

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20193912

· 论 著 ·

利用 MALDI-TOF MS 特异质量峰对耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌同源性的快速分型

余佳佳, 刘婧娴, 李媛睿, 刘 瑛

(上海交通大学医学院附属新华医院检验科, 上海 200092)

[摘要] 目的 利用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)筛选耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)的特异质量峰,并根据特异质量峰对 CRKP 进行快速同源性分析。方法 选取某院微生物实验室已进行多位点序列分型(MLST)的 CRKP 76 株,52 株用于方法的建立,24 株用于方法的验证。设置 5 个不同的特异峰挑选标准,按照不同的标准筛选各 ST 型特异质量峰,依据筛选的特异质量峰对 CRKP 进行分型,将与 MLST 结果符合率最高的标准确定为最佳标准。依据最佳标准筛选出的特异峰对 24 株 CRKP 进行分型,验证特异峰质量分型方法的准确性,并与质谱仪软件中的主成分分析(PCA)和核心图谱(MSP)聚类分析进行比较。结果 按照标准 2 [(1)信噪比(S/N)≥4, (2)S/N 比值≥1.5, (3)变异系数(CV)≤40%], 52 株 CRKP 中共筛选出 45 个特异质量峰,利用特异质量峰对 29 株 CRKP 进行分型,与 MLST 符合率最高,达 82.8%,确定为最佳标准。按照此标准筛选出的特异质量峰对另外 24 株 CRKP 进行分型,与 MLST 符合率达 83.3%。而 PCA 聚类分析与 MLST 的符合率仅为 66.7%,MSP 聚类分析与 MLST 一致性较差,没有明显符合 ST 型的分组趋势。结论 利用 MALDI-TOF MS 筛选出不同 ST 型别 CRKP 的特异质量峰,可用于 CRKP 的快速同源性分析,为暴发流行的监测和医院感染的控制提供依据。

[关键词] 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱;耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌;特异质量峰;多位点序列分型;分子流行病学

[中图分类号] R446.5

Rapid typing of homology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* based on specific mass peak of MALDI-TOF MS

YU Jia-jia, LIU Jing-xian, LI Yuan-rui, LIU Ying (Department of Clinical Laboratory, Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China)

[Abstract] **Objective** To screen specific mass peaks (SMP) of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), and perform rapid homology analysis on CRKP based on SMP. **Methods** 76 strains of CRKP with multilocus sequence typing (MLST) were selected from a microbiology laboratory of a hospital, 52 strains were for establishment of method and 24 strains were for validation of method. Five different criteria for selecting SMP of CRKP were set, SMP of different ST-type were screened according to different criteria, CRKP was typed based on screened SMP, criterion with the highest coincidence rate of MLST results was determined as the best criterion. Twenty-four CRKP strains were typed according to the specific peaks screened through best criteria, accuracy of SMP typing method was verified, and was compared with principal component analysis (PCA) and main spectra profile (MSP) cluster analysis in mass spectrometer software. **Results** According to standard 2 (①signal-to-noise ratio [S/N]≥4, ②S/N ratio≥1.5, ③coefficient of variability [CV≤40%]), 45 SMP were selected from 52 strains of CRKP strains, 29 strains of CRKP were typed by SMP, with the highest coincidence rate (82.8%) with MLST, which

[收稿日期] 2018-05-17

[作者简介] 余佳佳(1992-),女(汉族),上海市人,初级技师,主要从事临床微生物检验。

[通信作者] 刘瑛 E-mail:liuying01@xinhua.com.cn

was determined as the best criterion. Another 24 CRKP strains were typed according to SMP screened based on this criterion, and the coincidence rate with MLST was 83.3%. The coincidence rate between PCA cluster analysis and MLST was only 66.7%, consistency between MSP clustering analysis and MLST was poor, and it didn't conform to the grouping trend of ST typing. **Conclusion** MALDI-TOF MS can select SMP of CRKP of different ST, which can be used for rapid homology analysis on CRKP, provide basis for surveillance and control of outbreak of health-care-associated infection.

