

产超广谱 β -内酰胺酶细菌中 I 类整合子的研究进展

高昂¹ 于红^{2*}

(1. 青岛大学 医学院 临床医学系 山东 青岛 266071)

(2. 青岛大学 医学院 医学微生物学教研室 山东 青岛 266071)

摘要: 产超广谱 β -内酰胺酶(Extended-spectrum beta-lactamase, ESBLs)细菌的多重耐药性是临床用药的一大难题, 近年研究发现其耐药性的产生与整合子密切相关, 其中临床最常见、研究最深入的是 I 类整合子。整合子是一种可移动基因元件, 在整合酶的作用下捕捉外源基因盒并使之表达, 是具有基因整合和切除功能的天然克隆和表达系统。研究表明 I 类整合子可连续捕捉和整合多种耐药基因, 以质粒或转座子为载体在细菌之间传播耐药性, 使 ESBLs 细菌多重耐药趋势十分严峻。本文就 I 类整合子的结构特征、I 类整合子对耐药基因盒的整合作用及其与 ESBLs 细菌耐药性的关系等方面进行综述。

关键词: I 类整合子, 基因盒, 耐药性, ESBLs 菌株

Advances in class I integron in extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria

GAO Ang¹ YU Hong^{2*}

(1. Department of Clinic Medicine, Medical College, Qingdao University, Qingdao, Shandong 266071, China)

(2. Department of Medical Microbiology, Medical College, Qingdao University, Qingdao, Shandong 266071, China)

Abstract: The multidrug resistance of ESBL-producing bacteria poses a serious problem in the clinical therapy. In recent years, some studies indicate that integrons are closely linked to the antibiotic resistance in bacterial pathogens. Class I integron is the most ubiquitous among

基金项目: 国家级创新训练计划项目(No. 201211065053)

*通讯作者: Tel: 86-532-83780025; 信箱: yuhong0532@126.com

收稿日期: 2012-12-07; 接受日期: 2013-02-05

clinical microbes and remains the focus of numerous investigations. Integrons are specialized genetic elements capable of capturing exogenous gene cassettes and ensuring their expression under the action of integrases. Integrons are natural cloning and expression systems in the function of integration and excision. It has been demonstrated that integrons can continuously capture and integrate multiple genes that confer resistance to antibiotics. The conjugative plasmids and transposons associated can serve as vehicles for the transmission of drug-resistance genes, leading to the serious trend of multidrug resistance. This paper reviews the structure of class I integron, the integration of gene cassettes by class I integron and the relationship between class I integron and multidrug resistance in ESBL-producing bacteria.

Keywords: Class I integron, Gene cassettes, Drug resistance, ESBL-producing bacteria

产超广谱 β -内酰胺酶(Extended-spectrum beta-lactamase, ESBLs)细菌的多重耐药性是目
前临床用药的一大难题^[1-3]。研究表明, 抗生素
耐药基因的水平传播是多重耐药菌株剧增的重
要原因, 整合子是继质粒、转座子之后发现的
又一种细菌耐药基因水平播散机制, 其中最常
见的 I 类整合子备受学者关注^[4-5]。本文主要就
I 类整合子的结构、功能及其与 ESBLs 细菌耐
药的相关性等方面作一综述。

1 产 ESBLs 细菌的生物特性

ESBLs 是由细菌质粒介导的能水解青霉素
类、头孢菌素类及单酰环类抗生素的一种 β -内
酰胺酶, 但可被 β -内酰胺酶抑制剂(克拉维酸)
所抑制^[6-7]。临床上 ESBLs 主要由大肠埃希菌
和肺炎克雷伯菌产生, 也可由其它肠杆菌科细
菌、不动杆菌及铜绿假单胞菌产生, 尚未发现
革兰阳性菌产 ESBLs^[8-10]。按遗传学特性 ESBLs
分为 5 类: TEM 型、SHV 型、CTX-M 型、OXA
型和其他^[6]。产 ESBLs 菌基因型的分布存在着
明显的地区差异性, 目前为止, 研究发现的
TEM 达 130 多型, SHV 达 50 多型^[7], 其中我国
大陆以 CTX-M 为主, 其次为 SHV, 可能与我国
临床治疗肠杆菌科细菌感染时应用头孢噻肟和

