

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20221833

· 论 著 ·

## 应用 MALDI-TOF MS 快速鉴定 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌

汪华学<sup>1</sup>, 张 杰<sup>1</sup>, 曹云松<sup>1</sup>, 徐 阳<sup>1</sup>, 应冲涛<sup>2</sup>, 郭 普<sup>2</sup>

(蚌埠医学院第一附属医院 1. 重症医学科; 2. 检验科, 安徽 蚌埠 233004)

**[摘要]** **目的** 探讨基质辅助激光解析/电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)对携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌的快速鉴定能力。**方法** 收集 2018 年 9 月—2020 年 11 月蚌埠医学院第一附属医院临床住院患者分离的肺炎克雷伯菌, 采用纸片扩散法进行药敏试验。应用聚合酶链反应(PCR)方法筛选携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌。MALDI-TOF MS 鉴定菌株并收集携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型和碳青霉烯类敏感肺炎克雷伯菌(CSKP)的质谱图, 各自选取其中 70 株菌株图谱, 建立携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型和 CSKP 的超级图库(Super-Spectra)。采用超级图库鉴定除建库以外的肺炎克雷伯菌, 根据耐药表型和 PCR 结果, 判断鉴定结果是否准确。**结果** 共收集 295 株肺炎克雷伯菌, 经耐药表型筛选耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)143 株和 CSKP 152 株。CRKP 中鉴定出 140 株携带碳青霉烯酶基因(134 株检出 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因, 3 株检出 *bla*<sub>KPC-18</sub> 基因, 2 株检出 *bla*<sub>NDM-1</sub> 基因, 1 株检出 *bla*<sub>IMP</sub> 基因), 3 株不携带碳青霉烯酶基因; 其中 2 株同时检出 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因和 *bla*<sub>NDM-1</sub> 基因。根据建库要求, 建立携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型和 CSKP 的超级图库(Super-Spectra); 设置 error 值 < 0.5, 二者重合率达 80%; 对比图发现, 4 154.4、8 310.7、10 880.8、3 579.10 079.3 m/z 五个峰可作为区分携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因肺炎克雷伯菌和 CSKP 的特征峰。选取除建库以外的 155 株肺炎克雷伯菌进行验证, 准确率为 92.90% (144/155); 其中携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因肺炎克雷伯菌准确率为 94.52% (69/73), CSKP 准确率为 91.46% (75/82)。**结论** 通过 MALDI-TOF MS 建立 Super-Spectra, 可快速预测 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌, 为临床 CRKP 感染的诊疗及医院感染防控提供可靠的实验室依据。

**[关键词]** 基质辅助激光解析/电离飞行时间质谱; 肺炎克雷伯菌; *bla*<sub>KPC-2</sub>; 超级图库

**[中图分类号]** R446.5 R378.99<sup>+</sup>6

## Rapid identification of *bla*<sub>KPC-2</sub> genotype *Klebsiella pneumoniae* by MALDI-TOF MS

WANG Hua-xue<sup>1</sup>, ZHANG Jie<sup>1</sup>, CAO Yun-song<sup>1</sup>, XU Yang<sup>1</sup>, YING Chong-tao<sup>2</sup>, GUO Pu<sup>2</sup>

(1. Department of Critical Care Medicine; 2. Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the rapid identification of *bla*<sub>KPC-2</sub>-harboring *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). **Methods** *K. pneumoniae* isolated from hospitalized patients in the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College from September 2018 to November 2020 were collected, antimicrobial susceptibility testing was performed by disk diffusion method. *bla*<sub>KPC-2</sub>-harboring *K. pneumoniae* was screened by polymerase chain reaction (PCR). MALDI-TOF MS was used to identify the strains, the mass spectra of *bla*<sub>KPC-2</sub>-harboring *K. pneumoniae* and carbapenems-sensitive *K. pneumoniae* (CSKP) were collected, 70 strains were selected respectively to establish the Super-Spectra of *bla*<sub>KPC-2</sub>-harboring *K. pneumoniae* and CSKP. *K. pneumoniae* except strains in Super-Spectra were also

