

• 综 述 •

碳青霉烯酶实验室检测技术研究进展*

张学丽^{1,2,3}综述, 史 茜^{2,3}, 张 新^{2,3△} 审核

1. 石河子大学医学院, 新疆石河子 832000; 2. 新疆生产建设兵团医院/石河子大学医学院第二附属医院
检验科, 新疆乌鲁木齐 830002; 3. 兵团医学检验临床医学研究中心, 新疆乌鲁木齐 830002

摘 要:近年来,随着碳青霉烯类抗菌药物的广泛使用,肠杆菌科细菌对该类抗菌药物的耐药性问题日益严峻,其中导致耐药的主要机制是产碳青霉烯酶。不同型别的碳青霉烯酶对抗菌药物的水解能力存在显著差异,大大增加了感染治疗的复杂性。因此,及时、准确地检测碳青霉烯酶对指导临床精准用药和加强医院感染防控具有重要的临床意义。该文对碳青霉烯酶的分类进行阐述,重点综述实验室碳青霉烯酶的各类表型检测、基因型检测方法的优缺点,为碳青霉烯酶检测技术的发展及医院感染防控策略的制订提供参考依据。

关键词:碳青霉烯酶; 碳青霉烯耐药肠杆菌科细菌; 耐药机制; Ambler 分类; 表型检测; 基因型检测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2026.05.016

中图法分类号:R378;R446.5

文章编号:1673-4130(2026)05-0617-07

文献标志码:A

Research progress on carbapenemase laboratory detection technology*

ZHANG Xueli^{1,2,3}, SHI Qian^{2,3}, ZHANG Xin^{2,3△}

1. School of Medicine, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 2. Department of
Clinical Laboratory, Xinjiang Production and Construction Corps Hospital/the Second
Affiliated Hospital of Shihezi University School of Medicine, Urumqi, Xinjiang 830002,
China; 3. Clinical Medical Research Center for Laboratory Medicine of Xinjiang
Production and Construction Corps, Urumqi, Xinjiang 830002, China

Abstract: In recent years, the widespread use of carbapenem antimicrobial agents has exacerbated the issue of resistance among Enterobacteriaceae, primarily due to the production of carbapenemases. The varying hydrolytic abilities of different carbapenemases significantly complicate infection management. Consequently, the timely and accurate detection of carbapenemases is of great clinical significance for guiding precise clinical medication and strengthening hospital infection prevention and control. Therefore, this paper elaborates on the classification of carbapenemases and focuses on summarizing the advantages and disadvantages of various phenotypic and genotypic detection methods for carbapenemases in the laboratory. The findings aim to provide a foundational reference for the development of carbapenemase detection technology and the formulation of hospital infection prevention and control strategies.

Key words: carbapenemase; carbapenem-resistant enterobacteriaceae; resistance mechanisms; Ambler classification; phenotypic detection; genotypic detection

碳青霉烯酶是指一类能够水解碳青霉烯类抗菌药物的β-内酰胺酶,主要存在于肠杆菌科细菌中,其中对碳青霉烯类抗菌药物产生耐药的肠杆菌科细菌统称为耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)^[1]。研究表明,碳青霉烯酶的鉴定对指导合理抗感染治疗具有重要意义,延迟诊断往往使治疗延误,导致患者病情

进一步恶化、病死率显著增加^[2-3]。因此,及时、准确地检测碳青霉烯酶对于指导临床抗菌药物的正确使用及有效防控医院耐药菌株传播具有重要的价值^[4]。本文系统综述了碳青霉烯酶的分类及其相关检测技术的优缺点,以为碳青霉烯酶的检测提供参考依据。

* 基金项目:国家临床重点专科建设项目(兵财社[2023]16号);兵团重点领域科技攻关计划资助项目(2024AB072);新疆生产建设兵团医院基础研究项目(2024008)。

△ 通信作者, E-mail: xjzhangxin108@126.com。

1 碳青霉烯酶的分类

根据分子结构和氨基酸序列的不同,采用 Ambler 分类法,将碳青霉烯酶分为 A、B、D 三类^[5]。A 类碳青霉烯酶属于丝氨酸 β -内酰胺酶,亚型包括由染色体编码的 SME、NMC、IMI 和质粒编码的 KPC、GES 等,其中 KPC 型是最常见的酶型,在临床分离的 CRE 中,KPC-2 亚型检出率可达 70%,显示出其在临床中的广泛流行^[6]。B 类碳青霉烯酶为金属 β -内酰胺酶,其活性中心含有锌离子,可通过与金属螯合剂结合抑制水解活性,以 IMP、VIM 和 NDM 型最为常见,其中 NDM 型检出率在 CRE 中约占 30%^[7]。D 类酶同样属于丝氨酸 β -内酰胺酶,因对苯唑西林类药物具有较强水解能力被称为苯唑西林酶,这类酶对青霉素类药物表现出显著的水解活性,但对碳青霉烯类药物的水解能力相对较弱,其中最常见的酶型为 OXA-48 型,此类酶型在我国的流行率较低^[8]。值得注意的是,不同酶型的碳青霉烯酶对抗菌药物的水解能力存在差异,因此酶型检测对指导临床精准用药和医院感染防控具有重要意义。

