

肠杆菌科耐第三代头孢菌素临床株中 ISCR1 元件与 ESBLs 基因的关系

吴晓妹, 宋诗铎, 祁 伟

(天津医科大学第二医院感染性疾病研究所, 天津 300211)

[摘 要] **目的** 了解某地区肠杆菌科耐第三代头孢菌素临床株中携带新型可移动遗传元件插入序列共同区域 (ISCR1) 的情况及其与超广谱 β -内酰胺酶 (ESBLs) 基因的关系。**方法** 以最低抑菌浓度 (MIC) 法检测细菌耐药表型; 双纸片扩散法进行 ESBLs 确证试验; 聚合酶链反应 (PCR)、单链 PCR 构象的多态性 (PCR-SSCP)、DNA 序列分析检测 ISCR1 基因和 SHV、TEM、CTX-M-ESBLs 基因; PCR-mapping 检测 ISCR1 与 ESBLs 基因的关系。**结果** 83 株肠杆菌科耐第三代头孢菌素临床株中, 17 株携带 ISCR1 元件。携带 ISCR1 元件的菌株中, 2 株大肠埃希菌 (EA791、EA1367)、3 株阴沟肠杆菌 (EC1322、EC1342、EC553) 及 1 株产酸克雷伯菌 K386 临床株 ESBLs 确证试验阳性, 其中 EA791、EC553 及 K386 携带 CTX-M-1 组 ESBLs 基因; EA1367 同时携带 CTX-M-1 组和 CTX-M-9 组 ESBLs 基因; EC1322、EC1342 携带 SHV-12 型 ESBLs 基因; 6 株细菌均携带 TEM 型基因, 经 PCR-SSCP 分析显示均为 TEM-1, 但经 PCR-mapping 显示其 ISCR1 元件下游未连接 ESBLs 基因。**结论** 该地区耐第三代头孢菌素临床株中存在 ISCR1 元件, 尚未发现菌株携带的 ISCR1 元件与 ESBLs 基因的直接联系, 此元件可能参与其他耐药基因的水平传播。

[关键词] 细菌; 肠杆菌科; 插入序列共同区域; 超广谱 β -内酰胺酶; 基因; 抗药性; 微生物

[中图分类号] R378.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2011)02-0086-06

Relation between ISCR1 and ESBLs gene in third generation cephalosporin-resistant clinical strains of Enterobacteriaceae

WU Xiao-mei, SONG Shi-duo, QI Wei (Tianjin Research Institute of Infectious Diseases, Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

[Abstract] **Objective** To study the distribution of insertion sequence common region1 (ISCR1) in local third generation cephalosporin-resistant clinical strains of Enterobacteriaceae and the relationship between ISCR1 and ESBLs.

Methods Antimicrobial susceptibilities were tested by micro-dilution broth method; ESBLs phenotypic confirmatory test were performed by double disk diffusion method; ISCR1 gene, SHV, TEM, and CTX-M-ESBLs genes were amplified by PCR and analysed by single-strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) and DNA sequencing, and the relationship between ISCR1 and ESBLs gene was detected by PCR-mapping. **Results** Among 83 strains, 17 isolates harbored ISCR1 gene, 6 of which were positive in ESBLs phenotypic confirmatory test, including 2 *Escherichia coli* strains (EA791, EA1367), 3 *Enterobacter cloacae* (EC1322, EC1342, EC553), and 1 *Klebsiella oxytoca* (K386), EA791, EC553 and K386 all contained CTX-M-1 ESBLs gene; EA1367 contained both CTX-M-1 and CTX-M-9 group ESBLs gene; EC1322 and EC1342 both contained SHV-12 ESBLs gene; all 6 strains carried TEM-ESBL gene which were verified by PCR-SSCP. PCR-mapping revealed that there's no relation between ISCR1 and ESBLs gene. **Conclusion** ISCR1 element exist in local third generation cephalosporin-resistant clinical strains of Enterobacteriaceae, the study found no evidence of direct relationship between ISCR1 and ESBLs, the element maybe play a role in horizontal transmission of other drug-resistant genes.

