

肠道杆菌耐药性及其耐药相关 I 类整合子 可变区结构与进化

王欢¹, 包其郁², 孙爱华³, 赵金方⁴, 葛玉梅⁵, 严杰⁵

- (1. 浙江省人民医院检验科, 浙江 杭州 310014;
2. 温州医学院检验医学院和生命科学学院, 浙江 温州 325035;
3. 浙江医学高等专科学校, 浙江 杭州 310053;
4. 浙江中医药大学附属第一医院检验科, 浙江 杭州 310006;
5. 浙江大学医学院病原生物学系, 浙江 杭州 310058)

[摘要] **目的:**了解大肠埃希菌、阴沟肠杆菌和鲍曼不动杆菌临床菌株耐药性,及其 I 类整合子分布、可变区耐药基因盒与分子进化关系。**方法:**采用 K-B 法检测大肠埃希菌、阴沟肠杆菌和鲍曼不动杆菌对 12 种药物的敏感性。采用 PCR 及其产物测序检测上述菌株中 I 类整合子携带率及可变区耐药基因盒。采用 Clustal X 和 MEGA 软件分析 I 类整合子基因盒中耐药基因分子进化关系。**结果:**鲍曼不动杆菌对临床常用青霉素类和头孢菌素类抗生素耐药率为 54.2%~100%,大肠埃希菌和阴沟肠杆菌对菌素类抗生素耐药率也高达 41.6%~62.5%。62.5% (15/24) 大肠埃希菌、67.9% (19/28) 阴沟肠杆菌、83.3% (20/24) 鲍曼不动杆菌检出 I 类整合子,81.5% (44/54) I 类整合子呈现为 4 种单条带谱型,其余为 3 种双条带谱型。I 类整合子可变区耐药基因盒中存在 aac(6')、sad(3'')、aad(2'')、cat(4') 和 dfr(7、A13 和 15) 耐药基因,可分别介导细菌对氨基糖苷类、氯霉素和磺胺类抗生素耐药。根据二氢叶酸还原酶基因序列差异,上述菌株携带的 I 类整合子可分成 4 个分子进化组。**结论:**上述肠道杆菌耐药情况严重并携带高含多种耐药基因盒的 I 类整合子,I 类整合子有 4 条不同的进化途径。

[关键词] 肠杆菌属/药物作用;鲍氏不动杆菌/药物作用;埃希氏菌属/药物作用;抗药性,细菌;肠道杆菌;耐药;整合子;耐药基因盒;进化

[中图分类号] R 378.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2013)02-0149-07

Multidrug resistance of enteric bacilli and its relation to structure and molecular evolution of variable region in resistance-related class-I integron

WANG Huan¹, BAO Qiyu², SUN Aihua³, ZHAO Jinfang⁴, GE Yumei⁵, YAN Jie⁵ (1. Department of Laboratory Medicine, The People's Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310014, China; 2. School of Laboratory Medical Science and Life Science, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China; 3. Zhejiang Medical College, Hangzhou 310053, China; 4. Department of Laboratory Medicine, The First

收稿日期:2012-12-28 修回日期:2013-01-25

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LY12H19002);浙江省医药卫生科技计划资助项目(2011KYA005)。