头孢他啶比较多且剂量偏大有关^[11-13]。

2 整合子的结构及分类

整合子是一种可移动的基因元件, 在整合
酶的作用下捕捉外源基因盒并使之表达, 是具
有基因整合和切除功能的天然克隆和表达系
统^[14-16]。整合子的基本结构主要由两端保守序
列(Conserved segment, CS)和中间可变区
(Variable region)组成。保守序列可分为 5'保守
末端(5'-CS)和 3'保守末端(3'-CS)。5'-CS 携带编
码整合酶(Integrase)基因 *intI*、启动子及重组位
点 *attI*, 其中 *intI* 负责催化 *attI* 和 *attC* 上基因盒
的整合和切除。*attI* 是整合子的特异性基因重组
位点, 包含 7 个碱基对片段 GTTRRRY (R 代表
嘌呤, Y 代表嘧啶)。启动子包括整合酶启动子
P1 和 P2。3'-CS 由于某些基因插入或删除, 使
3'-CS 端长度不定, 有的整合子没有 3'-CS。可
变区含一个或多个外来插入的基因盒, 多为编
码各种抗生素抗性的耐药基因盒, 有的整合子
可变区没有基因盒的插入, 因此, 可变区并非
整合子的必需成分。目前报道的整合子根据其
整合酶基因不同分为 6 类, I、II 及 III 类整合子
研究较多, 因其与细菌耐药基因的传播密切相
关, 故常合称为耐药整合子, 其中 I 类整合子的

结构最为完整,也是临床最常见、研究最深入的整合子^[17-19]。I类整合子的整合酶为一个含有337个氨基酸的蛋白,其3'-CS一般含有3个开放阅读框:季胺盐化合物和溴乙锭耐药基因(*QacEA*)、磺胺耐药基因(*SulI*)以及功能不明的开放读码框 ORF5/ORF6 (图 1)^[15,20-21]。

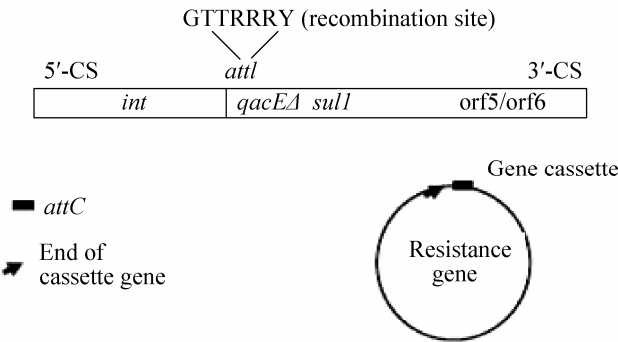


图 1 I 类整合子结构示意图
Fig. 1 The structure of class I integron

3 I 类整合子的作用机制

I 类整合子的作用机制主要体现在其介导耐药基因的水平传播和转移。研究表明 I 类整合子可以捕获单个或多个基因盒,同一个基因盒也可以整合到多个 I 类整合子上,从而导致基因盒的移动; I 类整合子还可携带重组基因盒插入到转座子或接合质粒中,在质粒、转座子和染色体间移动,实现基因的水平传播和转移^[15]。

3.1 整合子对耐药基因盒的整合和剪切

目前整合子系统的整合切除实验大多数是在 I 类整合子中进行,基因盒的移动由整合子整合酶 IntI1 催化完成,而基因盒的整合和剪切是通过位点特异重组机制发生的。IntI1 是酪氨酸整合酶家族成员,具有整合和切除基因盒的活性,但 IntI1 如何同时识别两个不同的基因重组位点 *attI* 和 *attC*,其确切的作用机制尚不明^[22]。