2 碳青霉烯酶表型检测方法

2.1 Carba NP 试验 Carba NP 试验是由 NORDMANN 等^[9]提出的用于检测碳青霉烯酶活性的显色测定法。该实验是基于待测菌株产生的碳青霉烯酶水解亚胺培南的 β -内酰胺环,并释放出 H^+ ,从而改变溶液 pH 值,使酚红指示剂的颜色由红色转变为黄色或橙色,从而判定菌株产碳青霉烯酶。该方法鉴定碳青霉烯酶具有较好的灵敏度和特异度,然而操作步骤烦琐,不利于普通实验室中应用,因此,研究者们陆续开发了一系列改良方案^[10]。目前市售的检测试剂盒有法国梅里埃公司生产的 Rapidec Carba NP 试剂盒,研究表明该试剂盒能够检测大多常见类型的碳青霉烯酶,其检测灵敏度和特异度较其他方法更好,同时无需额外仪器设备支持,因此 Rapidec Carba NP 试剂盒更适合作为临床一线筛查碳青霉烯酶的方法^[11]。

2.2 碳青霉烯酶灭活法(CIM) CIM 法由荷兰 VAN DER ZWALUW 研究团队于 2015 年首次提出^[12]。CIM 成本低且高效,但对于一些产酶能力弱的菌株检测敏感性较低,如 OXA-48 及 NDM 等^[13]。为进一步提高检测灵敏度与特异度,进行了一系列改良方案,包括简化版碳青霉烯酶灭活法、乙二胺四乙酸(EDTA)碳青霉烯酶灭活法、改良版碳青霉烯酶灭活法等。其中改良版碳青霉烯酶灭活法和 EDTA 碳青霉烯酶灭活法在 2018 年被美国和临床实验室标准协会推荐用于铜绿假单胞菌和肠杆菌目细菌中碳青霉烯酶的检测^[14]。

2.3 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(MAL-

DI-TOF MS) MALDI-TOF MS 技术是一种近些年发展起来的软电离有机质谱技术,它通过检测样品的质荷比(m/z)来测定相对分子质量,适用于蛋白质、核酸、多肽、大分子等样品的检测^[15]。MALDI-TOF MS 技术已成为临床微生物实验室常规鉴定细菌的方法。该技术可通过酶水解法和直接法检测碳青霉烯酶。

2.3.1 酶水解法 根据碳青霉烯类抗菌药物可以使药物的特征峰发生改变检测碳青霉烯酶。以产 KPC 的肺炎克雷伯菌为例,其能够使美罗培南水解、脱羧,从而可以产生特征性质谱峰,如 380.055 m/z (美罗培南脱羧后钠盐)、402.338 m/z (酰胺键断裂的美罗培南)、423.945 m/z (酰胺键断裂的美罗培南钠盐)、446.575 m/z (酰胺键断裂的美罗培南二钠盐),通过观察这些特征峰的变化,即可实现碳青霉烯酶检测^[16]。研究表明,应用酶水解法 MALDI-TOF MS 技术可以准确区分多种碳青霉烯酶亚型(包括 KPC-2、KPC-3、KPC-4、OXA-48、OXA-181、OXA-23、GES-5、GES-24),并能检测共产碳青霉烯酶的菌株(如 KPC 和 NDM、KPC 和 OXA、KPC 和 GES、NDM 和 OXA),这为碳青霉烯酶的鉴定提供了重要的技术支持^[17]。

2.3.2 直接法 直接法指直接利用质谱技术来鉴定特定的碳青霉烯酶。AGUSTINA COSTA 等^[18]应用该方法实现了对孵育周期较短的临床标本和血培养阳性标本中 KPC 酶型的鉴定。该方法首先对菌落进行蛋白质提取,随后利用质谱仪检测,如检测到相对分子质量 28.681 处的特征峰,即可判定为产 KPC 酶型菌株。