作者简介:王欢(1981-),医学博士,从事病原菌致病与耐药机制研究。

通讯作者:严杰(1956-),男,教授,博导,医学博士,主要从事病原菌致病与耐药机制及相关新型药物与疫苗研究,E-mail: med_bp@zju.edu.cn

Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China; 5. Department of Medical Microbiology and Parasitology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the drug resistance of enteric bacilli and its relation to the drug resistance gene cassette in the variable region and molecular evolution of class- I integron. **Methods:** K-B assay was applied to measure the drug resistance of *E. coli*, *E. cloacae* and *A. baumannii* isolated against twelve antibiotics. The class- I integron and drug resistance gene cassettes in the variable region of the integron were detected by PCR and sequencing of amplification products. The molecular evolution of drug resistance genes in the class- I integrons was analyzed using Clustal X and MEGA software. **Results:** 54.2% – 100% of *A. baumannii* isolates were resistant to the penicillin and cephem antibiotics, while *E. coli* and *E. cloacae* isolates had resistance rates of 41.6% – 62.5% to cephem antibiotics. 62.5% (15/24) of *E. coli*, 67.9% (19/28) of *E. cloacae* and 83.3% (20/24) of *A. baumannii* isolates were positive for class- I integrons. 81.5% (44/54) of class- I integrons showed 4 different single band spectrums and the other class- I integrons displayed 3 different double band spectrums. In the drug resistance gene cassettes in variable regions of class- I integrons there were 7 types in 4 groups of drug resistance genes, including aac (6'), sad (3'), aad (2'), cat (4') and dfr (types 7, A13 and 15), which induced the resistance to aminoglycosides and sulfamido antibiotics and chloromycin. The class- I integrons in the isolates might be divided into 4 molecular evolution groups according to the diversity of dihydrofolate reductase encoding gene sequences. **Conclusion:** The enteric bacilli have a high drug resistance and frequently carry class- I integrons with 7 drug resistance gene cassettes which present 4 different evolutionary pathways.

[Key words] Enterobacter/drug effects; Acinetobacter baumannii/drug effects; Escherichia/drug effects; Drug resistance, bacterial; Enteric bacilli; Drug resistance; Integron; Drug resistance gene cassette; Evolution

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2013, 42(2):149-155.]

近年来我国及东南亚地区临床耐药菌株、尤其是耐多种抗生素的多重耐药菌株的分离率逐年增高,其中大肠埃希菌、阴沟杆菌、不动杆菌等革兰阴性肠道所占比例较大^[1-3]。上述细菌主要引发医院感染,包括呼吸道感染、败血症、泌尿系感染、继发性脑膜炎等^[4]。

整合子(integron)是细菌基因组中一种介导耐药基因转移的转座元件,其功能与细菌耐药性产生与转移密切相关^[5-7]。典型的整合子结构由保守区和可变区两部分组成,前者为整合酶编码基因所在区域活性,后者由串联排列的耐药基因盒组成,迄今发现的整合子相关耐药基因盒至少有数十种,所含耐药基因几乎覆盖了目前临床上使用的所有抗菌药物^[8,9]。根据整合酶序列不同,可将整合子分为六型,其中以 I 类整合子最为常见^[10-11]。整合子不仅可通过位点特异性重组的方式捕获耐药基因,从而形成多种耐药基因的组合,同时还可介导耐

药基因在染色体、质粒及转座子之间移动,导致耐药基因的水平播散^[12-13]。本研究,我们检测了临床标本中分离的大肠埃希菌、阴沟肠杆菌、鲍曼不动杆菌的耐药性,采用 PCR 及产物测序检测与分析了上述菌株 I 类整合子可变区基因盒,同时以二氢叶酸还原酶基因为靶基因对 I 类整合子系统发生、进化进行分类和比较。

1 材料与方法

1.1 临床菌株来源与鉴定 参照《全国临床检验操作规程》标准,采用法国 bioMérieux 公司 VITEK60 全自动细菌检测分析系统及其配套的细菌鉴定卡 GPI,从温州医学院附属第一医院临床送检的体液(血液、腹水等)、分泌物(痰液、脓液、伤口分泌液等)标本中分离并鉴定了 24 株大肠埃希菌(*Escherichia coli*)、28 株阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)和 24 株鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)。

1.2 药物敏感试验 采用 K-B 法并根据 CLSI 2008 标准判读结果。各类抗菌药物纸片如下: 氨苄西林 (AMP)、哌拉西林 (PIP)、头孢替坦 (CTT)、头孢曲松 (CRO)、头孢他啶 (CAZ)、丁胺卡那 (AMI)、庆大霉素 (GEN)、妥布霉素 (TOB)、环丙沙星 (CIP)、左旋氧氟沙星 (LVX)、复方新诺明 (SMZ)、泰能 (TIE) 和呋喃妥因 (NIT)。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922 株, 购自卫生部临检中心。

