因序列录入系统。如表 2 所示, 共发现 22 个新等位基因, 分别是 2 个 *atpD* (基因号: 726、727), 4 个 *gltB* (基因号: 967、976、998、999), 7 个 *gyrB* (基因号: 1420、1421、1422、1439、1468、1469、1486), 1 个 *recA* (基因号: 799), 2 个 *lepA* (基因号: 915、948), 2 个 *phaC* (基因号: 700、718), 4 个 *trpB* (基因号: 882、883、903、904)。

新等位基因的发现伴随着新 ST 分型的产生, 表 2 中菌株 BC35 的 *atpD*-726, *gltB*-967, *gyrB*-1421 和 *trpB*-882 均为新等位基因, BC35 被认定为新的分型 ST2208。然而, 并非所有的新分型都含有新的等位基因, BC88 的 7 个管家基因均非新等位基因, 但在系统中无法匹配到相应分型, 因此 BC88 也被认定为新的分型, 新

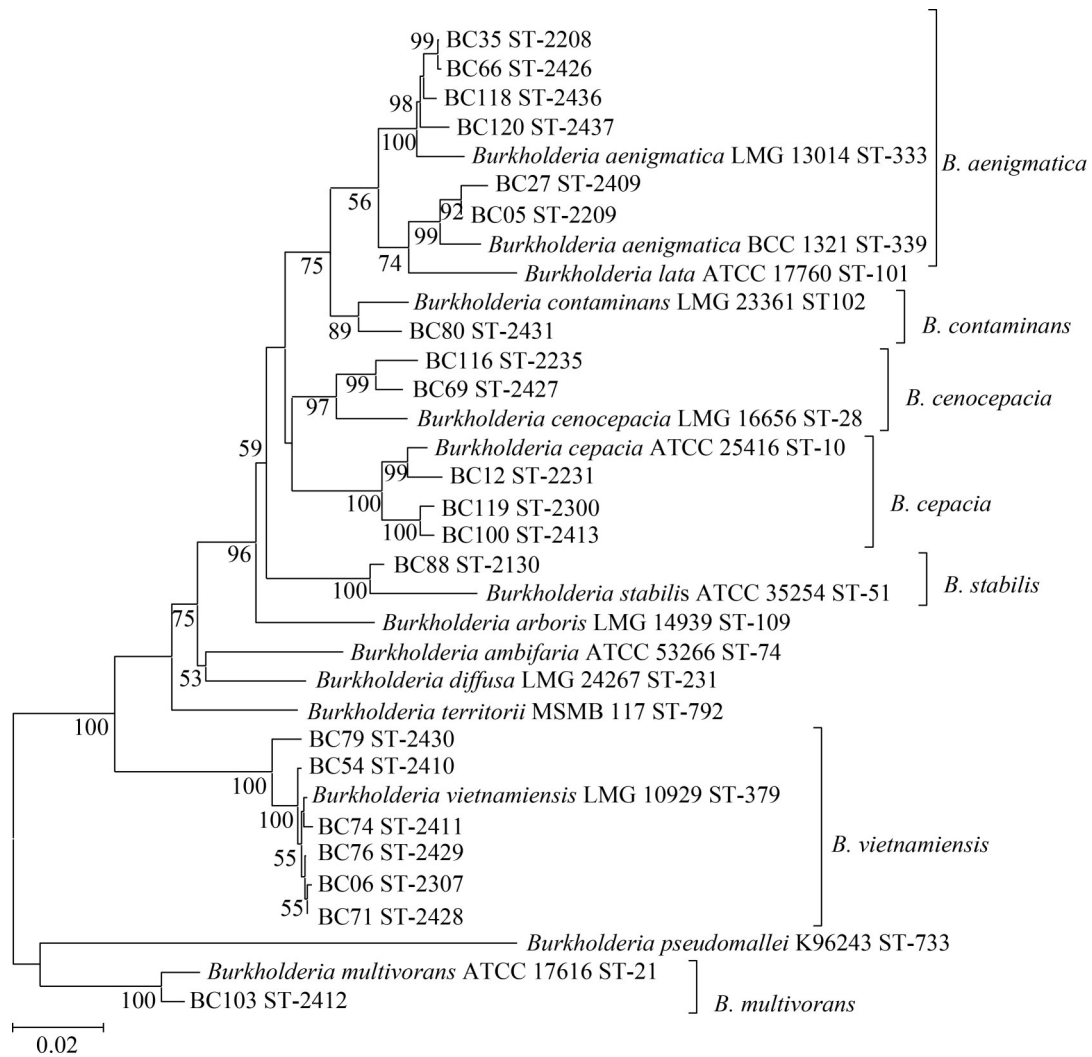


图1 未知分型Bcc的MLSA系统发育树。节点上的数值为bootstrap支持率(1 000次重复), 仅显示 $\geq 50\%$ 的值。标尺表示每个位点的核苷酸替代数。

Figure 1 MLSA phylogenetic tree of novel ST Bcc strains. Node values represent bootstrap support (based on 1 000 replicates), only values $\geq 50\%$  are shown. The scale bar represents nucleotide substitutions per site.

分型号为 2130。本研究中 120 株 Bcc 共鉴定到 20 个新的 ST 分型, 新分型菌株的等位基因号、ST 分型和物种信息如表 2 所示, 20 株新分型菌株中有 6 株被鉴定为 *B. aenigmatica*、6 株为 *B. vietnamiensis*、3 株为 *B. cepacia*、2 株为 *B. cenocepacia*、1 株为 *B. contaminans*、1 株为 *B. stabilis* 和 1 株为 *B. multivorans*。新的等位基因和新 ST 型丰富了 Bcc 分类数据库, 提高了未知 Bcc 的分类效率和准确率。

### 2.1.3 工业污染 Bcc 物种多样性

本研究选取 2022–2023 年分离自日化产品、日化原料、日化环境、涂料和胶黏剂等的 120 株 Bcc, 采用 MLST 方法鉴定其物种, 工业污染 Bcc 物种多样性情况如下: *B. aenigmatica*,  $n=66$ ; *B. vietnamiensis*,  $n=18$ ; *B. cenocepacia*,  $n=17$ ; *B. contaminans*,  $n=9$ ; *B. cepacia*,  $n=8$ ; *B. stabilis*,  $n=1$ ; *B. multivorans*,  $n=1$  [数据存储在 国家微生物科学数据中心(<http://nmcdc.cn>), 编号