研究表明, *attI* 位点比较保守,含有 4 个整合酶结合结构域,其中 3 个结合结构域具有 GTTA 保守序列。而 *attC* 位点的序列和长度具有多样性,包含两对不完全反向重复序列和中间的回文序列,单链可形成茎环结构。在 *attI* 位点和 *attC* 位点之间,只有 3 个碱基(GTT)是高度保守的,通常重组位点位于 G 和第一个 T 之间,基因盒的线性结构在此打开^[22-23]。

基因盒一般以游离的环状分子存在,但不能进行复制,在 IntI1 的作用下,基因盒由环状结构变为线性结构,依照 5'-3'方向,将基因盒整合到细菌自身基因组上^[23-24]。研究发现 IntI1 与 *attC* 单链(Bottom strand)结合力较强,提示 IntI1 介导的重组仅有一条链发生交换。*attC* 单链首先折叠形成有活性的发夹结构底物,折叠的 *attC* 位点与双链的 *attI* 位点或另一折叠的 *attC* 位点发生重组,随后进行复制导致霍利德交叉(Holliday junction)中间体解体,完成整合过程^[24]。近年来研究表明,整合酶的结合作用并不依赖于 *attC* 位点内的保守序列,而是取决于两个通过顺式和反式相互作用的“倒转”碱基的位置,这在一定程度可以解释 *attC* 位点存在较差的同源性问题^[22,25]。

根据整合酶催化的交换位点不同,整合子的整合过程可分为特异性整合和非特异性整合两种方式。特异性整合是指游离的环状基因盒 *attC* 和整合子 *attI* 位点之间发生特异性重组,是一个可逆的过程,基因盒可被切下。非特异性整合则是指有的基因盒并不结合于 *attC* 和 *attI* 交换位点,而是结合于非特异性交换位点,又称第二位点,这种整合形式的发生频率很低,但一旦结合就难以切除,对细菌耐药性的遗传和细菌进化有着重要意义。

综上所述,整合子对基因盒的整合过程中,肯定存在一套精细的调控机制,但这一机制目

前尚不清楚。可以推测,除整合酶外凡能影响基因盒 *attC* 单链形成和霍利德交叉中间体稳定性的因素,都可能影响整合酶所催化的整合反应的效率。研究发现不仅整合酶的表达水平影响其功能效率,宿主菌的生长状态也影响整合子的功能,在对数生长期无论整合酶的表达量多少,重组产物均增多^[26]。另外,基因盒的长度及外界环境因素(如抗生素的浓度)等也可影响整合子捕获基因盒的效率。因此,整合子对基因盒的整合受多因素的综合调控,明确这一过程中关键性的蛋白因子及细胞因素,将为研究开发阻断这一过程的有效药物提供可靠的依据,对于控制耐药性的水平传播和多重耐药菌株的出现具有重要的指导意义。

基因盒的切除则与整合过程相反,可以发生在 *attI* 位点和 *attC* 位点之间或两个 *attC* 位点之间,与插入基因盒的位置相对应。线性基因盒被切除后,由于其两端的特殊序列结构,可恢复为游离的环状基因盒,并可被其它整合子所捕获,使基因盒从一个整合子向另一个整合子传递,完成整合子耐药基因盒的积累、重排和流动^[27-28]。

3.2 I 类整合子基因盒的表达

被整合的耐药基因盒由于其自身没有启动子,因此必须依靠 I 类整合子上游 5'-CS 共有的启动子才能表达^[27-28]。启动子是影响耐药基因盒表达的首要因素,一般将 P1 启动子分为 4 种类型, P2 启动子分为两种类型。P1 一般不表达,只有在 P2 无活性的条件下才会发挥其作用。除了启动子强弱外,耐药基因盒的插入位置也影响基因盒的表达水平。对于特异性整合而言,越靠近启动子的耐药基因盒表达越强,其下游的耐药基因盒表达水平逐渐减弱。如果基因盒 3'-CS *attC* 位点包含的不完全反向重复序列形

