

• 论 著 •

碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌的耐药机制与同源性分析*

曹敬荣, 于 跃, 陈典典, 王 岩, 闵 嵘, 王培昌[△]

(首都医科大学宣武医院检验科, 北京 100053)

摘要:目的 分析碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌的临床分布、耐药表型、耐药基因和同源性, 为临床抗菌药物的合理使用及减少医院感染的暴发流行提供实验室依据。方法 收集宣武医院 2015 年 1 月至 2016 年 6 月临床分离的碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌菌株, 采用 Whonet5.6 分析耐药情况及分布, 产酶表型检测采用改良 Hodge 试验和碳青霉烯酶失活法(CIM)试验, PCR 方法扩增耐药相关基因(KPC、OXA48、NDM、IMP、VIM、TEM、DHA), 运用质谱技术分析试验菌的同源性。结果 共收集耐碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌 50 株, 占同期该院分离肺炎克雷伯菌的比例为 28.1%(50/178), 对常用抗菌药物均表现出高耐药性; 50 例中 Hodge 试验和耐碳青霉烯失活试验阳性者均占 84.0%(42/50), 二者同时阳性者占 82.0%(41/50), 符合率为 97.6%。PCR 扩增 KPC 基因型的阳性率为 82.0%(41/50), 其他耐药基因型阳性检出率分别为 TEM 52.0%(26/50)、IMP 20.0%(10/50)、DHA 14.0%(7/50)、VIM 12.0%(6/50)、NDM 6.0%(3/50)和 OXA48 2.0%(1/50), 同时存在 3 种耐药基因型的菌株占 36.0%(18/50), 同时存在 2 种耐药基因型的菌株占 26.0%(13/50), 未检测到任何耐药基因菌株占 10.0%(5/50)。质谱同源性分析分为两大群, 包括 A1(42.0%)、A2(25.5%)和 B(33.3%)型。结论 该院碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌的临床分离率高, 携带 NDM、DHA、IMP、VIM、TEM、OXA-48 等多种耐药基因型, 以 KPC-2 基因型最多见; 同源性以 A 型为主要流行株。

关键词:碳青霉烯类抗菌药物; 肺炎克雷伯菌; 耐药基因; 同源性

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.23.006 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)23-3438-04

The analysis of resistance and homology for carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae**CAO Jingrong, YU Yue, CHEN Diandian, WANG Yan, MIN Rong, WANG Peichang[△]

(Department of Clinical Laboratory, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China)

Abstract: Objective To analyze the clinical distribution, resistance phenotype, resistance gene and homology of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKPN), and provide laboratory evidence for clinical rational use of antibiotic and reduced the outbreak of nosocomial infections. Methods CRKPN isolates were collected from Xuanwu hospital from January 2015 to June 2016. The resistance rates and distribution were statistically analyzed using Whont5.6 software. The screening carbapenemase phenotypes was performed by Hodge test and carbapenem inactivation method (CIM) phenotypic screening test. PCR was used to detect the corresponding resistance gene (KPC, TEM, IMP, OXA48, DHA, VIM, NDM) and the homology analysis was by mass spectrometry technology. Results Total of 50 CRKPN strains were isolated in the hospital, accounted for 28.1% (50/178). All of the 50 strains of CRKPN showed high resistance to commonly used antimicrobial agents. The positive rates were 84.0% (42/50) for Hodge test and CIM test, of which 82.0% (41/50) were positive with two methods. The positive rate of bla_{KPC} was the highest for 82.0% (41/50), and that of other genes was 14.0% for DHA, 6.0% for NDM, 20.0% for IMP, 12.0% for VIM, 52.0% for TEM and 2.0% for OXA48. In addition, 36.0% (18/50) of the three resistant genotypes and 26.0% (13/50) of the two resistant genotypes were found in one isolate, and 10.0% (5/50) of strains did not detect any drug resistance gene. Mass spectrometric classification showed two groups of A1 (42.0%), A2 (25.5%) and B (33.3%). Conclusion The positive rate of CRKPN is high, and resistant gene is mainly of KPC-2. Type A is the main prevalent strain of homology analysis by MS.