[收稿日期] 2021-08-30

[基金项目] 安徽省重点研究与开发计划项目(1804h08020256)

[作者简介] 汪华学(1972-),男(汉族),安徽省太湖县人,主任医师,主要从事重症感染及其耐药菌综合防治的研究。

[通信作者] 郭普 E-mail: 3504624902@bbmc.edu.cn

identified for judging whether the identification results were accurate according to antimicrobial resistance phenotype and PCR results. **Results** A total of 143 carbapenems-resistant *K. pneumoniae* (CRKP) strains and 152 CSKP strains were screened out from 295 *K. pneumoniae* strains. 140 CRKP strains were identified carrying carbapenemase gene (134, 3, 2, and 1 strains were found *bla*<sub>KPC-2</sub>, *bla*<sub>KPC-18</sub>, *bla*<sub>NDM-1</sub> and *bla*<sub>IMP</sub> respectively), 3 strains didn't harbor carbapenemase gene, 2 strains were found both *bla*<sub>KPC-2</sub> gene and *bla*<sub>NDM-1</sub> gene. According to the requirement of database establishment, a Super-Spectra of *bla*<sub>KPC-2</sub>-harboring genotypes of *K. pneumoniae* and CSKP were established; the coincidence rate of the two was 80% when the error value was <0.5; according to the comparison map, the five peaks of 4 154.4m/z, 8 310.7m/z, 10 880.8m/z, 3 579m/z and 10 079.3m/z could be used as the characteristic peaks to distinguish the *bla*<sub>KPC-2</sub>-harboring *K. pneumoniae* and CSKP. 155 strains of *K. pneumoniae* except Super-Spectra were selected for verification, the accuracy rate was 92.90% (144/155); the accuracy of *bla*<sub>KPC-2</sub>-harboring *K. pneumoniae* was 94.52% (69/73), and that of CSKP was 91.46% (75/82). **Conclusion** The establishment of Super-Spectra through MALDI-TOF MS can rapidly predict *bla*<sub>KPC-2</sub> genotype *K. pneumoniae*, which is helpful to provide a reliable laboratory basis for the diagnosis and treatment of CRKP infection as well as prevention and control of healthcare-associated infection.

[**Key words**] matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; *Klebsiella pneumoniae*; *bla*<sub>KPC-2</sub>; Super-Spectra

近年来,耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenems-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)在临床的检出率呈增长趋势,尤其在重症医学科,CRKP 多为泛耐药菌株,治疗药物选择困难,且易引起医院感染的暴发流行,给临床诊疗及医院感染防控带来巨大的风险与挑战<sup>[1-2]</sup>。快速、准确检测 CRKP 对临床重症感染患者的快速诊断,及时治疗,以及减少医院感染风险,减少患者住院费用,降低感染患者病死率等具有重要意义。CRKP 菌株的检测常见方法有耐药表型检测、免疫学方法检测碳青霉烯酶以及分子生物学方法检测碳青霉烯酶基因等<sup>[3]</sup>,但上述方法存在检测时间长、试验条件要求高、检测费用昂贵等不足。基质辅助激光解析/电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)通过鉴定微生物的蛋白图谱,为临床菌株的快速鉴别提供强有力的技术支持<sup>[4]</sup>。有研究<sup>[5-6]</sup>表明, MALDI-TOF MS 可用于快速鉴别耐药菌,如耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)和耐万古霉素肠球菌(vancomycin-resistant *Enterococcus*, VRE)。CRKP 最主要的耐药机制是产生由 *bla*<sub>KPC</sub>、*bla*<sub>IMP</sub>、*bla*<sub>NDM-1</sub>、*bla*<sub>VIM</sub> 和 *bla*<sub>OXA-48</sub> 基因等介导的碳青霉烯酶,其中我国主要的流行株为 *bla*<sub>KPC-2</sub> 型<sup>[7]</sup>。MALDI-TOF MS 快速检测

