

· 专家论坛 ·

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）

喻 华¹, 徐雪松², 李 敏³, 杨启文⁴, 杨 青⁵, 张 嵘⁶, 褚云卓⁷, 单 斌⁸,
郭大文⁹, 胡志东¹⁰, 简 翠¹¹, 李 轶¹², 廖 康¹³, 刘根焰¹⁴, 季 萍¹⁵, 金 炎¹⁶,
倪语星¹⁷, 沈 瀚¹⁸, 苏丹虹¹⁹, 卓 超¹⁹, 王 辉²⁰, 魏莲花²¹, 俞云松²², 张 泓²³,
张利侠²⁴, 周铁丽²⁵, 朱 镭²⁶, 王明贵²⁷, 朱德妹²⁷, 胡付品²⁷

关键词： 肠杆菌目细菌； 碳青霉烯酶； Carba NP； 碳青霉烯灭活试验； 碳青霉烯酶抑制剂增强试验； 酶免疫层析技术； 分子检测技术； 专家共识

中图分类号： R378 **文献标识码：** C **文章编号：** 1009-7708(2022)04-0463-12

DOI: 10.16718/j.1009-7708.2022.04.014

Expert consensus statement on laboratory detection and clinical report of carbapenemase among *Enterobacterales* (second edition)

YU Hua, XU Xuesong, LI Min, YANG Qiwen, YANG Qing, ZHANG Rong, CHU Yunzhuo, Shan Bin, GUO Dawen, HU Zhidong, JIAN Cui, LI Yi, LIAO Kang, LIU Genyan, JI Ping, JIN Yan, NI Yuxing, SHEN Han, SU Danhong, ZHUO Chao, WANG Hui, WEI Lianhua, YU Yunsong, ZHANG Hong, ZHANG Lixia, ZHOU Tielu, ZHU Lei, WANG Minggui, ZHU Demei, HU Fupin (Department of Laboratory Medicine, Sichuan Provincial People's Hospital, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610072, China)

当前，细菌耐药已成为全球公共健康领域的重大挑战，其中尤以碳青霉烯类耐药肠杆菌目细

菌（carbapenem-resistant *Enterobacterales*, CRE）引起的感染形势最为严峻。碳青霉烯类抗生素包

基金项目：上海市2021年度“科技创新行动计划”技术标准项目（21DZ2200800），上海市公共卫生体系建设三年行动（2020-2022年）学科带头人项目（GWV-10.2-XD02）。

作者单位：1. 四川省医学科学院·四川省人民医院临床医学检验中心，成都 610072；

2. 吉林大学中日联谊医院；

3. 上海交通大学医学院附属仁济医院；

4. 北京协和医院；

5. 浙江大学医学院附属第一医院；

6. 浙江大学医学院附属第二医院；

7. 中国医科大学第一附属医院；

8. 昆明医科大学附属第一医院；

9. 哈尔滨医科大学附属第一医院；

10. 天津医科大学总医院；

11. 华中科技大学同济医学院附属同济医院；

12. 河南省人民医院；

13. 中山大学附属第一医院；

14. 江苏省人民医院；

15. 新疆医科大学附属第一医院；

16. 山东省立医院；

17. 上海交通大学医学院附属瑞金医院；

18. 南京大学医学院附属鼓楼医院；

19. 广州医科大学附属第一医院；

20. 北京大学人民医院；

21. 甘肃省人民医院；

22. 浙江大学医学院附属邵逸夫医院；

23. 上海市儿童医院；

24. 陕西省人民医院；

25. 温州医科大学附属第一医院；

26. 山西省儿童医院；

27. 复旦大学附属华山医院。

第一作者简介：喻华（1967—），女，大学本科，主任技师，主要从事临床微生物检验和细菌耐药监测研究。

通信作者：胡付品，E-mail: hufupin@fudan.edu.cn。

括亚胺培南、美罗培南和厄他培南等,是治疗多重耐药革兰阴性杆菌所致感染最有效的抗菌药物之一。随着该类药物在临床的广泛使用,CRE 菌株的检出率呈逐年快速上升趋势。CHINET 中国细菌耐药监测网历年监测结果显示^[1-2],我国临床分离肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗生素的耐药率从 2005 年的 3% 快速攀升至 2021 年的 23% 以上,上升幅度高达 8 倍。2021 年全国细菌耐药监测网(CARSS)数据显示,全国 1 429 所医院临床分离的肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗生素的平均耐药率为 11.3%,部分省市甚至超过 20%^[3]。由于 CRE 菌株通常还携带对其他抗菌药物耐药的基因,对抗菌药物呈广泛耐药甚至全耐药,使临床的抗感染治疗面临无药可用的困境^[4]。为规范当前实验室检测碳青霉烯酶的方法和临床报告,上海市微生物学会微生物耐药防控专委会、CHINET 中国细菌耐药监测网和上海市细菌真菌耐药监测网组织专家对上述问题进行了讨论,撰写了专家共识并对实验室检测碳青霉烯酶的方法进行了推荐,以期各级医疗机构或科研院所开展碳青霉烯酶的检测提供指导。

与第一版相比,第二版更新主要要点如下:①细化了一些检测方法,包括改良碳青霉烯灭活试验(mCIM)和 EDTA 改良碳青霉烯灭活试验(eCIM)以及碳青霉烯酶抑制剂增强试验;②新增不常见检测结果解决方案,因新出现的一些碳青霉烯酶基因亚型如 KPC 新亚型可能导致常规检测方法出现假阴性结果;③新增不同方法推荐级别定义的描述;④更新碳青霉烯酶的实验室检测及结果报告和解释流程图;⑤新增碳青霉烯酶表型和基因型检测报告参考图示;⑥新增酶免疫层析技术快速检测碳青霉烯酶方法介绍及结果图示;⑦新增宏基因组二代测序(metagenomics next generation sequencing, mNGS)技术检测碳青霉烯酶基因的介绍;⑧删除 OXA-48 型碳青霉烯酶表型检测方法和图示;⑨更新部分参考文献。

1 CRE 的定义

美国疾病预防控制中心关于 CRE 的定义^[5]为满足以下任意一个条件:①对亚胺培南、美罗培南、厄他培南或多利培南任何一种碳青霉烯类抗生素耐药者。对于天然对亚胺培南敏感性降低的细菌(如摩根菌属、变形杆菌属和普罗威登菌属等),需参考除亚胺培南外的其他碳青霉烯类抗生

素的药敏结果。②产生碳青霉烯酶。

2 CRE 的耐药机制

产生碳青霉烯酶是肠杆菌目细菌对碳青霉烯类药物耐药最主要的机制^[6]。按照 Ambler 分子分类方法,碳青霉烯酶可分为 A、B、D 三类。A 类为丝氨酸碳青霉烯酶,以 *bla*_{KPC} (*bla*_{KPC-2}~*bla*_{KPC-108})、*bla*_{SME} (*bla*_{SME-1}~*bla*_{SME-5})、*bla*_{IMI} (*bla*_{IMI-1}~*bla*_{IMI-23})、*bla*_{NMC} 和 *bla*_{GES} (*bla*_{GES-1}~*bla*_{GES-51}) 型为主;B 类为金属 β 内酰胺酶,以 *bla*_{NDM} (*bla*_{NDM-1}~*bla*_{NDM-41})、*bla*_{IMP} (*bla*_{IMP-1}~*bla*_{IMP-91})、*bla*_{VIM} (*bla*_{VIM-1}~*bla*_{VIM-79})、*bla*_{GIM} (*bla*_{GIM-1}~*bla*_{GIM-2}) 和 *bla*_{SPM} 型为主;D 类为 OXA-48 型丝氨酸碳青霉烯酶,以 *bla*_{OXA-181} 和 *bla*_{OXA-232} 为主。除产生碳青霉烯酶外,少数菌株对碳青霉烯类药物耐药的机制是产生超广谱 β 内酰胺酶和 / 或 AmpC 酶合并外膜孔蛋白表达下调或缺失。