1.3 细菌基因组 DNA 制备 采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (GENEray) 提取各受试菌株基因组 DNA, 紫外分光光度法测定其浓度和纯度^[14]。

1.4 PCR 以 GenBank 中 I 类整合子序列 (accession No.: AM939644) 为参照, 采用 Primer Premier 6.0 软件在可变区两端保守序列中设计通用引物。引物委托上海 Invitrogen 公司合成。上游引物序列: 5'-GGC ATC CAA GCA GCA AG-3', 下游引物序列: 5'-AAG CAG ACT TGA CCT GA-3'。采用高保真 PCR 试剂盒 (TaKaRa) 扩增各菌株中 I 类整合子可变区片段。反应总体积 50 μ l, 内含: 2.5 mol/L dNTP、200 nmol/L 各引物、15 mol/L $MgCl_2$ 、2.5 U EX-Taq DNA 聚合酶、100 ng DNA 模板和 1 $\times$ PCR 缓冲液 (pH 8.3)。PCR 参数: 95 $^{\circ}C$ 5 min; 94 $^{\circ}C$ 1 min、55 $^{\circ}C$ 30 s、72 $^{\circ}C$ 1 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}C$ 10 min。采用溴乙锭预染色的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 结果。

1.5 扩增产物测序及分析 采用 PCR 产物纯化试剂盒 (BioColor) 回收目的扩增片段, 采用 T-A 克隆试剂盒 (TaKaRa) 将其克隆至 pMD-19T 质粒中, 然后电转化入 *E. coli* DH5 α (Invitrogen) 并在 LB 培养液 (Oxoid) 中扩增, 氨苄西林和蓝白斑双重筛选后委托上海 Sangong 公司测序^[14]。采用 BLAST 软件对测序结果进行分析和比较。

1.6 进化树分析 以 I 类整合子中最为常见的二氢叶酸还原酶基因为靶基因, 先采用 ClustalX1.8 软件与 Swissport 库中的不同亚型二氢叶酸还原酶基因序列进行比对, 然后采用 MEGA 系统进化分析软件中的 NJ 方法, 构建 I 类整合子中二氢叶酸还原酶基因的分子进化树

并进行系统发生分析。

2 结果

2.1 细菌耐药率检测结果 24 株大肠埃希菌、28 株阴沟肠杆菌、24 株鲍曼不动杆菌药敏试验结果显示: 三种细菌对多种抗菌药物耐药, 但鲍曼不动杆菌对大多数抗生素耐药率高于大肠埃希菌和阴沟肠杆菌, 对哌拉西林 (PIP)、头孢曲松 (CRO)、头孢他啶 (CAZ) 及呋喃妥因 (NIT) 耐药率甚至高达 100%, 大肠埃希菌和阴沟肠杆菌对头孢曲松、头孢替坦 (CTT)、(CRO) 和头孢他啶 (CAZ) 耐药率也高达 41.6% ~ 62.5% (表 1)。

2.2 I 类整合子的检出率 24 株大肠埃希菌、28 株阴沟肠杆菌、24 株鲍曼不动杆菌 I 类整合子检出率分别为 62.5% (15/24)、67.9% (19/28) 和 83.3% (20/24)。见表 2。

2.3 I 类整合子谱型 54 株检出 I 类整合子菌株 (15 株大肠埃希菌、19 株阴沟肠杆菌和 20 株鲍曼不动杆菌) 中, 有 44 株呈单一阳性条带, 多数为 1.7 kb 条带 (25 株), 其余为 1.5 kb (10 株)、0.75 kb (5 株) 和 1.0 kb (4 株) 条带 (图 1); 有 5 株同时检出 2 条带, 分别有 0.75/1.70 kb (3 株)、0.75/1.0 kb (1 株) 和 1.0/1.70 kb (1 株) 三种组合方式 (图 2)。

