

# 碳青霉烯类耐药细菌的流行病学及耐药基因检测方法研究进展

孙韦地<sup>#1</sup>, 王强<sup>#1</sup>, 谢龙旭<sup>2</sup>, 郭轶<sup>1</sup>, 路遥雅洁<sup>1</sup>, 魏茵茵<sup>1</sup>, 邵雪<sup>1</sup>, 贾梦涛<sup>1</sup>, 陈建军<sup>\*1</sup>

1 河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453000

2 广州凯普生物科技股份有限公司, 广东 广州 510000

孙韦地, 王强, 谢龙旭, 郭轶, 路遥雅洁, 魏茵茵, 邵雪, 贾梦涛, 陈建军. 碳青霉烯类耐药细菌的流行病学及耐药基因检测方法研究进展[J]. 微生物学通报, 2025, 52(3): 948-964.

SUN Weidi, WANG Qiang, XIE Longxu, GUO Yi, LU Yaoyajie, WEI Yinyin, SHAO Xue, JIA Mengtao, CHEN Jianjun. Research progress in epidemiology and detection methods for drug resistance genes of carbapenem-resistant bacteria[J]. Microbiology China, 2025, 52(3): 948-964.

**摘要:** 抗生素在传染性疾病预防和治疗方面发挥着重要作用, 但抗生素的滥用导致微生物在选择性压力作用下获得并维持耐药性。碳青霉烯类抗生素是一类用于治疗多重耐药菌感染的重要抗菌药物, 曾被认为是治疗革兰氏阴性菌严重感染的最后一道防线。但随着碳青霉烯酶的出现, 碳青霉烯类耐药革兰氏阴性菌的检出率在全球范围内迅速增长, 严重威胁着全球的公共卫生安全。本综述重点介绍了碳青霉烯类耐药细菌的全球流行病学和临床相关耐药基因的检测方法, 为合理使用抗生素、有效控制耐药性传播提供参考。

**关键词:** 碳青霉烯酶; 流行病学; 耐药基因检测

资助项目: 国家自然科学基金(42277409); 广州凯普生物科技股份有限公司企业合作研发项目(H2022054)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (42277409), and the Guangzhou Kaipu Biotechnology Company Limited Enterprise Cooperation Research and Development Project (H2022054).

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

<sup>\*</sup>Corresponding author. E-mail: chenjianjun@htu.edu.cn

Received: 2024-05-10; Accepted: 2024-07-07; Published online: 2024-08-05

## Research progress in epidemiology and detection methods for drug resistance genes of carbapenem-resistant bacteria

SUN Weidi<sup>#1</sup>, WANG Qiang<sup>#1</sup>, XIE Longxu<sup>2</sup>, GUO Yi<sup>1</sup>, LU Yaoyajie<sup>1</sup>, WEI Yinyin<sup>1</sup>, SHAO Xue<sup>1</sup>, JIA Mengtao<sup>1</sup>, CHEN Jianjun<sup>\*1</sup>

1 College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453000, Henan, China

2 Guangzhou Kaipu Biotechnology Company Limited, Guangzhou 510000, Guangdong, China

**Abstract:** Antibiotics serve a critical function in preventing and treating infectious diseases. However, their misuse has resulted in the development and persistence of resistance among microorganisms, driven by selective pressure. Carbapenems, vital antibacterial agents, were once considered the last resort for combating severe Gram-negative bacterial infections. Yet, the emergence of carbapenemases has led to a rapid rise in the detection rate of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria worldwide, posing a significant threat to global public health security. This review focuses on the global epidemiology of carbapenem-resistant bacteria and the detection methods of clinically relevant resistance genes, providing reference for the rational use of antibiotics and effective control of drug resistance transmission.

**Keywords:** carbapenemase; epidemiology; detection of drug resistance genes

近年来,随着全球范围内抗生素的过度使用,越来越多的病原菌对目前常用的抗生素产生了耐药性。联合国环境规划署报告指出,微生物耐药已成为全球面临的十大健康威胁之一;该报告显示,截至2019年,全球约有127万人因感染耐药细菌而丧生;如果我们不采取有效措施来遏制耐药性的传播,据预计,到2050年每年的死亡人数可能会激增至1000万<sup>[1]</sup>。目前,抗生素耐药已成为全球性公共卫生问题,如何控制抗生素抗性的传播是一个全球性的问题。新的多重耐药菌每年都有报道,然而,新型抗生素的研发进展远远跟不上耐药性的传播速度。抗生素耐药菌可以通过医院废水等途径进入到环境中威胁着人类的健康<sup>[2]</sup>。为应对耐药性的进一步扩散,微生物耐药机制、耐药基因传播机制、耐药细菌和耐药基因流行病学、细菌耐药检测方法等研究成为近20年来的持续性研究热点。

在众多的抗生素中,相较于现有的青霉素类和头孢类抗生素,碳青霉烯类抗生素作为 $\beta$ -内酰胺类抗生素的代表具有更广的抗菌谱和更强的杀菌活性<sup>[3]</sup>。碳青霉烯类抗生素结构中含有碳青霉烯环,不易被超广谱 $\beta$ -内酰胺酶和头孢菌素酶水解,对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、厌氧菌及部分耐药菌都具有杀菌活性,在临床上常用于治疗多重耐药菌引起的严重感染<sup>[4]</sup>。然而,随着临床上对碳青霉烯类抗生素的过度使用,碳青霉烯类耐药细菌在临床分离株中的检出率日益增高。细菌对碳青霉烯类抗生素产生耐药的主要机制之一是产碳青霉烯酶,碳青霉烯酶不仅可以水解碳青霉烯类抗生素,还可以水解青霉素类、头孢类等其他 $\beta$ -内酰胺类抗生素,从而赋予细菌多重耐药性。此外,细菌还可以通过编码孔蛋白基因的缺失或突变、外排泵基因的过表达、青霉素结合蛋白(penicillin-binding proteins, PBP)结合力下降,以

及形成生物膜等非特异性机制来获得耐药性<sup>[5]</sup>。碳青霉烯类耐药细菌的感染更难治疗且死亡率更高，对公共卫生安全和临床治疗构成了严重威胁。

随着耐药细菌的不断演变和耐药性传播的加剧，加强对碳青霉烯类抗生素耐药性的认识和研究显得尤为迫切。本综述旨在系统性地介绍碳青霉烯类耐药细菌的全球流行病学以及临床相关耐药基因的检测方法，为合理使用抗生素、有效控制耐药性的传播提供科学依据和策略。

## 1 碳青霉烯类耐药细菌的分子流行病学

碳青霉烯酶在 20 世纪 80 年代被首次报道，在碳青霉烯类耐药细菌中，产碳青霉烯酶的耐药菌占据绝对优势，根据酶的中心催化结构域和底物偏好，可将碳青霉烯酶分为 A 类、B 类

和 D 类<sup>[6]</sup>(图 1)。近年来随着抗生素的广泛使用和定点患者的转移，全球范围内碳青霉烯类耐药细菌的感染数量逐年增加，某些碳青霉烯酶已在某些国家广泛流行<sup>[7-10]</sup>(表 1)。目前，碳青霉烯类耐药细菌的流行病学研究主要集中在 2 种最常见的菌株上，即耐碳青霉烯类肺炎克雷伯氏菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)和耐碳青霉烯类大肠杆菌(carbapenem-resistant *Escherichia coli*, CREC)<sup>[11]</sup>。这 2 种菌株占有碳青霉烯类耐药细菌的 90%以上，并通过多种途径在全球范围内广泛传播<sup>[12]</sup>。编码碳青霉烯酶的基因主要在细菌质粒上，这更加易于其在病原菌中传播。研究表明，某些噬菌体在耐药基因的传播过程中也能发挥作用<sup>[13]</sup>。

### 1.1 A 类碳青霉烯酶

A 类碳青霉烯酶是分布最广泛的一类碳青霉烯酶，其中，肺炎克雷伯氏菌碳青霉烯酶

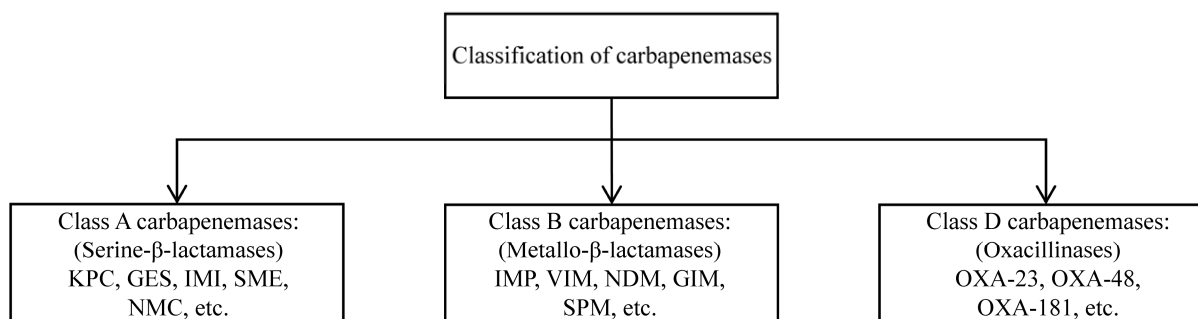


图 1 碳青霉烯酶的分类 KPC: 肺炎克雷伯氏菌碳青霉烯酶; GES: 圭亚那超广谱 B-内酰胺酶; IMI: 亚胺培南水解 B-内酰胺酶; SME: 褪色沙雷氏菌酶; NMC: 非金属碳青霉烯酶; IMP: 耐亚胺培南假单胞菌碳青霉烯酶; VIM: 维罗纳整合子编码的金属 β-内酰胺酶; NDM: 新德里金属 β-内酰胺酶; GIM: 德国亚胺培南金属 β-内酰胺酶; SPM: 圣保罗金属 β-内酰胺酶; OXA-23: 苯唑西林酶-23 型; OXA-48: 苯唑西林酶-48 型; OXA-181: 苯唑西林酶-181 型。

Figure 1 Classification of carbapenemases. KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; GES: Guiana extended spectrum beta-lactamase; IMI: imipenem-hydrolyzing beta-lactamase; SEM: *Serratia marcescens* enzyme; NMC: Non-Metallic Carbapenemase; IMP: imipenem-resistant *Pseudomonas* carbapenemase; VIM: Verona integron-borne metallo-beta-lactamase; NDM: New Delhi metallo-beta-lactamase; GIM: German Imipenemase Metallo-beta-Lactamase; SPM: São Paulo Metallo-beta-Lactamase; OXA-23: Oxacillinase-23; OXA-48: Oxacillinase-48; OXA-181: Oxacillinase-181.