[Key words] matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; specific mass peak; multilocus sequence typing; molecular epidemiology

耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)是近年来受到广泛关注的多重耐药菌。2014 年 CHINET 数据显示,CRKP 的检出率达 10%^[1],我院 2017 年耐药监测数据显示 CRKP 的检出率已高达 30%,呈现逐年增长的趋势,对临床抗感染治疗带来极大挑战,对患者的生命安全带来极大威胁。流行病学分析是监测感染暴发以及控制医院感染的重要手段。近年来,随着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)技术的不断发展,越来越多的研究^[2-3]表明,MALDI-TOF MS 在流行病学领域有较好的应用前景。利用 MALDI-TOF MS 进行流行病学分析,方法主要包括直接利用质谱仪器中配套的软件进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和核心图谱(main spectra profile, MSP)聚类分析^[4-7],以及对质量图谱进行特异质量峰筛选后再用于分型^[8-9]。文献报道,PCA 聚类分析和 MSP 聚类分析可以鉴别区域流行^[10-13]以及暴发感染的菌株^[14-16],但其分型效果与多位点序列分型(MLST)、脉冲场凝胶电泳(PFGE)等分子分型结果符合度较差。对质量图谱进行特异质量峰筛选后再进行聚类分析,可与分子分型结果达到较高的符合率^[17-18]。而目前通过筛选特异质量峰进行分型的方法主要用于耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)的分子流行病学研究,而针对 CRKP 的研究目前还较少。本研究旨在建立一种方法——利用 MALDI-TOF MS 质量图谱中的特异质量峰对 CRKP 进行快速同源分析。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌株来源 选取上海交通大学医学院附属

新华医院微生物实验室前期收集并已进行 MLST 的 69 株 CRKP,复旦大学附属华山医院惠赠的 7 株 CRKP,共 76 株,其中 52 株用于特异质量峰分型方法的建立,24 株用于特异质量峰分型方法的验证。

1.1.2 试剂与仪器 甲酸和乙腈购自美国 Sigma-Aldrich 公司,HCCA 基质和标准蛋白校准品(protein calibration standard I)购自德国 Bruker Daltonik 公司,血平板、麦康凯平板购自上海伊华生物技术有限公司。电热恒温培养箱购自上海一恒科学仪器有限公司,低速常温离心机购自上海菲恰尔分析有限公司, MicroflexTM LT 型质谱仪、96 孔金属靶板、Flex control 3.0 软件、MicroFlexTM Biotyper 3.0 鉴定分析软件、Clinpro Tools 3.0 软件以及 Flex analysis 3.0 图谱分析软件均购自德国 Bruker Daltonik 公司, Mastercycler EP Gradient Thermal Cycler PCR 仪和微量移液器购自德国 Eppendorf 公司。

1.2 方 法

1.2.1 特异质量峰分型方法的建立

1.2.1.1 不同 ST 型别 CRKP 质量图谱的获取 选取 52 株 CRKP,共包括 25 个序列型(Sequence Type, ST),分别为 ST11(6 株)、ST520(6 株)、ST48(6 株)、ST37(5 株)、ST423(3 株)、ST323(3 株)、ST14(2 株)、ST65(2 株)、ST846(2 株)、ST2168(2 株)、ST29、ST76、ST147、ST278、ST438、ST478、ST571、ST1696、ST1721、ST1722、ST1723、ST1725、ST2169、ST2170 和 ST2171 各 1 株。从 -80℃ 冰箱取出保存菌种进行复苏,接种至麦康凯平板,35℃ 孵育过夜后取单个菌落转种血平板,再次 35℃ 孵育过夜,然后进行 MALDI-TOF MS 分析;每株菌取 3 个单菌落分别加入到 70% 乙醇中,13 000 r/min 离心 5 min,去掉上清后加入 5 μL 甲酸:乙腈(1:1)裂解液,裂解后取 1 μL 加入 96 孔金属靶板中,自然干燥后,加 1 μL 基质 α-氰基-4-羟基肉桂酸(α-cyano-4-hydroxycinnamic acid matrix, HCCA),干燥后进行检测。校准品是标准蛋白校准

品,参数设计 m/z 2000 - 20000, shots: 200, 激光强度 80%, 每一个靶孔上在不同的位置获取 3 个图谱, 则每株菌有 9 个质量图谱, 将图谱进行软件分析鉴定, 当鉴定分数大于 2.30 时认为该菌株被准确鉴定至种水平, 保存图谱。将所有图谱导入 flexanalysis 3.0 软件, 将质量图谱中所有质量峰的基底拉至最低水平线, 并对曲线进行光滑处理。