3 碳青霉烯酶分布特征

不同国家、不同地区、不同医院、不同人群以及不同细菌所产的碳青霉烯酶种类均有差异^[7-9]。我国临床分离的 CRE 菌株产生的碳青霉烯酶以 KPC 和 NDM 型为主,少数菌株产生 OXA-48、IMP 和 VIM 型碳青霉烯酶^[10-12]。KPC-2 型酶为 KPC 型碳青霉烯酶最主要的亚型,NDM-1 和 NDM-5 是 NDM 型金属酶中最主要的亚型,而 OXA-181 和 OXA-232 型酶是 OXA-48 型碳青霉烯酶中最主要的亚型。CHINET 中国细菌耐药监测网对 2018 年收集自全国 39 所医院 935 株 CRE 菌株的研究结果显示,产 KPC、NDM 和 OXA-48 型碳青霉烯酶菌株所占比例分别为 51.6% (482/935)、35.7% (334/935) 和 7.3% (68/935),其中少数菌株同时产多种碳青霉烯酶。儿童和成人患者分离的碳青霉烯类耐药菌株产生的碳青霉烯酶型别有所差异,儿童分离的碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌主要产生 KPC、NDM 和 OXA-48 型碳青霉烯酶,而成人分离株主要产 KPC 型碳青霉烯酶;但儿童和成人患者分离的碳青霉烯类耐药大肠埃希菌均主要产生 NDM 型金属 β 内酰胺酶。现有研究结果显示,近 2 年来产 KPC 型碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌在治疗过程中快速发生突变而导致抗感染治疗失败,是当前全球公共卫生亟需重点关注的新挑战。美国国家生物信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库显

示, 2020 年至今国际上新发现的基于 *bla*_{KPC-2} 或 *bla*_{KPC-3} 突变而出现的 KPC 新亚型基因如 *bla*_{KPC-33} 和 *bla*_{KPC-51} 等的数量超过之前 2017 年所报道数量的总和 (56 种对 42 种)。

4 碳青霉烯酶检测的临床意义

由于不同种类的抗菌药物对产生不同碳青霉烯酶菌株的体外抗菌活性不同, 准确、快速地对 CRE 产生的碳青霉烯酶进行检测并分型, 对于临床抗感染治疗的精准用药和医院感染预防控制具有重要的价值^[13-15]。如头孢他啶-阿维巴坦^[16-17], 对产 KPC 和 OXA-48 型丝氨酸碳青霉烯酶菌株具有高度抗菌活性, 但对产金属 β 内酰胺酶菌株无抗菌活性。目前处于临床研究阶段的美罗培南-韦博巴坦 (meropenem-vaborbactam)^[18-19] 和亚胺培

南-瑞来巴坦 (imipenem-relebactam)^[20], 对产 KPC 型碳青霉烯酶菌株具有高度抗菌活性, 但对产金属 β 内酰胺酶和 D 类 OXA-48 型碳青霉烯酶菌株无抗菌活性。此外, 尚有多种新型碳青霉烯酶抑制剂正处于临床研究阶段, 未来将会陆续上市用于临床治疗产碳青霉烯酶菌株所致感染的药物, 如 enmetazobactam^[21]、taniborbactam^[22-24] 和齐达巴坦 (zidebactam)^[25-27] 等。此外, 实验室亦可根据不同碳青霉烯酶的特征, 如金属 β 内酰胺酶不能水解氨曲南, KPC 型碳青霉烯酶的活性可被阿维巴坦、韦博巴坦或瑞来巴坦抑制, 被克拉维酸弱抑制, 通过开展联合药敏试验制定精准的抗感染治疗方案^[28-29]。目前已上市及处于临床研究阶段的不同碳青霉烯酶抑制剂的抑酶活性见表 1。

表 1 不同酶抑制剂的抑酶活性

酶抑制剂种类	化学结构分类	抑酶效果 是否可逆	抑制的 β 内酰胺酶种类							
			青霉素酶和 广谱酶	ESBL	A 类			B 类 金属酶	C 类 头孢菌素酶	D 类 OXA-48
					丝氨酸碳青霉烯酶					
					KPC	NMC-A	SME			
克拉维酸 他唑巴坦 舒巴坦	有 β 内酰胺环结构	否	√	√	×	×	×	×	×	×
阿维巴坦	三乙烯二胺类	是	√	√	√	√	√	×	√	√
韦博巴坦	硼酸复合物	是	√	√	√	√	√	×	√	×
瑞来巴坦	三乙烯二胺类	是	√	√	√	√	√	×	√	×
Enmetazobactam	青霉烷砜	否	√	√	×	×	×	×	×	×
Taniborbactam	双环硼酸酯	是	√	√	√	√	√	√	√	√
Zidebactam	二氮杂环辛烷	是	√	√	√	√	√	√	√	√

此表内容来自① Bush K, et al. Nat Rev Microbiol, 2019, 17(5): 295-306; ② β 内酰胺类抗生素- β 内酰胺酶抑制剂复方制剂临床应用专家共识. 中华医学杂志, 2020, 100(10): 738-747。

√: 有活性; ×: 无活性。

5 碳青霉烯酶的实验室检测

目前实验室检测碳青霉烯酶的方法分为表型检测和基因型检测。表型检测方法包括 Carba NP 试验^[30-32]、mCIM 和 eCIM^[30, 33-34]、碳青霉烯酶抑制剂增强试验^[35-40] 和时间飞行质谱技术等^[41-45]; 基因型检测方法包括酶免疫层析技术^[46-48] 和分子检测技术^[49-50]。执行上述碳青霉烯酶检测方法时, 均需按要求选择相应的阳性和阴性质控菌株进行质控, 以确保检测方法的可靠性。下文简单介绍目前临床微生物实验室较为常用的碳青霉烯酶检测方法的原理、结果判读、检测性能以及优缺点等, 以供不同层次的实验室根据实际情况选择合适的

检测方法。不同碳青霉烯酶实验室检测方法比较见表 2。

推荐级别说明: 表 2 中的方法学推荐级别基于实验室操作便捷程度、检测结果一致性、试剂价格以及是否有注册证等因素综合判定。

5.1 Carba NP 试验

美国临床和实验室标准化协会 (CLSI) 于 2015 年推荐 Carba NP 试验检测肠杆菌目细菌和铜绿假单胞菌产生的碳青霉烯酶^[30]。Carba NP 试验具体操作步骤可参考最新版 CLSI M100 文件要求。该试验原理为细菌产生的碳青霉烯酶可以水解亚胺培南, 导致溶液 pH 值改变而发生颜色变化。研究显示^[31-32], Carba NP 试验检测碳青霉烯