表 1 常见碳青霉烯酶的全球分布

Table 1 Global distribution of common carbapenemases

碳青霉烯酶 Carbapenemases	全国流行 Nationwide epidemic	区域流行 Regional outbreak	零星暴发 Sporadic outbreak
<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase (KPC)	中国、美国、哥伦比亚、阿根廷、巴西、意大利、希腊等 China, United States, Colombia, Argentina, Brazil, Italy, Greece, etc.	葡萄牙、西班牙、法国、德国、英国、波兰、澳大利亚、委内瑞拉等 Portugal, Spain, France, Germany, United Kingdom, Poland, Australia, Venezuela, etc.	俄罗斯、日本、韩国、印度、沙特阿拉伯、南非、伊朗、土耳其、埃及、加拿大等 Russia, Japan, Republic of Korea, India, Saudi Arabia, South Africa, Iran, Türkiye, Egypt, Canada, etc.
Imipenem-resistant <i>Pseudomonas</i> carbapenemase (IMP)	日本等 Japan, etc.	中国、阿根廷、捷克等 China, Argentina, Czech Republic, etc.	印度、土耳其、西班牙、法国、意大利、伊朗、澳大利亚、美国、墨西哥、巴西、阿根廷等 India, Türkiye, Spain, France, Italy, Iran, Australia, United States, Mexico, Brazil, Argentina, etc.
Verona integron-borne metallo-beta-lactamase (VIM)	希腊、意大利等 Greece, Italy, etc.	俄罗斯、西班牙、英国、匈牙利、韩国等 Russia, Spain, United Kingdom, Hungary, Republic of Korea, etc.	中国、日本、印度、伊朗、土耳其、埃及、南非、法国、德国、澳大利亚、美国、加拿大、巴西、阿根廷、墨西哥等 China, Japan, India, Iran, Türkiye, Egypt, South Africa, France, Germany, Australia, United States, Canada, Brazil, Argentina, Mexico, etc.
New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)	印度、巴基斯坦、孟加拉国等 India, Pakistan, Bangladesh, etc.	中国、沙特阿拉伯、埃及、南非、英国、澳大利亚、美国、巴西、哥伦比亚等 China, Saudi Arabia, Egypt, South Africa, United Kingdom, Australia, United States, Brazil, Colombia, etc.	俄罗斯、日本、韩国、瑞典、挪威、西班牙、德国、法国、利比亚、伊朗、缅甸、加拿大、阿根廷、秘鲁等 Russia, Japan, Republic of Korea, Sweden, Norway, Spain, Germany, France, Libya, Iran, Myanmar, Canada, Argentina, Peru, etc.
Oxacillin-hydrolyzing carbapenemase (OXA)	印度、孟加拉国、土耳其、摩洛哥等 India, Bangladesh, Türkiye, Morocco, etc.	英国、西班牙、法国、德国、利比亚、埃及、南非等 United Kingdom, Spain, France, Germany, Libya, Egypt, South Africa, etc.	中国、俄罗斯、韩国、伊朗、缅甸、沙特阿拉伯、意大利、希腊、澳大利亚、美国、加拿大、巴西、阿根廷、墨西哥等 China, Russia, Republic of Korea, Iran, Myanmar, Saudi Arabia, Italy, Greece, Australia, United States, Canada, Brazil, Argentina, Mexico, etc.

(*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, KPC)是最常见、最具有威胁性的一种<sup>[14]</sup>。KPC 于 1996 年在美国北卡罗来纳州一家医院的肺炎克雷伯氏菌分离株中被首次发现<sup>[14]</sup>。最初, KPC 主要在美国纽约州流行, 而后随着定殖患者的转移在世界范围内流行<sup>[15-16]</sup>。随后, 南美洲和以色列也报告了生产 KPC 的肺炎克雷伯氏菌<sup>[17-18]</sup>。中国

于 2004 年在浙江省一名 75 岁的重症监护患者体内首次发现了 KPC 阳性肺炎克雷伯氏菌分离株<sup>[19]</sup>。编码 KPC 的基因通常位于小遗传元件(如 Tn4401 转座子)或质粒载体上, 这使得其能够在相同或不同种属的细菌之间快速传播<sup>[20]</sup>。虽然 KPC 主要存在于肺炎克雷伯氏菌, 但在其他革兰氏阴性菌中也有发现, 包括肠杆菌和非发酵

菌[如铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和鲍氏不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)]。目前, KPC 已在全球范围内广泛传播, 成为中国、哥伦比亚、阿根廷、巴西、意大利、希腊和美国主要流行的碳青霉烯酶<sup>[7]</sup>。随着全球范围内抗生素的广泛使用, KPC 已产生多种亚型, 目前中国肺炎克雷伯氏菌中主要流行的亚型为 KPC-2, 在欧美等国家, KPC-2 和 KPC-3 同时流行<sup>[21]</sup>。

除 KPC 外, A 类碳青霉烯酶还包括亚胺培南水解  $\beta$ -内酰胺酶(imipenem-hydrolyzing beta-lactamase, IMI)、褪色沙雷氏菌酶(*Serratia marcescens* enzyme, SME)和圭亚那超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(Guiana extended spectrum beta-lactamase, GES)等<sup>[22]</sup>。这些 A 类碳青霉烯酶的传播范围和对人类健康造成的威胁远小于 KPC<sup>[23]</sup>。然而由于抗生素的不规范使用, 近两年新的 A 类碳青霉烯酶持续报道。2024 年, Luo 等<sup>[24]</sup>报道了一种从鸭疫里默氏杆菌(*Riemerella anatipestifer*)分离株的染色体上发现的新型 A 类碳青霉烯酶——鸭疫里默氏杆菌可转移 A 类  $\beta$ -内酰胺酶(*Riemerella anatipestifer* transferable class A  $\beta$ -lactamase, RATA)。研究表明, 海洋环境中的黄杆菌科(*Flavobacteriaceae*)细菌可能是 *bla*<sub>RATA</sub> 基因的主要储存库, 目前 *bla*<sub>RATA</sub> 基因已存在于多个物种中, 具有广泛的地理分布和全球传播的潜力, 在日后的研究中有必要加强对其的持续监测<sup>[24]</sup>。

## 1.2 B 类碳青霉烯酶

B 类碳青霉烯酶又称为金属  $\beta$ -内酰胺酶(metallo-beta-lactamases, MBL), 通常在革兰氏阴性菌中检测到, 如肠杆菌(*Enterobacter* sp.)、假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)和不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)。最常见的 MBL 包括耐亚胺培南假单胞菌碳青霉烯酶(imipenem-resistant *Pseudomonas*

carbapenemase, IMP)、维罗纳整合子编码的金属  $\beta$ -内酰胺酶(Verona integron-borne metallo-beta-lactamase, VIM)和新德里金属  $\beta$ -内酰胺酶(New Delhi metallo-beta-lactamase, NDM)<sup>[25]</sup>。IMP-1 于 1980 年在日本首次发现, 此后在世界各地的肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)和革兰氏阴性非发酵菌中均有报道<sup>[26]</sup>。2001 年, 中国首次报道了 IMP-4, 这也是中国报道的首个 MBL<sup>[27]</sup>。目前, IMP 的主要流行区域集中在中国台湾省和日本, 以 IMP-4 为主<sup>[27]</sup>。IMP 在全球范围内的检出率远低于其他碳青霉烯酶, 其他国家对于 IMP 的描述主要是零星暴发或个别报告<sup>[9]</sup>。

VIM-1 型碳青霉烯酶于 1997 年在意大利维罗纳的一株铜绿假单胞菌中被首次发现, 随后在整个欧洲迅速传播<sup>[28]</sup>。VIM 主要在铜绿假单胞菌中被发现, 但在肠杆菌中也有少量发现<sup>[29]</sup>。与 IMP 型酶相似, VIM 也表现出明确的地理分布, 其主要在希腊流行, 在 2008 年之前, 希腊所发现的碳青霉烯酶基本上都为 VIM; 目前, VIM 在希腊和意大利最为常见, 其他国家如北欧、美国、韩国等对 VIM 的报道大多是个别报告或零星暴发<sup>[26,30]</sup>。全球范围内 VIM 流行的亚型主要为 VIM-1 和 VIM-2<sup>[26]</sup>。

相较于 IMP 和 VIM 在世界范围内的有限传播, NDM 自 2008 年在印度首次发现以来, 迅速传播到世界各地, 是传播最广泛的 MBL, 常见于大肠杆菌(*Escherichia coli*)和肺炎克雷伯氏菌<sup>[31]</sup>。NDM 在全球流行的亚型多为 NDM-1, 近 2 年产 NDM-5 耐药菌的分离率也在逐渐增高<sup>[32-33]</sup>。我国碳青霉烯耐药大肠杆菌中产 NDM 的比例超过 70%, 多以 NDM-1 和 NDM-5 为主<sup>[34]</sup>。由于碳青霉烯类耐药细菌可以从流行性较高的国家传播到流行性较低的国家, NDM 在西欧、北美、澳大利亚和远东的传播往往归因于来自印度、巴基斯坦和孟加拉国定殖患者的转移<sup>[35-36]</sup>。

2022 年, Schauer 等<sup>[37]</sup>报道了一种新型的 MBL, 将其命名为德国 MBL-1 (German MBL-1, GMB-1), GMB-1 是一种具有高碳青霉烯酶活性的典型 MBL, 其虽然位于染色体上, 但短时间内在 3 种不同的细菌中被发现, 这再次强调了移动元件甚至噬菌体在耐药基因传播中的关键作用。