表2 新分型Bcc菌株的等位基因和物种信息

Table 2 Alleles and species information of novel ST Bcc isolates

Number	Strain designation	<i>atpD</i>	<i>gltB</i>	<i>gyrB</i>	<i>recA</i>	<i>lepA</i>	<i>phaC</i>	<i>trpB</i>	ST	Species
1	BC35	726 <sup>a</sup>	967 <sup>a</sup>	1421 <sup>a</sup>	146	214	162	882 <sup>a</sup>	2208	<i>B. aenigmatica</i>
2	BC05	184	666	1420 <sup>a</sup>	574	59	467	615	2209	<i>B. aenigmatica</i>
3	BC88	25	140	159	293	219	10	62	2130	<i>B. stabilis</i>
4	BC06	191	20	15	23	35	56	17	2307	<i>B. vietnamiensis</i>
5	BC119	733	976 <sup>a</sup>	1439 <sup>a</sup>	1	38	1	21	2300	<i>B. cepacia</i>
6	BC12	727 <sup>a</sup>	95	1422 <sup>a</sup>	799 <sup>a</sup>	915 <sup>a</sup>	700 <sup>a</sup>	883 <sup>a</sup>	2231	<i>B. cepacia</i>
7	BC116	16	134	1399	15	214	8	144	2235	<i>B. cenocepacia</i>
8	BC27	184	666	1420	574	657	467	615	2409	<i>B. aenigmatica</i>
9	BC54	27	231	173	23	49	56	17	2410	<i>B. vietnamiensis</i>
10	BC74	191	19	202	22	12	56	17	2411	<i>B. vietnamiensis</i>
11	BC102	13	141	160	133	386	42	638	2412	<i>B. multivorans</i>
12	BC100	1	386	1486 <sup>a</sup>	53	3	718 <sup>a</sup>	638	2413	<i>B. cepacia</i>
13	BC66	726	390	1421	146	214	162	882	2426	<i>B. aenigmatica</i>
14	BC69	136	135	1470	49	948 <sup>a</sup>	8	14	2427	<i>B. cenocepacia</i>
15	BC71	27	20	15	23	36	56	17	2428	<i>B. vietnamiensis</i>
16	BC76	27	103	15	23	36	11	17	2429	<i>B. vietnamiensis</i>
17	BC79	28	103	173	23	214	11	81	2430	<i>B. vietnamiensis</i>
18	BC80	64	135	76	89	948	8	14	2431	<i>B. contaminans</i>
19	BC118	180	998 <sup>a</sup>	1468 <sup>a</sup>	146	214	528	903 <sup>a</sup>	2436	<i>B. aenigmatica</i>
20	BC120	180	999 <sup>a</sup>	1469 <sup>a</sup>	778	213	713	904 <sup>a</sup>	2437	<i>B. aenigmatica</i>

<sup>a</sup> indicates the new alleles.

为 NMDCX0002141]。Bcc 的分型也表现出多样性, 共 38 种, 其中 ST-339、ST-2209、ST-2208 以及 ST-2129 这 4 种分型占比最多。除了 ST-2129 被鉴定为 *B. vietnamiensis* 外, 其他 3 个分型均被鉴定为 *B. aenigmatica*。工业污染 Bcc 的分布情况见图 2, *B. aenigmatica* 在工业污染 Bcc 中的占比为 55%, 远超过 *B. vietnamiensis* (15%) 和 *B. cenocepacia* (14%), *B. contaminans*、*B. cepacia*、*B. stabilis* 和 *B. multivorans* 的占比均不超过 10%。结果表明 *B. aenigmatica* 是工业污染 Bcc 中最主要的物种类型。

## 2.2 ST2120 的形态特征和分型

经 MLST 鉴定, 菌株 ST2120 为神秘伯克霍尔德氏菌(*B. aenigmatica*), 是本实验室 2021 年从手口湿巾中获得的一株新分型 Bcc。张淑瑶等<sup>[12]</sup>已报道过其等位基因和耐药信息, 该菌株 7 个

管家基因中有 4 个是新等位基因。本研究 120 株 Bcc (NMDCX 数据中心编号为 NMDCX0002141) 中的 BC86 也属于 2120 分型。

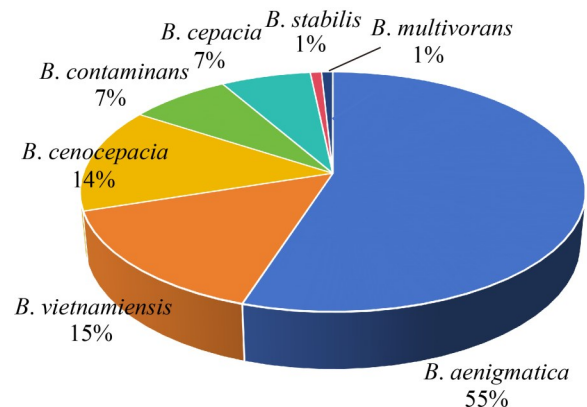


图2 工业产品 and 环境中 Bcc 物种分布

Figure 2 Distribution of Bcc species isolated from industrial products and their production environments.

菌株 ST2120 的菌落形态和革兰氏染色如图 3 所示, ST2120 为白色不透明光滑菌落, 边缘整齐, 48 h 培养后菌落周围出现褐色色素, 为革兰氏阴性杆菌。

### 2.3 菌株 ST2120 的全基因组基本特征和基因组亲缘关系

菌株 ST2120 的基因组序列全长为 8 909 914 bp, 平均 G+C 含量为 65.73%, 编码基因数量为 8 192 个。所有编码基因总长度为 7 697 844 bp, 编码区总长度占基因组总长度的 86.39%。此外, 非编码 RNA 包含 18 个 rRNA 和 70 个 tRNA。菌株 ST2120 有 3 条环状染色体, 大小分别为 3.6、1.2 和 3.4 Mb (图 4), 6 条质粒大小从 2.0–161.0 kb 不等。其基因组序列已提交至 GenBank 数据库, 登录号为 CP184468–CP184476。

利用 GBDP 从整个蛋白质组中推断出的系统基因组树显示了菌株 ST2120 相对于最近物种的系统发育位置(图 5)。发育树显示, ST2120 与 *Burkholderia aenigmatica* LMG 13041<sup>T</sup> 最为接近, 其分类结果与 MLSA 发育树结果一致。

### 2.4 基因组功能注释

#### 2.4.1 GO 数据库注释结果

基于 GO 数据库对菌株 ST2120 基因组的编

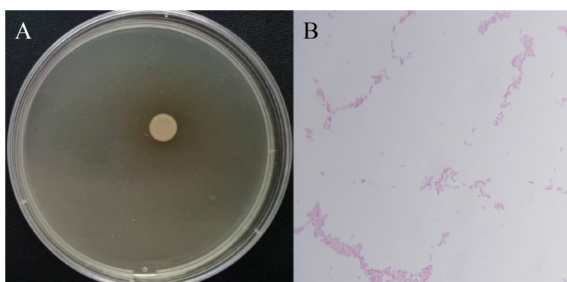


图3 ST2120的菌落和菌株形态特征。A: ST2120 菌落形态; B: 显微镜下观察ST2120革兰氏染色效果[目镜10×, 物镜100×(油镜)]。

Figure 3 The colony and strain morphological characteristics of ST2120. A: ST2120 colony morphology; B: Microscopic observation of ST2120 Gram staining under eyepiece 10× and objective 100× (oil immersion).