Key words: carbapenem antibiotics; *Klebsiella pneumoniae*; resistance gene; homology

碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌(CRE)感染已成为一个极其重要的公共卫生问题和临床抗感染治疗的棘手问题, 有关其耐药机制的研究已成为国内外研究的热点^[1-3]。感染的细菌中 85% 的 CRE 为碳青霉烯耐药的肺炎克雷伯菌(CRKPN), 且表现出明显的逐年上升趋势, 给临床抗感染治疗带来严峻挑战^[1]。因此, 为了解宣武医院 CRKPN 的耐药性和分子流行情况, 本研究回顾性分析了宣武医院 2015 年 1 月至 2016 年 6 月临床分离的 CRKPN 的分布、耐药表型、耐药基因和同源性, 为临床抗菌药物的合理使用及减少医院感染的流行提供实验室

依据, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 材料来源 选择 2015 年 1 月至 2016 年 6 月对亚胺培南、美罗培南或厄他培南耐药的不重复肺炎克雷伯菌作为研究菌株, 肺炎克雷伯菌 ATCC BAA-1705 为碳青霉烯酶阳性质控菌株, 肺炎克雷伯菌 ATCC BAA-1706 为碳青霉烯酶阴性质控菌株, 菌株大肠埃希菌 ATCC25922 为药敏质控菌株。

1.2 仪器与试剂 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 MALDI-TOF MS (德国布鲁克公司 MALDI Biotyper 3.0);

* 基金项目: 首都医科大学校长基金(2016JYY96)。

作者简介: 曹敬荣, 女, 主治医师, 主要从事临床微生物检验及细菌耐药性和分子流行病学方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: pcw1905@

VITEK 2 COMPACT 全自动微生物鉴定与药敏分析仪(法国生物梅里埃公司);AB-96 PCR 扩增仪(美国);DDY-6C 型电泳仪(北京六一厂);高速离心机(Eppendorf 5415D)、恒温孵育箱(Thermo)、紫外成像仪(Syngene Gene Genius)。哥伦比亚血平板、中国蓝平板、M-H 平板(OXID);美罗培南纸片(10 μg, OXID);EXTaq 酶、DL2000 DNA Marker 和 6×Loding Buffer (Takara)。甲酸、乙腈、α-氰-4 羟基苯丙烯酸(HCCA)和三氟乙酸(TFA,德国布鲁克公司)。

1.3 方法

1.3.1 细菌鉴定及药敏试验 入选所有肺炎克雷伯菌严格按照《全国临床检验操作规程(第4版)》,接种血平板及中国蓝复苏后,使用 MALDI Biotyper3.0 质谱仪进行鉴定,药敏试验采用 VITEK 2 COMPACT 全自动鉴定药敏分析仪,结果判读参照 CLSI 2016 标准。替加环素敏感折点参照 2012 年欧洲药敏试验委员会(EUCAST)标准。

1.3.2 改良 Hodge 试验(MHT) 将新鲜大肠埃希菌(ATCC 25922)配置成 0.5 麦氏单位菌液,用生理盐水 10 倍稀释后用

棉签涂 M-H 平板。将美罗培南纸片贴在培养基中心,以美罗培南纸片为起点,用接种环取肺炎克雷伯菌划线。将平板放置于 35 ℃孵箱过夜培养,抑菌圈内出现矢状生长为 MHT 阳性,无矢状生长为阴性。

1.3.3 碳青霉烯酶失活法^[4-5](CIM) 将 10 μg 美罗培南纸片和含有 10 μL 接种环满环菌的 400 μL 无菌肉汤 35 ℃孵育 4 h;将新鲜大肠埃希菌(ATCC25922)配置成 0.5 麦氏单位菌液,用棉签涂布 M-H 平板。取出孵育的美罗培南纸片,贴于 M-H 平板上。35 ℃过夜孵育后观察,药敏纸片周围无抑菌环为阳性(即产酶),药敏纸片周围有抑菌环为阴性(不产酶)。

1.3.4 PCR 检测耐药基因 加热裂解法提取待测菌株 DNA,−20 ℃备用。PCR 扩增相关耐药基因(引物序列见表 1)的反应体系为 25 μL;EX-Taq 酶 12.5 μL、蒸馏水 5 μL、引物 2.5 μL(KPC-F 和 KPC-R)、待测标本 5 μL。反应条件:95 ℃、3 min;94 ℃、40 s;43 ℃、−60 ℃、30~60 s;70 ℃、60 s、30 循环;72 ℃、7 min。PCR 扩增产物在 1% Agar 电泳 120 V 中 30 min,经凝胶成像系统观察结果。