### 1.3 D 类碳青霉烯酶

D 类碳青霉烯酶又被称为苯唑西林水解碳青霉烯酶(oxacillin-hydrolyzing carbapenemase, OXA), 通常存在于非发酵菌(如鲍氏不动杆菌)中, 在肠杆菌中也有发现<sup>[23]</sup>。OXA 中最常见的是 OXA-48, 通常在肺炎克雷伯氏菌中发现<sup>[38]</sup>。OXA-48 最早于 2001 年在土耳其的一株肺炎克雷伯氏菌分离株中被发现, 随后迅速扩散至欧洲、中东、北非等地区<sup>[39-40]</sup>。至 2013 年, 西班牙的 OXA-48 从零星暴发演变为区域性传播<sup>[41]</sup>。与西班牙情况类似, 加拿大的 OXA-48 分离率也逐年上升<sup>[42]</sup>。目前, OXA-48 已成为德国最常见的碳青霉烯酶之一, 在肺炎克雷伯氏菌和大肠杆菌分离株中广泛检测到<sup>[43]</sup>。2015 年, 中国台湾省首次在肺炎克雷伯氏菌分离株中发现了 OXA-48, 随后中国其他地区也报道了 OXA-48 的医院暴发<sup>[44]</sup>。OXA-48 基因大多数存在于质粒上, 并能通过质粒的转移传播<sup>[45]</sup>。目前, OXA-48 型酶已遍布世界各地, 是土耳其、中东、印度和北非等国家主要流行的碳青霉烯酶<sup>[46]</sup>。

2023 年, Li 等<sup>[47]</sup>在鸭疫里默氏杆菌中发现了一种新型染色体编码的 D 类碳青霉烯酶, 将其命名为鸭疫里默氏杆菌 D 类碳青霉烯酶-1 (carbapenem-hydrolysing class D  $\beta$ -lactamase in *Riemerella anatipestifer*-1, RAD-1), *bla*<sub>RAD-1</sub> 基因可能通过未知的移动遗传元件在鸭疫里默氏杆菌中传播, 目前已经在鸭疫里默氏杆菌中大规模流行。

## 2 临床细菌耐药性检测方法

碳青霉烯类耐药细菌的传播严重威胁着人类生命健康安全, 碳青霉烯酶的产生是碳青霉烯类耐药细菌获得耐药性的主要机制之一, 建立快速、准确的检测方法对产碳青霉烯酶耐药细菌进行有效的检测迫在眉睫。产碳青霉烯酶耐药细菌的快速检测不仅可以帮助医护人员及时选择合适的药物治疗, 还可以有效防止病原菌和耐药基因在医院内进一步传播。

目前, 产碳青霉烯酶耐药细菌的检测方法主要分为表型检测和分子检测两大类。表型检测方法操作简便, 不需要高超的技术水平和大型设备, 成本相对较低。然而, 表型检测周期较长, 在特异性和敏感性方面不及分子检测。相较于表型检测, 分子检测具有极高的特异性和敏感性, 能够在短时间内提供准确结果, 有助于及时采取治疗措施。然而, 分子检测的成本较高, 需要各种大型设备, 并对操作人员的技术要求较高。在临床检测中, 需要医护人员结合实际情况选择合适的方法进行检测(表 2)。

### 2.1 基于表型的检测方法

#### 2.1.1 改良 Hodge 试验

改良 Hodge 试验(modified Hodge test, MHT)是一种常用的碳青霉烯酶检测方法, 其原理是利用产碳青霉烯酶耐药细菌能够水解碳青霉烯类抗生素来进行检测。在该试验中, 将药敏纸片放于涂布了对碳青霉烯类抗生素敏感的大肠杆菌 ATCC 25922 的 Mueller-Hinton 琼脂平板的中心位置。然后, 用接种环挑取待测菌, 以药敏纸片为起点沿离心方向划线, 并在 35 °C 培养 16-20 h; 若在抑菌圈与试验菌株划线交叉处观察到大肠杆菌生长增强的现象, 则表示待测菌株产碳青霉烯酶, 反之则不产碳青霉烯

表 2 部分碳青霉烯酶检测方法的比较

Table 2 Comparison of some carbapenemase assays

检测方法 Detection method	优点 Advantage	缺点 Disadvantage	参考文献 Reference
改良 Hodge 试验 Modified Hodge test	操作简单, 成本较低, 结果易于观察 Simple to operate, low cost, easy to observe results	检测时间过长, 对 NDM 型酶敏感性较差, 当 AmpC 存在时特异性差, 易产生假阳性 Long assay time, poor sensitivity to NDM-type enzymes, poor specificity when AmpC is present, susceptible to false positives	[48-49]
显色培养基检测 Chromogenic medium detection	商业化程度高, 可操作性强, 成本较低, 结果直观 Highly commercialised, actionable, lower cost, intuitive results	检测时间较长, 显色反应可能受到环境因素的影响, 可能出现假阳性或假阴性结果 Longer detection time, colour reaction may be affected by environmental factors, false positive or false negative results may occur	[50-51]
Carba NP 试验 Carba NP test	操作简单, 2 h 内产生结果, 在多数肠杆菌和铜绿假单胞菌病例中敏感性和特异性均超过 90% Simple to perform, produces results within 2 h, and has a sensitivity and specificity of over 90% in most cases of <i>Enterobacteriaceae</i> and <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	所需试剂制备复杂, 需要现配现用, 对 OXA-48 型酶的检测敏感性较低, 对结果的解释较为主观 The reagents required are complex to prepare, need to be prepared and used on the spot, are less sensitive to the detection of OXA-48 enzymes, and the interpretation of the results is more subjective	[52-53]
侧流免疫测定 Lateral flow immunoassay	操作简单, 成本较低, 15 min 内产生结果, 便携性强 Simple to operate, low cost, produces results in 15 min, portable	易产生交叉反应, 检测范围有限, 特异性和敏感性有限 Easy cross-reactivity, limited range of detection, limited specificity and sensitivity	[54-55]
碳青霉烯酶灭活法 Carbapenemase inactivation method	操作简单, 成本较低, 特异性和敏感性较高 Simple operation, lower cost, higher specificity and sensitivity	对于产酶能力弱的细菌敏感性较差, 对 OXA-48 和 NDM 型酶的敏感性低, 易产生假阴性, 检测周期长 Poor sensitivity to bacteria with weak enzyme-producing ability, low sensitivity to OXA-48 and NDM-type enzymes, prone to false-negative, long detection period	[53,56]
聚合酶链式反应 PCR	结果可靠, 特异性和灵敏度高, 检测用时短、效率高 Reliable results, high specificity and sensitivity, short assay time and high efficiency	操作复杂, 需要大型仪器和专业人员操作, 成本较高, 无法检测到新型碳青霉烯酶 Complicated operation, requires large instruments and professional personnel, high cost, unable to detect the new carbapenemases	[57-58]
等温扩增检测 Isothermal amplification technology	检测时间短, 不需要大型仪器, 适用于现场检测, 特异性和灵敏度高, 可整合多种检测模式 Short detection time, no need for large instruments, suitable for on-site detection, high specificity and sensitivity, can be integrated with a variety of detection modes	操作复杂, 独立使用可能出现假阳性, 无法检测到新型碳青霉烯酶 Complicated to handle, false positives may occur with stand-alone use and novel carbapenemases may not be detected	[59-60]
CRISPR/Cas12a 检测 Crispr/cas12a detection	不需要大型仪器, 适用于现场检测, 特异性强, 检测时间短	crRNA 设计较为复杂, 成本较高, 单独使用灵敏度低, 发展史短技术有待改进, 无法检测到新型碳青霉烯酶	[61-62]

(待续)

(续表 2)

检测方法 Detection method	优点 Advantage	缺点 Disadvantage	参考文献 Reference
基因芯片检测 Gene chip detection	No need for large instruments, suitable for on-site detection, high specificity, short detection time  每次检测可容纳数十至数百个靶标, 检测效率高, 特异性和敏感性高, 检测时间短 Each test can accommodate tens to hundreds of targets with high detection efficiency, high specificity and sensitivity, and short detection time	crRNA design is complex, high cost, low sensitivity when used alone, short history of development, technology needs to be improved, unable to detect novel carbapenemases  需要单独制作芯片, 检测成本高, 操作复杂, 无法检测到新型碳青霉烯酶 Need to make a separate chip, high detection cost, complex operation, unable to detect the new carbapenemase	[58,63]
全基因组测序 Whole genome sequencing	不仅能检测碳青霉烯酶基因, 还能够检测细菌的其他耐药机制, 特异性和敏感性高 Detects not only the carbapenemase gene but also other resistance mechanisms in bacteria with high specificity and sensitivity	检测成本高, 操作复杂, 需要专业公司完成, 普适性低 High testing cost, complex operation, requires a professional company to complete, low universality	[58,64]

酶<sup>[65]</sup>。虽然 MHT 是早期碳青霉烯酶检测方法中使用最广泛的一种, 但其对产 NDM 菌株的敏感性较低。研究表明, MHT 对产 NDM 菌株的检测敏感性仅为 50%, 容易产生假阳性结果<sup>[48-49]</sup>。尽管 MHT 操作简单、成本较低, 但其结果判定存在较高的主观性, 并且检测耗时较长。随着产 NDM 菌株在全球范围内的迅速传播, MHT 的局限性日渐凸显, 因此于 2018 年被美国临床实验室标准化协会从 CLSI M100 文档中删除<sup>[66]</sup>。

### 2.1.2 显色培养基检测

显色培养基是一种用于筛选具有特定性状微生物的培养基。通常, 这些培养基含有某种底物, 当微生物在培养基上生长时会产生特定的代谢产物导致培养基颜色发生变化, 不同颜色代表不同菌种或属, 可以通过颜色改变来识别菌种。只有碳青霉烯类耐药细菌才能在含有碳青霉烯类抗生素的显色培养基上生长, 并产生具有特定颜色的菌落。常用的显色培养基主要包括 Oxoid Brilliance CRE、CHROMagar