CRKP 的相关研究较少,大多应用 BioTyper 软件进行图谱分析<sup>[8]</sup>。本研究以 PCR 方法为“金标准”<sup>[9]</sup>,应用 MALDI-TOF MS 和 SARAMIS 软件建立耐药型和敏感型 2 种超级图库(Super-Spectra),用于快速鉴定携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 菌株来源 收集 2018 年 9 月—2020 年 11 月蚌埠医学院第一附属医院临床住院患者分离自痰、血、尿及胸腔积液等标本的肺炎克雷伯菌,排除同一患者相同部位检出的重复菌株。质控菌株:大肠埃希菌 ATCC 8739、大肠埃希菌 ATCC 25922、肺炎克雷伯菌 ATCC BAA-1705 (*bla*<sub>KPC-2</sub> 阳性)、ATCC BAA-1706 (*bla*<sub>KPC-2</sub> 阴性)。菌株均保存于该院微生物实验室。

1.1.2 试剂及仪器 MH 平板、哥伦比亚血琼脂平板购自合肥天达试剂公司;MALDI-TOF MS 质谱仪、48 孔靶板及 CHCA 基质液购自法国生物梅里埃公司;基因组 DNA 提取试剂盒购自北京 Tiangen 有限公司;美罗培南(10 μg)和亚胺培南(10 μg)药敏卡片购自英国 Oxoid 公司;PCR 试剂盒购自日本 Takara 公司。

## 1.2 方法

1.2.1 菌株培养与种属鉴定 采用三区划线,接种收集的菌株,在(36±1)℃培养箱中培养 18~24 h。挑取单一菌落,应用甲酸萃取法<sup>[8]</sup>进行处理, MALDI-TOF MS 鉴定菌株,每个菌株两个靶点,图谱由自带的 RUO 系统比对获取。

1.2.2 耐药表型检测 采用 K-B 法检测菌株耐药性,结果参照 2020 版美国临床和实验室标准协会 (CLSI) M100 30<sup>th</sup>药敏标准执行。

1.2.3 耐药基因检测 从耐药表型检测获得的 CRKP 菌株中,挑取单一菌落,接种于 3 mL 液体肉汤培养基中,进行过夜培养;将培养菌液参照说明书,应用 DNA 提取试剂盒,从中获得基因组 DNA (OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 为 1.7~1.9);根据 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因特异引物(见表 1),对基因组 DNA 进行聚合酶链反应 (PCR)扩增,扩增阳性产物送至测序公司进行基因测序,结果与美国国立生物技术信息中心 (NCBI) GenBank 数据库对比确认。

表 1 耐药基因 PCR 扩增引物序列及产物大小

Table 1 Primer sequences and size of PCR products of resistance genes

基因	引物序列(5'—3')	产物大小 (bp)
<i>bla</i> <sub>KPC-2</sub>	F: ATGTCACTGTATCGCCGTCTA	638
	R: TTACTGCCCGTTGACGCCCAA	
<i>bla</i> <sub>NDM-1</sub>	F: ATGGAATTGCCCAATATTATGCACCC	475
	R: GTCAGCGCAGCTTGTCGGCCATGCG	
<i>bla</i> <sub>IMP</sub>	F: CTACCGCAGCAGAGTCTTTG	587
	R: AACCAGTTTTGCCTTACCAT	
<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	F: GCGTGGTTAAGGATGAACAC	722
	R: CATCAAGTTCAACCCAACCG	

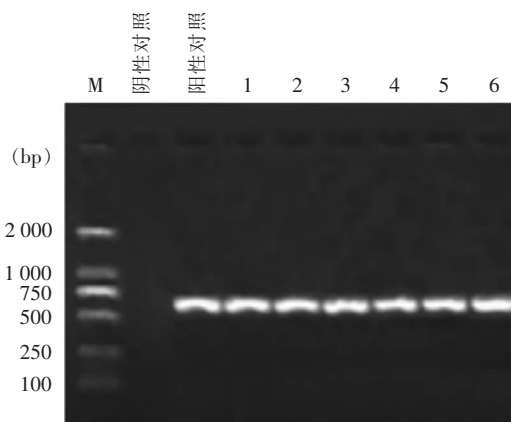
1.2.4 耐药型和敏感型超级文库的建立 选取 70 株肺炎克雷伯菌,参照 1.2.1 方法提取检出 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌菌体蛋白,并进行图谱采集。结果以置信区间为衡量标准(置信区间为 75%~99.9% 表示结果可信,<75% 表示结果不可信)。将收集的图谱保存至一个文件夹中,去除较大差异的图谱(确认 Taxonomy>80%),峰的质量 (datacount) 为 80~230;选择质谱峰度相同的最特异的峰,确保每种质量峰至少 80% 的菌株拥有,最终保留 35~49 个峰(目标 39~41),与数据库进行比对,确定权重,建立携带 *bla*<sub>KPC</sub> 基因型肺炎克雷伯菌的 Super-Spec-