表 1 PCR 扩增耐药基因引物序列

耐药基因型	引物名称	引物序列(5'→3')	片段长度(bp)	退火温度和时间
KPC	KPC-F	ATGTCACGTATCGCCGTCTA	871	55 ℃,45 s
	KPC-R	TTACTGCCCCGTTGACGCCCAA		
IMP	IMP-F	CTACCGCAGCAGAGTCTTTTG	587	56 ℃,45 s
	IMP-R	AACCAGTTTTGCCTTACCAT		
DHA	DHA-F	AACTTTCACAGGTGTGCTGGGT	405	58 ℃,40 s
	DHA-R	CCGTACGCATACTGGCTTTTGC		
Khe	Khe-F	TGATTGCATTCGCCACTGG	428	58 ℃,40 s
	Khe-R	GGTCAACCCAACGATCCTG		
NDM	NDM-F	GGCGGAATGGCTCATCACGA	286	60 ℃,30 s
	NDM-R	CGCAACACAGCCTGACTTTC		
TEM	TEM-F	TCGGGGAAATGTGCG	972	56 ℃,45 s
	TEM-R	TGCTTAATCAGTGAGGCACC		
VIM	VIM-F	AGTGGTGAGTATCCGACAG	261	43 ℃,30 s
	VIM-R	ATGAAAGTGC GTGGAGAC		
OXA48	OXA48-F	TTGGTGGCATCGATTATCGG	743	55 ℃,30 s
	OXA48-R	GAGCACTTCTTTTGTGATGGC		

1.3.5 质谱分析同源性 取分离纯化的 CRKPN 菌株分别点样在质谱样品靶板上,室温干燥(5~10 min)后加 70% 甲酸 1 μL,同时加 1 μL 的细菌测试标准品(BTS)作为质量控制,室温条件下自然晾干后加 1 μL α-氰基-4-羟基肉桂酸(HCCA)基质溶液均匀覆盖,自然晾干备用。采用 MALDI Biotyper RTC 进行样品的数据采集和鉴定,质谱仪线性正性模式频率 60 Hz,采集相对分子质量为 2 000~20 000 的蛋白质图谱。每个样品的蛋白质谱在不同位置经过 160 次的激光点击获得,采集的蛋白峰信息经软件校正与仪器内数据库图谱比对,得到鉴定结果。通过 flex Analysis 分析软件获取蛋白峰信息,用 MALDI Biotyper 3.0 软件进行聚类分析及主成分分析(PCA)。

1.4 统计学处理 细菌耐药性分析采用 Whonet5.6 软件。数据统计分析采用 SPSS19.0 软件,正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料采用百分数表示,组

间比较采用 χ^2 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CRKPN 的临床分布及耐药分析 通过 Whonet5.6 筛选出 CRKPN50 株,均经质谱和 PCR 确定,占有分离肺炎克雷伯菌的 28.1%(50/178)。CRKPN 主要分布于 ICU[38.0%(19/50)]、老年综合科[30.0%(15/50)]和急诊科[18.0%(9/50)];标本主要来源于痰[54.0%(27/50)]、尿[20.0%(10/50)]和血[16.0%(8/50)];年龄分布以 65 岁以上老年患者最多(70.0%),其次为 41~65 岁(24.0%)和 18~40 岁(6.0%)。药敏分析显示除替加环素 100% 敏感、阿米卡星耐药率 70% 外,对其余抗菌药物耐药率均大于 90%。

2.2 碳青霉烯酶表型筛选结果 MHT 阳性和 CIM 阳性均占 84.0%(42/50);二者同时阳性者占 82.0%(41/50),两种表型方法的符合率为 97.6%(41/42),MHT 和 CIM 均阴性者占 10.0%(5/50),耐药表型筛选结果见表 2。

表 2 碳青霉烯酶表型筛选试验与基因型结果比较[n(%)]

基因型	n	表型试验阳性	
		MHT	CIM
产碳青霉烯酶	42		
KPC 及 IMP/VIM/OXA48	41	41(100.0)	41(100.0)
NDM	1	0(0.0)	1(100.0)
非产碳青霉烯酶	3		
DHA	1	0(0.0)	0(0.0)
TEM	2	1(50.0)	0(0.0)
未检出基因型	5	0(0.0)	0(0.0)