KPC、chromID Carba 等<sup>[50]</sup>。Validi 等<sup>[67]</sup>利用 CHROMagar KPC 培养基对一株产酸克雷伯菌临床分离株进行检测, 通过其能够在 CHROMagar KPC 显色培养基上生长并产生带有蓝色金属色的菌落, 从而判定其具有产 KPC 酶的能力。显色培养基筛选操作简便, 成本较低。然而, 利用显色培养基检测需要等待待测菌生长, 检测时间较长, 并且显色反应可能受到环境因素的影响会出现假阳性或假阴性结果。

### 2.1.3 Carbapenemase Nordmann-Poirel 试验

Carbapenemase Nordmann-Poirel (Carba NP) 试验利用碳青霉烯酶水解抗生素导致溶液 pH 改变的原理, 是临床实践中首个用于检测碳青霉烯酶活性的显色检测法<sup>[68]</sup>。其主要的操作方法是待测菌用 20 mmol/L 的 Tris-HCl 裂解缓冲液重悬后, 与 3 g/L 亚胺培南在 37 °C 共同孵育 2 h, 碳青霉烯酶会水解亚胺培南的  $\beta$  内酰胺环释放  $H^+$ , 导致酚红指示剂颜色由红变黄<sup>[69]</sup>。Carba NP 试验操作简单, 能够在 2 h 内产生结



果, 在大多数肠杆菌和铜绿假单胞菌中的敏感性和特异性均超过 90%<sup>[52]</sup>。然而, Carba NP 对于 OXA-48 型碳青霉烯酶的检测敏感性较低, 并且所需的试剂制备较为复杂, 需要现配现用, 对于结果的解释也相对主观<sup>[53]</sup>。2013 年, Pires 等<sup>[70]</sup>在 Carba NP 试验的基础上进行了改良, 推出了 Blue-Carba。该方法将溴百里酚蓝溶液作为指示剂, 不仅扩大了显色范围, 提高了检测特异性, 而且直接用菌落进行检测, 简化了检测方案<sup>[52,70]</sup>。2015 年, 法国一家生物公司推出了 Rapidec Carba NP 检测试剂盒, 其价格便宜操作简单, 易于执行和解释, 大多数情况下 30 min 内就能得到结果<sup>[71]</sup>。Rapidec Carba NP 提高了对 OXA-48 的检测敏感性但是仍存在假阴性的情况<sup>[72]</sup>。

#### 2.1.4 侧流免疫测定

侧流免疫测定(lateral flow immunoassay, LFIA)是基于抗体的方法来检测碳青霉烯酶, 已被开发用于检测 NDM、IMP、OXA-48 等多种碳青霉烯酶<sup>[73-75]</sup>。尽管这些检测方法能够在 15 min 内产生结果, 但无法同时检测 5 种主要的碳青霉烯酶。为了降低检测成本简化操作步骤, 2018 年, Boutal 等<sup>[54]</sup>开发出了一种可以同时检测 NDM、KPC、IMP、VIM 及 OXA-48 的多重侧流免疫测定方法, 并将其命名为 NG-Test Carba 5。其主要的操作步骤如下: 首先, 将待测菌株的分离株悬浮在 150  $\mu$ L 提取缓冲液中。随后, 取 100  $\mu$ L 提取物滴到硝酸纤维素膜上, 并在 15 min 内读取结果, 若对照区与一个或多个测试区上出现红线, 表明分离株携带一种或多种碳青霉烯酶; 若仅在对照区出现一条红线, 则表明待测菌不携带碳青霉烯酶。Kon 等<sup>[55]</sup>利用 NG-Test Carba 5 对 197 株肠杆菌阳性分离株和 73 株携带 OXA-48 的鲍氏不动杆菌进行了检测, 结果表明 NG-Test Carba 5 测定具有

100%的敏感性和 98%的特异性, 不发生交叉反应且可以在 15 min 内实现对 5 种碳青霉烯酶的多重检测。NG-Test Carba 5 及类似的 LFIA 检测可以对产碳青霉烯酶耐药细菌进行高效、快速、易于实施的检测。

#### 2.1.5 碳青霉烯酶灭活法

碳青霉烯酶灭活法(carbapenem inactivation method, CIM)是利用碳青霉烯酶水解抗生素的原理来进行检测。将含有 10  $\mu$ g 美罗培南的药敏纸片与 10  $\mu$ L 待测菌和 400  $\mu$ L 水制成的菌悬液在 35  $^{\circ}$ C 孵育至少 2 h, 然后将药敏纸片置于涂有大肠杆菌 ATCC 25922 的 Mueller-Hinton 琼脂平板上, 35  $^{\circ}$ C 过夜后观察是否有抑菌圈的出现<sup>[56]</sup>。若出现直径 $\geq$ 19 的抑菌圈, 则待测菌不产碳青霉烯酶; 反之, 则待测菌产碳青霉烯酶<sup>[56,76]</sup>。虽然这种方法相较于 MHT 而言具有更高的特异性和敏感性且成本低廉易于操作, 但是对于产酶能力弱的细菌敏感性较差, 对 OXA-48 和 NDM 型碳青霉烯酶的敏感性低, 易产生假阴性<sup>[53]</sup>。为了提高 CIM 检测的敏感性, 改良碳青霉烯酶灭活法(modified carbapenem inactivation method, mCIM)应运而生<sup>[77]</sup>。mCIM 通过在胰蛋白酶大豆肉汤(tryptic soy broth, TSB)中制备菌悬液并将孵育时间延长至 4 h, 来提高检测敏感性<sup>[66,77]</sup>。Rizvi 等<sup>[78]</sup>分别用 CIM 和 mCIM 对 50 株肠杆菌阳性分离株进行检测, 发现 mCIM 对 OXA-48 的检测敏感性大大高于 CIM (92.3%与 39.2%)。为了区分丝氨酸与金属碳青霉烯酶, Tsai 等<sup>[79]</sup>对 mCIM 进行了进一步改进, 利用乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA)能够抑制金属碳青霉烯酶活性的特点, 在菌悬液中加入 EDTA 孵育, 通过 EDTA-CIM (eCIM)与 mCIM 联合, 可成功区分丝氨酸碳青霉烯酶和金属碳青霉烯酶。2018 年, 临床 CLSI 将 eCIM 纳入抗菌药物敏感性试验。

## 2.2 基于基因型的分子检测

### 2.2.1 聚合酶链式反应

聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)是一种基础的分子生物学技术,通过对扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,可以检测是否成功扩增出目的片段,达到检测目的。相较于传统 PCR,实时荧光定量 PCR 技术在原有的 PCR 体系中加入染料或荧光探针,能够做到对反应产物的实时监测,具有更高的检测灵敏度。2008年, Hindiyeh 等<sup>[57]</sup>首次报道了通过实时荧光定量 PCR 快速检测碳青霉烯酶基因 *bla<sub>KPC</sub>* 的方法。该方法具有高度的特异性与敏感性,并且能够在 4 h 内快速得到检测结果,但每次只能检测一种耐药基因,这在一定程度上限制了其检测效率。与此相比,多重 PCR 技术允许使用多对引物在单一反应体系中对多个目的片段进行扩增,能够实现对多种耐药基因的同时检测。Yoshioka 等<sup>[80]</sup>研发的多重 PCR 能够同时对 *bla<sub>KPC</sub>*、*bla<sub>NDM</sub>*、*bla<sub>IMP</sub>*、*bla<sub>OXA-48</sub>*、*bla<sub>VIM</sub>* 和 *bla<sub>GES</sub>* 这 6 种碳青霉烯酶基因进行检测; Cerezales 等<sup>[81]</sup>针对碳青霉烯类耐药革兰氏阴性临床分离株开发了 2 种多重 PCR,能够分别对 *bla<sub>VIM</sub>*、*bla<sub>OXA-48</sub>*、*bla<sub>OXA-23</sub>*、*bla<sub>KPC</sub>*、*bla<sub>NDM</sub>*、*bla<sub>OXA-40</sub>* 和 *bla<sub>OXA-58</sub>*、*bla<sub>IMP</sub>*、*bla<sub>GIM</sub>*、*bla<sub>GES</sub>*、*bla<sub>OXA-51</sub>*、*bla<sub>IMI</sub>* 这 12 种耐药基因进行检测,该方法的总体特异性为 100%,敏感性为 98.8%。此外, Xpert Carba-R 多重检测试剂盒能在 1 h 内对直肠拭子或纯菌落中的 *bla<sub>KPC</sub>*、*bla<sub>NDM</sub>*、*bla<sub>IMP</sub>*、*bla<sub>OXA-48</sub>*、*bla<sub>VIM</sub>* 这 5 种基因进行检测<sup>[82]</sup>。尽管 PCR 检测是目前碳青霉烯酶基因检测的“金标准”,具有高度的特异性和敏感性,能在短时间内实现一种或多种碳青霉烯酶基因的检测,但其只能对特定的碳青霉烯酶基因进行检测,无法检测出未知碳青霉烯酶基因。此外,检测过程还需要昂贵的仪器和专业