tra,用于下一步的验证。碳青霉烯类敏感肺炎克雷伯菌(carbapenem-sensitive *Klebsiella pneumoniae*, CSKP) Super-Spectra 的建立方法同上,激活后用于验证。

1.2.5 Super-Spectra 验证 根据 1.2.1 的方法,选择除建库以外的肺炎克雷伯菌,利用 MALDI-TOF MS 收集图谱,应用新建的 Super-Spectra 验证是否耐药;以 K-B 法和 PCR 结果作为鉴定标准。

## 2 结果

2.1 耐药表型及基因型分布 共收集 295 株肺炎克雷伯菌,经耐药表型筛选 CRKP 143 株和 CSKP 152 株;CRKP 菌株中检出携带碳青霉烯酶基因 140 株,经测序鉴定为携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因 134 株,携带 *bla*<sub>KPC-18</sub> 基因 3 株,携带 *bla*<sub>NDM-1</sub> 基因 2 株,携带 *bla*<sub>IMP</sub> 基因 1 株,未鉴定出 *bla*<sub>OXA-48</sub> 基因;其中 2 株同时检出 *bla*<sub>KPC-2</sub> 和 *bla*<sub>NDM-1</sub> 基因。质控菌株 ATCC BAA-1705 携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因。部分菌株 PCR 结果见图 1。



M: 2 000 bp DNA Marker; 1~6 泳道: CRKP 菌株。

图 1 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因扩增电泳图

Figure 1 Amplification electrophoresis map of *bla*<sub>KPC-2</sub> gene

## 2.2 Super-Spectra 结果

2.2.1 携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因肺炎克雷伯菌的超级文库 以 PCR 为标准,选取其中携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因的肺炎克雷伯菌 70 株,并加入 ATCC BAA-1705,共 71 株 CRKP 建立 Super-Spectra;菌株 Taxonomy 均 >80%,收集最特异的 40 个特异峰,确定权重为 28,获得携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因肺炎克雷伯菌的 Super-Spectra,见图 2。

2.2.2 CSKP 的超级文库 选取 CSKP 70 株,加入 ATCC BAA-1706,共 71 株,确定权重为 28,建立

Super-Spectra, 图谱见图 3。

2.2.3 Super-Spectra 比较 设置 error 值 < 0.05, 二者的图谱重合率为 80%, 见图 4。比较发现, 4 154.4, 8 310.7, 10 880.8 m/z 是携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因

肺炎克雷伯菌的特征峰, 3 579、10 079.3 m/z 是 CSKP 的特征峰。上述 5 个峰可作为区分携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因肺炎克雷伯菌和 CSKP 的特征峰。