2.4 I 类整合子可变区基因盒分析结果 在 11 株大肠埃希菌、15 株阴沟肠杆菌和 15 株鲍曼不动杆菌中有 5 种不同类型的基因盒: 分别为 *aac*(6'), *sad*(3''), *aad*(2''), *cat*(4') 和 *dfr* (含 7、A13、15 三个亚型), *aac*(6')、*sad*(3'') 和 *dfr* 15 能以单基因方式存在, 有 4 种双基因组合方式、1 种三基因组合方式 (表 3)。*aac*(6') 为 (Aminoglycoside N(6')-acetyltransferase) 基因, *sad*(3'') 为链霉素腺苷酰转移酶 (streptomycin 3''-adenylyltransferase) 基因, *aad*(2'') 是 (aminoglycoside nucleotidyltransferase) 基因, *cat*(4') 是 (chloramphenicol acetyltransferase) 基因, 可分别介导细菌对氨基糖苷类抗生素及氯霉素耐药。*dfr* 7、*dfr* A13 和 *dfr* 15 为二氢叶酸还原酶 (dihydrofolate reductase) 基因可赋予细菌对甲氧苄啶的耐药性。然而, 上述菌株 I 类整合子中未发现 β -内酰胺酶基因。

表 1 大肠埃希菌、阴沟肠杆菌和鲍曼不动杆菌耐药率

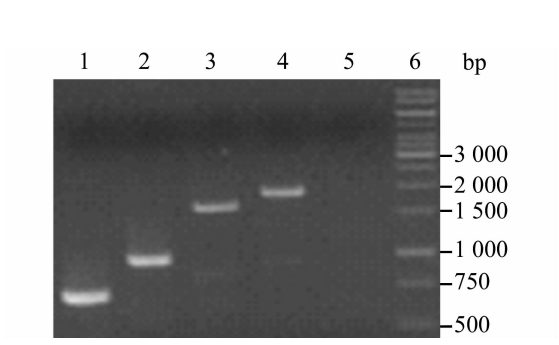
Table 1 Resistance rates of *E. coli*, *E. cloacae* and *A. baumannii*

抗生素	类型	大肠埃希菌(<i>n</i> = 24) 耐药菌株数/耐药率	阴沟肠杆菌(<i>n</i> = 28) 耐药菌株数/耐药率	鲍曼不动杆菌(<i>n</i> = 24) 耐药菌株数/耐药率
AMP	青霉素类	0/0	4/14.3%	17/70.8%
PIP	青霉素类	5/20.8%	1/3.6%	24/100%
CTT	三代头孢类	15/62.5%	14/50.0%	13/54.2%
CRO	三代头孢类	10/41.6%	14/50.0%	24/100%
CAZ	三代头孢类	15/62.5%	13/46.4%	24/100%
AMI	氨基糖苷类	19/79.2%	15/53.6%	20/83.3%
GEN	氨基糖苷类	1/4.2%	14/50.0%	11/45.8%
TOB	氨基糖苷类	3/12.5%	16/57.1%	1/4.2%
CIP	喹诺酮类	2/8.3%	18/64.3%	23/95.8%
LVX	喹诺酮类	0/0	20/71.4%	23/95.8%
SMZ	磺胺类	16/66.7%	21/75.0%	13/54.2%
TIE	亚胺培南类	18/75.0%	6/21.4%	22/91.7%
NIT	硝基呋喃类	22/91.7%	1/3.6%	24/100%

表 2 大肠埃希菌、阴沟肠杆菌和鲍曼不动杆菌 I 型整合子检出率

Table 2 Positive rates of class- I integron in *E. coli*, *E. cloacae* and *A. baumannii*