[Key words] bacteria; Enterobacteriaceae; insertion sequence common region1 (ISCR1); extended-spectrum β -lactamases; gene; drug-resistance; microbial

[Chin Infect Control, 2011, 10(2): 86-91]

[收稿日期] 2010-09-21

[作者简介] 吴晓妹 (1981-), 女 (汉族), 天津市人, 在读硕士研究生, 主要从事细菌耐药机制研究。

[通讯作者] 宋诗铎 E-mail: shiduosong1@yahoo.com.cn

肠杆菌科细菌对第三代头孢菌素的耐药问题日益严重,其主要的耐药机制之一是产超广谱β-内酰胺酶(ESBLs)^[1]。对第三代头孢菌素耐药的菌株往往对喹诺酮类、氨基糖苷类抗生素同时耐药。整合子作为可移动元件可使多种耐药基因聚集,导致多重耐药。近年来发现的插入序列共同区域(Insertion sequence common region, ISCR1)元件存在于复合I类整合子的2个3'CS(保守区)之间,含有开放读码框orf 513,其下游连接的耐药基因无需被特异性识别即可随之同时转座至其他位点,此元件被视为新型高效的基因移动元件^[2]。本研究拟了解本地区肠杆菌科耐第三代头孢菌素的临床株中ISCR1元件的分布及其与ESBLs基因的关系,以深化ISCR1元件在细菌耐药机制中的作用。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 天津医科大学第二医院2009年1月—2010年7月感染科、呼吸科住院和门诊患者送检标本分离获得的对第三代头孢菌素耐药的肠杆菌科细菌,共83株(同一患者同种标本只计1次)。包括44株大肠埃希菌,16株克雷伯菌属(其中10株肺炎克雷伯菌,3株产酸克雷伯菌,1株鼻硬结肺炎克雷伯菌,1株臭鼻克雷伯菌,1株催产克雷伯菌),14株阴沟肠杆菌,6株产气肠杆菌,3株其他菌株(1株弗劳地柠檬酸杆菌,2株聚团肠杆菌)。门诊来源标本23份。全部菌株均经过API20NE系统鉴定。大肠埃希菌ATCC 25922作为药敏质控菌株。大肠埃希菌EA797为CTX-M-1组基因阳性对照株,志贺菌AB6为CTX-M-9组基因阳性对照株,志贺菌AB12为TEM-1基因阳性对照株。

1.2 药敏试验 采用微量肉汤稀释法测定抗菌药物最低抑菌浓度(MIC),双纸片扩散法进行ESBLs确证试验。左氧氟沙星(LVX)、环丙沙星(CIP)、头孢吡肟(FEP)、头孢他啶(CAZ)、氧氟沙星(OFX)、阿米卡星(AMK)、哌拉西林(PFP)、头孢噻肟(CTX)、头孢哌酮(CFP)、头孢曲松(CRO)、头孢哌酮/舒巴坦(CPS)、庆大霉素(GEN)等抗菌药物标准品及药敏纸片头孢他啶、头孢噻肟、头孢他啶/克拉维酸、头孢噻肟/克拉维酸,均购自中国药物生物制品检定所。以上试验结果均依据美国临床实验室标准化研究所(CLSI)2009年颁布的准则为判断标准。

1.3 聚合酶链反应(PCR)扩增及序列分析 参照Pitout等^[3]方法提取细菌总DNA。根据Genbank

和欧洲分子生物学实验室(EMBL)数据库公布的相关序列设计合成特异性引物扩增ISCR1基因、CTX-M-ESBLs基因(1、2、9组)、TEM基因和SHV基因。引物序列见表1。引物合成及PCR产物测序由上海英俊生物工程公司完成,DNA测序结果在Genbank中经BLAST分析比对。

表1 PCR扩增ISCR1与ESBLs基因引物序列及产物长度
Table 1 The primers and amplicon size of PCR for ESBLs gene