人员。

### 2.2.2 等温扩增检测

等温扩增技术是一种能够在恒定温度下对 DNA 进行扩增的方法。目前常用的等温扩增技术主要包括环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)、滚环扩增(rolling circle amplification, RCA)、重组酶聚合酶扩增(recombinase polymerase amplification, RPA)等。相较于传统 PCR,它们无需高温变性和退火步骤,可以利用简单的装置(如水浴锅或加热块等)在 1 h 内实现目的片段的大量扩增<sup>[59]</sup>。等温扩增的产物可以与多种终点检测方法如浊度检测、琼脂糖凝胶电泳检测、化学发光检测、电化学检测等相结合,从而实现检测结果的可视化<sup>[83-84]</sup>。Hemwaranon 等<sup>[60]</sup>将 RPA 与侧向层析条带检测相结合,开发了一种用于快速检测肠杆菌中 *bla<sub>OXA-48</sub>* 基因的方法,该方法在 131 个临床阳性分离株中表现出 100%的敏感性和 100%的特异性。Feng 等<sup>[85]</sup>通过比色环介导等温扩增建立了一种多重检测方法,可对 *bla<sub>KPC</sub>*、*bla<sub>NDM</sub>*、*bla<sub>IMP</sub>*、*bla<sub>OXA-48</sub>*、*bla<sub>VIM</sub>* 这 5 种碳青霉烯酶基因进行检测,其最低检测限低于传统 PCR,并且对 126 株临床阳性分离株具有 100%的特异性。等温扩增检测具有高灵敏度、强特异性、低仪器依赖性和可整合多种检测模式等优点,尤其适用于基层和现场即时检测。然而,由于可能存在的交叉污染、非特异性扩增和引物二聚体等问题,独立使用等温扩增常导致假阳性结果,所以通常需要与其他检测方法联合使用。

### 2.2.3 CRISPR/Cas12a 检测

CRISPR/Cas 是存在于细菌和古细菌中的适应性免疫系统,近年来随着部分 Cas 蛋白反式裂解活性的发现,CRISPR/Cas 系统被广泛用作核酸检测工具<sup>[86]</sup>。在所有用于核酸检测的

Cas 蛋白中, Cas12a 因以 dsDNA 为结合底物而得到广泛应用<sup>[87]</sup>。当 Cas12a 蛋白在 crRNA 的引导下与特定的 dsDNA 结合后, 其反式裂解活性被激活, 非特异性地剪切两侧分别标记有荧光染料和淬灭基团的 ssDNA 获得荧光信号<sup>[88]</sup>。尽管 CRISPR/Cas12a 可以通过反式裂解活性来放大信号, 但单独使用它的检测灵敏度较低, 无法满足检测需求, 需要对待测核酸进行扩增以进一步提高检测灵敏度<sup>[61]</sup>。将等温扩增与 CRISPR/Cas12a 联用, 通过等温扩增提高 CRISPR/Cas12a 的检测灵敏度, 利用 CRISPR/Cas12a 来弥补等温扩增假阳性的弊端, 可建立一种高特异性和灵敏度, 不需要大型仪器, 可现场使用的基因检测方法。Xu 等<sup>[89]</sup>开发了一种基于 CRISPR-Cas-LAMP-侧向层析试纸, 靶向肺炎克雷伯氏菌 *bla<sub>KPC</sub>* 和 *bla<sub>NDM</sub>* 的实验室检测方法, 该方法具有高特异性, 在不需要细菌培养的情况下检测灵敏度能够达到  $3 \times 10^5$  CFU/mL。CRISPR/Cas12a 检测不需要昂贵的仪器, 最佳反应温度在 37 °C 左右, 可以利用简单的装置在短时间内完成检测, 但是单独使用灵敏度较低且 Cas12a 蛋白价格昂贵, 检测成本较高<sup>[62]</sup>。

### 2.2.4 基因芯片检测

基因芯片技术(gene chip technology), 也称为 DNA 芯片技术或微阵列技术, 是一种用于测量基因表达水平、基因型和基因组变异的高通量方法。基因芯片由玻璃片或硅片制成, 上面涂覆了数千至数百万个 DNA 或 RNA 探针, 每个探针都对应一个特定的基因序列, 可以捕获样本中的靶 DNA 或 RNA 分子进行检测<sup>[90]</sup>。Cuzon 等<sup>[63]</sup>利用基因芯片技术对 187 株临床阳性分离株的 *bla<sub>KPC</sub>*、*bla<sub>NDM</sub>*、*bla<sub>IMP</sub>*、*bla<sub>OXA-48</sub>*、*bla<sub>VIM</sub>* 基因进行了检测, 结果表现出 100% 的特异性, 除 *bla<sub>OXA-48</sub>* 基因的检测敏感性为 95% 外,

其余敏感性均为 100%。基因芯片检测具有高特异性和敏感性, 相较于 PCR 检测, 基因芯片的优势在于每次检测可容纳数十至数百个靶标, 节省时间成本并提高检测效率<sup>[58]</sup>。但是利用基因芯片检测需要单独制作芯片, 成本较高且检测需要专业的人员进行操作。

### 2.2.5 全基因组测序

全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)是目前最全面的分子检测方法, 除了检测碳青霉烯酶基因的存在外, WGS 还能够检测到细菌的其他耐药机制<sup>[58]</sup>。Bilozor 等<sup>[91]</sup>利用 WGS 技术对 171 株碳青霉烯酶阳性肺炎克雷伯氏菌分离株进行了检测, 结果显示其检测敏感性为 96.3%。WGS 不仅可以回顾性地识别环境来源和其他病例, 也可以实时确认疫情的存在, 并跟踪突变耐药机制的出现和传播。因此, WGS 在研究耐药菌株的传播机制和流行病学等领域具有重要的价值<sup>[64]</sup>。然而, 当前 WGS 的价格较高且需要专业人员进行操作。相信随着测序技术的不断发展, WGS 将得到更广泛的应用。

### 2.3 其他耐药机制的检测

由于碳青霉烯酶是造成细菌耐药的主要机制, 目前对于其他耐药机制的检测研究较少。要确定碳青霉烯类耐药细菌具体的耐药机制, 通用的方法是 PCR 法或全基因组测序。此外, 针对不同的其他耐药机制还有不同的检测方法。Zhang 等<sup>[92]</sup>通过对比加入外排泵抑制剂前后待测菌药敏试验的结果来检测待测菌是否存在外排泵过表达。对于编码孔蛋白基因的缺失或突变引起的耐药, 可以通过 SDS-PAGE 分析外膜蛋白图谱进行检测<sup>[93]</sup>。González-Vázquez 等<sup>[94]</sup>通过制备 OprD 多克隆抗体并进行免疫荧光显微镜和蛋白质印迹测定来检测耐药菌是否存在编码 *oprD* 基因的缺失或突变。Stallbaum 等<sup>[95]</sup>通过刚果红琼脂测定和结晶紫染色法对待

测菌生物膜形成能力进行了评估。

## 2.4 新型检测方法

近年来,随着生物技术的发展,针对碳青霉烯类耐药细菌的新型检测方法层出不穷。2020年,Feng等<sup>[96]</sup>提出了一种利用 $\beta$ -内酰胺酶活性的荧光鉴定方法,仅需一步即可在10 min内完成碳青霉烯酶的检测。Petit等<sup>[97]</sup>基于mCIM检测建立了一种新型快速测定方法(mCIMplus),能够检测和表征待测菌产生的碳青霉烯酶,具有优异的灵敏度和特异性。2022年,Liao等<sup>[98]</sup>使用亚胺培南或美罗培南并辅以3种 $\beta$ -内酰胺酶抑制剂开发了一种快速简单的碳青霉烯酶检测方法(rapid and simplified carbapenemase detection method, rsCDM),能够在4-6 h内检测和鉴别出碳青霉烯酶的种类、AmpC过量产生和孔蛋白异常。2024年,Lu等<sup>[99]</sup>开发了一种基于PBP的新型快速灵敏检测方法(Carba PBP),相较于Carba NP, Carba PBP能够在25 min内得到检测结果且将分析灵敏度提高了2个数量级。这些新的检测方法具有高特异性和敏感性,或多或少地弥补了之前各种检测方法的缺点,为临床诊断带来新的选择。

## 3 碳青霉烯类耐药细菌感染的合理用药

碳青霉烯类耐药细菌不仅对碳青霉烯类抗生素具有抗性,还对青霉素类、头孢类等其他 $\beta$ -内酰胺类抗生素表现出抗性,呈现出多重耐药性,这对临床治疗带来了极大的挑战。目前临床治疗方案主要分为单药治疗和联合治疗,治疗时应结合耐药检测结果和感染部位选择合适的治疗方案。

多黏菌素对大多数碳青霉烯类耐药阴性菌均有体外活性,但是由于潜在的肾毒性和神经毒性等副作用限制了其在临床上的应用<sup>[100]</sup>。替

加环素在临床上常用于治疗碳青霉烯类耐药细菌引起的腹腔感染、呼吸道感染和皮肤软组织感染,不推荐用于血液感染和中枢神经感染<sup>[101]</sup>。磷霉素能够抑制细菌细胞壁的合成,作为口服抗生素常用于治疗尿路感染<sup>[102]</sup>。氨基糖苷类药物能够抑制细菌蛋白质的合成,单独用药常用于治疗非复杂性膀胱炎<sup>[103]</sup>。由于不同药物之间存在协同作用,目前对于碳青霉烯类耐药细菌引起的严重感染,临床上常推荐多黏菌素或替加环素与碳青霉烯类、磷霉素、氨基糖苷类和利福平等药物联合用药<sup>[104]</sup>。近年来,多个新型酶抑制剂复方制剂相继应用于临床,包括头孢他啶/阿维巴坦复方制剂、美罗培南/法硼巴坦复方制剂和氨曲南/阿维巴坦复方制剂等<sup>[105]</sup>。这些新型酶抑制剂复方制剂能够有针对性地对产不同碳青霉烯酶的病原菌感染进行治疗,未来有望成为应对碳青霉烯类耐药细菌严重感染的首选治疗方案<sup>[101]</sup>。

针对碳青霉烯类耐药细菌严重感染还有许多新的抑菌策略正在研发,包括噬菌体疗法、粪菌移植疗法、CRISPR-Cas系统靶向疗法和反义疗法等<sup>[106-107]</sup>。目前临床上对于碳青霉烯类耐药细菌感染应首先进行细菌耐药性检测,明确耐药机制,根据检测结果以及不同药物的最低抑菌浓度值,选择最佳的抗菌药物。

## 4 展望

碳青霉烯耐药问题是全球医疗领域面临的一项重大挑战,对公共卫生和医疗系统造成了严重影响。目前已经研发出对碳青霉烯类耐药细菌的检测技术都有着或多或少的缺点。基于表型的检测方法操作简单成本低廉,但普遍存在着检测时间过长,特异性和敏感性较低,对于产酶能力弱的细菌敏感性较差,容易出现假阴性等缺点。相比之下,基于基因型的分子检