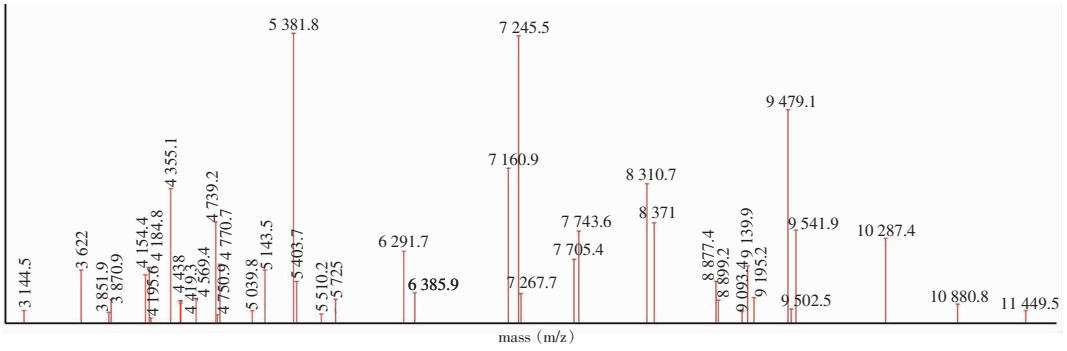


图 2 携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因肺炎克雷伯菌的 Super-Spectra 图谱  
Figure 2 Super-Spectra map of *bla*<sub>KPC-2</sub>-producing *K. pneumoniae*

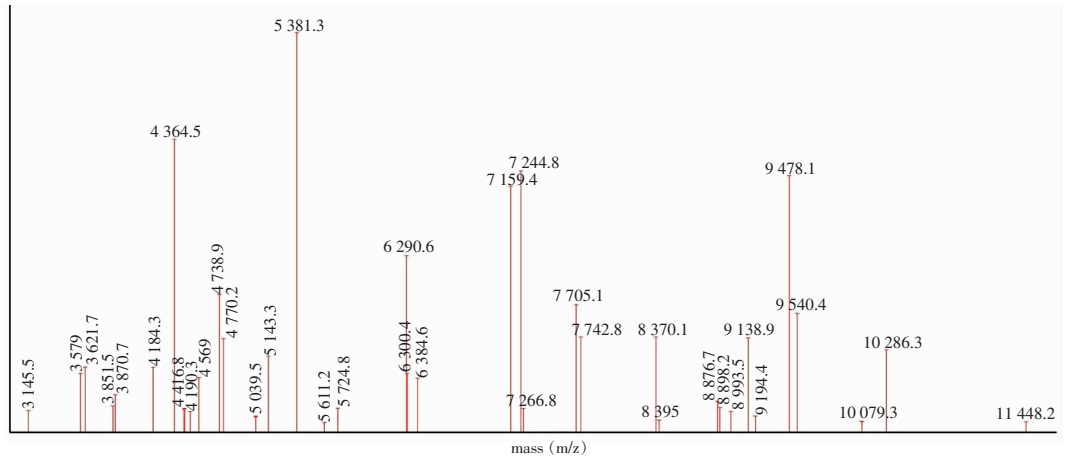


图 3 CSKP Super-Spectra 图谱  
Figure 3 Super-Spectra map of CSKP

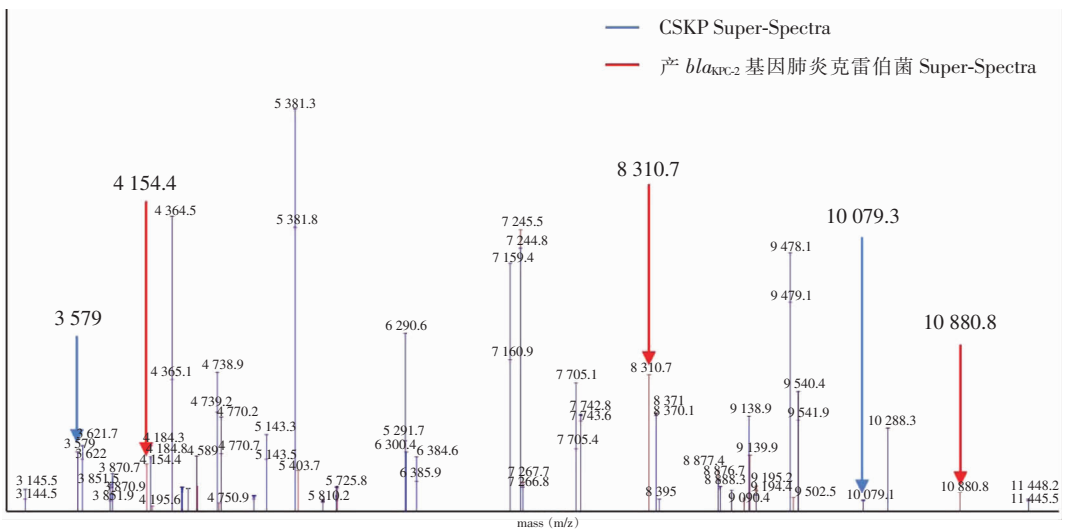


图 4 携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因肺炎克雷伯菌和 CSKP 的 Super-Spectra 对比图  
Figure 4 Super-Spectra comparison of *bla*<sub>KPC-2</sub>-harboring *K. pneumoniae* and CSKP