成茎环结构,会产生和非 Rho 依赖型转录终止子相似的作用,导致距离 5'-CS 较远的基因表现出较弱的转录活性,从而影响下游耐药基因的表达^[29]。另外,下游基因盒的表达也受上游耐药基因盒数量和性质的影响。

4 I 类整合子与 ESBLs 细菌多重耐药的关系

ESBLs 细菌耐药性的产生主要通过两种机制,一是细菌自身染色体基因发生突变;另一机制则是细菌从外部获得耐药基因,即耐药基因的水平转移。目前研究证明耐药基因在菌种内以及菌种间的水平传播,是细菌获得新的耐药性的主要原因。可移动基因元件如质粒、转座子、整合子-基因盒系统等,通过携带抗生素耐药基因,借助于转化、转导及接合等方式,在细菌间传播耐药基因,甚至可以跨越菌属间的界限。

传统观念认为耐药质粒在产 ESBLs 菌株的多重耐药机制中发挥着重要作用。近年来随着细菌耐药机制的研究深入,国内外学者相继发现产 ESBLs 菌株基因组中含有一种或多种整合子,整合子上也携带了编码 ESBLs 的耐药基因盒^[30]。由于 I 类整合子可连续捕捉和整合多种耐药基因,以质粒或转座子为载体在细菌之间传播耐药性,因此, I 类整合子在 ESBLs 细菌多重耐药性中的作用已引起学者们的高度重视。

2005 年 Machado 等^[31]研究发现,产 ESBLs 阳性株中 I 类整合子的阳性率(67%)显著高于非产 ESBLs 株(40%),部分(10%) ESBLs 阳性株携带不只一个 I 类整合子;其中 I 类整合子主要携带编码 *bla*_{CTX-M-9} 基因或 *bla*_{SHV} 基因。Rezace 等^[32]对伊朗西北地区 150 株临床分离的肺炎克

雷伯杆菌研究结果显示, 78.5% 的多重耐药菌株携带 I 类整合子, 提示 I 类整合子参与了细菌多重耐药性的产生和传播。国内学者余奇松等^[33]报道广西南宁地区产 ESBLs 细菌 431 株中 I 类整合子检出率为 42.05%, 且产 ESBLs 菌对常用的 15 种抗菌药物的耐药率均高于非产 ESBLs 菌。付英梅等^[34]研究表明哈尔滨地区产 ESBLs 菌株中 I 类整合子的阳性率为 59.6%, 显著高于非产 ESBLs 菌株(24.4%)。郭红阳等^[35]报道 191 株产 ESBLs 肺炎克雷伯菌中 I 类整合子检出率高达 93.2%, I 类整合子阳性菌的多重耐药率明显高于 I 类整合子阴性菌。本项目组设计针对 I 类整合子整合酶基因的 PCR 引物, 应用 PCR 初步检测青岛地区 38 株产 ESBLs 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌中 I 类整合子, 阳性率达 60% 以上, I 类整合子阳性菌株的多重耐药率明显高于 I 类整合子阴性菌株, 表明 I 类整合子不仅在产 ESBLs 菌中普遍存在, 而且与其多重耐药密切相关(未发表)。

上述研究显示不同国家和地区临床分离的产 ESBLs 菌株中 I 类整合子携带率不同, 这种阳性率的差异可能与不同国家、地区和医院使用第三代头孢菌素的种类、剂量及时间不同, 进而造成对 ESBLs 的筛选及诱导不同有关。

研究表明, I 类整合子携带的耐药基因盒达 130 种以上, 其编码产物可赋予细菌对全部临床常用抗生素产生耐药性, 而且多个基因盒可同时插入到一个整合子中^[25]。整合子中常见的基因盒有 8 种^[25], 包括编码氨基糖苷腺苷酰基/乙酰转移酶的 *aad/aac* 基因家族, 编码二氢叶酸还原酶的 *dfr* 基因族, 编码 β -内酰胺酶和超广谱 β -内酰胺酶的 *bla* 基因家族, 编码氯霉素乙酰基转移酶的 *cat* 基因及氯霉素外排泵的 *cmlA*, *B* 基因, 编码季铵化合物外排泵的 *qacE*, *F*, *G* 基因, 编码 ADP-核糖基转移酶的 *arr* 基因及编码