2.3 耐药基因 PCR 扩增与及测序结果 PCR 扩增共检测到 7 种耐药基因,包括 bla_{KPC} 基因 82.0%(41/50)、bla_{DHA} 基因 14.0%(7/50)、bla_{NDM} 基因 6.0%(3/50)、bla_{IMP} 基因 20.0%(10/50)、bla_{VIM} 基因 12.0%(6/50)、bla_{TEM} 基因 52.0%(26/50) 和 bla_{OXA48} 基因 2.0%(1/50),其中同时存在 3 种耐药基因的菌株 18 株(36.0%),同时存在两种耐药基因者 13 株(26.0%),未检测到任何基因者 5 株(10.0%)。基因测序经 BLAST 网上比对分别为 KPC-2、NDM-1、VIM-1 型碳青霉烯酶。

2.4 表型试验与耐药基因型结果分析 以碳青霉烯酶基因阳性为标准评价 MHT 和 CIM 的检测效能。50 株 CRKPN 中,41 株 KPC 型、6 株 VIM 型、10 株 IMP 型和 1 株 OXA48 型细菌的 MHT 100%阳性;3 株 NDM 型 KPN 中有 2 株 MHT 为弱阳性,1 株 MHT 为阴性;1 株非产碳青霉烯酶菌株 MHT 假阳性,该菌检测到 TEM 型耐药基因。MHT 筛查菌株是否产碳青霉烯酶的灵敏度为 97.6%(41/42),特异度为 87.5%(7/8),假阴性率和假阳性率均为 2.4%。CIM 试验筛查菌株是否产碳青霉烯酶的灵敏度和特异度均为 100.0%。见表 2。

2.5 同源性分析结果 50 株细菌的质谱同源性分为 A 型和 B 型两大类,A 型 34 株占 68.0%,B 型 16 株占 32.0%,其中 A1 亚型 21 株占 42.0%、A2 亚型 13 株占 26.0%。回顾性分析发现,未出现过小流行,均为散发病例。

3 讨 论

随着广谱抗菌药物的普遍应用,尤其用于治疗多重耐药肺炎克雷伯菌的碳青霉烯类抗菌药物的广泛使用,CRKPN 分离率不断增加和被报道^[1-4]。本研究共收集 50 株 CRKPN,占同期临床分离所有肺炎克雷伯菌的 28.1%(50/178),CRKPN 主要分布于 ICU、老年综合科和急诊(86.0%),其他科室较少(14.0%);标本主要来源于痰 54.0%、尿 20.0%和血 16.0%,与国内报道相似^[2];年龄分布以 65 岁以上老年患者最多(70.0%),其原因可能与老年患者基础疾病多且严重、免疫力低下、长期应用多种抗菌药物相关^[1]。

CRKPN 的耐药和流行病学特征对指导临床用药和控制 CRKPN 的传播流行意义重大,而产酶菌株除对 β-内酰胺类药物耐药外,对临床常用的抗菌药物如氨基糖苷类、氟喹诺酮类等常表现为交叉耐药或泛耐药^[1,3,6]。本研究 CRKPN 除对替加环素敏感(100.0%)、阿米卡星耐药(70.0%)外,对其余抗菌药物均表现出了较高的耐药性(耐药率均大于 90.0%),与国内外报道的基本相同^[2-4]。

研究认为 CRKPN 的主要耐药机制是产碳青霉烯酶^[2-3,6-7],尤其产 A 类肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶 KPC 或依赖锌离子的 B 类金属酶 MBL 和质粒介导的 D 类 OXA48 型酶,其中以 KPC 酶

最为多见。本研究对 50 株 CRKPN 的碳青霉烯酶进行表型筛选试验,MHT 和 CIM 筛选 CRKPN 耐药表型的阳性率均为 84.0%,二者的符合率为 97.6%。CIM 试验的灵敏度和特异度均为 100.0%,高于 MHT 的 97.6%和 87.5%;MHT 检测 NDM 型碳青霉烯酶的灵敏度仅 33.3%(1/3),与报道^[7]认为 MHT 检测 B 组碳青霉烯酶灵敏度低一致;而 1 株非产碳青霉烯酶的 CRKPN MHT 假阳性,该菌检测到 TEM 型耐药基因(ESBL)。可见,CIM 试验可用来检测肠杆菌科、铜绿假单胞菌和不动菌属细菌是否产碳青霉烯酶,具有成本低、实用性强,操作简单不需要专业的设备和技能、快速、结果易判读等,利于实验室推广。