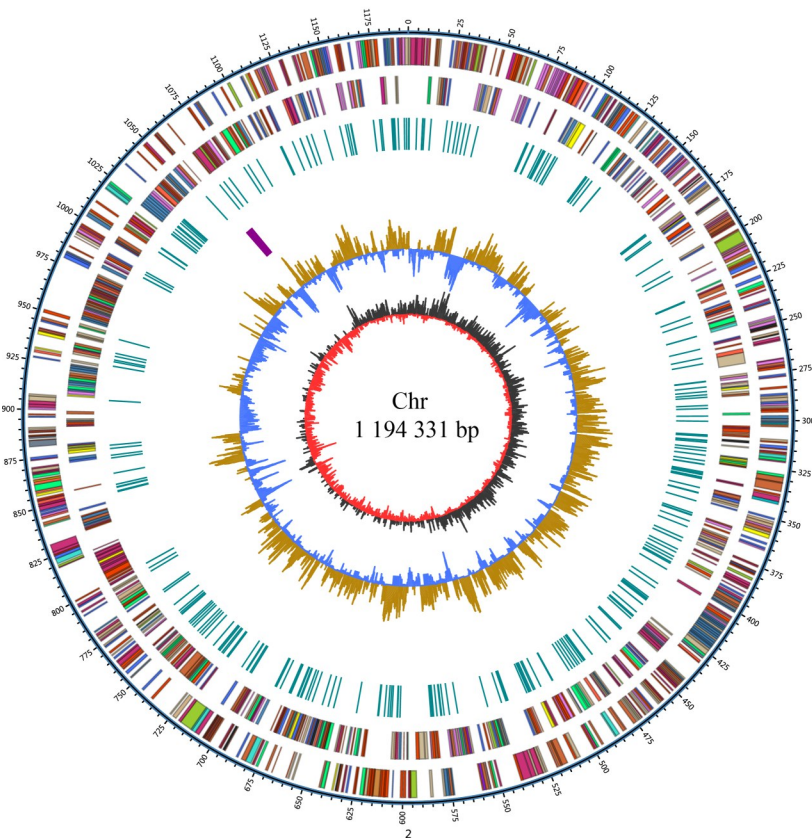
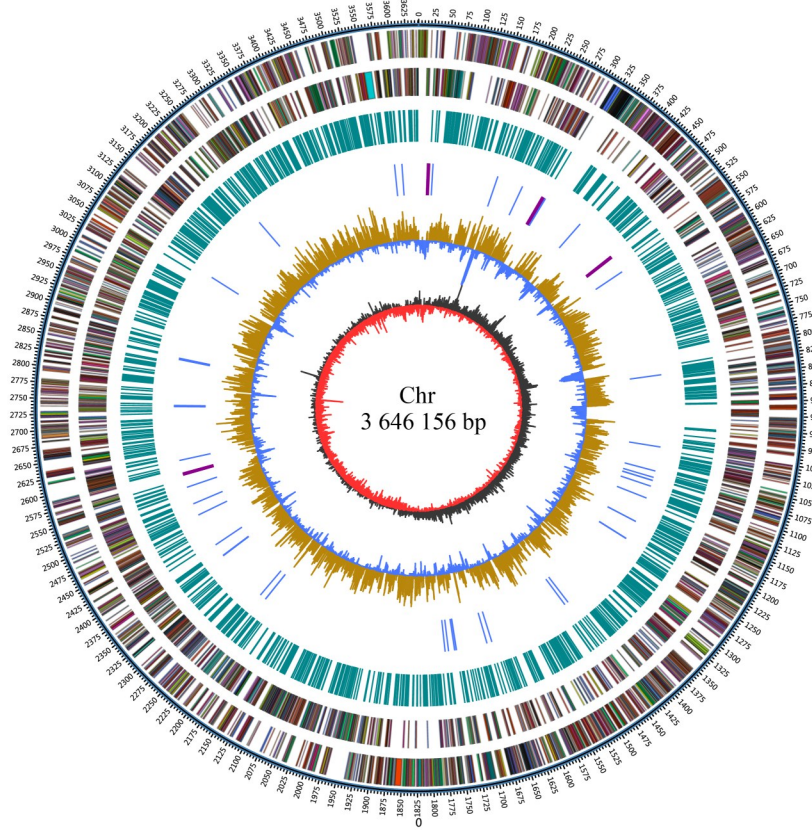
码基因进行功能注释, 共获得 5 647 个基因的标准功能描述信息(图 6)。涉及细胞组分(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)和生物学过程(biological process, BP)的基因数分别为 6 018、6 864 和 8 999 个。在生物学过程类别中, 主要功能集中于代谢过程(metabolic process, 2 554 个基因)和单有机体过程(single-organism process, 2 015 个基因); 分子功能主要涉及催化活性(catalytic activity, 3 064 个基因)和连接(binding, 2 313 个基因); 膜(membrane, 1 726 个基因)、膜组成(membrane part, 1 535 个基因)以及细胞(cell, 437 个基因)是细胞组分中涉及的主要功能。

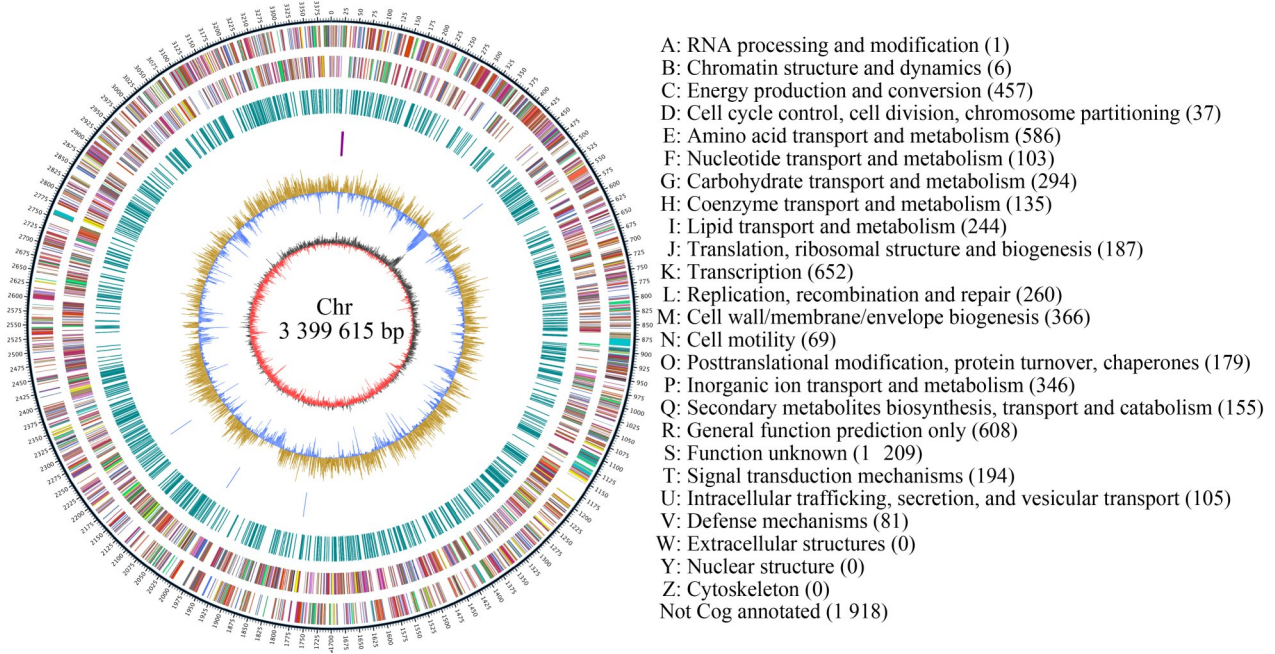
#### 2.4.2 KEGG 数据库注释结果

基于 KEGG 数据库的菌株 ST2120 功能注释分析结果如图 7 所示, 共 1 084 个基因被注释到四大功能类别: 新陈代谢(metabolism)、遗传信息处理(genetic information processing)、环境信息处理(environmental information processing)和细胞过程(cellular processes)。其中, 新陈代谢相关基因占比最高, 环境信息处理次之, 细胞过程相关基因数量最少。在参与新陈代谢的基因中注释到氨基酸生物合成(biosynthesis of amino acids)的基因数最多(155 个基因), 其次是碳代谢(carbon metabolism, 153 个基因)、芳香化合物的降解(degradation of aromatic compounds, 97 个基因)和羧酸盐和二羧酸盐代谢(glyoxylate and dicarboxylate metabolism, 79 个基因)。

#### 2.4.3 CARD 数据库注释结果

CARD 包含描述抗生素及其靶标的信息, 涉及抗生素抗性基因、相关蛋白、抗生素抗性机制等内容, 用于抗生素抗性基因数据的分类。菌株 ST2120 注释到 5 种抗生素基因, 分别是 *amrB*、*amrA*、*ceoA*、*ceoB* 和 *adeF*, 均起到抗生素外排泵作用。其中, *amrB*、*amrA* 可以外排氨基糖苷类抗生素, *ceoA*、*ceoB* 参与氟喹诺酮类和氨基糖苷类抗生素的外排, *adeF* 外排四环