尽管 MALDI-TOF MS 技术有快速、简便地区分碳青霉烯酶型及其亚型等优势,但若质谱图库中缺乏目标菌株的特征峰信息时,可能导致无法进行有效比对。因此,在应用 MALDI-TOF MS 技术的同时,需不断完善和更新质谱图库,以便能够获取最新、最全面的数据信息,满足未来分析更多待测病原体检测的需求。

2.4 胶体金免疫层析技术(GICA) GICA 基于抗原抗体结合形成复合物,并通过层析技术显色,实现对 CRE 酶型快速诊断的技术。NG-Test[®] CARBA5 碳青霉烯酶检测试剂盒是目前国内首个引入的可同时检测 5 种酶型(KPC、NDM、OXA-48、VIM、IMP)的胶体金产品,也是国内最早获得二类上市许可的 CRE 酶型五联检胶体金产品。GICA 操作简单,20 min 内即可获得检测结果,结果容易判读,适用于碳青霉烯酶酶型的快速检测,但因其价格较高,且不能检测酶亚型,因此限制其在临床检验中的广泛应用。有研究报道 ResistAcineto 多重免疫层析法,可准确鉴定

OXA-23、OXA-40、OXA-58 和 NDM 酶型,它能够对产酶能力弱的两种酶型进行检测,并对 OXA 酶型进行分型检测,进一步补充了 NG-Test® CARBA5 的不足^[19],但胶体金免疫层析法结果依赖于主观判断,会导致不同人员之间判读结果存在差异^[20]。期待未来有更多其他酶型的检测方法,进一步提高 CRE 的检测效率。

2.5 流式细胞术 流式细胞术是在液体中对单个细胞快速进行多参数分析的技术^[21],该技术已被证明可用于超广谱 β-内酰胺酶耐药基因检测^[22]。有研究表明,该方法可在 2 h 内完成碳青霉烯酶酶型的检测,且与聚合酶链反应(PCR)检测碳青霉烯酶检测结果一致^[23]。流式细胞术在检测碳青霉烯酶时结合多重荧光标记技术,可实现同时检测多种碳青霉烯酶。此外,流式细胞术具有分选速度快、高通量检测的优点,对于大规模的筛查和快速诊断尤为重要。但应用流式细胞术检测所需设备昂贵、样本制备过程复杂,同时标记过程中抗体的质量、标记的效率也会对检测结果产生影响,使得在常规实验室中的应用受到限制^[24]。因此,需要进一步优化检测方案,以便于能够更好地在常规实验室中为检测碳青霉烯酶及各个亚型提供便利,为临床诊断和抗感染治疗提供更便捷的技术支持。

3 碳青霉烯酶基因型检测方法

3.1 PCR 技术 PCR 技术是鉴定 CRE 酶型的“金标准”^[25]。目前,PCR 技术的主要应用形式包括多重 PCR 和荧光定量 PCR。其中,多重 PCR 在传统单重 PCR 的基础上,通过在同一反应体系中引入多对特异性引物,实现了多个靶基因的同时扩增,显著提高检测效率。POIREL 等^[26]开发了一种快速可靠的检测技术,可同时检测 11 种碳青霉烯酶编码基因,包括 IMP、VIM、NDM、SPM、AIM、DIM、GIM、SIM、KPC、BIC 和 OXA-48。荧光定量 PCR 则通过引入特异性荧光探针,能够实时监测和精确识别目标基因,确保耐药基因检测的准确性和时效性,较多重 PCR 检测灵敏度更高,操作更简便。SADEK 等^[27]基于荧光定量 PCR 技术检测 KPC、NDM、VIM、IMP、OXA-48 碳青霉烯酶基因,其灵敏度和特异度达到 100.0%,此外,GeneXpert Carba-R、Filmarray BICD 2 等商业化荧光定量 PCR 检测试剂盒可在 1 h 内完成对常见基因的快速检测^[28-29]。目前有通过荧光 PCR 可以检测 KPC、NDM、OXA-48、IMP、VIM、GES 6 种碳青霉烯酶基因,其检测灵敏度和特异度均较高^[30]。随着荧光定量 PCR 技术与微流控芯片技术的结合,使碳青霉烯酶基因的超高通量检测具有更加广阔的应用前景。虽然 PCR 技术具有很好的灵敏度与特异度,应用范

围广,为准确和及时鉴定耐药基因提供了可靠手段,但该方法只能检测特异性靶基因,对实验人员的操作水平和实验室安全等级要求较高,因此需要进一步优化以提高其普及性和实用性。