2.3 验证结果 将除建库以外的 155 株肺炎克雷伯菌作为验证菌株,以 K-B 法和 PCR 作为参考标准,验证携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因肺炎克雷伯菌和 CSKP 的 Super-Spectra 图库的准确性,见表 2。携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因肺炎克雷伯菌准确率 94.52% (69/73),CSKP 准确率 91.46% (75/82),新建的 Super-Spectra 鉴定肺炎克雷伯菌是否对碳青霉烯类抗生素耐药的准确率为 92.90% (144/155)。

表 2 Super-Spectra 图库验证结果

Table 2 Validation results Super-Spectra

MALDI-TOF MS 鉴定结果	可信区间(%)	株数	比率(%)
CRKP(73 株)			
CRKP	75.00~80.00	3	4.11
CRKP	80.00~90.00	4	5.48
CRKP	90.00~99.90	3	4.11
CRKP	99.90	59	80.82
CSKP	99.90	2	2.74
未鉴定为 CRKP 或 CSKP	99.90	2	2.74
CSKP(82 株)			
CSKP	75.00~80.00	2	2.44
CSKP	80.00~90.00	3	3.66
CSKP	90.00~99.90	5	6.10
CSKP	99.90	65	79.26
CRKP	99.90	5	6.10
未鉴定为 CRKP 或 CSKP	99.90	2	2.44

### 3 讨论

CRKP 是医院感染的重要致病菌,感染治疗困难,患者病死率高,同时容易在医院内传播引起医院感染<sup>[10]</sup>。而检测 CRKP 的传统方法耗时长,分子检测手段灵敏度和特异度高,但是对试验环境以及人员要求较高,且价格昂贵。因此,快速诊断 CRKP 有利于临床早期正确选择抗菌药物,降低患者病死率,建立一种快速、简便且价格较低的 CRKP 检测方法尤为重要。

MALDI-TOF MS 是近年来广泛应用于临床的快速鉴定病原菌的新方法。研究<sup>[11-12]</sup>显示 MALDI-

TOF MS 在快速鉴别病原菌的同时可用于 CRKP 的检测,通过检测菌株与碳青霉烯类抗生素作用一段时间后的水解产物,或者直接检测菌株的碳青霉烯酶质谱特征峰来判断 CRKP。还有研究<sup>[13]</sup>采用直接靶板微滴生长法评估菌株对碳青霉烯类抗生素的最小抑菌浓度(MIC)值从而鉴别 CRKP。其中直接检测碳青霉烯酶的质谱特征峰最为便捷。MALDI-TOF MS 快速鉴定微生物主要是 BioTyper 和 SARAMIS 两种主要系统,其中 BioTyper 检测 CRKP 的方法多用于科研<sup>[11, 14]</sup>,需要通过两组数据的聚类分析和主成分分析,根据多菌株或多样本获得验证结果,操作繁琐,易导致容错率降低。而本次研究以鉴定单一菌株为目的,适合临床某一种菌株或亚种的初筛。本研究通过初筛出携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 肺炎克雷伯菌,作为建立 Super-Spectra 图库的试验菌株,能够鉴定大多数 CRKP,可作为临床第一步快速筛选耐药菌株的有效手段。通过采用 MALDI-TOF MS RUO 系统和 SARAMIS 软件,对携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因的肺炎克雷伯菌和 CSKP 进行对比分析,发现区别两者的特征峰。与常规鉴定仪相比,通过质谱比对特征峰,可在 5~10 min 内快速初筛,具有时间短、高通量、准确性高、特异性高等优点,并且采用单一菌株,弥补了时效长、准确性低、操作繁琐等不足,对疾病诊疗及感染防控具有重要意义。本试验通过比较携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌和 CSKP 的超级图库,发现 4 154.4、8 310.7、10 880.8 m/z 是携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌的特征峰,3 579、10 079.3 m/z 是 CSKP 的特征峰,这 5 个特征可以作为该院快速筛查肺炎克雷伯菌的有效工具。经过临床菌株的验证准确率为 92.90%,其中携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因的肺炎克雷伯菌准确率为 94.52%,CSKP 准确率为 91.46%。