**图4** 菌株ST2120的基因组圈图。基因组圈图结构解析(由外至内): 外环, 基因组尺度标尺(刻度单位: 5 kb); 第2/3环, 正负链编码基因分布(COG功能分类色标); 第4环, 重复序列定位; 第5环, tRNA(蓝色)与rRNA(紫色)注释; 第6环, G+C含量偏离度。浅黄色区域: 高于基因组均值(峰高指示偏离程度); 蓝色区域: 低于基因组均值; 内环: GC-skew分析。深灰色: G>C区域; 红色: C>G区域。

Figure 4 Loop diagram of strain ST2120. Structural annotation of the genomic circle diagram (outer to inner): Outermost ring, Genomic scale bar (tick interval: 5 kb); Second/third rings, Protein-coding genes on positive/negative strands (color-coded by COG functional categories); Fourth ring, Repeat sequence annotation; Fifth ring, tRNA (blue) and rRNA (lavender) annotations; Sixth ring, G+C content deviation. Light yellow regions: Higher than genomic mean (peak height indicates deviation magnitude); Blue regions: Lower than genomic mean; Innermost ring: GC-skew analysis. Charcoal gray: G>C regions; Red: C>G regions.

素类和氟喹诺酮类抗生素。

Bcc 成员普遍表现出高水平固有耐药性, *B. cenocepacia* 对多数临床常用抗生素耐药, Bcc 分离株呈现多重耐药表型, 尤其涵盖喹诺酮类、氨基糖苷类及  $\beta$ -内酰胺类抗生素。根据作者前期发表的文章可知, 菌株 ST2120 对氨基糖苷类抗生素和四环素耐药<sup>[12]</sup>。

#### 2.4.4 次级代谢产物分析

基因组分析和次生代谢物注释提供了菌株 ST2120 遗传含量的全面表征, 为其潜在的生物学功能和产生次生代谢物的能力提供了见解。菌株 ST2120 基因组中次生代谢产物有 8 个生物

合成基因簇(biosynthesis gene clusters, BGC), 包括萜烯(terpene)、非核糖体肽-金属载体(NRP-metallophore, NRPS)、 $\beta$ -内酯(betalactone)、膦酸盐(phosphonate)和芳基聚烯(aryl polyene)基因簇(表 3)。其中, ornibactin C8、chromobactin 和 N-acyloxyacyl glutamine 比对分数较高(>50%)。Pacifibactin、APE Vf、dehydrofosmidomycin、Pf-5 pyoverdine 和 reveromycin A 基因簇与已知化合物编码基因簇同源性较低, 表明菌株 ST2120 具有合成新型且具有独立功能化合物的潜力。

#### 2.4.5 毒力因子分析

*Burkholderia* sp. 的毒力因子多样且复杂, 涉

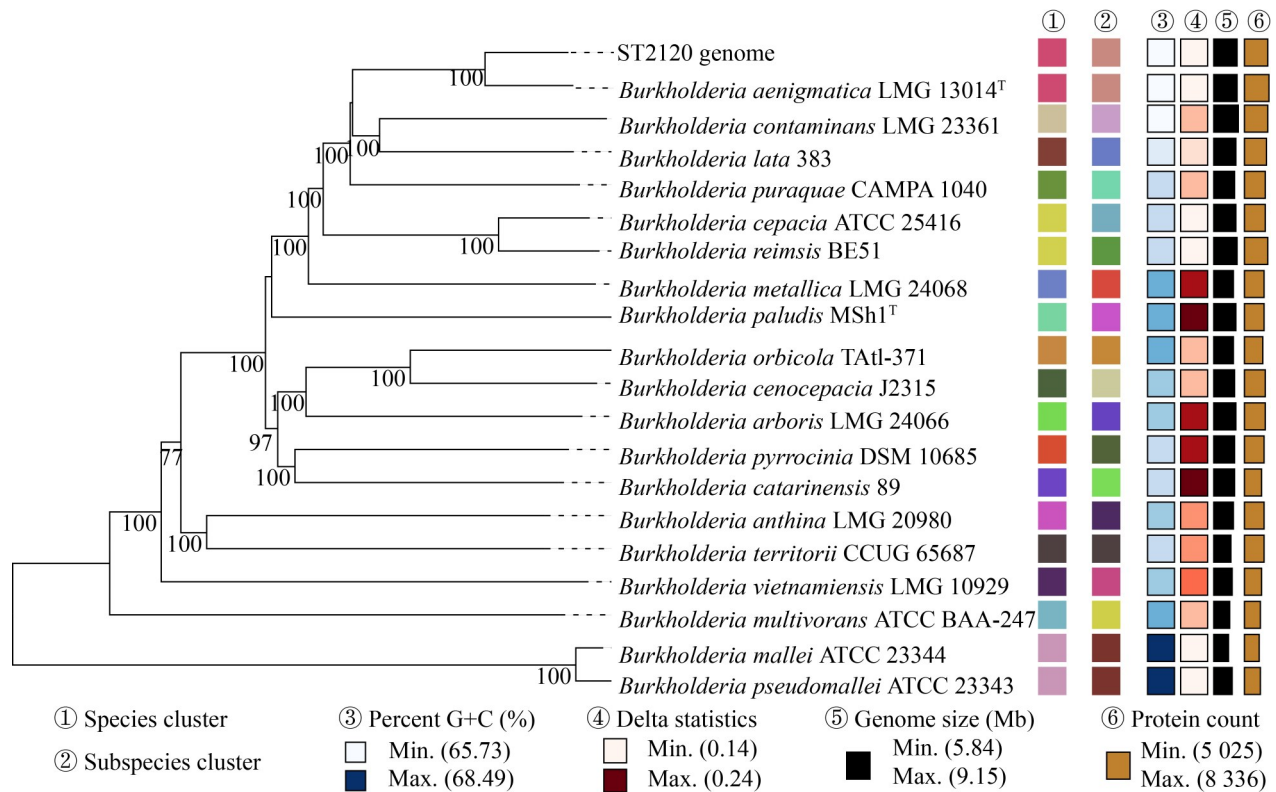


图5 ST2120的基因组发育树。分支下面的数字是来自100个复制的GBDP伪引导支持值。物种和亚种簇的不同颜色表明系统发育树中菌株的差异性；基因组G+C含量介于65.7%–68.5%之间；基因组大小范围从5.8–9.2 Mb；各基因组编码的蛋白质数量在5 025–8 336个之间。

Figure 5 The phylogenetic tree based on whole proteogenomes of ST2120. The numbers under branches are GBDP pseudo-bootstrap support values from 100 replications. The different colors of the species and subspecies clusters indicate that the strains in the phylogenetic tree were different. Genomic G+C content ranges between 65.7% and 68.5%; genome size ranges from 5.8 to 9.2 Mb; and the number of proteins coded by each genome ranges between 5 025 and 8 336.