3.2 环介导等温扩增(LAMP)技术 LAMP 技术由 NOTOMI 研究团队于 2000 年首次提出,该技术通过设计 4 种特异性引物,在恒温条件下利用链置换 DNA 聚合酶实现目的基因片段的大量扩增,扩增产物可通过多种方法进行可视化检测,包括化学发光检测、浊度检测和琼脂糖凝胶电泳等^[31]。LAHIRI 等^[32]进一步拓展了 LAMP 技术的应用范围,成功实现了对 KPC、NDM、OXA-48、OXA-23、VIM 和 IMP 基因的检测,通过肉眼观察染料颜色变化即可判定检测结果。研究显示,该方法的结果与 PCR 方法相似^[33]。值得注意的是,WU 等^[34]将 LAMP 技术与微流控技术相结合,开发出一种新型碳青霉烯酶基因检测方法,该方法的优势在于可直接对脓毒症患者的血液样本进行检测,无需传统的细菌培养步骤,将检测时间从 24~48 h 缩短至 2 h,在及时调整治疗方案及控制进一步传播方面发挥了重要作用。目前,商品化 LAMP 试剂盒 Eazyplex SuperBug CRE 可用于检测 CTX-M-1 组和 CTX-M-9 组的超广谱 β-内酰胺酶基因,同时可以检测碳青霉烯酶基因变体包括 VIM(1-37)、NDM(1-7)、KPC 和 OXA-48-like(48、162、204、244)^[35]。LAMP 技术优势在于无需细菌培养增菌,可直接检测临床样本,且由于其等温反应特性,相较于 PCR,LAMP 在 DNA 样本损耗上更少,反应时间短且无需昂贵仪器设备,检测结果直观可见,更适合在基层医院和社区医疗机构推广应用。然而,由于 LAMP 技术高灵敏特性容易导致假阳性结果,在扩增之前加入有机添加剂(二甲基亚砜、甜菜碱、普鲁兰多糖)可避免带来的假阳性问题^[36]。同时,与常规 PCR 和荧光定量 PCR 相比,LAMP 技术在引物设计和实验操作方面要求更为严格,这在一定程度上限制了其应用范围^[37]。

3.3 规律间隔成簇短回文重复序列(CRISPR)/Cas CRISPR/Cas 系统是一种基因编辑技术,其编辑过程主要包括两部分:CRISPR 序列负责识别外源 DNA,而 Cas 蛋白则执行 DNA 或 RNA 的切割功能。根据结构和功能特征,Cas 蛋白可分为 Cas9、Cas12 和 Cas13 等多个亚型^[38]。在 crRNA 引导下,Cas 蛋白和靶序列特异性结合,激活切割活性后,能够非特异性地切割荧光素和淬灭剂标记的任一单链 DNA 探针,从而产生可检测的荧光信号^[39]。然而,单独使用 CRISPR/Cas 技术检测的灵敏度仍显不足,通常需要与核酸扩增技术联用以提升检测性能^[40]。例如,XU

等^[41]应用 LAMP-CRISPR/Cas12a 和侧流免疫层析技术(LFIA)结合(LAMP-CRISPR/Cas12a-LFIA)的方法,在不依赖细菌培养的条件下,对肺炎克雷伯菌中 KPC 和 NDM 的检测灵敏度可达 3×10^5 CFU/mL。Cas13a 蛋白在碳青霉烯酶检测领域也展现出独特的应用价值,不同于 Cas12a 蛋白与 dsDNA 的结合,Cas13a 以 ssRNA 为结合底物,在 crRNA 的引导下激活切割活性并启动非特异性切割实现信号放大。例如,应用 CRISPR/Cas13a 结合 PCR 和重组酶辅助扩增(RAA)引物的方法分别建立了荧光和侧流层析检测法,实验结果表明 PCR-CRISPR 检测限为 1 copy/ μ L, RAA-CRISPR 检测限为 10 copies/ μ L^[42]。CRISPR/Cas13a 结合核酸扩增技术、侧流层析技术使检测灵敏度提高,同时不需要大型仪器设备,更适合用于低收入国家或不发达地区进行病原体快速筛查和诊断。目前该技术已被广泛开发用于监测多种耐药菌,在未来的应用前景中值得期待^[43]。

3.4 基因芯片技术 基因芯片技术又称微阵列技术或 DNA 芯片技术,是一种基于已知序列核酸探针杂交原理的高通量核酸序列测定方法,不仅可以同时检测多种碳青霉烯酶基因,还能够区分其各种突变体。SONG 等^[44]研究人员利用该技术成功检测了 KPC、NDM-1、OXA-23、OXA-48、OXA-51、IMP、VIM 和 DIM 耐药基因,研究结果显示,该技术对 KPC、NDM-1、IMP、VIM 和 DIM 的检测灵敏度和特异度均达到 100%,对 KPC、OXA-23、OXA-48 和 OXA-51 的特异度和灵敏度达到 95% 以上。尽管基因芯片技术具有高通量、高特异度和高灵敏度等显著优势,但其需要