目标基因	引物序列(5'-3')	产物大小(bp)
ISCR1	CR1F:GGAGCGTGATGCCGAGAAT	405
	CR1R:GCAGCGAGTTTGCGGATG	
<i>bla</i> _{CTX-M-1} 组	M1F:ATTAGAGCGGCAGTCGG	587
	M1R:CCACAACCCAGGAAGCAG	
<i>bla</i> _{CTX-M-2} 组	M2F:ACGTACCCTGTATT	581
	M2R:TGTGCCCGCTGAGTTTC	
<i>bla</i> _{CTX-M-9} 组	M9F:ATGGTGACAAAGAGAGTGCA	870
	M9R:CCCTTCGGCGATGATTCTC	
TEM	TEMF:TTTCCGTGTCGCCCTTAT	630
	TEMR:GCAACTTTATCCGCCTCC	
SHV	SHVF:TCTCCCTGTTAGCCACCCTG	593
	SHVR:CCACTGCAGCAGCTGCCGTG	

1.4 单链PCR构象的多态性(PCR-SSCP)分析 将TEM基因PCR阳性产物变性后,进行非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,经EB染色,与TEM-1阳性对照株AB12进行比较。

1.5 PCR定位(PCR-mapping)技术 应用ISCR1上游引物CR1F和菌株中携带的ESBLs基因的下游引物对产ESBLs的ISCR1阳性菌株进行PCR扩增,判断ISCR1与ESBLs基因的关系。见图1。

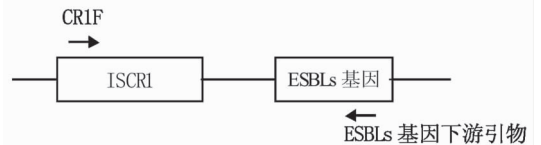


图1 PCR-mapping示意图

Figure 1 Chart of PCR-mapping

2 结果

2.1 药敏试验 83株肠杆菌科耐第三代头孢菌素临床株对12种抗生素的敏感试验见表2。所有菌株除对第三代头孢菌素耐药外,对喹诺酮类及氨基糖苷类药物均有不同程度耐药,其中多重耐药菌株(MDR)52株,包括大肠埃希菌29株,克雷伯菌属12

株(7 株肺炎克雷伯菌,3 株产酸克雷伯菌,1 株鼻硬结肺炎克雷伯菌,1 株催产克雷伯菌),阴沟肠杆菌 6 株,产气肠杆菌 3 株,2 株其他菌株(1 株弗劳地柠檬酸杆菌,1 株聚团肠杆菌);对含酶抑制剂的头孢哌酮/舒巴坦较为敏感,耐药率为 25.30%(21/83)。

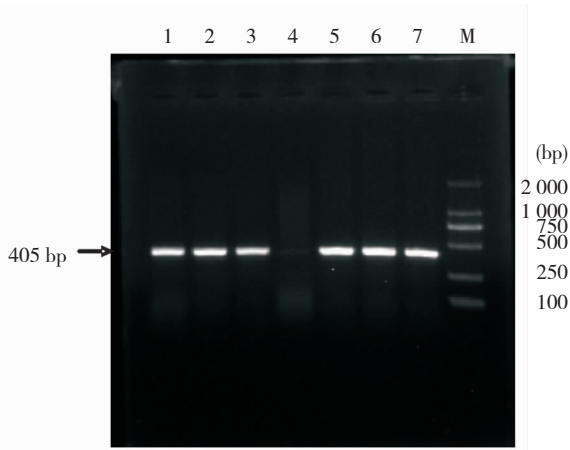
2.2 PCR 扩增 ISCR1 元件及序列分析 83 株肠

表 2 83 株肠杆菌科耐第三代头孢菌素临床株对 12 种抗菌药物的耐药情况(耐药株,%)

Table 2 Resistant rates of 83 third generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae strains to 12 kinds of antimicrobial agents (drug-resistant strain,%)