及黏附、侵入、免疫逃避和生存等多个方面。不同种类的 *Burkholderia* sp. 具有独特的毒力因子，但也存在一些共同的毒力机制，如 LPS、T3SS 和 T6SS。这些毒力因子协同作用，使 Bcc 能够在宿主体内建立感染并引发疾病<sup>[17]</sup>。利用细菌毒力因子精准鉴定平台——VFAnalyzer 对 ST2120 的毒力因子进行分析。VFAnalyzer 通过构建待测基因组与 VFDB 预分析参考基因组间的直系同源群组，有效规避旁系同源基因可能导致的假阳性问题，能够精准识别非典型/菌株特异性毒力因子。

菌株 ST2120 携带了 160 种毒力基因，按功能可分为黏附相关基因(32 种)、分泌系统相关基因(21 种)、调控相关基因(3 种)、鞭毛相关基因(11 种)、压力蛋白相关基因(10 种)、铁摄取相关基因(23 个)、防吞噬相关基因(6 个)以及细胞毒性基因(13 个)等。以存在于 *Burkholderia* 中的毒力因子为例，分析菌株 ST2120 中涉及黏附、效应传送系统、运动入侵宿主、免疫调节、群体感应以及表型调控的毒力因子，具体见表 4。Type IV 菌毛(pili)有助于细菌的黏附性和毒力<sup>[18]</sup>。Bsa T3SS 和

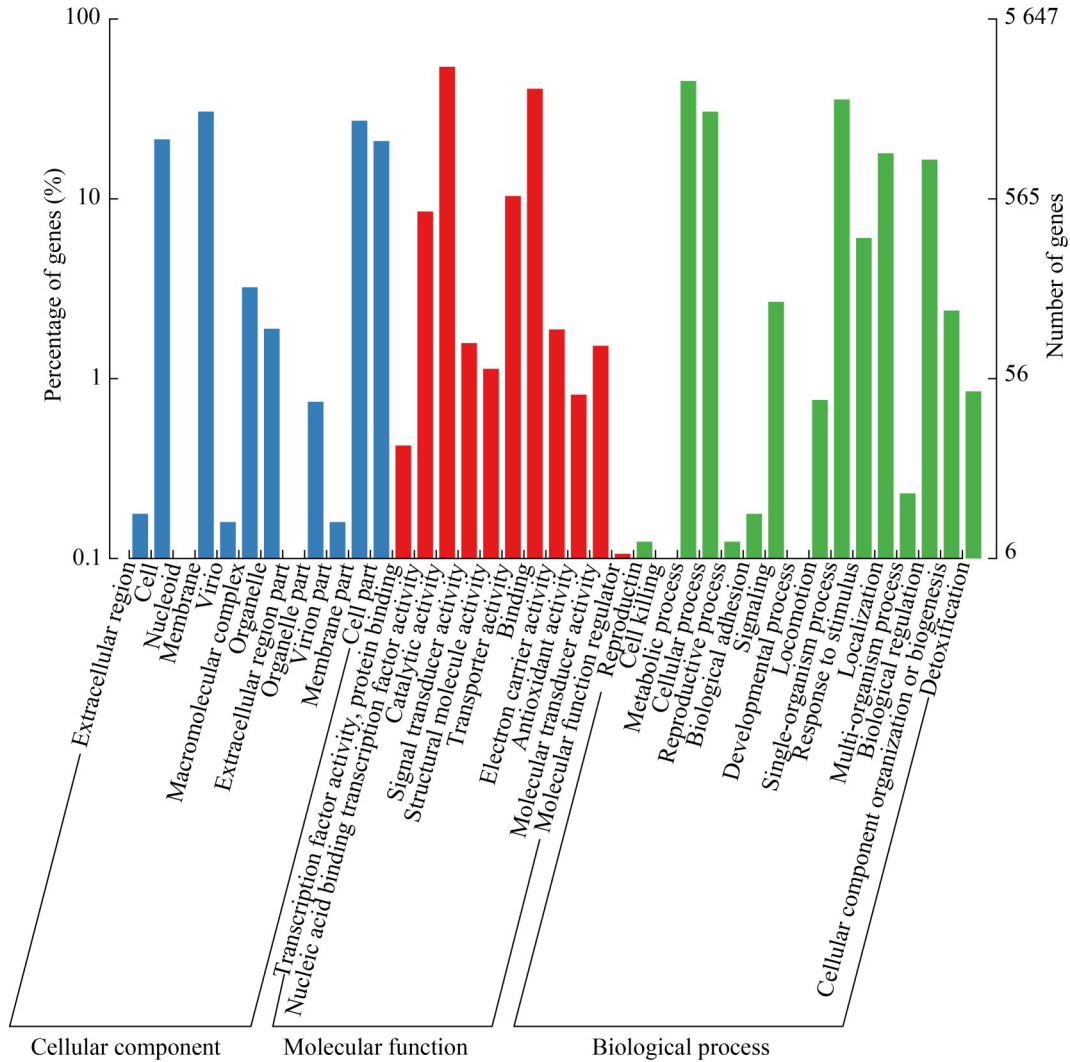


图6 菌株ST2120基因组的GO功能分类

Figure 6 GO functional classification of strain ST2120 genome.

T6SS-1 分别属于 III 型和 VI 型分泌系统(type III & type VI secretion system)产生的毒力因子, T3SS 能够将效应蛋白直接输送到宿主细胞内, 干扰宿主细胞的正常功能。类鼻疽伯克霍尔德氏菌(*B. pseudomallei*)利用 T3SS 逃避宿主免疫反应并促进细菌在细胞内的存活。T6SS 用于细菌间的竞争和攻击, 可杀死其他细菌或干扰宿主细胞。BimA 在细菌细胞的一端诱导肌动蛋白聚合以促进细菌在宿主细胞内和宿主细胞之间的运动。极地鞭毛(flagella)是细菌运动和巨噬细胞入侵所必需的。荚膜合成

(capsule I) 是关键的毒力决定因子, 其缺失可导致致病菌在动物疾病模型中的毒力显著减弱<sup>[19]</sup>。CdpA 可动态调控细菌从自由运动向定殖侵袭的表型转换。在 *B. cenocepacia* 中拥有多个群体感应系统(quorum-sensing, QS), 这些系统在细菌的毒力和致病性中起重要作用<sup>[17]</sup>。群体感应系统在 Bcc 中普遍存在, 可调控多种关键毒力表型, 包括毒素分泌、蛋白酶/脂肪酶合成、铁载体产生、群集运动及生物膜形成<sup>[20]</sup>。