红霉素酯酶的 *ere* 基因。

文献报道不同 ESBLs 菌株中 I 类整合子的基因盒种类和数目具有明显的个体差别。Lim 等^[36]研究表明马来西亚 47 株产 ESBLs 大肠杆菌中 I 类整合子主要携带 5 种不同类型的基因盒, 即 *aadA-dfrA17*、*dfrA7*、*aadA-aadB-cmlA6*、*dfrA12-aadA2-orfF* 和 *aadA1*。Akram 等^[37]对 23 株尿道感染的产 ESBLs 大肠杆菌研究结果表明, I 类整合子携带的耐药基因盒主要为 *aadA5-dfrA17-dfrA7*。Younes 等^[38]研究了苏格兰地区 219 株临床分离的肺炎克雷伯菌, 其中 I 类整合子携带的基因盒主要包括 *dfrA12-aadA2*、*aadA1* 和 *aadA2*。国内学者 Yao 等^[39]对汕头地区 74 例临床分离的产 ESBLs 克雷伯杆菌的研究结果显示, I 类整合子携带 13 种不同的基因盒及 11 种基因盒组合, 主要为 *Dfr* 和 *aadA* 基因盒, 最常见的组合为 *dfrA12*、*orfF* 和 *aadA2*。韩珍等^[40]应用 PCR 方法检测产 ESBLs 大肠埃希菌中 I 类整合子, 结果表明 23 株携带 I 类整合子相关基因盒(85.2%), 共发现 5 种长度在 600–2 322 bp 的扩增片段, 部分分离自同一科室的菌株携带大小相同的基因盒, 提示在抗生素的强选择性压力下, 耐药基因盒更容易被整合子捕获和积聚, 再通过位于接合性质粒上的整合子在菌株和菌属间传递, 或者通过位于染色体上的整合子复制到子代 DNA 中, 从而加快耐药基因的水平播散。Liao 等^[41]检测了广东地区 302 株杆菌, 其中 30 株携带 I 类整合子, 16.56% 为 ESBLs 阳性菌株, 测序发现一个新的 CTX-M ESBL 基因亚型。因此, 通过对 I 类整合子可变区序列的分析, 可了解细菌整合子中耐药基因盒的种类及其与细菌耐药表型之间的关系, 同时有可能发现新的耐药基因盒, 对于分析新耐药菌株产生的原因及控制新耐药菌株的播散均具有重要的指导意义。

5 小结

综上所述, 产 ESBLs 细菌中 I 类整合子的携带率较高, 某些 ESBLs 编码基因可位于 I 类整合子内部, 导致 I 类整合子阳性的产 ESBLs 菌株呈现出高水平的播散能力, 并参与了部分产 ESBLs 菌株的耐药, 使 ESBLs 菌株的多重耐药日趋严峻。因此, I 类整合子的检测和研究对于监测细菌耐药性、控制医院获得性感染及指导临床用药均具有重要意义。

尽管 I 类整合子已经成为当前细菌耐药研究的热点之一, 但随着研究的深入, 许多问题值得进一步探讨: 如耐药基因盒的起源及其在细菌进化中的作用、整合子如何在抗生素选择性压力下整合耐药基因以及针对整合子相关药物的开发等。