研究显示<sup>[9, 15]</sup>,不同地区碳青霉烯酶基因型分布虽有所差异,但是 KPC-2 型仍是多地区最常见的碳青霉烯酶。国外研究<sup>[16-17]</sup>显示,携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌的特征峰 11 109 m/z,位于编码 PKPQIL-p019 蛋白的质粒上,但该质粒仅在研究区域内流行,在其他不携带该质粒的区域尚未检测出该特征峰,表明菌株的遗传背景不同,其特征峰大多不尽相同。该院近 3 年检出的 CRKP 菌株也以携带 KPC-2 基因型为主,其他常见碳青霉烯酶基因

型检出率均较低,产 KPC-2 型碳青霉烯酶作为 CRKP 菌株的主要耐药机制,且种类较为单一。依据是否存在 4 154.4、8 310.7、10 880.8 m/z 三个特征峰,对于本地区快速筛选携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌具有一定的临床应用价值。试验通过分析特征峰之间的差异,快速筛选耐药菌株,进行溯源性分析,判断医院内或者本地区是否存在暴发流行,具有快速、简便、经济、实用性强等优势,在区域流行病学研究中具有一定的应用价值。

本研究中有 4 株肺炎克雷伯菌经过质谱分析,未获得鉴定结果。耐药表型分析显示为 2 株耐药和 2 株敏感,2 株耐药菌株经质谱分析,未出现 4 154.4、8 310.7、10 880.8 m/z 特征峰,根据测序结果发现,这 2 株耐药菌株同时携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因和 *bla*<sub>NDM-1</sub> 基因,两种基因之间可能存在部分干扰,导致编码蛋白出现不稳定性,干扰菌株的蛋白质表达丰度;除蛋白表达水平外,MALDI-TOF MS 鉴定结果受到临床菌株来源、抗菌药物选择压力、试验室环境、操作者操作娴熟水平及待测菌株活性等因素制约;菌体可能存在不表达或表达过度,导致 SARAMIS 软件分析菌体的准确性不高。本次验证试验中有 2 株 CRKP,使用质谱超级图库分析,鉴定为 CSKP;5 株 CSKP 鉴定为 CRKP。可能由于基因的遗传背景不同,使菌株蛋白表达存在差异,影响验证结果。本次试验样本数量有限,后期需要扩大试验菌株,根据 CRKP 的耐药机制,丰富 CRKP 的特征峰,提高验证的准确率。

综上所述,通过严格构建携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌和 CSKP 的超级图谱库,建立一种快速、准确、灵敏的初筛方法用于 CRKP 的鉴定,有助于在区域流行病学研究中有效快速鉴定携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌,以降低其流行和暴发的风险。在后续研究中,可进一步扩展该区域的图谱库,严格遵循要求,尽可能选取更多具有代表性的图谱,纳入携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌的超级图谱库中。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