测方法能够大大提高检测的特异性和敏感性,所需时间短、效率高,能够满足高通量检测需求。然而,分子检测方法的成本较高,操作较为复杂,需要专业的技术人员进行操作,在基层检测中多不适用。因此,在临床或实验室检测中,应根据实际情况选择合适的方法进行检测。

要阻止碳青霉烯酶的传播,需要采取综合性的措施。首先,医疗机构应实施严格的感染控制措施,以防止病原菌在医疗机构内的传播。其次,抗生素新药的研发也十分重要,同时医生和患者在使用抗生素时应该遵循合理的原则,避免滥用抗生素。再者,应加强对碳青霉烯类耐药细菌的监测和报告,建立高通量、低门槛、快速准确、廉价易行、具有高特异性和敏感性的检测方法对碳青霉烯类耐药细菌进行有效检测。最后,碳青霉烯耐药是一个全球性的问题,需要各国加强合作,共同应对。另外,要阻止碳青霉烯类耐药性的传播,需要社会各界的共同努力,从医疗机构管理到公众健康教育,都需要有针对性地进行加强措施。

## REFERENCES

- [1] COLLABORATORS AR. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis[J]. *Lancet*, 2022, 399(10325): 629-655.
- [2] WANG Q, WANG PL, YANG QX. Occurrence and diversity of antibiotic resistance in untreated hospital wastewater[J]. *The Science of the Total Environment*, 2018, 621: 990-999.
- [3] EL-GAMAL MI, BRAHIM I, HISHAM N, ALADDIN R, MOHAMMED H, BAHAAELDIN A. Recent updates of carbapenem antibiotics[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 131: 185-195.
- [4] HAWKEY PM, LIVERMORE DM. Carbapenem antibiotics for serious infections[J]. *BMJ*, 2012, 344: e3236.
- [5] NORDMANN P. Gram-negative bacteria with resistance to carbapenems[J]. *Medecine Sciences: M/S*, 2010, 26(11): 950-959.
- [6] AMBLER RP. The structure of beta-lactamases[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 1980, 289(1036): 321-331.
- [7] LUTGRING J D. Carbapenem-resistant: an emerging bacterial threat[J]. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 2019, 36(3): 182-186.
- [8] BONOMO R A, BURD E M, CONLY J, LIMBAGO B M, POIREL L, SEGRE J A, WESTBLADE L F. Carbapenemase-producing organisms: a global scourge[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2018, 66(8): 1290-1297.
- [9] LOGAN L K, WEINSTEIN R A. The epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: the impact and evolution of a global menace[J]. *Journal of Infectious Diseases*, 2017, 215: S28-S36.
- [10] VAN DUIN D, DOI Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*[J]. *Virulence*, 2017, 8(4): 460-469.
- [11] MA JY, SONG XR, LI MC, YU ZY, CHENG W, YU ZD, ZHANG WC, ZHANG YD, SHEN AD, SUN HQ, LI LF. Global spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: epidemiological features, resistance mechanisms, detection and therapy[J]. *Microbiological Research*, 2023, 266: 127249.
- [12] ZHANG YW, WANG Q, YIN YY, CHEN HB, JIN LY, GU B, XIE LY, YANG CX, MA XB, LI HY, LI W, ZHANG XQ, LIAO K, MAN SJ, WANG SF, WEN HN, LI BB, GUO ZS, TIAN JJ, PEI FY, et al. Epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections: report from the China CRE network[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2018, 62(2): e01882-17.
- [13] WANG Q, ZENG XP, YANG QX, YANG CZ. Identification of a bacteriophage from an environmental multidrug-resistant *E. coli* isolate and its function in horizontal transfer of ARGs[J]. *The Science of the Total Environment*, 2018, 639: 617-623.
- [14] YIGIT H, QUEENAN AM, ANDERSON GJ, DOMENECH-SANCHEZ A, BIDDLE JW, STEWARD CD, ALBERTI S, BUSH K, TENOVER FC. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2001, 45(4): 1151-1161.
- [15] BRATU S, LANDMAN D, ALAM M, TOLENTINO E, QUALE J. Detection of KPC carbapenem-hydrolyzing enzymes in *Enterobacter* spp. from Brooklyn, New York[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, 49(2): 776-778.
- [16] ENDIMIANI A, DEPASQUALE JM, FORERO S, PEREZ F, HUJER AM, ROBERTS-POLLACK D, FIORELLA PD, PICKENS N, KITCHEL B, CASIANO-COLÓN AE, TENOVER FC, BONOMO RA. Emergence of *bla*<sub>KPC</sub>-containing *Klebsiella pneumoniae* in a long-term acute care hospital: a new challenge to our healthcare system[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2009, 64(5): 1102-1110.
- [17] VILLEGAS MV, LOLANS K, CORREA A, SUAREZ CJ, LOPEZ JA, VALLEJO M, QUINN JP, GROUP CNRS. First detection of the plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006, 50(8): 2880-2882.
- [18] LEAVITT A, NAVON-VENEZIA S, CHMELNITSKY I, SCHWABER MJ, CARMELI Y. Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2007, 51(8): 3026-3029.
- [19] WEI ZQ, DU XX, YU YS, SHEN P, CHEN YG, LI LJ.

- Plasmid-mediated KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from China[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2007, 51(2): 763-765.
- [20] CHEN L, MATHEMA B, CHAVDA KD, DeLEO FR, BONOMO RA, KREISWIRTH BN. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding[J]. *Trends in Microbiology*, 2014, 22(12): 686-696.
- [21] MUNOZ-PRICE LS, POIREL L, BONOMO RA, SCHWABER MJ, DAIKOS GL, CORMICAN M, CORNAGLIA G, GARAU J, GNIADKOWSKI M, HAYDEN MK, KUMARASAMY K, LIVERMORE DM, MAYA JJ, NORDMANN P, PATEL JB, PATERSON DL, PITOUT J, VILLEGAS MV, WANG H, WOODFORD N, QUINN JP. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2013, 13(9): 785-796.
- [22] WALTHER-RASMUSSEN J, HØIBY N. Class A carbapenemases[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2007, 60(3): 470-482.
- [23] CODJOE FS, DONKOR ES. Carbapenem resistance: a review[J]. *Medical Sciences*, 2017, 6(1): 1.
- [24] LUO HY, YANG ZS, LEI T, LI CX, ZHOU ZY, WANG MS, ZHU DK, LI P, CHENG AC. RATA: a novel class A carbapenemase with broad geographic distribution and potential for global spread[J]. *The Science of the Total Environment*, 2024, 931: 172873.
- [25] SUAY-GARCÍA B, PÉREZ-GRACIA MT. Present and future of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) infections[J]. *Antibiotics*, 2019, 8(3): 122.
- [26] CORNAGLIA G, GIAMARELLOU H, ROSSOLINI GM. Metallo- $\beta$ -lactamases: a last frontier for  $\beta$ -lactams?[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2011, 11(5): 381-393.
- [27] NORDMANN P, NAAS T, POIREL L. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2011, 17(10): 1791-1798.
- [28] LAURETTI L, RICCIO ML, MAZZARIOL A, CORNAGLIA G, AMICOSANTE G, FONTANA R, ROSSOLINI GM. Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1999, 43(7): 1584-1590.
- [29] NORDMANN P, POIREL L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among *Enterobacteriaceae* worldwide[J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2014, 20(9): 821-830.
- [30] VATOPOULOS A. High rates of metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece: a review of the current evidence[J]. *European Communicable Disease Bulletin*, 2008, 13(4): 8023.
- [31] YONG D, TOLEMAN MA, GISKE CG, CHO HS, SUNDMAN K, LEE K, WALSH TR. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla<sub>NDM-1</sub>, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, 53(12): 5046-5054.
- [32] SNYDER BM, MONTAGUE BT, ANANDAN S, MADABHUSHI AG, PRAGASAM AK, VERGHESE VP, BALAJI V, SIMÕES EAF. Risk factors and epidemiologic predictors of blood stream infections with New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase (NDM-1) producing *Enterobacteriaceae*[J]. *Epidemiology and Infection*, 2019, 147: e137.
- [33] RAABE NJ, VALEK AL, GRIFFITH MP, MILLS E, WAGGLE K, SRINIVASA VR, AYRES AM, BRADFORD C, CREAGER H, PLESS LL, SUNDERMANN AJ, van TYNE D, SNYDER GM, HARRISON LH. Genomic epidemiologic investigation of a multispecies hospital outbreak of NDM-5-producing enterobacteriales infections[J]. *MedRxiv: the Preprint Server for Health Sciences*, 2023.08.31.23294545.
- [34] WANG Q, JIN L, SUN S, YIN Y, WANG R, CHEN F, WANG X, ZHANG Y, HOU J, ZHANG Y, ZHANG Z, LUO L, GUO Z, LI Z, LIN X, BI L, WANG H. Occurrence of high levels of cefiderocol resistance in carbapenem-resistant *Escherichia coli* before its approval in China: a report from china cre-network[J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(3): e02670-21.
- [35] NISHIDA S, MATSUNAGA N, KAMIMURA Y, ISHIGAKI S, FURUKAWA T, ONO Y. Emergence of *Enterobacter cloacae* complex co-producing IMP-10 and CTX-M, and *Klebsiella pneumoniae* producing VIM-1 in clinical isolates in Japan[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(11): 1816.
- [36] NORDMANN P, POIREL L, TOLEMAN MA, WALSH TR. Does broad-spectrum beta-lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria?[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2011, 66(4): 689-692.
- [37] SCHAUER J, GATERMANN SG, EISFELD J, HANS JB, ZIESING S, SCHLÜTER D, PFENNIGWERTH N. Characterization of GMB-1, a novel metallo- $\beta$ -lactamase (MBL) found in three different *Enterobacteriales* species[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2022, 77(5): 1247-1253.
- [38] MA L, WANG JT, WU TL, SIU LK, CHUANG YC, LIN JC, LU MC, LU PL. Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0139152.
- [39] POIREL L, POTRON A, NORDMANN P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2012, 67(7): 1597-1606.
- [40] POIREL L, HÉRITIER C, TOLÜN V, NORDMANN P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004, 48(1): 15-22.
- [41] PÉREZ-BLANCO V, REDONDO-BRAVO L, RUÍZ-CARRASCOSO G, PAÑO-PARDO JR, GÓMEZ-GIL R, ROBUSTILLO-RODELA A, GARCÍA-RODRÍGUEZ J, MINGORANCE J, HERRUZO R. Epidemiology and control measures of an OXA-48-producing *Enterobacteriaceae* hospital-wide oligoclonal outbreak[J]. *Epidemiology and Infection*, 2018, 146(5): 656-662.
- [42] MATASEJE LF, BOYD DA, FULLER J, HALDANE D, HOANG L, LEFEBVRE B, MELANO RG, POUTANEN S, van CAESELE P, MULVEY MR. Characterization of OXA-48-like carbapenemase producers in Canada, 2011–14[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2018, 73(3): 626-633.
- [43] HAMPRECHT A, SOMMER J, WILLMANN M,