表 2 不同碳青霉烯酶检测方法原理、适用标本、检测时间、结果报告及其优缺点

方法	原理	标本	时间	结果报告	优点	缺点	推荐级别
表型检测方法							
Carba NP	碳青霉烯酶可水解亚胺培南	碳青霉烯类非敏感的肠杆菌目细菌和铜绿假单胞菌	4~6 h	阳性：碳青霉烯酶阳性 阴性：碳青霉烯酶阴性	快速	需特殊试剂，其中一些需自制（有效期短） 一些分离株会出现无效结果 可能无法检测某些类型碳青霉烯酶（如染色体介导 OXA 型）	推荐（低）
mCIM 和 eCIM	碳青霉烯酶可水解美罗培南，以及 EDTA 可抑制金属 β 内酰胺酶的活性	碳青霉烯类非敏感的肠杆菌目细菌和铜绿假单胞菌	18~20 h	阳性：丝氨酸碳青霉烯酶或金属 β 内酰胺酶阳性 阴性：碳青霉烯酶阴性	需特殊试剂或培养基	需过夜培养，如果一株细菌同时产生丝氨酸型碳青霉烯酶和金属 β 内酰胺酶，由于两种酶特征不同将导致结果出现假阴性	推荐（高）
碳青霉烯酶抑制剂增强试验	3-氨基苯硼酸和 EDTA 可分别抑制 A 类丝氨酸碳青霉烯酶和 B 类金属 β 内酰胺酶的活性	碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌	18~20 h	阳性：A 类丝氨酸碳青霉烯酶、金属 β 内酰胺酶阳性或 A 类丝氨酸碳青霉烯酶和金属 β 内酰胺酶均阳性 阴性：碳青霉烯酶阴性	需特殊试剂	需过夜培养，不能检测 D 类 OXA-48 型碳青霉烯酶	推荐（高）
MALDI-TOF MS	检测耐药菌株的蛋白特征峰，或分析碳青霉烯类药物化学结构的完整性	碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌	20 min	阳性：碳青霉烯酶阳性 阴性：碳青霉烯酶阴性	快速	需自配抗菌药物溶液	不推荐 ^a
基因型检测方法							
酶免疫层析（金标法） ^b	抗原抗体结合技术	碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌	15 min	阳性：报告检测到的碳青霉烯酶基因，如 KPC 型碳青霉烯酶阳性 阴性：碳青霉烯酶阴性	快速，除明确是否存在碳青霉烯酶外，还能明确碳青霉烯酶基因型	需要特殊的试剂，检测特异性靶基因；若待测基因与目标基因不同，呈假阴性结果	推荐（中）
Filmarray [®] 血培养鉴定试剂盒	荧光定量 PCR	碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌或阳性血培养标本	1 h	阳性：报告检测到的碳青霉烯酶基因，如 KPC 型碳青霉烯酶阳性 阴性：碳青霉烯酶阴性	快速，除明确是否存在碳青霉烯酶外，还能明确碳青霉烯酶基因型	需要特殊的试剂和设备	不推荐 ^a
Verigene [®] 革兰阴性菌血培养鉴定试剂盒	荧光定量 PCR	碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌或阳性血培养标本	1 h	阳性：报告检测到的碳青霉烯酶基因，如 KPC 型碳青霉烯酶阳性、NDM 型碳青霉烯酶阳性 阴性：碳青霉烯酶阴性	快速，除明确是否存在碳青霉烯酶外，还能明确碳青霉烯酶基因型	需要特殊的试剂和设备，检测特异性靶基因；若待测基因与目标基因不同，呈假阴性结果	不推荐 ^a
GeneXpert [®] Carba-R	荧光定量 PCR	碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌或直肠拭子标本	1 h	阳性：报告检测到的碳青霉烯酶基因，如 KPC 型碳青霉烯酶阳性、NDM 型碳青霉烯酶阳性 阴性：碳青霉烯酶阴性	快速，除明确是否存在碳青霉烯酶外，还能明确碳青霉烯酶基因型	需要特殊的试剂和设备，检测特异性靶基因；若待测基因与目标基因不同，呈假阴性结果	推荐（中） ^c
宏基因组二代测序（mNGS）	DNA 测序	临床感染标本	24~72 h	阳性：报告检测到的碳青霉烯酶基因，如 KPC 型碳青霉烯酶阳性、NDM 型碳青霉烯酶阳性 阴性：碳青霉烯酶阴性	灵敏度高，可覆盖目前已报道的所有碳青霉烯酶基因	需要特殊的试剂和设备，对技术人员要求高，结果解读难	常规不推荐

^a 该产品当前无注册证或当前仅限于科研研究。^b 使用前应详细阅读产品说明书，以了解试剂可检测碳青霉烯酶基因种类及适用样本。^c 标本直接检测时首选。

酶(包括产 KPC、NDM、VIM、IMP、SPM 和/或 SME 型碳青霉烯酶菌株)的灵敏度和特异度均超过 90%。Carba NP 试验具有操作简单和快速的特点(4~6 h),适合所有临床微生物实验室开展。缺点是需特殊试剂(如七水硫酸锌溶液和酚红溶液),其中一些需自制(有效期短,如含亚胺培南的 Carba NP B 液);一些分离株会出现无效结果;可能无法检测某些类型碳青霉烯酶(如染色体介导 OXA 型碳青霉烯酶)。

5.2 改良碳青霉烯酶灭活试验

CLSI 推荐 mCIM 和 eCIM 用于肠杆菌目细菌和铜绿假单胞菌中碳青霉烯酶的检测^[30]。mCIM 和 eCIM 具体操作步骤可参考最新版 CLSI M100 文件要求。其原理是将美罗培南与受试菌悬液混合,若受试菌产生碳青霉烯酶,可破坏美罗培南的抗菌活性;否则美罗培南仍可保持其对大肠埃希菌 ATCC 25922 的抗菌活性。根据金属 β 内酰胺酶活性可被 EDTA 抑制的特点, mCIM 和 eCIM 两种方法联合可区分细菌产生的丝氨酸碳青霉烯酶或金属 β 内酰胺酶。mCIM 可用于检测肠杆菌目细菌和铜绿假单胞菌中的碳青霉烯酶,而 mCIM 联合 eCIM 仅适用于肠杆菌目细菌以区分其产生的碳青霉烯酶类型(丝氨酸碳青霉烯酶或金属 β 内酰胺酶)。研究显示^[33-34], mCIM 检测肠杆菌目细菌和铜绿假单胞菌中碳青霉烯酶的灵敏度和特异度均超过 97%; mCIM 检测不动杆菌属细菌实验室间的特异性和重复性均较差,方法未获得 CLSI 认可。eCIM 区分肠杆菌目细菌中金属 β 内酰胺酶和丝氨酸型碳青霉烯酶的灵敏度 >95%、特异度 >92%。mCIM 和 eCIM 具有操作简单、无需特殊试剂和成本低的特点,适合所有临床微生物实验室开展。缺点是需过夜孵育,耗时长,需自配试剂(如 0.5 mol/L EDTA 溶液),且不能检测同时产 A 类和 B 类碳青霉烯酶的菌株。

5.3 碳青霉烯酶抑制剂增强试验

根据 A 类丝氨酸碳青霉烯酶的活性可被 3-氨基苯硼酸(3-aminophenylboronic acid hydrochloride, APB)抑制^[35],而金属 β 内酰胺酶的活性可被 EDTA 抑制的特点^[36-39], APB 联合 EDTA 可对单产 A 类丝氨酸碳青霉烯酶、单产 B 类金属 β 内酰胺酶以及同时产生 A 类丝氨酸碳青霉烯酶和 B 类金属 β 内酰胺酶的肠杆菌目细菌进行检测并区分^[40],具体实验操作步骤见附件 1。研究显示,碳青霉烯酶抑制剂增强试验检测单产

KPC 或金属酶菌株的灵敏度均为 100%,检测同时产 KPC 和金属酶菌株的灵敏度为 96.8%,特异度为 98.8%^[40]。该方法具有操作简单、结果容易阅读以及可检测单产或同时产不同类型碳青霉烯酶的特点,适合所有临床微生物实验室开展,但缺点是需特殊试剂(需自配或购买商品化的 EDTA 溶液和 APB 溶液)、耗时长以及不能检测 OXA-48 型碳青霉烯酶。

5.4 质谱技术

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)是近年来发展的简便、快速、准确的病原微生物鉴定方法。质谱技术通过比较不同细菌间质谱峰强度差异,可快速对碳青霉烯类耐药细菌进行检测;或者基于碳青霉烯酶水解碳青霉烯类抗生素而使药物的特异峰发生改变的特点进行检测^[41-45]。质谱技术虽然可快速检测碳青霉烯酶的种类,但缺点是日前仅对某种碳青霉烯酶有为数不多的研究且并无统一可行的方法,而酶水解法需要配制抗菌药物溶液作为底物与待测菌进行共孵育(孵育时间约 1~2.5 h),操作较繁琐,不适用于临床微生物实验室常规开展,目前大多用于科学研究。