抗菌药物	大肠埃希菌(n=44)	克雷伯菌属(n=16)	阴沟肠杆菌(n=14)	产气肠杆菌(n=6)	其他(n=3)
LVX	25(56.82)	11(68.75)	6(42.86)	2(33.33)	1(33.33)
CIP	35(79.55)	8(50.00)	6(42.86)	3(50.00)	1(33.33)
FEP	39(88.64)	15(93.75)	13(92.86)	6(100.00)	2(66.67)
CAZ	25(56.82)	13(81.25)	13(92.86)	6(100.00)	2(66.67)
OFX	32(72.73)	12(75.00)	5(35.71)	2(33.33)	1(33.33)
AMK	11(25.00)	10(62.50)	6(42.86)	1(16.67)	0(0.00)
PFP	35(79.55)	13(81.25)	11(78.57)	6(100.00)	2(66.67)
CTX	35(79.55)	14(87.50)	9(64.29)	5(83.33)	1(33.33)
CFP	40(90.91)	15(93.75)	9(64.29)	6(100.00)	1(33.33)
CRO	39(88.64)	15(93.75)	9(64.29)	5(83.33)	1(33.33)
CPS	9(20.45)	7(43.75)	2(14.29)	2(33.33)	1(33.33)
GEN	32(72.73)	12(75.00)	14(100.00)	4(66.67)	1(33.33)

杆菌科耐第三代头孢菌素临床株中,以 CR1F 和 CR1R 为引物扩增 ISCR1 基因,17 株细菌可见一条约 405 bp 的扩增片段,见图 2。ISCR1 阳性菌株 KP2414 的 PCR 产物经测序并与 Genbank 中 ISCR1 的基因序列比对,一致性为 99%。



M:DNA marker (DL-2000);1:EA 1367; 2:KP2414; 3:EA791; 4:ATCC 25922; 5:K386; 6:EC1322; 7:EC1342

图 2 肠杆菌科耐第三代头孢菌素细菌 ISCR1 基因的 PCR 电泳图

Figure 2 PCR results of ISCR1 gene in third generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae strains

2.3 ESBLs 确证试验 17 株 ISCR1 阳性菌株中,ESBLs 确证试验阳性 6 株,分别为 2 株大肠埃希菌(EA791、EA1367),3 株阴沟肠杆菌(EC1322、EC1342、EC553),1 株产酸克雷伯菌(K386)。6 株携带 ISCR1 基因且产 ESBLs 的肠杆菌科耐第三代头孢菌素临床株相关情况见表 3。