1.2.1.2 特异质量峰的筛选 本实验共包含 25 种 ST 型别 CRKP, 将所有菌株图谱进行分组, 从而筛选出每种 ST 型别 CRKP 的特异质量峰, 具体流程为: 所有 CRKP 质量图谱分成 ST11 型和非 ST11 型(包括除 ST11 型外的其他所有 ST 型), 两组图谱分别导入 Clinpro Tools 3.0 软件, 通过软件统计学分析, 获得两组间质量峰的比较分析结果。同样的方法将所有菌株图谱分成 ST520 型和非 ST520 型(包括除 ST520 型外的其他所有 ST 型), 再次将两组图谱分别导入 Clinpro Tools 3.0 软件, 通过软件统计学分析, 获得两组间质量峰的比较分析结果, 以此类推获得 25 个 ST 型的比较分析结果。然后根据分析的主要因素信噪比(signal/noise, S/N), 即细菌质量峰信号强度和机器自身产生噪声的比值; 变异系数(coefficient of variation, CV), 即质量峰强度在同一组细菌当中的离散程度; S/N 比值, 即不同分组间, 质量峰信噪比的比值, 通过以上 3 个主要因素制定特异质量峰筛选的标准。参照国外文献中筛选特异质量峰的方法($S/N \geq 5$, S/N 比值 ≥ 2)^[8], 设置 5 个不同的特异质量峰挑选标准, 并按照不同的标准筛选各个 ST 型特异质量峰。标准 1: (1) $S/N \geq 4$, (2) S/N 比值 ≥ 1.5 , (3) $CV \leq 50\%$; 标准 2: (1) $S/N \geq 4$, (2) S/N 比值 ≥ 1.5 , (3) $CV \leq 40\%$; 标准 3: (1) $S/N \geq 4$, (2) S/N 比值 ≥ 2 , (3) $CV \leq 50\%$; 标准 4: (1) $S/N \geq 5$, (2) S/N 比值 ≥ 1.5 , (3) $CV \leq 50\%$; 标准 5: (1) $S/N \geq 5$, (2) S/N 比值 ≥ 2 , (3) $CV \leq 40\%$ 。

1.2.1.3 最佳标准的确定 利用 1.2.1.2 中 5 个标准筛选得到的特异质量峰对 52 株 CRKP 中的 29 株菌(只选取包含 3 个或 3 个以上菌株的 ST 型别)进行分型, 菌株 ST 型别包括 ST11、ST37、ST48、ST520、ST323 和 ST423, 将这 29 株菌的图谱导入 flexanalysis 3.0 软件, 对所有 S/N 值 > 4 的质量峰进行挑选, 若无特异质量峰($S/N < 4$), 则赋值为 0; 若有特异质量峰($S/N > 4$), 则赋值为 1; 若特异质量峰 $S/N > 10$, 则赋值为 2。将获得的数字信息导入 SPSS 软件中, 通过最远邻元素聚类分析方法进