定制基因芯片,成本高、对操作人员的专业技术要求较高,限制了其在基层医疗机构的推广应用。

3.5 测序技术 测序技术是一种用于确定 DNA 或 RNA 分子中核苷酸排列顺序的技术,用于碳青霉烯酶检测的测序技术主要是二代测序(NGS)技术和三代测序技术。NGS 是基于“边合成边测序”的高通量测序方法,能够实现基因序列的高效读取。该方法不仅可以用于耐药基因检测,还能发现新型的耐药基因及预测菌体的耐药信息^[45]。然而,NGS 技术成本较高、对实验器材和实验室条件要求严格、操作流程复杂,限制了在普通实验室的推广应用。随着技术的不断改进,期待 NGS 技术在普通实验室中得到更广泛的应用,为临床诊断和耐药机制研究提供更便捷的技术支持。

纳米孔测序技术又被称为第三代测序技术,该方法采用电泳驱动原理,通过电场力驱动单个 DNA/RNA 分子逐一通过纳米孔,利用不同核苷酸通过纳米孔时产生的特征性电流变化,实时检测并记录电流信号,从而实现单分子水平的测序^[46]。DAVID 等^[47]基于该技术成功阐明了碳青霉烯酶基因通过质粒在细菌群体中传播的 3 种不同途径,这一发现凸显了在公共卫生和感染控制领域监测耐药质粒传播的重要性。纳米孔测序技术具有快速实时测序、可直接对 RNA 进行测序,实现超长读长等优点。然而,与 NGS 技术相比,纳米孔测序技术在测序准确率方面仍有待进一步提升。各类检测方法各有其优缺点,在临床应用过程中应结合实际情况选择合适的检测方法(表 1)。

表 1 碳青霉烯酶部分检测方法比较

分类	检测方法	检测原理	优点	缺点	参考文献
表型检测	Carba NP 试验	碳青霉烯酶可以水解亚胺培南使 pH 指示剂颜色发生变化	检测灵敏度和特异度均在 90% 以上	操作步骤烦琐,试剂需现配现用,对 OXA-48 检测灵敏度低、不能区分具体酶型	[9-10]
	CIM	碳青霉烯酶可以水解美罗培南使抑菌圈大小发生改变	操作简便、结果直观、成本低,灵敏度为 91.0%~94.0%,特异度为 99.0%~100.0%	样本需过夜孵育、对同时产金属酶和丝氨酸酶的菌株,因两种酶活性不同容易出现假阴性结果、不能区分具体酶型	[13]
	MALDI-TOF MS	利用碳青霉烯酶对碳青霉烯类抗菌药物的水解活性,评估其化学结构的完整性或直接检测菌落的蛋白特征峰	不仅能够区分酶型,还可进行碳青霉烯酶亚型的鉴定,灵敏度为 77.0%~100.0%,特异度为 94.0%~100.0%	数据库信息的不完善直接影响检测结果的判定	[15,17-18]
	GICA	抗原抗体结合反应	操作简便、检测时间短、可在常规实验室使用,灵敏度为 100.0%,特异度为 97.1%	成本高、结果主观性强	[20]

续表 1 碳青霉烯酶部分检测方法比较

分类	检测方法	检测原理	优点	缺点	参考文献
	流式细胞术	以荧光信号强度变化判断是否产碳青霉烯酶	检测效率高,对 KPC 的检测灵敏度和特异度分别为 95.3% 和 98.5%,对 OXA-48 的检测灵敏度和特异度分别 96.9% 和 98.0%	设备昂贵,检测结果容易受多种因素影响	[23-24]
基因型检测	PCR	基因扩增	检测灵敏度和检测特异度均为 100.0%	实验条件要求严格,检测时间较长,只能检测特征靶基因	[26-27]
	LAMP	基因扩增	检测时间短,结果直观,对 NDM、VIM、OXA-48、OXA-23 的检测灵敏度和特异度均在 95% 以上	易出现假阳性,对引物的设计要求严格	[31-32,34,36-37]
	CRISPR/Cas	基因检测	无需复杂仪器设备,应用场景广泛	单独应用该技术时对样本检测灵敏度低	[41]
	基因芯片技术	基因杂交	检测灵敏度和特异度均在 95% 以上	成本高,操作复杂,对实验人员要求高	[44]
	NGS 技术	基因测序	检测灵敏度和检测特异度高,可检测新的耐药基因型	成本高、操作复杂,需要专业的人员	[45]
	三代测序技术	基因测序	检测灵敏度和检测特异度高,可直接对 RNA 进行实时测序,可实现超长读长	检测准确率不如 NGS 技术,成本高、操作复杂,需要专业的人员	[46]