2.4 PCR 扩增 ESBLs 基因、PCR-SSCP 分析及序列分析

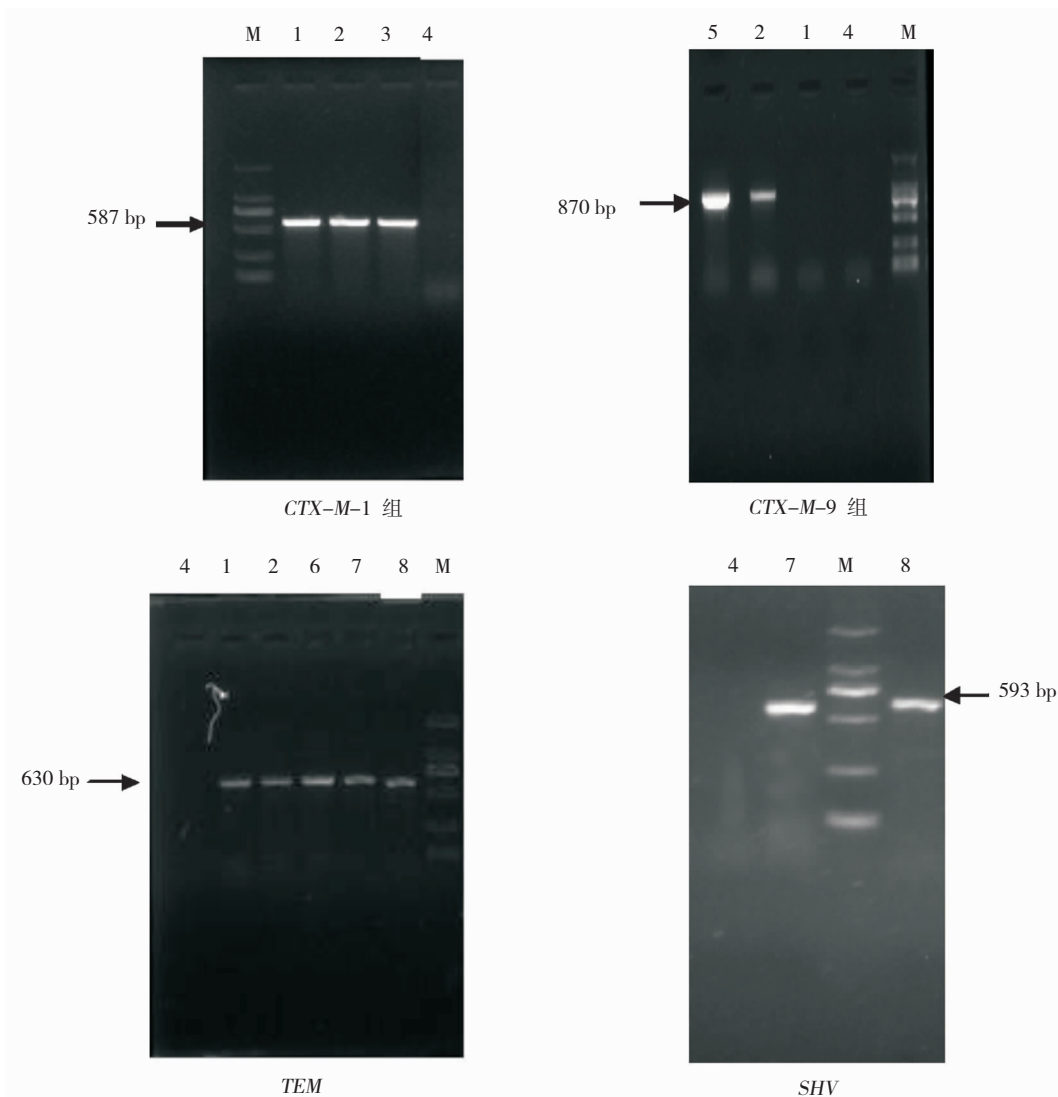
2.4.1 CTX-M-ESBLs 基因的 PCR 扩增及序列分析 ISCR1 阳性同时 ESBLs 确证试验阳性的 EA791、EA1367、EC1322、EC1342、EC553 及 K386 6 株菌株,分别以 M1F 和 M1R、M2F 和 M2R、M9F 和 M9R 为引物进行 PCR 扩增 CTX-M-ESBLs 基因的 1、2、9 组。其中 CTX-M-1 组基因扩增结果:EA791、EA1367、EC553、K386 及阳性对照株 EA797 均可见一条约 587 bp 的扩增片段,另 2 株菌及阴性对照株 ATCC 25922 均未得到阳性扩增结果。将 EA791、EA1367、EC553、K386 的扩增产物进行测序并在 Genbank 中进行序列比对,EA791、EA1367 与 CTX-M-15 的一致性为 99%(G454A),EC553、K386 与 CTX-M-15 的一致性为 100%。6 株细菌的 CTX-M-2 组基因扩增结果均为阴性。CTX-M-9 组基因扩增结果:EA1367 和阳性对照株 AB6 可见一条约 870 bp 的扩增片段,余 5 株细菌及阴性对照株 ATCC 25922 均未得到阳性扩增结果。将 EA1367 的扩增产物进行测序并在 Genbank 中进行序列比对,与 CTX-M-15 的一致性为 99%(nt29C→T、nt860 T 缺失)。见图 3。

表3 6株产ESBLs且ISCR1阳性肠杆菌科耐第三代头孢菌素临床株的相关信息

Table 3 Information of 6 ESBLs-producing and ISCR1 positive third generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae strains