行聚类, 并与 MLST 结果进行比较, 将与 MLST 结果符合率最高的标准确定为最佳标准。

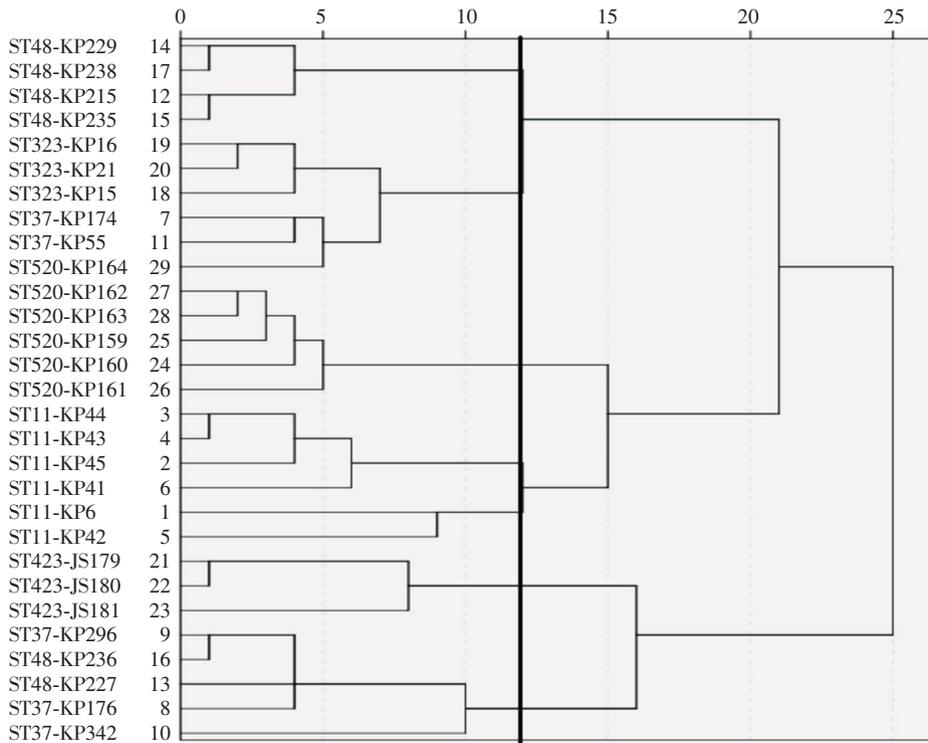
1.2.2 特异质量峰分型方法的验证 另挑选 24 株包含 5 种常见 ST 型别的 CRKP, 分别为 ST11(7 株)、ST48(6 株)、ST520(5 株)、ST37(4 株)以及 ST423(2 株), 对特异质量峰分型方法进行验证。按照 1.2.1.1 的步骤获取质量图谱, 按照最佳标准挑选出的特异质量峰对 24 株 CRKP 的图谱进行分析并赋值, 将获得的数字信息导入 SPSS 软件中, 通过最远邻元素聚类分析方法进行聚类, 并与 MLST 结果进行比较。

1.2.3 分型方法的比较 MALDI-TOF MS 中的 Clinpro Tools 3.0 和 MALDI Biotyper 3.0 软件可根据菌株质量图谱对菌株进行聚类分析, 包括 PCA 聚类分析和 MSP 聚类分析, 本研究利用这两种方法同时对上述用于验证的 24 株 CRKP 进行分型, 并将其结果与特异质量峰分型方法结果进行比较分析。

2 结果

2.1 特异质量峰分型方法的建立 按照标准 2, 共筛选出 45 个特异质量峰。按照特异质量峰, 对 29 株 CRKP 质量图谱的质量峰进行赋值并获得数字列表。将数字导入 SPSS 软件中, 通过最远邻元素的聚类分析方法获得分型结果, 见图 1。图中黑色粗竖线(距离约为 12)将 31 株 CRKP 分成 7 组, 其中 5 株菌分组不符, 分别为 ST37-KP174、ST37-KP55、ST520-KP164、ST48-KP236 和 ST48-KP227, 其余 24 株 CRKP 分型结果与 MLST 一致, 符合率为 82.8%(24/29)。按照标准 1、标准 3、标准 4 和标准 5 挑选出的特异质量峰分型结果与 MLST 结果的符合率分别为 72.4%、72.4%、72.4% 和 75.9%。综合分析发现, 按照标准 2 得到的质量峰分型效果最好, 故确定标准 2 为最佳标准。

2.2 特异质量峰分型方法的验证 将另外 24 株 CRKP 质量图谱导入 Flexanalysis 3.0 软件中, 对基于标准 2 筛选出的 45 个质量峰进行分析并赋值后导入 SPSS 软件, 通过最远邻元素聚类分析方法获得分型结果(图 2)。按照标准 2 的验证结果在距离为 12 处(黑色粗竖线)将 24 株 CRKP 分成 5 组, 与 MLST 结果(ST11、ST37、ST48、ST423 和 ST520)一致, 其中有 4 株 CRKP 分类结果与 MLST 结果不符, ST11-KP361、ST520-KP221、ST520-KP214 和 ST48-KP246 和 ST37 型菌株分在同一组。该方法与 MLST 结果的符合率达 83.3%。



注:KP 为新华医院菌株编号,JS 为华山医院菌株编号

图 1 基于标准 2 筛选的特异质量峰对 29 株 CRKP 进行分型的聚类分析图

Figure 1 Dendrogram of cluster analysis on 29 strains of CRKP based on SMP screened by standard 2