5 结语与展望

CRE 的快速传播和增殖已对全球公共卫生构成重大威胁,亟须引起高度重视。快速、准确地检测碳青霉烯酶对于指导临床精准使用抗菌药物和有效控制医院感染具有重要的实践意义。目前,碳青霉烯酶的检测方法主要分为表型检测和基因型检测两大类,表型检测方法经过不断改进,虽能有效识别和分类碳青霉烯酶,但仍存在检测周期长(通常需要过夜培养)、无法定量等局限性;基因型检测方法虽然能够精确鉴定碳青霉烯酶的基因,却面临着成本高昂、操作复杂等挑战。胶体金免疫层析法是目前在临床上应用最为广泛的检测方法,也是以菌落检测为基础的最快速的检测方法,在碳青霉烯酶的检测中展现出良好的应用前景^[48]。目前,也有多种新型检测方法及联合多种技术检测碳青霉烯酶方法的出现。例如,数字 PCR 技术、表面增强拉曼散射技术、免疫层析技术联合重组聚合酶扩增技术、PCR 与微流控芯片结合的使用等在碳青霉烯酶基因检测领域取得了显著成就^[49]。以上各种检测方法的优缺点及适用范围有所不同,因此在检测碳青霉烯酶时应考虑实验室条件、检测灵敏度、当地的经济水平、本地流行的耐药基因型等,在进行综合分析后最终选择合适的检测方法,以便早期、准确、快速地检测碳青霉烯酶。

参考文献

[1] AYOUB MOUBARECK C, HAMMOUDI HALAT D.

The collateral effects of COVID-19 pandemic on the status of carbapenemase-producing pathogens[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 823626.

[2] CHEN Y, HUANG J, DONG L, et al. Clinical and genomic characterization of carbapenem-resistant Enterobacterales bloodstream infections in patients with hematologic malignancies [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2024, 14: 1471477.

[3] KANJ S S, BASSETTI M, KIRATISIN P, et al. Clinical data from studies involving novel antibiotics to treat multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2022, 60(3): 106633.

[4] LEE Y L, CHEN H M, HII I M, et al. Carbapenemase-producing Enterobacterales infections: recent advances in diagnosis and treatment [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2022, 59(2): 106528.

[5] PAUDEL R, SHRESTHA E, CHAPAGAIN B, et al. Carbapenemase producing Gram negative bacteria; review of resistance and detection methods[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2024, 110(1): 116370.

[6] HU F, ZHU D, WANG F, et al. Current status and trends of antibacterial resistance in China [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67(Suppl_2): S128-S134.

[7] ZHANG R, LIU L, ZHOU H, et al. Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) strains in China [J]. *EBioMedicine*, 2017, 19: 98-106.

[8] PEIRANO G, PITOUT J D D. Rapidly spreading enterobacterales with OXA-48-like carbapenemases [J]. *J Clin*