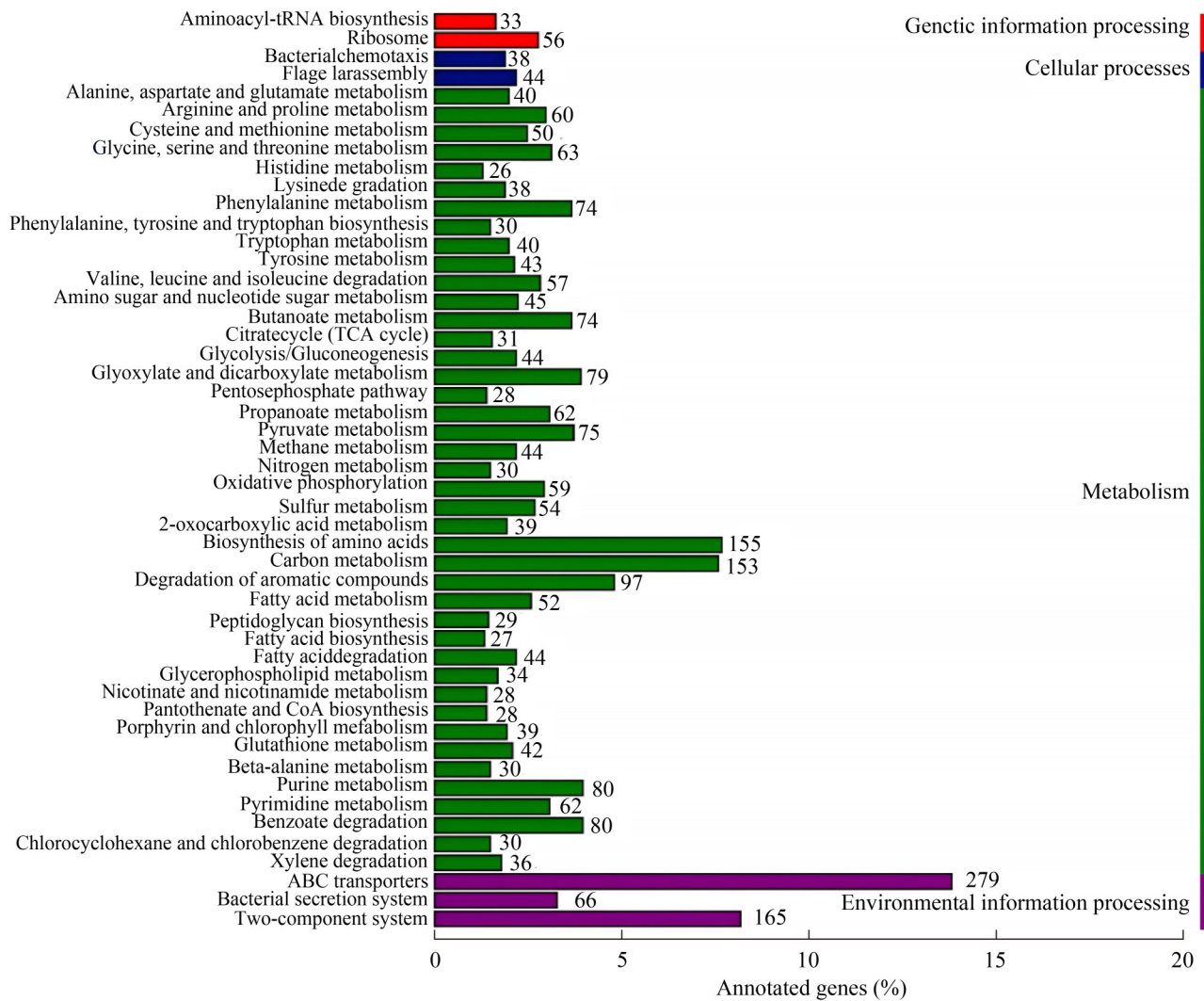


图7 菌株ST2120基因组的KEGG代谢通路分类

Figure 7 KEGG metabolic pathway classification of strain ST2120 genome.

表3 菌株ST2120的次级代谢物生物合成基因簇分析

Table 3 The secondary metabolite biosynthesis gene clusters in strain ST2120

Type	Span (nt)	Most similar known cluster	Similarity (%)
Betalactone	918 695-950 507	Pacifibactin	10
NRP-metallophore, NRPS	1 822 741-1 887 827	Ornibactin C8	100
NRP-metallophore, NRPS	1 998 460-1 887 827	Chromobactin	70
Arylpolyene	3 169 421-3 210 632	APE Vf	10
Terpene	1 371 499-1 392 563	N-acyloxyacyl glutamine	50
Phosphonate	1 555 320-1 588 217	Dehydrofosmidomycin	15
Ranthipeptide	2 246 149-2 267 579	Pf-5 pyoverdine	7
Betalactone	562 437-588 232	Reveromycin A	6

表4 菌株ST2120的毒力因子预测

Table 4 The virulence factor of strain ST2120

Virulence factor id	Vf name	Species name	Vf function
VF0427	BimA	<i>B. pseudomallei</i>	Inducing polymerization of actin at one pole of the bacterial cell to promote bacterial movement within and between host cells
VF0428	Bsa T3SS	<i>B. pseudomallei</i>	Delivering effector proteins into host cells to manipulate host cell functions
VF0429	T6SS-1	<i>B. pseudomallei</i>	Essential for virulence and plays an important role in the intracellular lifestyle of <i>B. pseudomallei</i> ; In <i>B. mallei</i> , the T6SS cluster homologous to <i>B. pseudomallei</i> T6SS-1, is important for actin-based motility, multinucleated giant cell formation, intracellular growth in murine macrophages, and virulence in hamsters
VF0430	Flagella	<i>B. pseudomallei</i>	Polar flagella required for motility and macrophage invasion
VF0431	Type IV pili	<i>B. pseudomallei</i>	Plays a role in adherence
VF0432	CdpA	<i>B. pseudomallei</i>	A major c-di-GMP-specific phosphodiesterase in regulating intracellular levels of c-di-GMP, affecting diverse phenotypes such as flagellum synthesis, bacterial motility, the production of exopolysaccharides, cell-to-cell aggregation, biofilm formation, cytotoxicity, and invasion of human cells
VF0433	Quorum-sensing	<i>B. pseudomallei</i>	-
VF0436	Capsule I	<i>B. pseudomallei</i>	A key virulence determinant and that loss of capsule production results in severe attenuation in animal models of disease

- indicates no description is available on the VFDB website.

### 3 讨论与结论

尽管 16S rRNA 基因序列分析常用于新分类群的初步鉴定，但其在伯克霍尔德菌属分类中分辨率不足，尤其难以区分 Bcc 成员<sup>[9]</sup>，MLST 在过去 20 年中一直是广泛用于细菌分型和鉴定的金标准<sup>[21-22]</sup>。基于 7 个管家基因序列分析的 MLST 方法能够区分 Bcc 的物种水平和菌株水平。本研究采用 MLST 方法鉴定了 120 株工业污染 Bcc，共得到 38 种不同 ST 分型的菌株。在鉴定过程中发现了 22 个新等位基因和 20 个新 ST 分型。通过 MLSA 发育树聚类鉴定了 20 株新分型菌株的物种。新的等位基因丰富了 Bcc 基因数据库，新分型菌株的信息可提高后续实验人员鉴定菌种的分类效率和准确率。

2020 年以前，工业污染 Bcc 中占比较高的

物种是 *B. lata*、*B. cenocepacia* 和 *B. vietnamiensis*<sup>[23-24]</sup>。2020 年 *B. aenigmatica* 被确立为新的 Bcc 物种后，有研究者纠正了对 *B. aenigmatica* 的误分类<sup>[10-11]</sup>，大部分 *B. aenigmatica* 此前都被误分类为 *B. lata*。近几年研究发现，*B. aenigmatica* 在工业污染 Bcc 中的占比增大，甚至超过了 *B. lata* 的比例，成为更为重要的 Bcc 物种类型<sup>[12]</sup>。与之前报道的 30 株日化产品 Bcc 相比<sup>[12]</sup>，本研究鉴定了分离自日化产品、日化原料、日化环境、涂料和胶黏剂等的 120 株工业污染 Bcc，菌株样本量较大，样品来源更为全面广泛。本研究结果显示，*B. aenigmatica* 在工业微生物 Bcc 中的占比超过 50%，已成为工业微生物中污染 Bcc 的主要物种类型。根据张淑瑶等<sup>[12]</sup>的研究，尽管在不含抗生素的环境中被分离，大部分 *B. aenigmatica* 对

四环素类和氨基糖苷类抗生素耐药, 对山梨酸钾和苯甲酸钠等常见防腐剂也有较强的耐受性。其复杂的耐药机制和较强的存活能力使得 *B. aenigmatica* 频繁出现在工业微生物污染 Bcc 中。