参 考 文 献

- [1] Kang HY, Jeong YS, Oh JY, et al. Characterization of antimicrobial resistance and class 1 integrons found in *Escherichia coli* isolates from humans and animals in Korea[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2005, 55(5): 639–644.
- [2] 贺毅, 陆坚. 治疗产 ESBLs 细菌感染的研究进展[J]. *国外医药: 抗生素分册*, 2012, 33(4): 145–150.
- [3] 曹晋桂, 何晓峰, 吴镒, 等. 临床常见革兰阴性菌的分布动向及耐药趋势[J]. *微生物学通报*, 2006, 33(2): 188–191.
- [4] Labbate M, Case RJ, Stokes HW. The integron/gene cassette system: an active player in bacterial adaptation[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2009(532): 103–125.
- [5] Cambray G, Guerout A, Mazel D. Integron[J]. *Annual Review of Genetics*, 2010, 44(1): 141–166.
- [6] Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2005, 18(4): 657–686.
- [7] Chong Y, Ito Y, Kamimura T. Genetic evolution and clinical impact in extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2011, 11(7): 1499–1504.
- [8] Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004, 48(1): 1–14.
- [9] Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new beta-lactamases[J]. *New England Journal of Medicine*, 2005, 352(4): 380–391.
- [10] Poirel L, Naas T, Nordmann P. Genetic support of extended-spectrum beta-lactamases[J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2008, 14(Suppl 1): 75–81.
- [11] 张玲, 黄留玉. 革兰阴性杆菌产超广谱 β -内酰胺酶研究进展[J]. *中华医院感染学杂志*, 2008, 18(6): 897–900.
- [12] 韩冬青, 黄俊伟, 尚忠波, 等. 多重耐药大肠杆菌耐药基因与整合子遗传标记基因间的相关性[J]. *微生物学报*, 2011, 51(4): 458–467.
- [13] 张阮章, 卢月梅, 胡玉华, 等. 产 ESBLs 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌呼吸道分离株的基因分型和耐药性分析[J]. *中国微生态学杂志*, 2010, 7(22): 646–648.
- [14] Stokes HW, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons[J]. *Molecular Microbiology*, 1989, 3(12): 1669–1683.
- [15] Bennett PM. Plasmid encode antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistances in bacteria[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2008, 153(Suppl 1): S347–357.
- [16] 李凡. 医学微生物学[M]. 北京: 人民卫生出版社,

- 2008: 52–53.
- [17] Díaz-Mejía JJ, Amábile-Cuevas CF, Rosas I, et al. An analysis of the evolutionary relationships of integron integrases, with emphasis on the prevalence of class 1 integrons in *Escherichia coli* isolates from clinical and environmental origins[J]. Microbiology, 2008, 154(1): 94–102.
- [18] 姚蔚, 钱菊娣, 项领, 等. ESBLs 大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌整合子分布及其与 ESBLs 基因关系研究[J]. 中国微生态学杂志, 2010, 22(6): 509–513.
- [19] 杨维青, 刘晓峰, 黄震. 大肠埃希菌中 I 类整合子耐药基因的分析[J]. 中国抗生素杂志, 2009, 34(7): 434–436.
- [20] Fluit AC, Schmitz FJ. Class 1 integrons, gene cassettes, mobility, and epidemiology[J]. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Disease, 1999, 18(11): 761–770.
- [21] Vinué L, Sáenz Y, Rojo-Bezares B, et al. Genetic environment of *sul* genes and characterisation of integrons in *Escherichia coli* isolates of blood origin in a Spanish hospital[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2010, 35(5): 492–496.
- [22] MacDonald D, Demarre G, Bouvier M, et al. Structural basis for broad DNA-specificity in integron recombination[J]. Nature, 2006, 440(7088): 1157–1162.
- [23] Frumerie C, Ducos-Galand M, Gopaul DN, et al. The relaxed requirements of the integron cleavage site allow predictable changes in integron target specificity[J]. Nucleic Acids Research, 2010, 38(2): 559–569.
- [24] Alonso H, Gready JE. Integron-sequestered dihydrofolate reductase: a recently redeployed enzyme[J]. Trends in Microbiology, 2006, 14(5): 236–242.
- [25] Partridge SR, Tsafnat G, Coiera E, et al. Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2009(33): 757–784.
- [26] Demarre G, Frumerie C, Gopaul DN, et al. Identification of key structural determinants of the IntI1 integron integrase that influence *attC* \times *attII* recombination efficiency [J]. Nucleic Acids Research, 2007, 35(19): 6457–6489.
- [27] 李彦媚, 赵喜红, 徐泽智, 等. 新型细菌耐药元件—整合子系统[J]. 中国抗生素杂志, 2012, 37(1): 1–5.
- [28] Hall RM, Collins CM. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination[J]. Molecular Microbiology, 1995, 15(4): 593–600.
- [29] Arakawa Y, Murakami M, Suzuki K. A novel integron-like element carrying the metallo beta-lactamase gene blaIMP[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1995, 39(7): 1612–1615.
- [30] 倪朝辉. 产超广谱 β -内酰胺酶革兰阴性菌分子耐药机制研究[D]. 长春: 吉林大学博士学位论文, 2007.
- [31] Machado E, Cantón R, Baquero F, et al. Integron content of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strains over 12 years in a single hospital in Madrid, Spain[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, 49(5): 1823–1829.
- [32] Ahangarzadeh Rezaee M, Langarizadeh N, Aghazadeh M. First report of class 1 and class 2 integrons in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from northwest Iran[J]. Japanese Journal of Infectious Disease, 2012, 65(3): 256–259.
- [33] 余奇松, 郭世辉, 黄小红, 等. 产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(7): 878–880.