菌株	来源	耐药表型	CTX-M-1	CTX-M-2	CTX-M-9	SHV-12	TEM-1
EA791	住院患者	Q+β+A	+	-	-	-	+
EA1367	住院患者	Q+β+A	+	-	+	-	+
EC553	住院患者	Q+β+A	+	-	-	-	+
EC1322	住院患者	β+A	-	-	-	+	+
EC1342	住院患者	β+A	-	-	-	+	+
K386	住院患者	Q+β+A	+	-	-	-	+

Q:喹诺酮类耐药;β:β-内酰胺类耐药;A:氨基糖苷类耐药;+:阳性;-:阴性



M:DNA marker(DL-2000),从上自下分别为: 2 000 bp、1 000 bp、750 bp、500 bp、250 bp、100 bp; 1:EA791;2:EA1367; 3:EA797;4:ATCC 25922;5:AB6;6:AB12;7:EC1322;8:EC1342

图3 肠杆菌科耐第三代头孢菌素细菌 CTX-M-1、CTX-M-9、TEM、SHV 基因 PCR 电泳图

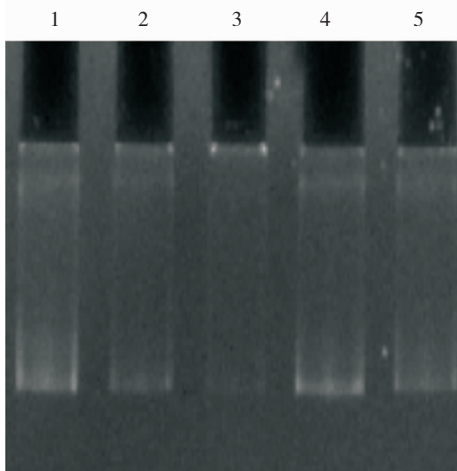
Figure 3 PCR results of CTX-M-1, CTX-M-9, TEM and SHV genes in third generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae strains

2.4.2 SHV 基因的 PCR 扩增及序列分析 以 SHVF 和 SHVR 为引物 PCR 扩增 ISCR1 阳性同

时 ESBLs 确证试验阳性的 EA791、EA1367、EC1322、EC1342、EC553 及 K386 6 株菌株,其中菌

株 EC1322、EC1342 可见一条约 593 bp 的扩增片段,另 4 株菌株及阴性对照株 ATCC 25922 均未得到阳性扩增结果,见图 3。将菌株 EC1322 和 EC1342 的 *SHV* 基因 PCR 产物进行测序并在 Genbank 中进行序列比对,EC1322 与 *SHV*-12 基因的一致性为 99%(nt50C→G),EC1342 为 100%。

2.4.3 *TEM* 基因的 PCR 扩增及 PCR-SSCP 分析
以 TEMF 和 TEMR 为引物 PCR 扩增 *ISCR1* 阳性同时 ESBLs 确证试验阳性的 EA791、EA1367、EC1322、EC1342、EC553 及 K386 6 株菌株,6 株临床株及阳性对照株 AB12 均可见一条约 630 bp 的扩增片段,见图 3。将其 *TEM* 基因的 PCR 产物进行 PCR-SSCP 分析,与阳性对照株 AB12 未见差异。因 *TEM* 基因 PCR 产物含有 ESBLs 的突变热点 G512A(nt512G→A),PCR-SSCP 分析时电泳条带无差异,考虑以上 6 株菌株所含 *TEM* 基因均为 *blaTEM*-1 基因。PCR-SSCP 电泳图见图 4。



1: AB12; 2:EA791; 3:EA1367; 4:EC1322; 5:EC1342

图 4 肠杆菌科耐第三代头孢菌素细菌 *TEM* 基因的 PCR-SSCP 电泳结果

Figure 4 PCR-SSCP results of *TEM* gene in third generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae strains