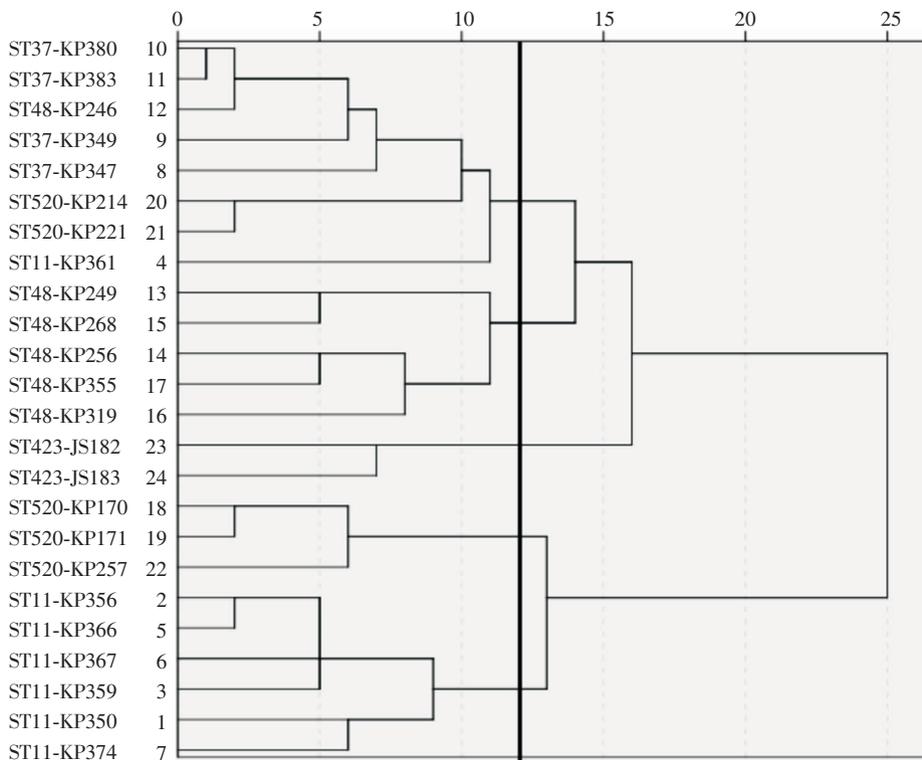


图 2 24 株验证菌株特异质量峰分型的聚类分析结果

Figure 2 Cluster analysis result of SMP typing of 24 validated strains

2.3 分型方法的比较 利用 MALDI-TOF MS 中的 Clinpro Tools 3.0 和 MALDI Biotyper 3.0 对 24 株 CRKP 进行 PCA 聚类分析和 MSP 聚类分析。PCA 聚类分析结果显示,有 8 株细菌分组不符,其

余 16 株 CRKP 分为 5 组,与 MLST 结果的符合率为 66.7%。MSP 聚类分析结果与 MLST 结果一致性较差,没有明显符合 ST 型的分组趋势。见图 3、4。

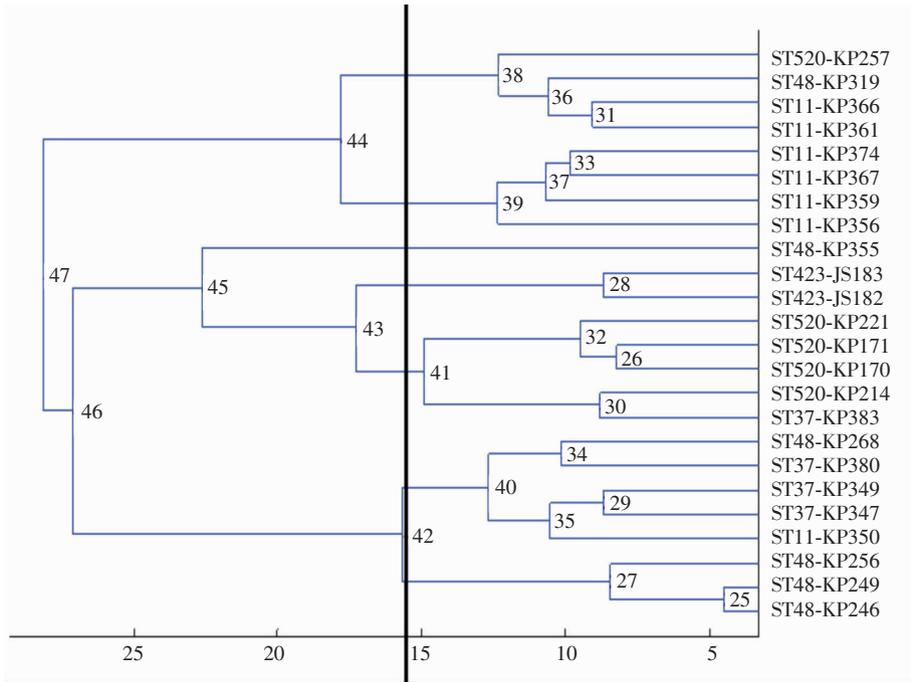


图 3 Clinpro Tools 3.0 软件对 24 株 CRKP 进行 PCA 聚类分析的结果

Figure 3 PCA clustering analysis on 24 strains of CRKP by Clinpro Tools 3.0 software