- Microbiol, 2025, 63(2):e01515-e01524.
- [9] NORDMANN P, NAAS T, POIREL L. Global spread of carbapenemase-producing enterobacteriaceae [J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(10):1791-1798.
- [10] KOUR I, VASESI D, SINGHAL L, et al. Comparative evaluation of three phenotypic tests-carba NP, modified carba NP and rapidec carba NP test for rapid detection of carbapenem resistance in blood culture isolates of Escherichia coli in an ICU setting[J]. Malays J Med Sci, 2022, 29(6):60-66.
- [11] MCMULLEN A R, WALLACE M A, LABOMBARDI V, et al. Multicenter evaluation of the RAPIDEC® CARBA NP assay for the detection of carbapenemase production in clinical isolates of Enterobacterales and Pseudomonas aeruginosa [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020, 39(11):2037-2044.
- [12] VAN DER ZWALUW K, DE HAAN A, PLUISTER G N, et al. 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.
- [13] TAMMA P D, SIMNER P J. Phenotypic detection of carbapenemase-producing organisms from clinical isolates [J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(11):e01140-e01118.
- [14] HUMPHRIES R, BOBENCHIK A M, HINDLER J A, et al. Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100, 31st edition [J]. J Clin Microbiol, 2021, 59(12):e00213-e00221.
- [15] ASHFAQ M Y, DA'NA D A, AL-GHOUTI M A. Application of MALDI-TOF MS for identification of environmental bacteria: a review [J]. J Environ Manage, 2022, 305:114359.
- [16] HLEBA L, HLEBOVÁ M, KOVÁČIK A, et al. Carbapenemase producing Klebsiella pneumoniae (KPC): what is the best MALDI-TOF MS detection method [J]. Antibiotics, 2021, 10(12):1549.
- [17] CHEON D H, JANG H, CHOI Y K, et al. Clinical evaluation of advanced MALDI-TOF MS for carbapenemase subtyping in Gram-negative isolates [J]. J Clin Microbiol, 2025, 63(1):e01475-e01424.
- [18] COSTA A, FIGUEROA-ESPINOSA R, MARTÍNEZ J A, et al. MALDI-TOF MS-based KPC direct detection from patients' positive blood culture bottles, short-term cultures, and colonies at the hospital [J]. Pathogens, 2023, 12(7):865.
- [19] BOUVIER M, KERBOL A, FINDLAY J, et al. Resist Acinet rapid immunological test for the detection of acquired carbapenemase producers among Acinetobacter spp [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2023, 107(3):116043.
- [20] 张鸿娟, 孟雪斐, 宋贵波, 等. 胶体金免疫层析法在碳青霉烯酶检测中的价值及应用 [J]. 中国抗生素杂志, 2023, 48(1):115-121.
- [21] MCKINNON K M. Flow cytometry: an overview [J]. CP Immunology, 2018, 120(1):1934-3671.
- [22] MARTINS-OLIVEIRA I, PÉREZ-VISO B, SILVA-DIAS A, et al. Rapid detection of plasmid AmpC beta-lactamases by a flow cytometry assay [J]. Antibiotics, 2022, 11(8):1130.
- [23] KOÇER I, KARSLIGIL T, SAĞLAM M, et al. Evaluation of real-time PCR and flow cytometry efficiency in rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacterales [J]. J Infect Dev Ctries, 2023, 17(5):635-642.
- [24] PÉREZ-VISO B, MARTINS-OLIVEIRA I, GOMES R, et al. Performance of flow cytometry-based rapid assay in detection of carbapenemase-producing enterobacterales [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(14):7888.
- [25] FERJANI S, MAAMAR E, FERJANI A, et al. Evaluation of three carbapenemase-phenotypic detection methods and emergence of diverse VIM and GES variants among Pseudomonas aeruginosa isolates in Tunisia [J]. Antibiotics, 2022, 11(7):858.
- [26] POIREL L, WALSH T R, CUVILLIER V, et al. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011, 70(1):119-123.
- [27] SADEK M, DEMORD A, POIREL L, et al. Fast and reliable detection of carbapenemase genes in various Gram negatives using a new commercially available fluorescence-based real-time polymerase chain reaction platform [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2020, 98(3):115127.
- [28] ZHANG J, XU J, SHEN S, et al. Comparison of three colloidal gold immunoassays and GeneXpert Carba-R for the detection of Klebsiella pneumoniae bla(KPC-2) variants [J]. J Clin Microbiol, 2024, 62(7):e00154-e00124.
- [29] CAMÉLÉNA F, PÉAN DE PONFILLY G, PAILHORIÉS H, et al. Multicenter evaluation of the FilmArray blood culture identification 2 panel for pathogen detection in bloodstream infections [J]. Microbiol Spectr, 2023, 11(1):e02547-e02522.
- [30] YOSHIOKA N, HAGIYA H, DEGUCHI M, et al. Multiplex real-time PCR assay for six major carbapenemase genes [J]. Pathogens, 2021, 10(3):276.
- [31] GIERON M, ZARNOWIEC P, ZEGADŁO K, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA (LAMP) as an alternative method for determining bacteria in wound infections [J]. Int J Mol Sci, 2023, 25(1):411.
- [32] LAHIRI S, VENKATARAMAN R, JAGAN A, et al. Evaluation of LAMP-based assays for carbapenemase genes [J]. J Med Microbiol, 2019, 68(10):1431-1437.
- [33] 邹萍, 鲍俊峰, 臧嘉, 等. 可视化 LAMP 法检测耐碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌耐药基因 blaKPC-2 的初步应用 [J]. 检验医学, 2019, 34(1):56-59.
- [34] WU B, TONG X, CHEN B, et al. Development of mi-