## [参 考 文 献]

- [1] Zhang R, Dong N, Huang YL, et al. Evolution of tigecycline- and colistin-resistant CRKP (carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*) in vivo and its persistence in the GI tract[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2018, 7(1): 127.
- [2] Tang X, Xiao M, Zhuo C, et al. Multi-level analysis of bacteria isolated from inpatients in respiratory departments in China [J]. *J Thorac Dis*, 2018, 10(5): 2666 - 2675.
- [3] Papp JR, Rowlinson MC, O'Connor NP, et al. Accuracy and reproducibility of the Etest to detect drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* to contemporary treatment[J]. *J Med Microbiol*, 2018, 67(1): 68 - 73.
- [4] Kim E, Kim H, Yang SM, et al. Rapid identification of *Staphylococcus* species isolated from food samples by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2019, 29(4): 548 - 557.
- [5] Shan WG, Li JP, Fang Y, et al. Rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by the Vitek MS Saramis system[J]. *Curr Microbiol*, 2016, 72(1): 29 - 32.
- [6] Griffin PM, Price GR, Schooneveldt JM, et al. Use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry to identify vancomycin-resistant *Enterococci* and investigate the epidemiology of an outbreak[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(9): 2918 - 2931.
- [7] Li P, Liang QQ, Liu WG, et al. Convergence of carbapenem resistance and hypervirulence in a highly-transmissible ST11 clone of *K. pneumoniae*: an epidemiological, genomic and functional study[J]. *Virulence*, 2021, 12(1): 377 - 388.
- [8] Giordano C, Barnini S. Rapid detection of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* using MALDI-TOF MS peak-based assay[J]. *J Microbiol Methods*, 2018, 155: 27 - 33.
- [9] Fuga B, Royer S, Campos PAD, et al. Molecular detection of class 1 integron-associated gene cassettes in KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* clones by whole-genome sequencing [J]. *Microb Drug Resist*, 2019, 25(8): 1127 - 1131.
- [10] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2019 年 CHINET 三级医院细菌耐药监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2020, 20(3): 233 - 243.  
Hu FP, Guo Y, Zhu DM, et al. CHINET surveillance of bacterial resistance across tertiary hospitals in 2019[J]. *Chinese Journal of Infection and Chemotherapy*, 2020, 20(3): 233 - 243.

- [11] Figueroa-Espinosa R, Costa A, Cejas D, et al. MALDI-TOF MS based procedure to detect KPC-2 directly from positive blood culture bottles and colonies[J]. J Microbiol Methods, 2019, 159: 120 - 127.
- [12] 余佳佳. MALDI-TOF 质谱技术在肠杆菌科细菌的碳青霉烯酶快速筛查和分子流行病学中的应用研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2018.
- Yu JJ. The applied research of MALDI-TOF mass spectrometry in the matter of carbapenemase rapid screening and epidemiology of *Enterobacteriaceae*[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2018.
- [13] 沈佳瑾, 黄声雷, 周春妹, 等. MALDI-TOF MS 直接靶板微滴生长法对耐碳青霉烯类肠杆菌的快速鉴别诊断价值[J]. 中国临床医学, 2020, 27(4): 549 - 553.
- Shen JJ, Huang SL, Zhou CM, et al. Value of rapid identification of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* using MALDI-TOF MS-based direct-on-target microdroplet growth assay [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2020, 27(4): 549 - 553.
- [14] Gaibani P, Galea A, Fagioni M, et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(10): 2609 - 2613.
- [15] Miriagou V, Tzouveleki LS, Rossiter S, et al. Imipenem resistance in a *Salmonella* clinical strain due to plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(4): 1297 - 1300.
- [16] Rocco VG, Intra J, Sarto C, et al. Rapid identification of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight using Vitek mass spectrometry system[J]. Eurasian J Med, 2019, 51(3): 209 - 213.
- [17] Youn JH, Drake SK, Weingarten RA, et al. Clinical performance of a matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry method for detection of certain *bla*<sub>KPC</sub>-containing plasmids[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(1): 35 - 42.

(本文编辑:陈玉华)

**本文引用格式:**汪华学,张杰,曹云松,等.应用 MALDI-TOF MS 快速鉴定 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因型肺炎克雷伯菌[J].中国感染控制杂志, 2022,21(3): 217 - 223. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20221833.

**Cite this article as:** WANG Hua-xue, ZHANG Jie, CAO Yun-song, et al. Rapid identification of *bla*<sub>KPC-2</sub> genotype *Klebsiella pneumoniae* by MALDI-TOF MS [J]. Chin J Infect Control, 2022, 21(3): 217 - 223. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20221833.