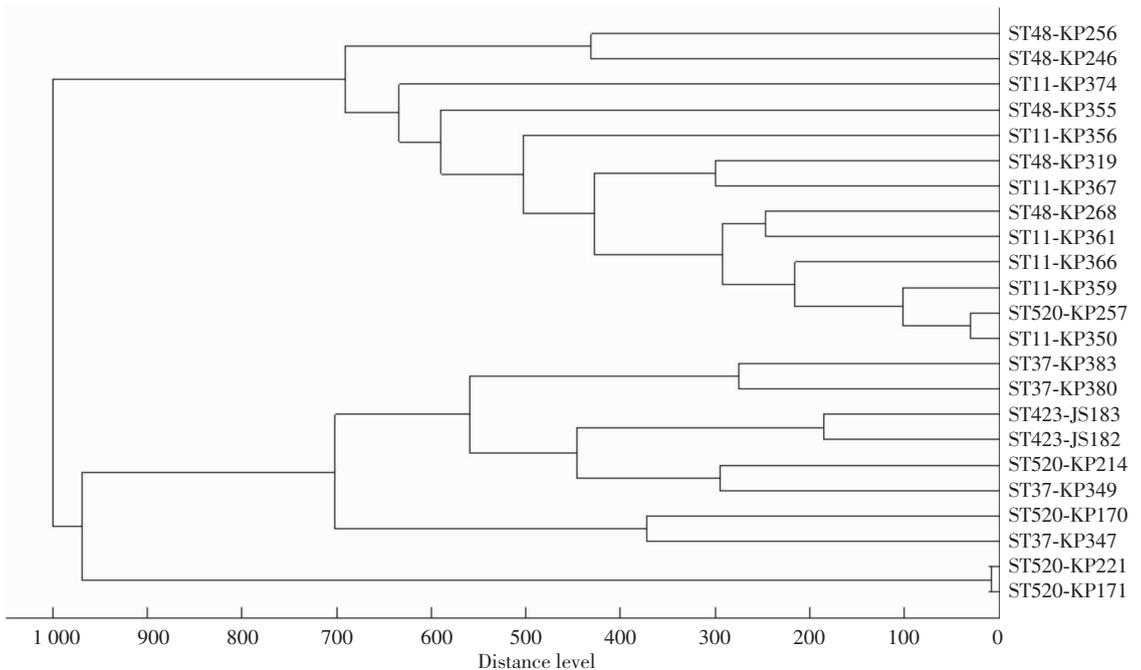


图 4 MALDI Biotyper 3.0 软件对 24 株 CRKP 进行 MSP 聚类分析的结果

Figure 4 MSP clustering analysis on 24 strains of CRKP by MALDI Biotyper 3.0 software

3 讨论

目前,常用的分子流行病学方法主要有 PFGE 分型和 MLST^[19]。PFGE 分型是通过限制性内切酶将基因组切割后进行脉冲场电泳分析,根据条带的不同对菌株进行分型,该方法是分子流行病学分析的金标准^[20],但是操作较为繁琐,需要特殊的仪器设备和专业的操作人员,不宜在实验室常规开展;MLST 是基于管家基因序列进行分型的方法,通过 PCR 扩增管家基因后对扩增产物进行测序,测序结果经比对后获得菌株的 ST 型别^[21],该方法原理简单,操作方便,但耗时较长,成本较高,难以对大样本量的菌株进行快速分析。而利用 MALDI-TOF MS 进行流行病学分析的方法不需额外的费用和复杂的操作,快速、简便,通过对质量图谱进行分析便可获取流行病学信息,为医院感染防控和感染暴发监测提供依据。