5.5 酶免疫层析技术

利用抗原抗体免疫层析技术快速检测肠杆菌目细菌和铜绿假单胞菌中的碳青霉烯酶,是近年发展起来的以细菌菌落为基础的检测方法中最快速的检测技术^[46-47]。该方法操作简单(不同产品实验操作步骤需参考产品说明书),加样后测试条上相应区域标记线条出现红色(除外对照线条),提示该菌产生所对应的碳青霉烯酶,具体实验操作步骤可参考附件 2。目前该测试条最多可同时快速检测 KPC、NDM、OXA-48、VIM 和 IMP 等 5 种碳青霉烯酶基因。与测序方法相比,酶免疫层析技术检测碳青霉烯酶基因的灵敏度和特异度均在 90% 以上^[48]。酶免疫层析技术具有操作简单、快速及结果容易判读的优点,但缺点是价格较高,各实验室可根据自身条件有选择性地开展碳青霉烯酶的检测,如对从高危患者(免疫抑制患者或骨髓移植患者等)标本中分离的 CRE 菌株进行碳青霉烯酶基因的快速检测,以协助临床尽早启动有针对性的抗感染治疗方案。

5.6 碳青霉烯酶分子检测技术

5.6.1 碳青霉烯酶靶基因检测技术

分子检测技术可直接快速检测临床标本如直肠拭子中 CRE

菌株中的碳青霉烯酶基因。如 GeneXpert^[49-50]、Verigene^[51] 和 Filmarray^[52] 等系统采用荧光定量 PCR 技术对主要的碳青霉烯酶基因包括 KPC、NDM、IMP、VIM 和 OXA-48 等进行检测, 检测时间一般在 1 h 左右, 检测灵敏度和特异度可达 96% 以上。分子检测技术具有快速(可直接从标本中检测)和结果容易判读的优点, 但缺点是价格昂贵, 各实验室可根据自身条件有选择性地开展碳青霉烯酶的检测。比如对于高危患者(免疫抑制患者或骨髓移植患者等)分离 CRE 菌株碳青霉烯酶基因的快速检测, 以协助临床尽早启动有针对性的抗感染治疗方案。

5.6.2 mNGS 技术 mNGS 技术因可对未知的病原体 and 耐药基因进行检测, 是当前临床应对非培养、难培养和少见病原菌检测的重要可选技术之一。近年来, mNGS 亦开始进行样本中病原菌耐药基因的检测, 包括碳青霉烯酶基因。但在采用 mNGS 检测样本中病原菌的碳青霉烯酶时, 应明确为感染样本以及需要明确耐药基因与病原菌的对应关系。虽然 mNGS 技术可覆盖多种病原体和耐药基因, 尤其是未知基因, 但由于其高灵敏度的特点, 也带来了结果解读的难题, 且价格仍比较昂贵。

6 不常见结果解决方案

目前我国临床分离 CRE 菌株产生的 KPC 型碳青霉烯酶基因以 *bla*_{KPC-2} 为主, 但随着新型碳青霉烯酶抑制剂复方制剂在临床的广泛应用, CRE 菌株为适应强大的压力环境变化, 快速发生突变出现新的 KPC 基因亚型, 导致治疗失败, 其中以肺炎克雷伯菌为代表。现有研究结果显示, 自 2020 年以来国际上新报道的新 KPC 基因亚型呈爆发式增长。新的 KPC 基因亚型如 *bla*_{KPC-33}、*bla*_{KPC-51}、*bla*_{KPC-76} 和 *bla*_{KPC-79} 等的出现, 可使实验室常用碳青霉烯酶检测方法包括 mCIM、碳青霉烯酶抑制剂增强试验和酶免疫层析技术出现假阴性结果^[53], 需要引起实验室和临床高度重视。当药敏试验确认为 CRE 但常见碳青霉烯酶检测结果呈“阴性”时, 为明确该菌株是否产生碳青霉烯酶, 可采用 GeneXpert Carba-R 或基于 PCR 的 DNA 测序或 mNGS 技术进行验证, 以明确基因亚型。

7 碳青霉烯酶的实验室检测及结果报告和解释流程图

以临床分离的细菌为样本和以临床标本为样本的检测流程见图 1。

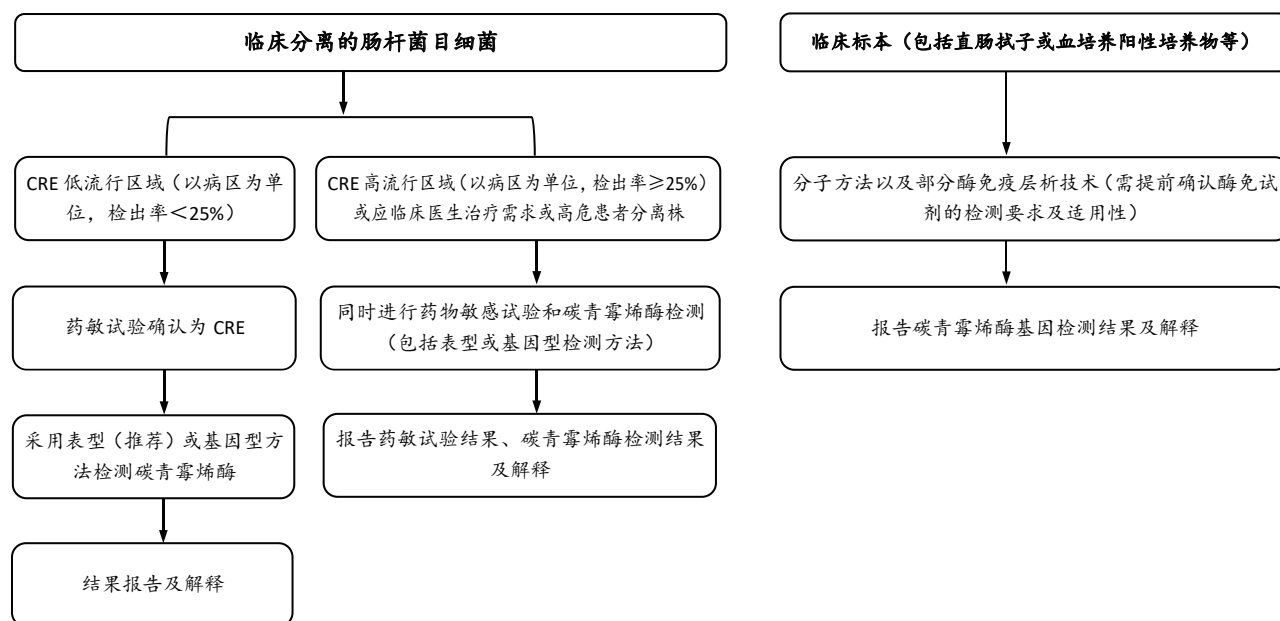


图 1 碳青霉烯酶检测及结果报告流程

7.1 报告模式

如以细菌为样本进行检测, 建议与细菌鉴定及药敏试验结果同时报告。除按要求提供一般细菌鉴

定和药敏试验报告规定的信息外, 碳青霉烯酶检测报告信息包括①检测方法: 表型或基因型检测方法; ②检测结果报告及解释: 如采用 mCIM 和 eCIM 方

法需同时报告“阳性”或“阴性”检测结果并判断该菌所产碳青霉烯酶种类；如采用碳青霉烯酶抑制剂增强试验可直接报告最终检测结果，或同时报告纸片抑菌圈直径并判断该菌所产碳青霉烯酶种类；如采用免疫层析或分子检测技术，直接报告检测到的碳青霉烯酶基因型；③碳青霉烯酶表型或基因型检测结果解释等，参考表 3。