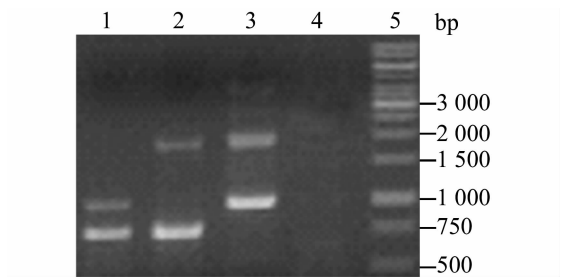
细菌	菌株数 (<i>n</i>)	检出 I 型整合 子菌株数(<i>n</i>)	检出率/ %
大肠埃希菌	24	15	62.5
阴沟肠杆菌	28	19	67.9
鲍曼不动杆菌	24	20	83.3
合计	76	54	71.1



第 1~4 泳道:分别为 0.75 kb(5 株)、1.0 kb(4 株)、1.5 kb(10 株)和 1.7 kb(25 株)单条带谱型的 I 类整合子;第 5 泳道:空白对照;第 6 泳道:DNA marker(TaKaRa)。

图 1 I 类整合子单条带谱型

Fig. 1 Spectral patterns of class- I integrons with single bands



第 1~3 泳道:分别为 0.75/1.0 kb(1 株)、0.75/1.70 kb(3 株)和 1.0/1.70 kb(1 株)双条带谱型的 I 类整合素;第 4 泳道:空白对照;第 5 泳道:DNA marker(TaKaRa)。

图 2 I 类整合子双条带谱型

Fig. 2 Spectral patterns of class- I integrons with double bands

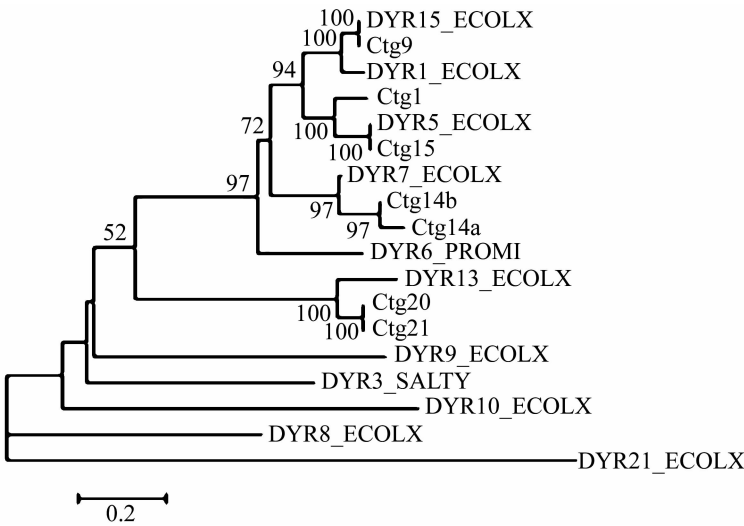
3.5 二氢叶酸还原酶基因系统发生分析结果

上述菌株 I 类整合子所携带的二氢叶酸还原酶基因可归纳为 4 组:①重叠群 9(Ctg9)二氢叶酸还原酶基因与 15 型二氢叶酸还原酶基因接近;②重叠群 1 和 15(Ctg1 和 Ctg15)二氢叶酸还原酶基因与 5 型二氢叶酸还原酶基因接近;③重叠群 14a 和 14b(Ctg14a 和 Ctg14b)二氢叶酸还原酶基因与 7 型二氢叶酸还原酶基因接近;④重叠群 20 和 21(Ctg20 和 Ctg21)二氢叶酸还原酶基因与 13 型二氢叶酸还原酶基因接近(图 3),提示上述菌株 I 类整合子有 4 条不同的系统发生或进化途径。

表 3 I 类整合子基因盒的构成及其分布

Table 3 Composition and distribution of gene cassettes in class- I integron

耐药基因	大肠埃希菌(n)	阴沟肠杆菌(n)	鲍曼不动杆菌(n)	合计
aac(6')	0	1	0	1
sad(3")	0	1	1	2
dfr 15	1	0	1	2
aad(2") + sad(3")	0	0	3	3
dfr 7 + sad(3")	1	9	0	10
sad(3") + sad(3")	0	0	1	1
dfr A13 + sad(3")	0	4	9	13
aac(6') + cat(4') + sad(3")	9	0	0	9
合计	11	15	15	41