利用 MALDI-TOF MS 技术获得的质量图谱中包含大量质量峰信息,可直接用于流行病学分析,但同时也存在不足,其中噪声、重复性低、不稳定的质量峰,以及种属特异的质量峰等都会对分型结果造成影响,因此,利用质量图谱进行亚型区分时应先按照一定的标准进行特异质量峰的筛选,并根据筛选出的特异质量峰进行后续的分型。S/N 是特异质量峰信号与噪声的比值,比值越高表示特异质量峰的强度越高,说明特异质量峰对应的是某种菌株蛋白而非机器噪声。CV 是变异系数,是指该特异质量峰在同一 ST 型别多个菌株多个质量图谱中出现的稳定性,CV 值越小表明质量峰越稳定。S/N 比值是某 ST 型菌株特异质量峰与其他 ST 型菌株的同一 m/z 特异质量峰的信噪比的比值,S/N 比值越高,表明特异质量峰与 ST 型的相关性越好。本研究根据 S/N、CV 系数及 S/N 比值设置了特异质量峰的 5 个筛选标准,并确定最佳标准为:(1)S/N ≥ 4 , (2)S/N 比值 ≥ 1.5 , (3)CV $\leq 40\%$,按照此标准共挑选出 45 个特异质量峰,利用这些特异质量峰对 24 株 CRKP 进行分型,结果与 MLST 的符合率达 83.3%,表明该方法具有较好的分型潜力。

特异质量峰分型方法是在菌株鉴定图谱的基础上,通过观察特异质量峰,并根据特异质量峰强度进行的聚类分析。与 PCA 聚类分析和 MSP 聚类分析相比,该方法准确率高,排除了质量图谱中 CRKP 种特异性质量峰的干扰,从而提高了对 CRKP 亚型

区分的能力。与 MLST 等分子分型的方法相比,该方法不需要额外的成本,更加快速、简便。在建立方法的基础上,实验人员只需获得菌株的鉴定图谱,即可通过分析获得聚类结果,适合在临床微生物室常规开展。本研究进行特异质量峰筛选时共选取了 25 个 ST 型的 CRKP,并筛选出每个 ST 型的特异质量峰,当其中任何一种 ST 型发生暴发流行时,可通过筛选的特异质量峰将暴发流行的菌株进行聚类,从而快速获悉其流行状况。

利用 MALDI-TOF MS 菌株图谱中特异质量峰进行细菌分型的方法也存在一定局限性,本研究包括 CRKP 的 ST 型别有限,但全球流行的 ST 型别多种多样,特异质量峰的筛选只针对本实验室中包含的 ST 型别,所以筛选出的特异质量峰只能对这些亚型进行有效区分,而无法判断是否能区分其他亚型。由于本实验中收集的存在流行趋势 CRKP 的 ST 型较为局限,主要为 ST11、ST520、ST37、ST48 以及 ST423,其他 ST 型 CRKP 菌株数量较少,无法用于特异质量峰分型的验证,因此后续研究中需要继续收集各 ST 型的 CRKP,对该方法进行验证。由于质量峰容易受菌株培养条件,孵育时间以及操作手法等影响,而本实验室目前只是对特异质量峰分型的方法做了初步的探索,建立方法时设置的各项参数可能只适合于本实验室,因此,其他实验室利用 MALDI-TOF MS 质量峰进行深入分析时,应建立适合自己实验室的标准,设置相应的参数,保证试验的准确性和可重复性。

本研究初步显示,MALDI-TOF MS 在医院感染流行病学分析领域具有较大的应用潜力。随着数据库的不断完善,软件的日益更新,MALDI-TOF MS 有望在不久的将来应用于临床微生物实验室进行快速同源性分析,为暴发流行的监测和医院感染的控制提供依据。

[参 考 文 献]

- [1] Hu FP, Guo Y, Zhu DM, et al. Resistance trends among clinical isolates in China reported from CHINET surveillance of bacterial resistance, 2005 - 2014[J]. Clin Microbiol Infect, 2016, 22(Suppl 1): S9 - S14.
- [2] Cheng K, Chui H, Domish L, et al. Recent development of mass spectrometry and proteomics applications in identification and typing of bacteria[J]. Proteomics Clin Appl, 2016, 10(4): 346 - 357.
- [3] Sauguet M, Valot B, Bertrand X, et al. Can MALDI-TOF