目前对 *B. aenigmatica* 的研究主要集中在分类和耐药性方面, 其已成为工业污染 Bcc 的主要成员, 因此有必要对其进行更深入的研究, 如基因组特征、代谢通路以及潜在危害性等。本研究基于 Nanopore 测序平台对一株来自日化产品的 *B. aenigmatica* 菌株 ST2120 进行全基因组测序, 结果显示菌株 ST2120 的基因组序列全长为 8 909 914 bp, 含有 3 条环状染色体和 6 条质粒, 平均 G+C 含量为 65.73%。比较基因组发育树发现 ST2120 与 *B. aenigmatica* LMG 13041<sup>T</sup> 最为相近。功能注释分析表明, 菌株 ST2120 中参与代谢过程的基因数量显著富集: GO 注释显示代谢相关基因占比最高(2 554 个), KEGG 通路分析进一步证实新陈代谢相关基因主导功能分布(占注释基因总量的 35.2%)。这种双数据库注释的一致性提示该菌株具有高效营养物质吸收与能量代谢的分子基础, 可能构成其广泛环境适应性的重要机制。菌株 ST2120 注释到 5 种抗生素基因, *amrB* 和 *amrA* 编码 AmrAB-OprM 多药外排复合体的膜融合蛋白和亚基, AmrAB-OprM 多药外排复合体是革兰氏阴性菌多药耐药的主要机制, *ceoA* 和 *ceoB* 参与 CeoAB-OpcM 外排泵的构建, AmrAB-OprM 和 CeoAB-OpcM 均属于耐药-结瘤-分裂家族外排泵(resistance-nodulation-division, RND), RND 外排泵家族在 Bcc 中被大量鉴定出, 使 Bcc 获得多药耐药, 增加了临床治疗 Bcc 感染的困难<sup>[25]</sup>。

对于 ST2120 的次级代谢产物基因簇, 本研究着重讨论比对分数较高的几个基因簇(>50%): ornibactin C8、chromobactin 和 N-acyloxyacyl glutamine。非核糖体肽 ornibactin C8 是一种铁载体, 能够与铁离子(Fe<sup>3+</sup>)形成高亲和力的复合物, 帮助细菌在铁限制的环境中获取铁元素<sup>[26]</sup>。由于存在铁结合蛋白乳铁蛋白和 CF 呼吸道黏液

的铁隔离特性, 细菌病原体在 CF 肺部的定殖需要表达高亲和力的铁摄取系统<sup>[27]</sup>。在铁限制条件下, 大多数临床分离的 *B. cenocepacia* 会产生铁载体 ornibactin 和 pyochelin<sup>[28-29]</sup>, 并且这 2 种铁载体的产生与 CF 患者的发病率和死亡率相关<sup>[30]</sup>。Chromobactin 最初在紫色色小杆菌(*Chromobacterium violaceum*)中被发现, 这是一种能够产生紫色色素的革兰氏阴性细菌。Chromobactin 的结构和功能类似于其他已知的铁载体(如奥尼巴汀和吡咯啉)。小鼠感染实验表明, chromobactin 和 viobactin 的合成与摄取对 *C. violaceum* 的毒力至关重要, 细胞外积累的铁载体可能调节宿主的免疫反应<sup>[31]</sup>。因此, ornibactin C8 和 ornibactin 基因簇可能与致病性和毒力相关。N-acyloxyacyl glutamine (N-酰氧基酰基谷氨酰胺)属于 N-酰基酰胺家族, 它们通过胺头基和脂肪酸尾部进行区分<sup>[32]</sup>。N-酰氧基酰基谷氨酰胺被报道为由土壤细菌和一些人类病原体产生的天然产物<sup>[33]</sup>。

菌株 ST2120 的毒力因素包含耐药性、铁载体相关基因簇和毒力基因等方面。结合耐药性数据和 CARD 数据库注释结果发现, 菌株 ST2120 对氨基糖苷类、氟喹诺酮类以及四环素类抗生素耐药。2 个与铁载体相关的基因簇 ornibactin C8 和 ornibactin 提高了菌株在特殊环境的生存能力和致病性。菌株 ST2120 携带的黏附、分泌系统、鞭毛、荚膜以及群体感应等相关毒力基因极大地增强了菌株对宿主的感染可能性。

综上所述, *B. aenigmatica* 已成为主要的工业污染 Bcc, *B. aenigmatica* 菌株 ST2120 基因组中存在较为全面的毒力因子和致病因子, 具有潜在致病性。

## 作者贡献声明

张淑瑶: MLST 鉴定、数据分析、撰写文章; 文霞: 菌株信息统计、全基因组数据分析; 苏皓庭: 菌株分离培养; 黄迪: 菌株培养及保

存; 陶宏兵: 数据收集; 张桂芳: 项目管理; 许炎坤: 菌种采样; 谢小保: 实验设计、文章审阅和修改。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系

## 参考文献

- [1] JIN Y, ZHOU JL, ZHOU J, HU MD, ZHANG Q, KONG N, REN HG, LIANG L, YUE JJ. Genome-based classification of *Burkholderia cepacia* complex provides new insight into its taxonomic status[J]. *Biology Direct*, 2020, 15(1): 6.
- [2] VANDAMME P, DAWYNDDT P. Classification and identification of the *Burkholderia cepacia* complex: past, present and future[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2011, 34(2): 87-95.
- [3] ZLOSNIK JEA, ZHOU GH, BRANT R, HENRY DA, HIRD TJ, MAHENTHIRALINGAM E, CHILVERS MA, WILCOX P, SPEERT DP. *Burkholderia* species infections in patients with cystic fibrosis in British Columbia, Canada. 30 years' experience[J]. *Annals of the American Thoracic Society*, 2015, 12(1): 70-78.
- [4] JACOBS JL, FASI AC, RAMETTE A, SMITH JJ, HAMMERSCHMIDT R, SUNDIN GW. Identification and onion pathogenicity of *Burkholderia cepacia* complex isolates from the onion rhizosphere and onion field soil[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(10): 3121-3129.
- [5] MULLINS AJ, MURRAY JAH, BULL MJ, JENNER M, JONES C, WEBSTER G, GREEN AE, NEILL DR, CONNOR TR, PARKHILL J, CHALLIS GL, MAHENTHIRALINGAM E. Genome mining identifies cepacin as a plant-protective metabolite of the biopesticidal bacterium *Burkholderia ambifaria*[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(6): 996-1005.
- [6] De SÁ PARASKEVOPOULOS DK, CAMARGO CH, KODATO PK, YAMADA AY, ALMODOVAR AAB, HILINSKI EG, de PAULA AI, IRINEU EF, BARRIO SR, FONSECA CL, de MELO GAMBÁ C, HOSINO N, YAMAGUTI A, de MENDONÇA JS, GUIMARÃES T. A *Burkholderia contaminans* outbreak in an intensive care unit associated with contaminated bath solution: control and microbiological findings[J]. *American Journal of Infection Control*, 2025, 53(3): 308-313.
- [7] WONG SC, CHENG VC. Outbreak of *Burkholderia cepacia* complex due to multiple brands of contaminated aqueous chlorhexidine in Hong Kong, China[J]. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 2020, 41(S1): s337.
- [8] SEELMAN SL, BAZACO MC, WELLMAN A, HARDY C, FATICA MK, HUANG MJ, BROWN AM, GARNER K, YANG WC, NORRIS C, MOULTON-MEISSNER H, PAOLINE J, BICKING KINSEY C, KIM JJ, KIM M, TERASHITA D, MEHR J, CROSBY AJ, VIAZIS S, CRIST MB. *Burkholderia cepacia* complex outbreak linked to a no-rinse cleansing foam product, United States-2017-2018[J]. *Epidemiology and Infection*, 2022, 150: e154.
- [9] DEPOORTER E, de CANCK E, PEETERS C, WIEME AD, CNOCKAERT M, ZLOSNIK JEA, LiPUMA JJ, COENYE T, VANDAMME P. *Burkholderia cepacia* complex taxon K: where to split?[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1594.
- [10] CUNNINGHAM-OAKES E, POINTON T, MURPHY B, CAMPBELL-LEE S, WEBSTER G, CONNOR TR, MAHENTHIRALINGAM E. Genomics reveals the novel species placement of industrial contaminant isolates incorrectly identified as *Burkholderia lata*[J]. *Microbial Genomics*, 2021, 7(4): 000564.
- [11] De VOLDER AL, TEVES S, ISASMENDI A, PINHEIRO JL, IBARRA L, BREGLIA N, HERRERA T, VAZQUEZ M, HERNANDEZ C, DEGROSSI J. Distribution of *Burkholderia cepacia* complex species isolated from industrial processes and contaminated products in *Argentina*[J]. *International Microbiology*, 2021, 24(2): 157-167.
- [12] 张淑瑶, 文霞, 苏皓庭, 黄迪, 陶宏兵, 陈漪汶, 谢小保. 日化产品中洋葱伯克霍尔德氏菌复合群(Bcc)的分类和神秘伯克霍尔德氏菌的耐药性研究[J]. *微生物学报*, 2023, 63(9): 3616-3627.  
ZHANG SY, WEN X, SU AT, HUANG D, TAO HB, CHEN YW, XIE XB. Typing and identification of *Burkholderia cepacia* complex and drug resistance of *Burkholderia aenigmatica* from daily chemical products[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(9): 3616-3627 (in Chinese).
- [13] SPILKER T, BALDWIN A, BUMFORD A, DOWSON CG, MAHENTHIRALINGAM E, LiPUMA JJ. Expanded multilocus sequence typing for *Burkholderia* species[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2009, 47(8): 2607-2610.
- [14] JOLLEY KA, BRAY JE, MAIDEN MCJ. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications[J]. *Wellcome Open Research*, 2018, 3: 124.
- [15] BLIN K, SHAW S, AUGUSTIJN HE, REITZ ZL, BIERMANN F, ALANJARY M, FETTER A, TERLOUW BR, METCALF WW, HELFRICH EJN, van WEZEL GP, MEDEMA MH, WEBER T. antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation[J]. *Nucleic Acids Research*, 2023, 51(W1): W46-W50.
- [16] MEIER-KOLTHOFF JP, CARBASSE JS, PEINADO-OLARTE RL, GÖKER M. TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(D1): D801-D807.
- [17] MIL-HOMENS D, ROCHA EPC, FIALHO AM. Genome-wide analysis of DNA repeats in *Burkholderia cenocepacia* J2315 identifies a novel adhesin-like gene unique to epidemic-associated strains of the ET-12 lineage[J]. *Microbiology*, 2010, 156(Pt 4): 1084-1096.