如以临床标本或细菌（少数情况可能在药敏试验前即以菌株直接检测以早期指导临床抗感染治疗）直接检测碳青霉烯酶基因，可以单独报告检测结果，报告信息包括①患者姓名、年龄、性别、科室、标本类型；②临床诊断；③检测目的：评估治疗效果、去定植或基于感染控制目的；④基因型检测方法、结果解释。参考表 3。

表 3 碳青霉烯酶检测结果报告及解释参考

检测方法	结果报告	结果解释
表型检测	A 类丝氨酸碳青霉烯酶阳性	以 KPC 型碳青霉烯酶为主。产酶菌株通常仅对替加环素、多黏菌素、头孢他啶-阿维巴坦、氨曲南-阿维巴坦和美罗培南-韦博巴坦等敏感
	B 类金属 β 内酰胺酶阳性	以 NDM 型金属酶为主。产酶菌株通常仅对替加环素、多黏菌素和氨曲南-阿维巴坦等敏感，少数单产金属酶菌株对氨曲南敏感
	D 类丝氨酸碳青霉烯酶阳性	以 OXA-48 型碳青霉烯酶为主（包括 OXA-181 和 OXA-232）。产酶菌株通常仅对替加环素、多黏菌素、头孢他啶-阿维巴坦和氨曲南-阿维巴坦敏感
基因型检测	A 类：KPC、SME、IMI、NMC、GES 等	A 类碳青霉烯酶。产酶菌株通常仅对替加环素、多黏菌素、头孢他啶-阿维巴坦、氨曲南-阿维巴坦和美罗培南-韦博巴坦等敏感
	B 类：NDM、IMP、VIM、GIM、SPM 等	B 类金属 β 内酰胺酶。产酶菌株通常仅对替加环素、多黏菌素和氨曲南-阿维巴坦等敏感，少数单产金属酶菌株对氨曲南敏感
	D 类：OXA-48	D 类碳青霉烯酶。产酶菌株通常仅对替加环素、多黏菌素、头孢他啶-阿维巴坦和氨曲南-阿维巴坦敏感

碳青霉烯酶表型和基因型检测报告格式参考图 3~6，包括采用表型（图 3、图 4）或基因型（图 5、图 6）检测结果报告格式，以及是否进行

替加环素、多黏菌素和头孢他啶-阿维巴坦药敏试验时的不同报告格式（图 3~6）。

XX 医院检验报告单

姓名：	XXX	病区：	10 病区	病历号：	888888	样本编号：	03
性别：	男	科室：	ICU	临床诊断：	肺炎	条形码：	37260223
年龄：	58	床号：	18	送检医生：	XXX	标本种类：	痰

检验结果：肺炎克雷伯菌。

碳青霉烯酶检测结果：A 类丝氨酸碳青霉烯酶阳性，以 KPC 型碳青霉烯酶为主。该酶活性可被阿维巴坦抑制；产酶菌株通常仅对替加环素、多黏菌素、头孢他啶-阿维巴坦、氨曲南-阿维巴坦和美罗培南-韦博巴坦等敏感。

药敏试验结果：

序号	抗菌药物	判断标准	抑菌圈直径 (mm)	结果解释	序号	抗菌药物	判断标准	抑菌圈直径 (mm)	结果解释
1	厄他培南	$\leq 18R, \geq 22S$	6	耐药	11	氨曲南	$\leq 17R, \geq 21S$	6	耐药
2	亚胺培南	$\leq 19R, \geq 23S$	6	耐药	12	阿米卡星	$\leq 14R, \geq 17S$	6	耐药
3	美罗培南	$\leq 19R, \geq 23S$	6	耐药	13	庆大霉素	$\leq 12R, \geq 15S$	6	耐药
4	头孢吡肟	$\leq 18R, \geq 25S$	6	耐药	14	环丙沙星	$\leq 21R, \geq 26S$	6	耐药
5	头孢他啶	$\leq 17R, \geq 21S$	6	耐药	15	左氧氟沙星	$\leq 16R, \geq 21S$	6	耐药
6	头孢噻肟	$\leq 22R, \geq 26S$	6	耐药	16	甲氧苄啶-磺胺甲噁唑	$\leq 10R, \geq 16S$	6	耐药
7	头孢呋辛	$\leq 14R, \geq 18S$	6	耐药	17	磷霉素	$\leq 12R, \geq 16S$	16	敏感
8	头孢唑林	$\leq 19R, \geq 23S$	6	耐药					
9	头孢哌酮-舒巴坦	$\leq 15R, \geq 21S$	6	耐药					
10	哌拉西林-他唑巴坦	$\leq 17R, \geq 21S$	6	耐药					

采样时间：2021.3.13 10:13:18；接收时间：2021.3.13 10:13:38；报告时间：2021.3.15 9:08:13

本检验结果仅对该标本负责；检验者：XXX；审核者：XXX

图 3 碳青霉烯酶表型检测报告格式参考图示（未开展替加环素、多黏菌素和头孢他啶-阿维巴坦药敏试验）

XX 医院检验报告单

姓名：	XXX	病区：	10 病区	病历号：	888888	样本编号：	03
性别：	男	科室：	ICU	临床诊断：	肺炎	条形码：	37260223
年龄：	58	床号：	18	送检医生：	XXX	标本种类：	痰

检验结果：肺炎克雷伯菌。

碳青霉烯酶检测结果：A 类丝氨酸碳青霉烯酶阳性，以 KPC 型碳青霉烯酶为主。

药敏试验结果：

序号	抗菌药物	判断标准	抑菌圈直径 (mm)	结果解释	序号	抗菌药物	判断标准	抑菌圈直径 (mm)	结果解释
1	厄他培南	≤18R, ≥22S	6	耐药	11	氨曲南	≤17R, ≥21S	6	耐药
2	亚胺培南	≤19R, ≥23S	6	耐药	12	阿米卡星	≤14R, ≥17S	6	耐药
3	美罗培南	≤19R, ≥23S	6	耐药	13	庆大霉素	≤12R, ≥15S	6	耐药
4	头孢吡肟	≤18R, ≥25S	6	耐药	14	环丙沙星	≤21R, ≥26S	6	耐药
5	头孢他啶	≤17R, ≥21S	6	耐药	15	左氧氟沙星	≤16R, ≥21S	6	耐药
6	头孢噻肟	≤22R, ≥26S	6	耐药	16	甲氧苄啶-磺胺甲噁唑	≤10R, ≥16S	6	耐药
7	头孢呋辛	≤14R, ≥18S	6	耐药	17	磷霉素	≤12R, ≥16S	16	敏感
8	头孢唑林	≤19R, ≥23S	6	耐药	18	替加环素		22	敏感
9	头孢哌酮-舒巴坦	≤15R, ≥21S	6	耐药	19	多黏菌素 E		1 μg/mL*	敏感
10	哌拉西林-他唑巴坦	≤17R, ≥21S	6	耐药	20	头孢他啶-阿维巴坦		22	敏感

*药敏试验方法为肉汤微量稀释法。

采样时间：2021.3.13 10:13:18；接收时间：2021.3.13 10:13:38；报告时间：2021.3.15 9:08:13

本检验结果仅对该标本负责；检验者：XXX；审核者：XXX

图 4 碳青霉烯酶表型检测报告格式参考图示（开展替加环素、多黏菌素和头孢他啶-阿维巴坦药敏试验）

XX 医院检验报告单

姓名：	XXX	病区：	10 病区	病历号：	888888	样本编号：	03
性别：	男	科室：	ICU	临床诊断：	肺炎	条形码：	37260223
年龄：	58	床号：	18	送检医生：	XXX	标本种类：	痰