2.4.4 PCR-mapping 应用 *ISCR1* 基因上游引物 CR1F 和菌株中携带的 ESBLs 基因的下游引物对 *ISCR1* 阳性同时 ESBLs 确证试验阳性的 EA791、EA1367、EC1322、EC1342、EC553 及 K386 6 株菌株进行 PCR 扩增。以 CR1F 和 M1R 为引物,对携带 *CTX-M*-ESBL(1 组)的菌株 EA791、EA1367、EC553 及 K386 进行 PCR 扩增;以 CR1F 和 M9R 为引物,对携带 *CTX-M*-ESBL(9 组)的菌株

EA1367 进行 PCR 扩增;以 CR1F 和 SHVR 为引物,对携带 *SHV*-ESBL 基因的菌株 EC1322、EC1342 进行 PCR 扩增,均未测到阳性结果。

3 讨论

随着第三代头孢菌素在临床的广泛应用,革兰阴性细菌特别是肠杆菌科细菌对其的耐药情况日益严重,使多种抗菌药物失效。产 ESBLs 是革兰阴性细菌对 β -内酰胺类抗生素耐药的主要原因之一。*TEM*-ESBL、*SHV*-ESBL、*CTX-M*-ESBL 是 ESBLs 基因的主要基因型,前两者主要由 *TEM*-1、*TEM*-2、*SHV*-1 结构基因点突变衍生而来。*CTX-M*-ESBL 为非 *TEM*、非 *SHV* 型 ESBLs 的主要类型,其中 1、2、9 组较为常见。

近半个世纪以来,耐药基因的水平传播是导致耐药性迅速扩散的最主要原因。其主要传播机制包括接合性质粒、转座子和整合子。20 世纪 90 年代初,*ISCR1* 首次在复合 I 类整合子 In6 和 In7 中被发现,位于复合 I 类整合子 2 个 3' 保守区(CS)之间,长 2 154 bp,含有一个开放读码框序列^[4]。最初的研究发现它编码一个推定的 513 个氨基酸组成的转座酶,故被称为 orf 513。随着研究的深入,发现它在结构和功能上与 IS91 家族相似,缺少了末端反向重复序列,通过滚环复制方式进行转座,为了强调其与插入序列的同源性和发现的历史,改称为 *ISCR* 元件^[2]。*ISCR* 基因可位于质粒或染色体 DNA 上,与多种耐药基因相连,包括 A 类和 C 类 β -内酰胺酶、喹诺酮类、氨基糖苷类、氯霉素类、甲氧苄啶类、四环素类等^[2],这些耐药基因与 I 类整合子耐药基因盒不同,不需要与 59be 重组位点相连^[4]。由于其复制终止序列 *terIS* 的不精确性,转座时有 1%~10% 的概率会出现复制终止于超越 *terIS* 的邻近序列,所以其终止存在一定的随机性,可以移动与其相邻的任何 DNA 片段^[5]。已报道的与 *ISCR1* 相关联的 ESBL 耐药基因有: *blaCTX-M*-2、*blaCTX-M*-1、*blaCTX-M*-9、*blaCTX-M*-14、*blaCTX-M*-20、*blaVEB*-3、*blaPER*-3、*blaCMY*-11^[6-11]。

本研究中 83 株耐第三代头孢菌素的肠杆菌科细菌中,17 株携带了 *ISCR1* 基因,其中 4 株为门诊标本分离所得,表明 *ISCR1* 元件在本地区社区及医院感染耐药细菌临床株中均有分布。17 株携带 *ISCR1* 元件的细菌中,EA791、EA1367、EC1322、EC1342、EC553 及 K386 6 株菌 ESBLs 确证试验阳

性,其中 EA791、EC553 及 K386 携带 CTX-M-1 组基因,EA1367 同时携带 CTX-M-1、CTX-M-9 组基因;EC1322、EC1342 携带 SHV-12 ESBLs 基因;以上 6 株菌株均携带 TEM 基因,经 PCR-SSCP 分析均为 TEM-1 型基因。经 PCR-mapping 分析,6 株菌株所携带的 ISCR1 元件下游均未连接 CTX-M-ESBL/SHV-ESBL 基因。17 株 ISCR1 阳性菌株中,13 株细菌为多重耐药菌,余菌株除对第三代头孢菌素耐药之外,亦对喹诺酮类或氨基糖苷类药物耐药。如上所述,ISCR1 元件下游可与多种耐药基因相连,而本地区此 17 株细菌携带的 ISCR1 基因下游尚未发现 ESBLs 基因,但不能排除连接其他类型的耐药基因,参与耐药基因的水平传播机制。以上分析有待下一步分子生物学试验进行确证。