- [18] ESSEX-LOPRESTI AE, BODDEY JA, THOMAS R, SMITH MP, HARTLEY MG, ATKINS T, BROWN NF, TSANG CH, PEAK IRA, HILL J, BEACHAM IR, TITBALL RW. A type IV pilin, *PilA*, contributes to adherence of *Burkholderia pseudomallei* and virulence *in vivo*[J]. *Infection and Immunity*, 2005, 73(2): 1260-1264.
- [19] WIKRAIPHAT C, CHAROENSAP J, UTAISINCHAROEN P, WONGRATANACHEEWIN S, TAWEECHAISUPAPONG S, WOODS DE, BOLSCHER JGM, SIRISINHA S. Comparative *in vivo* and *in vitro* analyses of putative virulence factors of *Burkholderia pseudomallei* using lipopolysaccharide, capsule and flagellin mutants[J]. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2009, 56(3): 253-259.
- [20] 唐庆华, 朱辉, 覃伟权. 洋葱伯克氏菌致病因子的研究进展[J]. *微生物学报*, 2014, 54(5): 487-497.  
TANG QH, ZHU H, QIN WQ. Advances in virulence determinants in *Burkholderia cepacia* complex: a review[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2014, 54(5): 487-497 (in Chinese).
- [21] JOLLEY KA, MAIDEN MCJ. Using multilocus sequence typing to study bacterial variation: prospects in the genomic era[J]. *Future Microbiology*, 2014, 9(5): 623-630.
- [22] PEETERS C, DEPOORTER E, de CANCK E, VANDAMME P. Genome sequence-based curation of PubMLST data challenges interspecies recombination in the *Burkholderia cepacia* complex[J]. *Future Microbiology*, 2020, 15(12): 1091-1093.
- [23] RUSHTON L, SASS A, BALDWIN A, DOWSON CG, DONOGHUE D, MAHENTHIRALINGAM E. Key role for efflux in the preservative susceptibility and adaptive resistance of *Burkholderia cepacia* complex bacteria[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013, 57(7): 2972-2980.
- [24] WEN X, XIE XB, ZHANG SY, SUN TL, LIU JX, LI WR. *Burkholderia cepacia* complex in personal care products: molecular epidemiology and susceptibility to preservatives[J]. *Journal of Cosmetic Science*, 2020, 71(3): 133-148.
- [25] BURONI S, MATTHIJS N, SPADARO F, van ACKER H, SCOFFONE VC, PASCA MR, RICCARDI G, COENYE T. Differential roles of RND efflux pumps in antimicrobial drug resistance of sessile and planktonic *Burkholderia cenocepacia* cells[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014, 58(12): 7424-7429.
- [26] AGNOLI K, LOWE CA, FARMER KL, HUSNAIN SI, THOMAS MS. The ornibactin biosynthesis and transport genes of *Burkholderia cenocepacia* are regulated by an extracytoplasmic function sigma factor which is a part of the Fur regulon[J]. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(10): 3631-3644.
- [27] WANG J, LORY S, RAMPHAL R, JIN S. Isolation and characterization of *Pseudomonas aeruginosa* genes inducible by respiratory mucus derived from cystic fibrosis patients[J]. *Molecular Microbiology*, 1996, 22(5): 1005-1012.
- [28] DARLING P, CHAN M, COX AD, SOKOL PA. Siderophore production by cystic fibrosis isolates of *Burkholderia cepacia*[J]. *Infection and Immunity*, 1998, 66(2): 874-877.
- [29] MEYER JM, VAN VT, STINTZI A, BERGE O, WINKELMANN G. Ornibactin production and transport properties in strains of *Burkholderia vietnamiensis* and *Burkholderia cepacia* (formerly *Pseudomonas cepacia*)[J]. *BioMetals*, 1995, 8(4): 309-317.
- [30] SOKOL PA, DARLING P, LEWENZA S, CORBETT CR, KOOI CD. Identification of a siderophore receptor required for ferric ornibactin uptake in *Burkholderia cepacia*[J]. *Infection and Immunity*, 2000, 68(12): 6554-6560.
- [31] BATISTA BB, SANTOS RERS, RICCI-AZEVEDO R, da SILVA NETO JF. Production and uptake of distinct endogenous catecholate-type siderophores are required for iron acquisition and virulence in *Chromobacterium violaceum*[J]. *Infection and Immunity*, 2019, 87(12): e00577-19.
- [32] COHEN LJ, ESTERHAZY D, KIM SH, LEMETRE C, AGUILAR RR, GORDON EA, PICKARD AJ, CROSS JR, EMILIANO AB, HAN SM, CHU J, VILA-FARRES X, KAPLITT J, ROGOZ A, CALLE PY, HUNTER C, BITOK JK, BRADY SF. Commensal bacteria make GPCR ligands that mimic human signalling molecules[J]. *Nature*, 2017, 549(7670): 48-53.
- [33] ZHANG X, FERGUSON-MILLER SM, REID GE. Characterization of ornithine and glutamine lipids extracted from cell membranes of *Rhodobacter sphaeroides*[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2009, 20(2): 198-212.