DYR10_ECOLX: Q04515; DYR13_ECOLX: Q59408; DYR15_ECOLX: P78218; DYR1 _ ECOLX: P00382; DYR21 _ ECOLX: P00383; DYR3 _ SALTY: P12833; DYR5_ECOLX: P11731; DYR6_PROMI: P95524; DYR7 _ ECOLX: P27422; DYR8_ECOLX: P0ABQ7; DYR9_ECOLX: Q59397 (冒号后为 swissport 库中对应的序列号)。

图 3 I 类整合子中二氢叶酸还原酶基因系统发生树
Fig. 3 Phylogenetic tress of dihydrofolate reductase genes in class- I integrons

3 讨论

大肠埃希菌、阴沟肠杆菌、鲍曼不动杆菌是临床常见的条件致病菌,且这些细菌普遍存在耐药或多重耐药现象^[1,3,15-16]。与欧美国家或地区比较,亚洲地区各种临床分离菌株对抗生素耐药率普遍较高,其中大肠埃希菌对头孢曲

松和氧氟沙星耐药率分别为为 67.6% 和 65.0%,鲍曼不动杆菌对哌拉西林耐药率高达 70.5%,阴沟肠杆菌对头孢西丁的耐药率甚至高达 93.7%^[1,4,17,18]。我们的药物敏感试验结果显示,鲍曼不动杆菌耐药性最强,对临床常用的三代头孢类抗生素头孢曲松(CRO)、头孢他啶(CAZ)及青霉素类抗生素哌拉西林(PIP)耐药率为 100%,对氨苄西林(AMP)耐药率也高达 70.8%;阴沟肠杆菌对受试的 3 种三代头孢类抗生素(CTT、CRO、CAZ)、3 种氨基糖苷类抗生素(AMI、GEN、TOB)和 2 种喹诺酮类抗生素(CIP、LVX)耐药率高达 46.4% ~ 71.4%,明显高于大肠埃希菌(表 1),表明临床上耐药菌株流行状况已十分严重。

细菌的耐药机制十分复杂,仅基因突变和耐药质粒已无法完全解释细菌快速获得耐药性的现象。整合子可捕获耐药基因并通过整合酶将其整合后表达,使细菌产生耐药性,又能介导耐药基因转移,为深入研究细菌耐药及播散机制提供了新方向^[9]。整合子分成两大群:可移动整合子和超级整合子^[8]。可移动整合子又被分成五类(I ~ V),不同整合子类型中基因盒数目不尽相

同,也非所有基因盒均可介导耐药性。可移动 I 类整合子广泛地分布于寄生性和腐生性菌株中,在革兰阴性临床菌株中, I 类整合子更为常见且有较高的耐药基因携带率^[10,13,19]。超级整合子基因盒中除耐药基因外,还包含许多参与环境适应的功能蛋白编码基因。我们的实验结果显示,大肠埃希菌、阴沟肠杆菌、鲍曼不动杆菌中 I 类整合子总检出率高达 71.1% (54/76),其中鲍曼不动杆菌 I 类整合子检出率(83.3%)高于大肠埃希菌(62.5%)和阴沟肠杆菌(67.9%);各菌株携带的 I 类整合子有高度异质性,表现为不同大小单条带或双条带组合多种谱型,提示这些菌株 I 类整合子功能活跃。