- BRENDER C, STELZER Y, KRAUSE FF, TSVETKOV T, WILD F, RIEDEL-CHRIST S, KUTSCHENREUTER J, IMIRZALIOGLU C, GONZAGA A, NÜBEL U, GÖTTIG S. Pathogenicity of clinical OXA-48 isolates and impact of the OXA-48 IncL plasmid on virulence and bacterial fitness[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2509.
- [44] GUO L, AN JN, MA YN, YE LY, LUO YP, TAO CM, YANG JY. Nosocomial outbreak of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: clonal transmission of ST147 and ST383[J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0160754.
- [45] 姜雪琪, 李娟. 水解碳青霉烯类 OXA 型  $\beta$ -内酰胺酶的研究进展[J]. *中国感染控制杂志*, 2023, 22(9): 1121-1128.
- JIANG XQ, LI J. Advances in carbapenem-hydrolyzing OXA-type  $\beta$ -lactamases[J]. *Chinese Journal of Infection Control*, 2023, 22(9): 1121-1128 (in Chinese).
- [46] PITOUT JDD, PEIRANO G, KOCK MM, STRYDOM KA, MATSUMURA Y. The global ascendancy of OXA-48-type carbapenemases[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2019, 33(1): e00102-19.
- [47] LI P, YANG ZS, LEI T, DAI YJ, ZHOU Y, ZHU DK, LUO HY. Identification of a novel carbapenem-hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamase RAD-1 in *Riemerella anatipestifer*[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2023, 78(4): 1117-1124.
- [48] GIRLICH D, POIREL L, NORDMANN P. Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in *Enterobacteriaceae*[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, 50(2): 477-479.
- [49] CARVALHAES CG, PICÃO RC, NICOLETTI AG, XAVIER DE, GALES AC. Cloverleaf test (modified Hodge test) for detecting carbapenemase production in *Klebsiella pneumoniae*: be aware of false positive results[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2010, 65(2): 249-251.
- [50] SIMNER PJ, GILMOUR MW, DeGAGNE P, NICHOL K, KARLOWSKY JA. Evaluation of five chromogenic agar media and the Rosco Rapid Carb screen kit for detection and confirmation of carbapenemase production in Gram-negative bacilli[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2015, 53(1): 105-112.
- [51] VRIONI G, DANIL I, VOULGARI E, RANELLOU K, KOUMAKI V, GHIRARDI S, KIMOULI M, ZAMBARDI G, TSAKRIS A. Comparative evaluation of a prototype chromogenic medium (ChromID CARBA) for detecting carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in surveillance rectal swabs[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, 50(6): 1841-1846.
- [52] de OLIVEIRA SANTOS IC, da CONCEIÇÃO NETO OC, da COSTA BS, TEIXEIRA CBT, da SILVA PONTES L, SILVEIRA MC, ROCHA-de-SOUZA CM, CARVALHO-ASSEF APD. Evaluation of phenotypic detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas* spp. from clinical isolates[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2023, 54(1): 135-141.
- [53] TAMMA PD, OPENE BNA, GLUCK A, CHAMBERS KK, CARROLL KC, SIMNER PJ. Comparison of 11 phenotypic assays for accurate detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2017, 55(4): 1046-1055.
- [54] BOUTAL H, VOGEL A, BERNABEU S, DEVILLIERS K, CRETON E, COTELLON G, PLAISANCE M, OUESLATI S, DORTET L, JOUSSET A, SIMON S, NAAS T, VOLLAND H. A multiplex lateral flow immunoassay for the rapid identification of NDM-, KPC-, IMP- and VIM-type and OXA-48-like carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2018, 73(4): 909-915.
- [55] KON H, ABRAMOV S, FRENK S, SCHWARTZ D, SHALOM O, ADLER A, CARMELI Y, LELLOUCHE J. Multiplex lateral flow immunochromatographic assay is an effective method to detect carbapenemases without risk of OXA-48-like cross reactivity[J]. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2021, 20(1): 61.
- [56] van der ZWALUW K, de HAAN A, PLUISTER GN, BOOTSMA HJ, de NEELING AJ, SCHOOLS LM. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0123690.
- [57] HINDIYEH M, SMOLLEN G, GROSSMAN Z, RAM D, DAVIDSON Y, MILEGUIR F, VAX M, BEN DAVID D, TAL I, RAHAV G, SHAMISS A, MENDELSON E, KELLER N. Rapid detection of *bla*<sub>KPC</sub> carbapenemase genes by real-time PCR[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2008, 46(9): 2879-2883.
- [58] LUTGRING JD, LIMBAGO BM. The problem of carbapenemase-producing-carbapenem-resistant-*Enterobacteriaceae* detection[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2016, 54(3): 529-534.
- [59] WONG YP, OTHMAN S, LAU YL, RADU S, CHEE HY. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a versatile technique for detection of microorganisms[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2018, 124(3): 626-643.
- [60] HEMWARANON P, SRISRATTAKARN A, LULITANOND A, TIPPAYAWAT P, TAVICHAKORNTAKOOL R, WONGLAKORN L, DADUANG J, CHANAWONG A. Recombinase polymerase amplification combined with lateral flow strip for rapid detection of OXA-48-like carbapenemase genes in *Enterobacteriales*[J]. *Antibiotics*, 2022, 11(11): 1499.
- [61] WANG L, BAI LL, WANG HM, HE KY, WANG R, WANG Q, ZHANG F, XU XH. Graphene oxide assisting the visual detection of *Salmonella* by CRISPR/Cas12a[J]. *Microchemical Journal*, 2023, 191: 108870.
- [62] LI XP, ZHONG JY, LI HY, QIAO YB, MAO XL, FAN HY, ZHONG YW, IMANI S, ZHENG SS, LI JH. Advances in the application of CRISPR-Cas technology in rapid detection of pathogen nucleic acid[J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2023, 10: 1260883.
- [63] CUZON G, NAAS T, BOGAERTS P, GLUPCZYNSKI Y, NORDMANN P. Evaluation of a DNA microarray for the rapid detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (TEM, SHV and CTX-M), plasmid-mediated cephalosporinases (CMY-2-like, DHA, FOX, ACC-1, ACT/MIR and CMY-1-like/MOX) and carbapenemases (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM)[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2012, 67(8): 1865-1869.
- [64] BOGATY C, MATASEJE L, GRAY A, LEFEBVRE B,