检验结果：肺炎克雷伯菌。

碳青霉烯酶检测结果：KPC 型碳青霉烯酶阳性。该酶活性可被阿维巴坦抑制；产酶菌株通常仅对替加环素、多黏菌素、头孢他啶-阿维巴坦、氨曲南-阿维巴坦和美罗培南-韦博巴坦等敏感。

药敏试验结果：

序号	抗菌药物	判断标准	抑菌圈直径 (mm)	结果解释	序号	抗菌药物	判断标准	抑菌圈直径 (mm)	结果解释
1	厄他培南	≤18R, ≥22S	6	耐药	11	氨曲南	≤17R, ≥21S	6	耐药
2	亚胺培南	≤19R, ≥23S	6	耐药	12	阿米卡星	≤14R, ≥17S	6	耐药
3	美罗培南	≤19R, ≥23S	6	耐药	13	庆大霉素	≤12R, ≥15S	6	耐药
4	头孢吡肟	≤18R, ≥25S	6	耐药	14	环丙沙星	≤21R, ≥26S	6	耐药
5	头孢他啶	≤17R, ≥21S	6	耐药	15	左氧氟沙星	≤16R, ≥21S	6	耐药
6	头孢噻肟	≤22R, ≥26S	6	耐药	16	甲氧苄啶-磺胺甲噁唑	≤10R, ≥16S	6	耐药
7	头孢呋辛	≤14R, ≥18S	6	耐药	17	磷霉素	≤12R, ≥16S	16	敏感
8	头孢唑林	≤19R, ≥23S	6	耐药					
9	头孢哌酮-舒巴坦	≤15R, ≥21S	6	耐药					
10	哌拉西林-他唑巴坦	≤17R, ≥21S	6	耐药					

采样时间：2021.3.13 10:13:18；接收时间：2021.3.13 10:13:38；报告时间：2021.3.15 9:08:13

本检验结果仅对该标本负责；检验者：XXX；审核者：XXX

图 5 碳青霉烯酶基因型检测报告格式参考图示（未开展替加环素、多黏菌素和头孢他啶-阿维巴坦药敏试验）

XX 医院检验报告单

姓名：	XXX	病区：	10 病区	病历号：	888888	样本编号：	03		
性别：	男	科室：	ICU	临床诊断：	肺炎	条形码：	37260223		
年龄：	58	床号：	18	送检医生：	XXX	标本种类：	痰		
检验结果：肺炎克雷伯菌。									
碳青霉烯酶检测结果：KPC 型碳青霉烯酶阳性。									
药敏试验结果：									
序号	抗菌药物	判断标准	抑菌圈直径 (mm)	结果解释	序号	抗菌药物	判断标准	抑菌圈直径 (mm)	结果解释
1	厄他培南	≤18R, ≥22S	6	耐药	11	氨曲南	≤17R, ≥21S	6	耐药
2	亚胺培南	≤19R, ≥23S	6	耐药	12	阿米卡星	≤14R, ≥17S	6	耐药
3	美罗培南	≤19R, ≥23S	6	耐药	13	庆大霉素	≤12R, ≥15S	6	耐药
4	头孢吡肟	≤18R, ≥25S	6	耐药	14	环丙沙星	≤21R, ≥26S	6	耐药
5	头孢他啶	≤17R, ≥21S	6	耐药	15	左氧氟沙星	≤16R, ≥21S	6	耐药
6	头孢噻肟	≤22R, ≥26S	6	耐药	16	甲氧苄啶-磺胺甲噁唑	≤10R, ≥16S	6	耐药
7	头孢呋辛	≤14R, ≥18S	6	耐药	17	磷霉素	≤12R, ≥16S	16	敏感
8	头孢唑林	≤19R, ≥23S	6	耐药	18	替加环素		22	敏感
9	头孢哌酮-舒巴坦	≤15R, ≥21S	6	耐药	19	多黏菌素 E		1 µg/mL*	敏感
10	哌拉西林-他唑巴坦	≤17R, ≥21S	6	耐药	20	头孢他啶-阿维巴坦		22	敏感

*药敏试验方法为肉汤微量稀释法

采样时间：2021.3.13 10:13:18；接收时间：2021.3.13 10:13:38；报告时间：2021.3.15 9:08:13

本检验结果仅对该标本负责；检验者：XXX；审核者：XXX

图 6 碳青霉烯酶基因型检测报告格式参考图示（开展替加环素、多黏菌素和头孢他啶-阿维巴坦药敏试验）

7.2 质控要求

质控频率要求：每天或每次。注意：质控菌株随标本测试同步进行。

阳性质控菌株选择：按照不同检测方法可检测的碳青霉烯酶型别或靶基因种类，选择相应的阳性和阴性质控菌株。阳性质控菌株首选肺炎克雷伯菌 ATCC BAA-1705（KPC 型碳青霉烯酶阳性株）、肺炎克雷伯菌 ATCC BAA-2146（NDM 型金属 β 内酰胺酶阳性株）、肺炎克雷伯菌 ATCC BAA-2524（OXA-48 型碳青霉烯酶阳性株）；阴性质控菌株首选肺炎克雷伯菌 ATCC BAA-1706（非产碳青霉烯酶株）。如实验室无法获得上述首选 ATCC 阳性或阴性质控菌株，亦可选择经 DNA 测序明确产相应碳青霉烯酶基因型的菌株作为阳性质控菌，以及选择大肠埃希菌 ATCC 25922 作为阴性质控菌株。

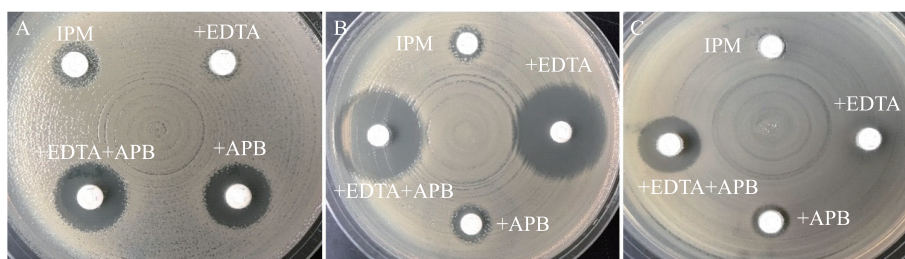
附件 1 表型检测 A 类丝氨酸碳青霉烯酶和 B 类金属 β 内酰胺酶

原理：A 类丝氨酸碳青霉烯酶的活性可被 APB 抑制，金属 β 内酰胺酶的活性可被 EDTA 抑制。

方法：参考 CLSI 推荐的纸片扩散法。将待测菌

调制成 0.5 麦氏浊度菌悬液，均匀涂布于 MH 琼脂平板上，随后贴 4 张碳青霉烯类抗生素纸片（一般为亚胺培南或美罗培南）于琼脂表面。一张纸片不加任何液体，一张纸片滴加 APB 溶液（终浓度 300 μg/片，浓度为 60 mg/mL 的 APB 溶液可滴加 5 μL）、一张纸片滴加 EDTA 溶液（终浓度 292 μg/片，浓度 0.2 mol/L 的 EDTA 溶液可滴加 5 μL）、最后一张同时滴加 APB 溶液（终浓度 300 μg/片）和 EDTA 溶液（终浓度 292 μg/片）。过夜孵育后量取纸片抑菌圈直径。

结果判读：①添加 APB 溶液的亚胺培南纸片抑菌圈直径与单药纸片相差 ≥5 mm，即可判断该受试菌株产 A 类碳青霉烯酶（图 7A）；②添加 EDTA 溶液的亚胺培南纸片抑菌圈直径与单药纸片相差 ≥5 mm，即可判断该受试菌株产生 B 类金属酶（图 7B）；③如仅同时添加 APB 和 EDTA 的亚胺培南纸片抑菌圈直径与单药纸片相差 ≥5 mm，可判断该受试菌株同时产 A 类碳青霉烯酶和 B 类金属酶（图 7C）；④如含酶抑制剂的亚胺培南纸片抑菌圈直径与单药相差均 <5 mm，可判断该菌不产 A 类或 B 类金属酶，其耐药机制可能为产生 OXA-48 型碳青霉烯酶，或产生 ESBL 酶和 / 或 AmpC 酶合并膜孔蛋白的下调或缺失。