- crofluidic chip-based loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for detection of carbapenemase producing bacteria[J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10(5): e00322-e00322.
- [35] SEKOWSKA A, BOGIEL T. The evaluation of eazyplex[®] SuperBug CRE assay usefulness for the detection of ES-*BLs* and carbapenemases genes directly from urine samples and positive blood cultures[J]. *Antibiotics*, 2022, 11(2):138.
- [36] KIM S H, LEE S Y, KIM U, et al. Diverse methods of reducing and confirming false-positive results of loop-mediated isothermal amplification assays; a review[J]. *Anal Chim Acta*, 2023, 1280:341693.
- [37] AKHMETZIANOVA L U, DAVLETKULOV T M, SAKHABUTDINOVA A R, et al. LAMPprimers iQ: new primer design software for loop-mediated isothermal amplification (LAMP) [J]. *Anal Biochem*, 2024, 684: 115376.
- [38] DAVIDSON A R, LU W T, STANLEY S Y, et al. Anti-CRISPRs: protein inhibitors of CRISPR-cas systems[J]. *Annu Rev Biochem*, 2020, 89:309-332.
- [39] PAUL B, MONTOYA G. CRISPR-Cas12a: functional overview and applications[J]. *Biomed J*, 2020, 43(1):8-17.
- [40] LEE H Y, MIN Y H, LEE D G, et al. CRISPR/Cas12a collateral cleavage-driven transcription amplification for direct nucleic acid detection[J/OL]. *Anal Chem*, 2024 (2024-06-17) [2025-06-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39018310/>.
- [41] XU H, TANG H, LI R, et al. A new method based on LAMP-CRISPR-Cas12a-lateral flow immunochromatographic strip for detection[J]. *Infect Drug Resist*, 2022, 15:685-696.
- [42] CAO Y, TIAN Y, HUANG J, et al. CRISPR/Cas13-assisted carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* detection[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2024, 57(1): 118-127.
- [43] LIANG M, XIAO B, CHEN L, et al. Rapid detection of bla (KPC) in carbapenem-resistant Enterobacterales based on CRISPR/Cas13a[J]. *Curr Microbiol*, 2023, 80(11):352.
- [44] SONG Y, DOU F, HE S, et al. Laboratory and clinical evaluation of DNA microarray for the detection of carbapenemase genes in gram-negative bacteria from hospitalized patients[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019:8219748.
- [45] FURUGAITO M, ANRAKU M, KAWAHARA R, et al. First report of New Delhi metallo- β -lactamase-1-producing *Acinetobacter soli* in Japan[J]. *J Infect Chemother*, 2023, 29(12):1177-1180.
- [46] PETERSEN L M, MARTIN I W, MOSCHETTI W E, et al. Third-generation sequencing in the clinical laboratory: exploring the advantages and challenges of nanopore sequencing[J]. *J Clin Microbiol*, 2019, 58(1): e01315-e01319.
- [47] DAVID S, COHEN V, REUTER S, et al. Integrated chromosomal and plasmid sequence analyses reveal diverse modes of carbapenemase gene spread among *Klebsiella pneumoniae* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(40):25043-25054.
- [48] 喻华, 徐雪松, 李敏, 等. 肠杆菌目细菌碳青霉烯酶的实验室检测和临床报告规范专家共识(第二版)[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2022, 22(4):463-474.
- [49] HEMWARANON P, SRISRATTAKARN A, LULITANOND A, et al. Recombinase polymerase amplification combined with lateral flow strip for rapid detection of OXA-48-like carbapenemase genes in Enterobacterales [J]. *Antibiotics*, 2022, 11(11):1499.
- (收稿日期:2025-06-02 修回日期:2025-10-20)
- (上接第 616 页)
- [16] ZHANG D, CUI F, ZHENG K, et al. Single-cell RNA sequencing reveals the process of CA19-9 production and dynamics of the immune microenvironment between CA19-9 (+) and CA19-9 (-) PDAC[J]. *Chin Med J*, 2024, 137(20):2415-2428.
- [17] DU W, XIA X, HU F, et al. Extracellular matrix remodeling in the tumor immunity[J]. *Front Immunol*, 2024, 14: 1340634.
- [18] JIANG X, ZHANG H, ZHANG H, et al. Microcystin-LR-induced interaction between M2 tumor-associated macrophage and colorectal cancer cell promotes colorectal cancer cell migration through regulating the expression of TGF- β 1 and CST3[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(13):10527.
- [19] ZHOU D, FAN X, XIE S, et al. Clinical application of serum CST4 combined with tumor markers in the diagnosis of digestive system malignant tumors[J]. *Oncol Lett*, 2024, 28(2):384.
- [20] HUANG M, YANG Z, REN J, et al. The diagnosis significance of serum cysteine protease inhibitors (CST4) in colorectal cancer[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2023, 22: 15330338231164232.
- [21] LI X, LIANG Y, LIAN C, et al. CST6 protein and peptides inhibit breast cancer bone metastasis by suppressing CTSB activity and osteoclastogenesis [J]. *Theranostics*, 2021, 11(20):9821-9832.
- (收稿日期:2025-06-05 修回日期:2025-11-10)