大多数耐药基因盒由 I 类整合子携带,包括 β -内酰胺类(青霉素类、头孢菌素类)、喹诺酮类、大环内酯类和喹诺酮类及磺胺类抗性基因^[8,9]。然而,我们在实验中仅发现 *aac*(6')、*sad*(3'')、*aad*(2'')、*cat*(4')、*dfr*(7、A13 和 15 亚型)等与氨基糖苷类、氯霉素和磺胺类耐药有关基因,未发现 β -内酰胺酶基因,但受试的鲍曼不动杆菌对 β -内酰胺类抗生素(AMP、PIP、CRO、CAZ、CTT)耐药率高达 54.2% ~ 100%,阴沟肠杆菌和大肠埃希菌对头孢菌素类抗生素(CRO、CAZ、CTT)耐药率也分别高达 46.4% ~ 50% 和 41.6% ~ 62.5%,这提示上述菌株对 β -内酰胺类抗生素的耐药性可能涉及基因突变和耐药质粒等其他耐药机制,与 I 类整合子无关。

在各种抗生素广泛使用的情况下,细菌的耐药性基因也在不断发生变化并逐渐发展出不同的基因型。例如,现已发现超广谱 β 内酰胺酶即有数百种不同的基因型,仅 CTM-X 就有近 60 个型别^[21],介导磺胺类耐药的二氢叶酸还原酶基因也有近 20 个基因型^[22]。本研究中 I 型整合子基因盒主要结构基因二氢叶酸还原酶基因系统发生的分析结果显示,所发现的二氢叶酸还原酶基因可分成 4 组,分别与 15 型、5 型、7 型和 13 型二氢叶酸还原酶基因接近,提示在药物选择性压力下, I 类整合子有 4 条不同的系统发生或进化途径,所携带的二氢叶酸还原酶基因呈现为多样性。

References:

- [1] LESTARI E S, SEVERIN J A, VERBRUGH H A. Antimicrobial resistance among pathogenic bacteria in Southeast Asia [J]. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, 2012, 43(2):385-422.
- [2] SUN A H, FAN X L, GU Yi, et al. Predominant *porB1A* and *porB1B* genotypes and correlation of gene mutations with drug resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Eastern China [J]. **BMC Infect Dis**, 2010, 10:323-331.
- [3] CANTÓN R, COQUE T M, BAQUERO F. Multi-resistant Gram-negative bacilli: from epidemics to endemics [J]. **Curr Opin Infect Dis**, 2003, 16(4):315-325.
- [4] XIAO YONGhong, SHEN Ping, WEI Zeqing(肖永红,沈萍,魏泽庆,等), et al. Mohnarín report 2010: Surveillance of bacterial resistance in East China [J]. **Chinese Journal of Nosocomiology (中华医院感染学杂志)**, 2011, 21(23):4896-4902. (in Chinese)
- [5] VEEN E L, SCHILDER A G M, TIMMERS T K, et al. Effect of long-term trimethoprim / sulfamethoxazole treatment on resistance and integron prevalence in the intestinal flora: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in children [J]. **J Antimicrob Chemother**, 2009, 63(5):1011-1016.
- [6] PAIRANO G, AGERSO Y, AARESTRUP F M, et al. Occurrence of integrons and resistance genes among sulphonam resistant *Shigella* spp. from Brazil [J]. **Antimicrob Agents Chemother**, 2005, 55(3):301-305.
- [7] VO A T, van DUIJKEREN E, FLUIT A C, et al. Antibiotic resistance, integrons and *Salmonella* genomic island 1 among non-typhoidal *Salmonella* serovars in the the Netherlands [J]. **Int J Antimicrob Agents**, 2006, 28(3):172-179.
- [8] FLUIT A C, SCHMITZ F J. Resistance integrons and super-integrons [J]. **Clin Microbiol Infect**, 2004, 10(4):272-288.
- [9] SABAT M, PRATS G. Structure and function of integrons [J]. **Enferm Infect Microbiol Clin**, 2002, 20(7):341-345.
- [10] ROE M T, VEGA E, PILLAI S D. Antimicrobial resistance markers of class 1 and class 2 integron-bearing *Escherichia coli* from irrigation water and sediments [J]. **Emerg Infect Dis**, 2003, 9(7):822-826.
- [11] TURTON J F, KAUFMANN M E, GLOVER J, et