A : 产 A 类碳青霉烯酶 ; B : 产 B 类金属 β 内酰胺酶 ; C : 同时产 A 类碳青霉烯酶和 B 类金属酶。

图 7 碳青霉烯酶抑制剂增强试验检测 A 类和 B 类碳青霉烯酶

附件 2 酶免疫层析技术快速检测碳青霉烯酶（金标法）

原理：抗原抗体结合技术。

方法（不同产品操作步骤有所差异）：于试管中滴加 5 滴细菌裂解液，之后挑取一接种环（10

μg ）新鲜纯培养菌落于裂解液中（仔细研磨使细菌混悬于液体中），轻轻混匀后滴加 100 μL 裂解后的菌液于样品孔中，等待 15 min 后阅读结果。检测步骤参考图 8 所示。

结果判读：根据检测条上出现的红色线条所在位置判断该菌所产碳青霉烯酶种类。见图 9。

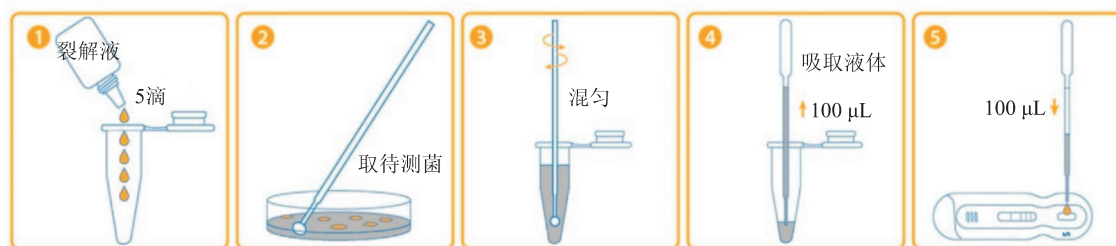
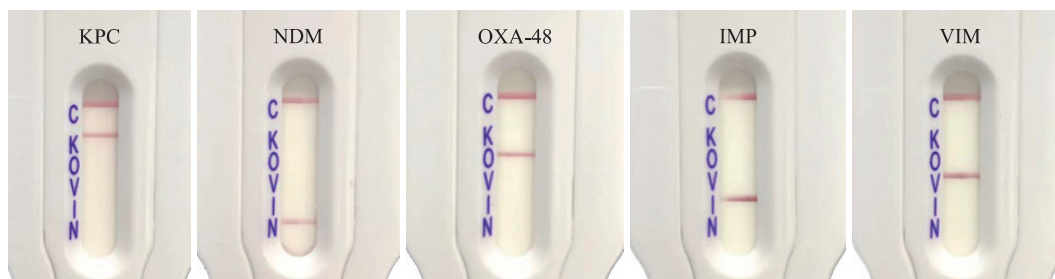


图 8 免疫金标法快速检测碳青霉烯酶操作步骤



参考样式，不同产品结果阅读方式有所差异，请参考产品说明书内容描述。

C：质控线；K：代表 KPC；O：代表 OXA-48；V：代表 VIM；I：代表 IMP；N：代表 NDM。

图 9 免疫金标法快速检测碳青霉烯酶结果阅读

参考文献

- [1] CHINET 数据云. CHINET 中国细菌耐药监测网 [EB/OL]. [2022-01-22]. <http://www.chinets.com>.
- [2] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2020 年 CHINET 中国细菌耐药监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21 (4): 377-387.
- [3] 全国耐药监测网. 2019 年全国细菌耐药监测报告 [EB/OL]. [2022-01-22]. <http://www.carss.cn/>.
- [4] Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018 [EB/OL]. [2022-01-22]. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/>

surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf.

- [5] Centers for Disease Control and Prevention. Facility guidance for control of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) [EB/OL]. [2022-01-22]. <https://www.cdc.gov/hai/pdfs/cre/cre-guidance-508.pdf>.
- [6] TZOUVELEKIS L, MARKOGIANNAKIS A, PSICHOGIOU M, et al. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae*: an evolving crisis of global dimensions [J]. Clin Microbiol Rev, 2012, 25 (4): 682-707.
- [7] Centers for Disease Control and Prevention. Notes from the Field: New Delhi metallo- β -lactamase-producing *Escherichia coli* associated with endoscopic retrograde cholangiopancreatography-

- Illinois, 2013[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2014, 62 (51-52): 1051.
- [8] GALANI I, KARAIKOS I, KARANTANI I, et al. Epidemiology and resistance phenotypes of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece, 2014 to 2016[J]. Eurosurveillance, 2018, 23 (31): 1700775.
- [9] LOPES E, SAAVEDRA M J, COSTA E, et al. Epidemiology of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Northern Portugal : Predominance of KPC-2 and OXA-48[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2020, 22 : 349-353.
- [10] WANG Q, WANG X, WANG J, et al. Phenotypic and genotypic characterization of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* : data from a longitudinal large-scale CRE study in China (2012-2016) [J]. Clin Infect Dis, 2018, 67 (Suppl 2): S196-S205.
- [11] ZHANG R, LIU L Z, ZHOU H W, et al. Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) strains in China[J]. EBioMedicine, 2017, 19 : 98-106.
- [12] HAN R, SHI Q, WU S, et al. Dissemination of carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48, IMP, and VIM) among carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolated from adult and children patients in China[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10 : 314.
- [13] BASSETTI M, PEGHIN M, PECORI D. The management of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*[J]. Curr Opin Infect Dis, 2016, 29 (6): 583-594.
- [14] SHEU C C, CHANG Y T, LIN S Y, et al. Infections caused by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* : An update on therapeutic options[J]. Front Microbiol, 2019, 10 : 80.
- [15] BUSH K, BRADFORD P A. Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors[J]. Nat Rev Microbiol, 2019, 17 (5): 295-306.
- [16] KAZMIERCZAK K M, DE JONGE B L M, STONE G G, et al. *In vitro* activity of ceftazidime/avibactam against isolates of *Enterobacteriaceae* collected in European countries : INFORM global surveillance 2012-15[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73 (10): 2782-2788.
- [17] YIN D, WU S, YANG Y, et al. Results from the China Antimicrobial Surveillance Network (CHINET) in 2017 of the *in vitro* activities of ceftazidime-avibactam and ceftolozane-tazobactam against clinical isolates of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63 (4): e02431-18.
- [18] NOVELLI A, DEL GIACOMO P, ROSSOLINI G M, et al. Meropenem/vaborbactam : a next generation β -lactam β -lactamase inhibitor combination[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2020, 18 (7): 643-655.
- [19] ZHOU M L, YANG Q W, LOMOVSKAYA O, et al. *In vitro* activity of meropenem combined with vaborbactam against KPC-producing *Enterobacteriaceae* in China[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73 (10): 2789-2796.
- [20] TOOKE C L, HINCHLIFFE P, LANG P A, et al. Molecular basis of class A β -lactamase inhibition by relebactam[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63 (10): e00564-19.
- [21] MORRISSEY I, MAGNET S, HAWSER S, et al. *In vitro* activity of cefepime-enmetazobactam against gram-negative isolates collected from U.S. and European hospitals during 2014-2015[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63 (7): e00514-19.
- [22] KRAJNC A, BREM J, HINCHLIFFE P, et al. Bicyclic boronate VNRX-5133 inhibits metallo- and serine- β -lactamases[J]. J Med Chem, 2019, 62 (18): 8544-8556.
- [23] HAMRICK J C, DOCQUIER J D, UEHARA T, et al. VNRX-5133 (Taniborbactam), a broad-spectrum inhibitor of serine- and metallo- β -lactamases, restores activity of cefepime in *Enterobacterales* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2020, 64 (3): e01963-19.
- [24] WANG X J, ZHAO C J, WANG Q, et al. *In vitro* activity of the novel β -lactamase inhibitor taniborbactam (VNRX-5133), in combination with cefepime or meropenem, against MDR Gram-negative bacterial isolates from China[J]. J Antimicrob Chemother, 2020, 75 (7): 1850-1858.
- [25] MOYA B, BARCELO I M, BHAGWAT S, et al. WCK 5107 (Zidebactam) and WCK 5153 are novel inhibitors of PBP2 showing potent " β -Lactam Enhancer" activity against *Pseudomonas aeruginosa*, including multidrug-resistant metallo- β -lactamase-producing high-risk clones[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61 (6): e02529-16.
- [26] LIVERMORE D M, MUSHTAQ S, WARNER M, et al. *In vitro* activity of cefepime/zidebactam (WCK 5222) against Gram-negative bacteria[J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72 (5): 1373-1385.
- [27] SADER H S, RHOMBERG P R, FLAMM R K, et al. WCK 5222 (cefepime/zidebactam) antimicrobial activity tested against Gram-negative organisms producing clinically relevant β -lactamases[J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72 (6): 1696-1703.
- [28] JI S, LV F, DU X, et al. Cefepime combined with amoxicillin/clavulanic acid : a new choice for the KPC-producing *K. pneumoniae* infection[J]. Int J Infect Dis, 2015, 38 : 108-114.
- [29] ZHANG W X, GUO Y, YANG Y, et al. Study of *in vitro* synergistic bactericidal activity of dual β -lactam antibiotics against KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. Microb Drug Resist, 2020, 26 (3): 204-210.
- [30] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. M100-S31. Wayne, PA : CLSI, 2021.
- [31] LUTGRING J D, ZHU W, DE MAN T J B, et al. Phenotypic and genotypic characterization of *Enterobacteriaceae* producing oxacillinase-48-like carbapenemases, United States[J]. Emerg Infect Dis, 2018, 24 (4): 700-709.
- [32] CUNNINGHAM S A, LIMBAGO B, TRACZEWSKI M, et al. Multicenter performance assessment of Carba NP test[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55 (6): 1954-1960.
- [33] PIERCE V M, SIMNER P J, LONSWAY D R, et al. Modified carbapenem inactivation method (mCIM) for phenotypic detection of carbapenemase production among