本研究基因型检测结果显示 42 株产碳青霉烯酶阳性菌株中,检测到 KPC 酶 41 株,另 1 株为产 NDM-1 酶菌株,表明该院分离 CRKPN 产碳青霉烯酶菌以 KPC 酶为主,经测序均为 KPC-2 型;同时检测到 NDM、IMP、VIM 和 OXA48 等耐药基因的存在,其中同时存在 2 种以上耐药基因的菌株 31 株(62.0%),未检测到任何基因者 5 株(10.0%)。本研究共检测 IMP 基因阳性 10 株,具体基因型正在测序中,检测出 6 株 VIM-1 型菌株;携带 NDM-1 基因的肺炎克雷伯菌在我国尚不多见^[1-2],然而检出率呈逐年增多趋势,该酶在本院临床标本中的检出应引起临床和实验室注意和重视。D 类碳青霉烯酶——OXA 酶在肺炎克雷伯菌中检出最多的为 OXA48,主要集中在土耳其,我国鲜有报道^[1-3]。本研究检测到 1 株 OXA48 菌株,为本院首次分离和报道,需要在以后的研究中加大样本量进行筛查和检测该类酶。另外,本研究还检测到 ESBLs 基因 TEM 和 AmpC 酶基因 DHA,二者与碳青霉烯酶共存,导致了多重耐药的发生。耐药菌株的同源性分析对流行病学调查具有十分重要的意义,目前常用的被广泛认同的基因分型方法有脉冲场凝胶电泳(PFGE)、多位点序列分型(MLST)、ERIC-PCR 和随机扩增 DNA 多态性等分子生物学手段^[2-3,8-11],但受限于其耗时长、成本高、操作繁琐等,难以实现快速同源性分析。MALDI-TOF MS 是近年来飞速发展起来的一种新型微生物鉴定技术,通过分析不同种属微生物保守且独特的蛋白峰进行种内分型,可在几分钟内完成对可疑细菌鉴定的同时进行同源性分析^[9-12],本研究 50 株细菌的同源性分析显示,本院的 CRKPN 以 A 型为主(68.0%),均为散发病例,未出现流行情况。可见,利用 MS 能够及时对病原监测、感染源监测、传播途径调查等,符合院内感控工作对病原菌流行病学分型快速有效的要求,可为医院感控工作及时提供实验室依据。但质谱同源性分析依据蛋白质谱图分类,与传统分型方法多基于核酸分析存在明显差异,相关研究相对较少,需分析多重影响因素综合分析。

综上所述,本院 CRKPN 对临床常用抗菌药物耐药率普遍较高,多重耐药情况严重(耐药率大于 90%),主要分布在 ICU 病房;耐药机制中 A 类酶的 KPC-2 基因型是本地区 CRKPN 耐药最常见耐药基因型,同时检测到 DHA、NDM、IMP、VIM、TEM 和 OXA48 等耐药基因,值得引起临床等相关部门的广泛关注及重视;MALDI-TOF MS 技术能够准确鉴定肺炎克雷伯菌且可对其进行同源性分析,可满足临床及医院感染工作的需求,协助防止医院感染的 CRKPN 的暴发与流行。

参考文献

[1] 倪文涛,赵进,王睿,等.联合用药治疗(下转第 3443 页)