- al. Detection and typing of integrons in epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* found in the United Kingdom [J]. **J Clin Microbiol**, 2005, 43 (7): 3074-3082.
- [12] ROWE-MAGNUS D A, MAZEL D. The role of integron in antibiotic resistance gene capture [J]. **Int J Med Microbiol**, 2002, 292(2): 115-125.
- [13] DÍAZ-MEJÍA J J, AMÓBILE-CUEVAS C F, ROSA 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. **Microbiology**, 2008, 154 (Pt 1): 94-102.
- [14] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIS T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* [M]. 2nd edition, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, 1. 21-1. 52, 2. 60-2. 80, 7. 3-7. 35, 9. 14-9. 22.
- [15] MEZZATESTA M L, GONA F, STEFANI S. *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance [J]. **Future Microbiol**, 2012, 7(7): 887-902.
- [16] BEREKET W, HEMALATHA K, GETENET B, et al. Update on bacterial nosocomial infections [J]. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, 2012, 16 (8): 1039-1044.
- [17] JEANA S S, HSUEH P R. High burden of antimicrobial resistance in Asia [J]. **Int J Antimicrob Agents**, 2012, 37(4): 291-295.
- [18] ZHUO Chao, Su Danhong, NI Yuxing (卓超, 苏丹虹, 倪语星, 等), et al. CHINET 2009 surveillance of antimicrobial resistance in *E. coli* and *Klebsiella* spp in China [J]. **Chinese Journal of Infection and Chemotherapy** (中国感染与化疗杂志), 2010, 10(6): 430-435. (in Chinese)
- [19] NANDI S, MAUEER J J, HOFACRE C, et al. Gram-positive bacteria are a major reservoir of class 1 antibiotic resistance integrons in poultry litter. **Proc Natl Acad Sci USA**, 2004, 101 (18): 7118-7122.
- [20] PLOY M C, DENIS F, COURVALIN P, et al. Molecular characterization of integrons in *Acinetobacter baumannii*: description of a hybrid class 2 integron [J]. **Antimicrob Agents Chemother**, 2000, 44(10): 2684-2688.
- [21] YU Y, JI S, CHEN Y, et al. Resistance of strains producing extended-spectrum beta-lactamases and genotype distribution in China [J]. **J Infect**, 2007, 54(1): 53-57.
- [22] DULUCQ S, STONGE G, GAGNÉ V, et al. DNA variants in the dihydrofolate reductase gene and outcome in childhood ALL [J]. **Blood**, 2007, 111 (7): 3692-3700.
- [责任编辑 张荣连]

《浙江大学学报:医学版》征订和征稿启事

《浙江大学学报:医学版》是由国家教育部主管,浙江大学主办的报道医药学等方面研究成果的学术性刊物,从2003年起,正式被医学领域中最权威的美国《医学索引》,即IM/Medline收录,刊物印刷本被美国国立医学图书馆永久收藏。2008年,《浙江大学学报:医学版》被《中文核心期刊要目总览》收录。

此外,《浙江大学学报:医学版》还被中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)数据库、中国科学引文数据库(CSCD)、《中国学术期刊(光盘版)》数据库、荷兰《医学文摘》、美国《化学文摘》、美国《乌利希国际期刊指南》、波兰《哥白尼索引》等收录。

《浙江大学学报:医学版》主要刊发医学、药学、生物医学以及相关学科的学术论文。读者对象为医务工作者、医药学教育和科研人员,以及研究生等。

《浙江大学学报:医学版》欢迎广大作者来稿,稿件取舍以学术质量为准,一视同仁。投稿须知请查阅刊物网址(<http://www.journals.zju.edu.cn/med>)上所登载的《稿约》。

《浙江大学学报:医学版》编辑部地址:杭州市天目山路148号;邮编:310028;联系电话:0571-88272797;电子信箱:zdxbyxb@zju.edu.cn;国内邮发代号:32-2,国外邮发代号BM 6585;订阅:全国各地邮局。