- LÉVESQUE S, MULVEY M, LONGTIN Y. Investigation of a Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* outbreak using whole genome sequencing versus a standard epidemiologic investigation[J]. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 2018, 7: 140.
- [65] TAMMA PD, SIMNER PJ. Phenotypic detection of carbapenemase-producing organisms from clinical isolates[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2018, 56(11): e01140-18.
- [66] BUTLER-WU SM, ABBOTT AN. Is this the carbapenemase test we've been waiting for? A multicenter evaluation of the modified carbapenem inactivation method[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2017, 55(8): 2309-2312.
- [67] VALIDI M, SOLTAN DALLAL M M, DOURAGHI M, FALLAH MEHRABADI J, RAHIMI FOROUSHANI A. Identification of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Klebsiella oxytoca* in clinical isolates in Tehran hospitals, Iran by chromogenic medium and molecular methods[J]. *Osong Public Health and Research Perspectives*, 2016, 7(5): 301-306.
- [68] BOUSLAH Z. Carba NP test for the detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 2020, 50(6): 466-479.
- [69] DORTET L, POIREL L, NORDMANN P. Rapid detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas* spp.[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, 50(11): 3773-3776.
- [70] PIRES J, NOVAIS, PEIXE L. Blue-Carba, an easy biochemical test for detection of diverse carbapenemase producers directly from bacterial cultures[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2013, 51(12): 4281-4283.
- [71] GARG A, GARG J, UPADHYAY GC, AGARWAL A, BHATTACHARJEE A. Evaluation of the Rapidec Carba NP test kit for detection of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2015, 59(12): 7870-7872.
- [72] McMULLEN AR, WALLACE MA, LaBOMBARDI V, HINDLER J, CAMPEAU S, HUMPHRIES R, PROCOP GW, RICHTER SS, WISE MG, BURNHAM CA D. Multicenter evaluation of the RAPIDEC® CARBA NP assay for the detection of carbapenemase production in clinical isolates of *Enterobacteriales* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2020, 39(11): 2037-2044.
- [73] BOUTAL H, NAAS T, DEVILLIERS K, OUESLATI S, DORTET L, BERNABEU S, SIMON S, VOLLAND H. Development and validation of a lateral flow immunoassay for rapid detection of NDM-producing *Enterobacteriaceae*[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2017, 55(7): 2018-2029.
- [74] NOTAKE S, MATSUDA M, TAMAI K, YANAGISAWA H, HIRAMATSU K, KIKUCHI K. Detection of IMP metallo- $\beta$ -lactamase in carbapenem-nonsusceptible *Enterobacteriaceae* and non-glucose-fermenting Gram-negative rods by immunochromatography assay[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2013, 51(6): 1762-1768.
- [75] DORTET L, JOUSSET A, SAINTE-ROSE V, CUZON G, NAAS T. Prospective evaluation of the OXA-48 K-SeT assay, an immunochromatographic test for the rapid detection of OXA-48-type carbapenemases[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2016, 71(7): 1834-1840.
- [76] TIJET N, PATEL SN, MELANO RG. Detection of carbapenemase activity in *Enterobacteriaceae*: comparison of the carbapenem inactivation method versus the Carba NP test[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2016, 71(1): 274-276.
- [77] PIERCE VM, SIMNER PJ, LONSWAY DR, ROE-CARPENTER DE, JOHNSON JK, BRASSO WB, BOBENCHIK AM, LOCKETT ZC, CHARNOT-KATSIKAS A, FERRARO MJ, THOMSON RB Jr, JENKINS SG, LIMBAGO BM, DAS S. Modified carbapenem inactivation method for phenotypic detection of carbapenemase production among *Enterobacteriaceae*[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2017, 55(8): 2321-2333.
- [78] RIZVI M, SAMI H, AZAM M, BEN KHALID D, AL JABRI Z, KHAN F, SULTAN A, SINGH A, PERWEEN N, AL QURAINI M, AL MUHARRMI Z, RIZVI SG. Reliability of carbapenem inactivation method (CIM) and modified carbapenem inactivation method (mCIM) for detection of OXA-48-like and NDM-1[J]. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 2021, 39(4): 451-456.
- [79] TSAI YM, WANG SN, CHIU HC, KAO CY, WEN LL. Combination of modified carbapenem inactivation method (mCIM) and EDTA-CIM (eCIM) for phenotypic detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*[J]. *BMC Microbiology*, 2020, 20(1): 315.
- [80] YOSHIOKA N, HAGIYA H, DEGUCHI M, HAMAGUCHI S, KAGITA M, NISHI I, AKEDA Y, TOMONO K. Multiplex real-time PCR assay for six major carbapenemase genes[J]. *Pathogens*, 2021, 10(3): 276.
- [81] CEREZALES M, BINIOSSEK L, GERSON S, XANTHOPOULOU K, WILLE J, WOHLFARTH E, KAASE M, SEIFERT H, HIGGINS PG. Novel multiplex PCRs for detection of the most prevalent carbapenemase genes in Gram-negative bacteria within Germany[J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2021. DOI: 10.1099/jmm.0.001310.
- [82] CAI Z, TAO J, JIA TY, FU HY, ZHANG X, ZHAO M, DU H, YU H, SHAN B, HUANG B, CHEN L, TANG YW, JIA W, QU F. Multicenter evaluation of the Xpert Carba-R assay for detection and identification of carbapenemase genes in sputum specimens[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2020, 58(9): e00644-20.
- [83] LI J, MACDONALD J, von STETTEN F. Review: a comprehensive summary of a decade development of the recombinase polymerase amplification[J]. *The Analyst*, 2018, 144(1): 31-67.
- [84] SHIRATO K. Detecting amplicons of loop-mediated isothermal amplification[J]. *Microbiology and Immunology*, 2019, 63(10): 407-412.
- [85] FENG WJ, NIU SQ, CHANG YB, JIA XJ, HUANG SF, YANG P. Design of rapid detection system for five major carbapenemase families (*bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>IMP</sub> and *bla*<sub>OXA-48-like</sub>) by colorimetric loop-mediated isothermal amplification[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2021, 14: 1865-1874.
- [86] CHEN JS, MA EB, HARRINGTON LB, da COSTA M, TIAN XR, PALEFSKY JM, DOUDNA JA.



- CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity[J]. *Science*, 2018, 360(6387): 436-439.
- [87] QIAN S, CHEN YJ, WANG XF, WANG TZ, CHE Y, WU J, YE ZY, XU JF. CRISPR/Cas12a-assisted dual visualized detection of SARS-CoV-2 on frozen shrimps[J]. *Biosensors*, 2023, 13(1): 138.
- [88] PAUL B, MONTOYA G. CRISPR-Cas12a: functional overview and applications[J]. *Biomedical Journal*, 2020, 43(1): 8-17.
- [89] XU HM, TANG H, LI RR, XIA ZX, YANG WS, ZHU Y, LIU Z, LU GP, NI SW, SHEN JL. A new method based on LAMP-CRISPR-Cas12a-lateral flow immunochromatographic strip for detection[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2022, 15: 685-696.
- [90] SARENGAOWA, HU WZ, FENG K, JIANG AL, XIU ZL, LAO Y, LI YZ, LONG Y. An *in situ*-synthesized gene chip for the detection of food-borne pathogens on fresh-cut cantaloupe and lettuce[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 3089.
- [91] BILOZOR A, BALODE A, CHAKHUNASHVILI G, CHUMACHENKO T, EGOROVA S, IVANOVA M, KAFTYREVA L, KÖLJALG S, KÖRESSAAR T, LYSENKO O, MICIULEVICIENE J, MĀNDAR R, LIS DO, WESOLOWSKA MP, RATNIK K, REMM M, RUDZKO J, RÖÖP T, SAULE M, SEPP E, et al. Application of molecular methods for carbapenemase detection[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1755.
- [92] ZHANG YP, LI ZC, HE XL, DING FL, WU WQ, LUO Y, FAN B, CAO H. Overproduction of efflux pumps caused reduced susceptibility to carbapenem under consecutive imipenem-selected stress in *Acinetobacter baumannii*[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2018, 11: 457-467.
- [93] KIM CH, KANG HY, KIM BR, JEON H, LEE YC, LEE SH, LEE JC. Mutational inactivation of OprD in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Korean hospitals[J]. *Journal of Microbiology*, 2016, 54(1): 44-49.
- [94] GONZÁLEZ-VÁZQUEZ MC, del CARMEN ROCHA-GRACIA R, CARABARÍN-LIMA A, BELLO-LÓPEZ E, HUERTA-ROMANO F, MARTÍNEZ-LAGUNA Y, LOZANO-ZARAIN P. Location of OprD porin in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates[J]. *APMIS*, 2021, 129(4): 213-224.
- [95] STALLBAUM LR, PRUSKI BB, AMARAL SC, de FREITAS SB, WOZEAK DR, HARTWIG DD. Phenotypic and molecular evaluation of biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) isolates obtained from a hospital of Pelotas, RS, Brazil[J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2021, 70(11): 001451.
- [96] FENG YF, PALANISAMI A, KURIAKOSE J, PIGULA M, ASHRAF S, HASAN T. Novel rapid test for detecting carbapenemase[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2020, 26(4): 793-795.
- [97] PETIT M, CAMÉLÈNE F, COINTE A, PONCIN T, MERIMÈCHE M, BONACORSI S, BIRGY A, BERÇOT B. Rapid detection and characterization of carbapenemases in *Enterobacteriales* with a new modified carbapenem inactivation method, mCIMplus[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2020, 58(11): e01370-20.
- [98] LIAO QF, YUAN Y, ZHANG WL, DENG J, WU SY, LIU Y, XIAO YL, KANG M. Detection and characterization of carbapenemases in *Enterobacteriales* with a new rapid and simplified carbapenemase detection method called rsCDM[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 860288.
- [99] LU ZM, WANG XN, MA LC, DOU LN, ZHAO XJ, TAO J, WANG Y, WANG SL, LIU DJ, SHEN YB, YU XZ, YU WB, JIA LX, WANG ZH, SHEN JZ, WEN K. Carba PBP: a novel penicillin-binding protein-based lateral flow assay for rapid phenotypic detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriales*[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2024, 62(2): e0012023.
- [100] EZADI F, ARDEBILI A, MIRNEJAD R. Antimicrobial susceptibility testing for polymyxins: challenges, issues, and recommendations[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2019, 57(4): e01390-18.
- [101] 徐鹏鹏, 葛瑛. 碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌感染治疗研究进展[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2019, 19(6): 680-686.
- XU JJ, GE Y. Research progress in the treatment of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*[J]. *Chinese Journal of Infection and Chemotherapy*, 2019, 19(6): 680-686 (in Chinese).
- [102] TILAHUN M, KASSA Y, GEDEFIE A, ASHAGIRE M. Emerging carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infection, its epidemiology and novel treatment options: a review[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2021, 14: 4363-4374.
- [103] TAMMA PD, AITKEN SL, BONOMO RA, MATHERS AJ, van DUIN D, CLANCY CJ. Infectious diseases society of America guidance on the treatment of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Enterobacteriales* (ESBL-E), carbapenem-resistant *Enterobacteriales* (CRE), and *Pseudomonas aeruginosa* with difficult-to-treat resistance (DTR-*P. aeruginosa*)[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2021, 72(7): e169-e183.
- [104] 刘长鑫, 张侃, 王博, 丁俊谕, 郭桦, 宋曼雅, 赵慧珺, 管希周. 碳青霉烯耐药肠杆菌科细菌感染的抗菌药物治疗现状及研究进展[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(5): 795-800.
- LIU CX, ZHANG K, WANG B, DING JY, GUO H, SONG MY, ZHAO HJ, GUAN XZ. Current situation and research progress of drug therapy for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infection[J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2022, 32(5): 795-800 (in Chinese).
- [105] POGUE JM, BONOMO RA, KAYE KS. Ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam, or both? clinical and formulary considerations[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2019, 68(3): 519-524.
- [106] MACAREÑO-CASTRO J, SOLANO-SALAZAR A, DONG LT, MOHIUDDIN M, LUIS ESPINOZA J. Fecal microbiota transplantation for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: a systematic review[J]. *The Journal of Infection*, 2022, 84(6): 749-759.
- [107] 李虎良, 张蕾. 抗生素耐药性的分子机制及抑菌策略[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2024, 40(6): 759-769.
- LI HL, ZHANG L. Molecular mechanisms and antibacterial strategies of antibiotic resistance[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2024, 40(6): 759-769 (in Chinese).