- Enterobacteriaceae*[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55 (8) : 2321-2333.
- [34] SFEIR M M, HAYDEN J A, FAUNTLEROY K A, et al. EDTA-modified carbapenem inactivation method : a phenotypic method for detecting metallo- β - lactamase-producing *Enterobacteriaceae*[J]. J Clin Microbiol, 2019, 57 (5) : e01757-18.
- [35] DOI Y, POTOSKI B A, ADAMS-HADUCH J M, et al. Simple disk-based method for detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-type β -lactamase by use of a boronic acid compound[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46 (12) : 4083-4086.
- [36] 中华人民共和国卫生部. 关于印发《产 NDM-1 泛耐药肠杆菌科细菌感染诊疗指南(试行版)》的通知[EB/OL]. [2022-01-20]. [http : //www.nhc.gov.cn/zwgkzt/pyzg11/201010/49274.shtml](http://www.nhc.gov.cn/zwgkzt/pyzg11/201010/49274.shtml).
- [37] POURNARAS S, ZARKOTOU O, POULOU A, et al. A combined disk test for direct differentiation of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in surveillance rectal swabs[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51 (9) : 2986-2990.
- [38] 陈金云, 傅鹰, 杨青, 等. KPC-2 及 IMP-4 酶介导肠杆菌科细菌碳青霉烯类耐药研究 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2015, 35 (6) : 419-426.
- [39] 陈正辉, 刘淑敏, 杜艳. 携带 *bla*_{NDM-1} 基因的肠杆菌科细菌耐药流行特征分析 [J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43 (10) : 1281-1285.
- [40] TSAKRIS A, POULOU A, POURNARAS S, et al. A simple phenotypic method for the differentiation of metallo- β -lactamases and class A KPC carbapenemases in *Enterobacteriaceae* clinical isolates[J]. J Antimicrob Chemother, 2010, 65 (8) : 1664-1671.
- [41] 李媛睿, 刘婧娴, 俞 静, 等. 应用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱检测产碳青霉烯酶肠杆菌科细菌对厄他培南的水解能力 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16 (5) : 608-613.
- [42] LAU A F, WANG H, WEINGARTEN R A, et al. A rapid matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based method for single-plasmid tracking in an outbreak of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52 (8) : 2804-2812.
- [43] BURCKHARDT I, ZIMMERMANN S. Using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry to detect carbapenem resistance within 1 to 2.5 hours[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49 (9) : 3321-3324.
- [44] MIRANDE C, CANARD I, BLANCHE S B, et al. Rapid detection of carbapenemase activity : benefits and weaknesses of MALDI-TOF MS[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2015, 34 (11) : 2225-2234.
- [45] YU J, LIU J, LI Y, et al. Rapid detection of carbapenemase activity of *Enterobacteriaceae* isolated from positive blood cultures by MALDI-TOF MS[J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2018, 17 (1) : 22.
- [46] HOPKINS K L, MEUNIER D, NAAS T, et al. Evaluation of the NG-Test CARBA 5 multiplex immunochromatographic assay for the detection of KPC, OXA-48-like, NDM, VIM and IMP carbapenemases[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73 (12) : 3523-3526.
- [47] GLUPCZYNSKI Y, EVRARD S, HUANG T D, et al. Evaluation of the RESIST-4 K-SeT assay, a multiplex immunochromatographic assay for the rapid detection of OXA-48-like, KPC, VIM and NDM carbapenemases[J]. J Antimicrob Chemother, 2019, 74 (5) : 1284-1287.
- [48] HAN R, GUO Y, PENG M, et al. Evaluation of the immunochromatographic NG-Test Carba 5, RESIST-5 O.O.K.N.V., and IMP K-SeT for rapid detection of KPC-, NDM-, IMP-, VIM-type, and OXA-48-like carbapenemase among *Enterobacterales*[J]. Front Microbiol, 2021, 11 : 609856.
- [49] TATO M, RUIZ-GARBAJOSA P, TRACZEWSKI M, et al. Multisite evaluation of Cepheid Xpert Carba-R assay for detection of carbapenemase-producing organisms in rectal swabs[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54 (7) : 1814-1819.
- [50] MOORE N M, CANTON R, CARRETTO E, et al. Rapid identification of five classes of carbapenem resistance genes directly from rectal swabs by use of the Xpert carba-R assay[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55 (7) : 2268-2275.
- [51] MANCINI N, INFURNARI L, GHIDOLI N, et al. Potential impact of a microarray-based nucleic acid assay for rapid detection of Gram-negative bacteria and resistance markers in positive blood cultures[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52 (4) : 1242-1245.
- [52] DE ANGELIS G, GROSSI A, MENCHINELLI G, et al. Rapid molecular tests for detection of antimicrobial resistance determinants in Gram-negative organisms from positive blood cultures : a systematic review and meta-analysis[J]. Clin Microbiol Infect, 2020, 26 (3) : 271-280.
- [53] DING L, SHI Q, HAN R, et al. Comparison of four carbapenemase detection methods for *bla*_{KPC-2} variants[J]. Microbiol Spectr, 2021, 9 (3) : e0095421.

收稿日期 : 2022-01-25 修回日期 : 2022-05-05