ISCR 元件作为强有力的新型基因捕获系统,在耐药基因的水平传播中发挥了重要作用。ISCR1 所在的复合 I 类整合子具有更强的导致多重耐药的能力,给临床抗感染治疗带来了更大的挑战。因此,需要我们对给予更多的关注与研究。

[参考文献]

[1] 陈民钧,王辉. 中国重症监护病房革兰阴性菌耐药性连续 7 年监测研究[J]. 中华医学杂志,2003,83(5):375-377.
 [2] Toleman M A, Bennett P M, Walsh T R. ISCR elements: Novel gene—capturing systems of the 21st century? [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2006,70(2):296-316.
 [3] Pitout J D, Thmoson K S, Hanson N D, et al. Plasmid-mediated resistance to expanded-spectrum cephalosporins among

Enterobacter aerogenes strains[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1998, 42(3):596-600.
 [4] Stokes H W, Tomaras C, Parsons Y, et al. The partial 3'-conserved segment duplications in the integrons In6 from pSa and In7 from pDGO100 have a common origin[J]. Plasmid, 1993,30(1):39-50.
 [5] Tavakoli N, Comanducci A, Dodd H M, et al. IS1294, a DNA element that transposes by RC transposition[J]. Plasmid, 2000,44(1):66-84.
 [6] Bonnet R, Chanal C, Ageron E, et al. Inducible AmpC-lactamase of a new member of the Enterobacteriaceae[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002,46(10):3316-3319.
 [7] Schlor S, Reidl S, Blass J, et al. Genetic arrangements of the regions adjacent to genes encoding heat-labile enterotoxins (eltAB) of enterotoxigenic *Escherichia coli* strains[J]. Appl Environ Microbiol, 2000,66(1):352-358.
 [8] Su Z, Dai X, Chen J, et al. The blaCTX-M-1 gene located in a novel complex class I integron bearing an ISCR1 element in *Escherichia coli* isolates from Zhenjiang, China[J]. Antimicrob Chemother, 2008,62(5):1150-1151.
 [9] Sabate M, Tarrago F, Navarro F, et al. Cloning and sequence of the gene encoding a novel cefetoximehydrolyzing β -lactamase (CTX-M-9) from *Escherichia coli* in Spain[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000,44(7):1970-1973.
 [10] Jiang X F, Ni Y X, Jiang Y, et al. Outbreak of infection caused by *Enterobacter cloacae* producing the novel VEB-3 β -lactamase in China[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(2):826-831.
 [11] Bauernfeind A, Stempling I, Jungwirth R, et al. Comparative characterization of the cephamycinase blaCMY-1 gene and its relationship with other beta-lactamase genes[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1996,40(8):1926-1930.

《中华临床医师杂志(电子版)》2011 年度征稿征订

《中华临床医师杂志(电子版)》是中国科技核心期刊,半月刊,全年出刊 24 期,定价 672 元,国内刊号 CN 11-9147/R,邮发代号 80-728,被万方数据库、中国期刊网、维普数据库、美国化学文摘、乌利希期刊指南、波兰哥白尼索引等国内外知名数据库收录。

2011 年度重点栏目征稿及 2011 年优惠征订详情请见中华临床医师杂志官方网站 www.clinicmed.net 的期刊动态。

欢迎广大临床医师积极投稿并订阅杂志! 欢迎各位专家组织、推荐、撰写重点栏目论文!

投稿信箱:北京市 100035-50 信箱 编辑部 收 邮编 100035

投稿电子邮箱:Lcdoctor@163.com

电话:010-62219211

传真:010-62222508

网址:www.clinicmed.net