- Clin Mol Hepatol, 2013, 19(1): 92-96.
 - [7] Channual S, Tan N, Siripongsakun SA, et al. Gadoxetate disodium-enhanced MRI to differentiate dysplastic nodules and grade of hepatocellular carcinoma: correlation with histopathology[J]. Am J Roentgenol, 2015, 205(3): 546-553.
 - [8] Kogita S, Imai Y, Okada M, et al. Gd-EOB-DTPA-enhanced magnetic resonance images of hepatocellular carcinoma: correlation with histological grading and portal blood flow[J]. Eur Radiol, 2010, 20(10): 2405-2413.
 - [9] Kim HY, Choi JY, Kim CW, et al. Gadolinium ethoxybenzyl diethylenetriamine pentaacetic acid-enhanced magnetic resonance imaging predicts the histological grade of hepatocellular carcinoma only in patients with Child-Pugh class A cirrhosis[J]. Liver Transpl, 2012, 18(7): 850-857.
 - [10] Akai H, Kiryu S, Matsuda I, et al. Detection of hepatocellular carcinoma by Gd-EOB-DTPA-enhanced liver MRI: Comparison with triple phase 64 detector row helical CT[J]. Eur J Radiol, 2011, 80(2): 310-315.
 - [11] Boettcher J, Hansch A, Pfeil A, et al. Detection and classification of different liver lesions: Comparison of Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI versus multiphasic spiral CT in a clinical single centre investigation[J]. Eur J Radiol, 2013, 82(11): 1860-1869.
 - [12] Haradome H, Grazioli L, Tinti R, et al. Additional value of gadoxetic acid-DTPA-enhanced hepatobiliary phase MR imaging in the diagnosis of early-stage hepatocellular carcinoma: comparison with dynamic triple-phase multidetector CT imaging[J]. J Magn Reson Imaging, 2011, 34(1): 69-78.
 - [13] Chen LH, Zhang L, Liang ML, et al. Magnetic resonance imaging with gadoxetic acid disodium for the detection of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of 18 studies[J]. Acad Radiol, 2014, 21(12): 1603-1613.
 - [14] Miura T, Ban DS, Tanaka S, et al. Distinct clinicopathological phenotype of hepatocellular carcinoma with ethoxybenzyl-magnetic resonance imaging hyperintensity: association with gene expression signature[J]. Am J Surg, 2015, 210(3): 561-569.
 - [15] Pastor CM. Hepatic parenchymal enhancement at Gd-EOB-DTPA enhanced MR imaging: correlation with morphological grading of severity in cirrhosis and chronic hepatitis[J]. Magn Reson Imaging, 2012, 30(3): 356-360.
 - [16] Tsuboyama T, Onishi H, Kim T, et al. Hepatocellular carcinoma: hepatocyte-selective enhancement at gadoxetic acid-enhanced MR imaging—correlation with expression of sinusoidal and canalicular transporters and bile accumulation[J]. Radiology, 2010, 255(3): 824-833.
 - [17] Saito K, Moriyasu F, Sugimoto KA, et al. Diagnostic efficacy of gadoxetic acid-enhanced MRI for hepatocellular carcinoma and dysplastic nodule[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(30): 3503-3509.
- (收稿日期: 2017-05-01 修回日期: 2017-08-01)
-
- (上接第 3440 页)
- 产 KPC 肠杆菌科细菌感染研究进展[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(4): 953-956.
- [2] 黄秋艳, 邵世和, 周海健, 等. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌基因检测及其同源性分析[J]. 中国抗生素杂志, 2017, 42(1): 56-60.
 - [3] 蒋伟, 王思森, 金鑫. 耐碳青霉烯类抗菌药物的肠杆菌科细菌耐药性与分子特征分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 29(8): 1696-1698.
 - [4] Gauthier L, Bonnin RA, Dortet L, et al. Retrospective and prospective evaluation of the Carbapenem inactivation method for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0170769.
 - [5] Aguirre-Quinonero A, Cano ME, Gamal D, et al. Evaluation of the carbapenem inactivation method(CIM) for detecting carbapenemase activity in enterobacteria[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2017, 88(3): 214-218.
 - [6] Villa L, Feudi C, Fortini D, et al. Diversity, virulence, and antimicrobial resistance of the KPC-producing Klebsiella pneumoniae ST307 clone[J]. Microb Genom, 2017, 3(4): e000110.
 - [7] Madkour LA, Soliman MS, Hassan DM, et al. Detection of carbapenemase-producers: evaluating the performance of the carbapenem inactivation method and Carba NP test versus multiplex PCR[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2017, 9(1): 10-14.
 - [8] 王俊, 王宇, 廖玉凤, 等. 攀枝花地区耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌 OXA 基因型及分子流行病学分析[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(12): 1732-1734.
 - [9] Prakash A, Sharma C, Singh A, et al. Evidence of genotypic diversity among Candida auris isolates by multilocus sequence typing, matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry and amplified fragment length polymorphism[J]. Clin Microbiol Infect, 2016, 22(3): 277.
 - [10] Kornienko M, Ilina E, Lubasovskaya L, et al. Analysis of nosocomial Staphylococcus haemolyticus by MLST and MALDI-TOF mass spectrometry[J]. Infect Genet Evol, 2016, 39(1): 99-105.
 - [11] Rodrigues C, Novais A, 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.
 - [12] 李东菊, 朱元祺, 梁冰. MALDI-TOF MS 用于肺炎克雷伯菌同源性分析的初步研究[J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(5): 528-533.
- (收稿日期: 2017-05-29 修回日期: 2017-08-11)