- mass spectrometry reasonably type bacteria? [J]. Trends Microbiol, 2017, 25(6): 447–455.
- [4] Rodrigues C, Novais Á, Sousa C, et al. Elucidating constraints for differentiation of major human *Klebsiella pneumoniae* clones using MALDI-TOF MS[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2017, 36(2): 379–386.
- [5] Carannante A, De Carolis E, Vacca P, et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for identification and clustering of *Neisseria gonorrhoeae*[J]. BMC Microbiol, 2015, 15: 142.
- [6] Sachse S, Bresan S, Erhard M, et al. Comparison of multilocus sequence typing, RAPD, and MALDI-TOF mass spectrometry for typing of β -lactam-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2014, 80(4): 267–271.
- [7] Lasch P, Fleige C, Stämmler M, et al. Insufficient discriminatory power of MALDI-TOF mass spectrometry for typing of *Enterococcus faecium* and *Staphylococcus aureus* isolates[J]. J Microbiol Methods, 2014, 100: 58–69.
- [8] Ueda O, Tanaka S, Nagasawa Z, et al. Development of a novel matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrum (MALDI-TOF-MS)-based typing method to identify methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones[J]. J Hosp Infect, 2015, 90(2): 147–155.
- [9] Østergaard C, Hansen SG, Møller JK. Rapid first-line discrimination of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains using MALDI-TOF MS[J]. Int J Med Microbiol, 2015, 305(8): 838–847.
- [10] Berrazeg M, Diene SM, Drissi M, et al. Biotyping of multi-drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from France and Algeria using MALDI-TOF MS[J]. PloS One, 2013, 8(4): e61428.
- [11] Khennouchi NC, Loucif L, Boutefnouchet N, et al. MALDI-TOF MS as a tool to detect a nosocomial outbreak of extended-spectrum- β -lactamase- and ArmA methyltransferase-producing *Enterobacter cloacae* clinical isolates in Algeria[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(10): 6477–6483.
- [12] Bergal A, Loucif L, Benouareth DE, et al. Molecular epidemiology and distribution of serotypes, genotypes, and antibiotic resistance genes of *Streptococcus agalactiae* clinical isolates from Guelma, Algeria and Marseille, France[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2015, 34(12): 2339–2348.
- [13] Dhieb C, Normand, AC, Al-Yasiri M, et al. MALDI-TOF typing highlights geographical and fluconazole resistance clusters in *Candida glabrata*[J]. Med Mycol, 2015, 53(5): 462–469.
- [14] Taneja N, Sethuraman N, Mishra A, et al. The 2002 *Chandigarh cholera* outbreak revisited: utility of MALDI-TOF as a molecular epidemiology tool[J]. Lett Appl Microbiol, 2016, 62(6): 452–458.
- [15] Koláčková I, Štromerová N, Bardoň J, et al. Potential use of mass spectrometry for subtyping of *Campylobacter*[J]. Klin Mikrobiol Infekc Lek, 2015, 21(3): 68–73.
- [16] Egli A, Tschudin-Sutter S, Oberle M, et al. Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass-spectrometry (MALDI-TOF MS) based typing of extended-spectrum β -lactamase producing *E. coli* – a novel tool for real-time outbreak investigation[J]. PloS One, 2015, 10(4): e0120624.
- [17] Zhang T, Ding J, Rao X, et al. Analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* major clonal lineages by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) [J]. J Microbiol Methods, 2015, 117: 122–127.
- [18] Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock[J]. Crit Care Med, 2006, 34(6): 1589–1596.
- [19] Ben Tanfous F, Achour W, Raddaoui A, et al. Molecular characterization and epidemiology of extended spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from immunocompromised patients in Tunisia[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2018, 13: 154–160.
- [20] Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing[J]. J Clin Microbiol, 1995, 33(9): 2233–2239.
- [21] Urwin R, Maiden MC. Multi-locus sequence typing: a tool for global epidemiology[J]. Trends Microbiol, 2003, 11(10): 479–487.

(本文编辑:左双燕)

本文引用格式: 余佳佳, 刘婧娴, 李媛睿, 等. 利用 MALDI-TOF MS 特异质量峰对耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌同源性的快速分型[J]. 中国感染控制杂志, 2019, 18(3): 206–212. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20193912.

Cite this article as: YU Jia-jia, LIU Jing-xian, LI Yuan-rui, et al. Rapid typing of homology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* based on specific mass peak of MALDI-TOF MS[J]. Chin J Infect Control, 2019, 18(3): 206–212. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20193912.