- [34] 付英梅, 张凤民, 张文莉, 等. 产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌 I 类整合子及其与 ESBLs 基因关系的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(3): 241–245.
- [35] 郭红阳, 朱光泽, 连树林. 产 ESBLs 肺炎克雷伯菌多重耐药性与 I 类整合子的相关性研究[J]. 中国实验诊断学, 2010(7): 1097–1099.
- [36] Lim KT, Yasin R, Yeo CC, et al. Characterization of multidrug resistant ESBL-producing *Escherichia coli* isolates from hospitals in Malaysia[J]. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2009(2009): 165637.
- [37] Akram M, Shakil S, Khan AU. Prevalence of integrons, blaCTX-M and blaTEM resistance markers among ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolates: first report of genomic blaCTX-M from India[J]. Journal of Chemotherapy, 2011, 23(3): 131–134.
- [38] Younes A, Hamouda A, Dave J, et al. Prevalence of transferable bla_{CTX-M-15} from hospital- and community-acquired *Klebsiella pneumoniae* isolates in Scotland[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2011, 66(2): 313–318.
- [39] Yao F, Qian Y, Chen S, et al. Incidence of extended-spectrum beta-lactamases and characterization of integrons in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated in Shantou, China[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica (Shanghai), 2007, 39(7): 527–532.
- [40] 韩珍, 李向阳, 杨锦红. 产 ESBLs 大肠埃希菌整合子及其相关基因盒的研究[J]. 中华微生物学杂志, 2008, 20(1): 46–48.
- [41] Liao W, Jiang J, Xu Y, et al. Survey for beta-lactamase among bacterial isolates from Guangzhou, China hospitals between 2005–2006[J]. The Journal of Antibiotics (Tokyo), 2010, 63(5): 225–229.

稿件书写规范

专论与综述论文的撰写要点

专论与综述是本刊重要栏目之一, 主要反映国内外微生物学及相关领域学科研究最新成果和进展, 其内容要求新颖丰富, 观点明确, 论述恰当, 应包含作者自己的工作内容和见解。因此, 作者在动笔之前必须明确选题, 一般原则上应选择在理论和实践中具有重要意义的学科专题进行论述。围绕专题所涉及的各个方面, 在综合分析和评价已有资料基础上提出其演变规律和趋势, 即掌握其内在的精髓, 深入到专题研究的本质, 论述其发展前景。作者通过回顾、观察和展望, 提出合乎逻辑并具有启迪性的看法和建议。另外, 作者也可以采用以汇集文献资料为主的写作方法, 辅以注释, 客观而有少量评述, 使读者对该专题的过去、现在和将来有一个全面、足够的认识。

需要特别说明的是: (1) 本刊要求作者投稿时在正文前写上主要作者的简介, 并指出自己的工作(已发表的文章)在综述中的体现。(2) 在专论与综述中引用的文献应该主要是近 5 年国内外正式发表的研究论文, 引用文献数量不限。