

耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌对替加环素不同体外药敏试验方法学评估

杨柳 刘建华 张智洁 刘勇 秦晓松*
(中国医科大学附属盛京医院检验科, 沈阳 110004)

摘要: **目的** 比较不同药敏试验方法检测替加环素对耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌 (CRKP) 的敏感性。初步了解辽宁地区 CRKP 对替加环素的耐药情况, 为临床合理用药提供依据。**方法** 回顾性收集辽宁省内多家大型三甲医院 2011 年 1 月—2016 年 12 月分离的 CRKP 共 269 株, 采用微量肉汤稀释法、KB 纸片扩散法、Vitek-2 仪器法及 E 试验法检测替加环素对 CRKP 的敏感性。**结果** 微量肉汤稀释法、E 试验法、Vitek-2 仪器法测定替加环素 MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 分别为 (0.5/1)、(0.25/0.5) 和 (0.5/4) μg/mL。按美国食品与药品监督管理局 (FDA) 和欧洲药敏试验委员会 (EUCAST) 判读标准, 微量肉汤稀释法测得 CRKP 对替加环素的敏感率为 97.4%/93.3%, 中介率为 2.2%/4.1%, 耐药率为 0.4%/2.6%。E 试验法敏感率最高, 为 100%/98.9%, Vitek-2 法耐药率最高, 为 8.6%/13.4%, 纸片扩散法的中介率最高, 为 11.9%/46.5%。与微量肉汤稀释法比较, E 试验法的基本一致率 (EA) 和分类一致率 (CA) 均 ≥ 90%, 但存在重大误差 (VME), 分别为 0.4%/1.9%; Vitek-2 法 EA 仅为 61.7%, CA 为 87.4%/72.1%, 且大误差 (ME) 为 6.3%/7.4%, 无 VME; 纸片扩散法 CA 仅为 85.9%/46.5%, 小误差 (mE) 为 1.9%/2.6%, ME 为 0.7%/5.6%。**结论** 辽宁地区绝大多数 CRKP 对替加环素仍保持较高的敏感性。对于 CRKP, E-试验法、Vitek-2 仪器法和纸片扩散法均不适合单独检测替加环素敏感性, 可考虑联合检测, 若结果不一致, 均应参考微量肉汤稀释法。

关键词: 替加环素; 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌; 微生物敏感性试验

中图分类号: R978.1 **文献标志码:** A

Evaluation of different *in vitro* tigecycline susceptibility tests for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*

Yang Liu, Liu Jian-hua, Zhang Zhi-jie, Liu Yong and Qin Xiao-song

(Clinical Laboratory Department, Shengjing Hospital of China Medical University, Shengyang 110004)

Abstract Objective To evaluate different *in vitro* tigecycline susceptibility test methods for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP). To understand the resistance of CRKP to tigecycline in Liaoning province, and provide evidence for rational clinical drug use. **Methods** A retrospective collection of 269 strains of CRKP isolated from January 2011 to December 2016 in several large hospitals in Liaoning province. Sensitivity of tigecycline to CRKP was detected by the broth microdilution method (BMD), the K-B disk diffusion method, the Vitek-2 method, and the E-test method. **Results** The MIC₅₀ and MIC₉₀ of BMD, the E-test method, and the Vitek-2 method were as follows: (0.5/1), (0.25/0.5) and (0.5/4) μg/mL. According to the US Food and Drug Administration (FDA) and the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), the sensitivity of CRKP to tigecycline by BMD was 97.4%/93.3%, and the intermediate rate was 2.2%/4.1%, and the resistance rate was 0.4%/2.6%. The E-test method had the highest sensitivity rate of 100%/98.9%, the Vitek-2 had the highest resistance rate of 8.6%/13.4%, and the disk diffusion method had the highest intermediate rate of 11.9%/46.5%. Compared with the BMD method,

收稿日期: 2018-09-10

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目 (No. 2015020517)

作者简介: 杨柳, 女, 生于 1992 年, 在读硕士研究生, 主要从事临床微生物检验和细菌耐药研究, E-mail: 550221738@qq.com

* 通讯作者, E-mail: qinxiaosongsy@126.com

the essential agreement rates (EA) and the categorical agreement rates (CA) of the E-test method were $\geq 90\%$, but there was the very major error (VME) of 0.4%/1.9%, respectively. In the Vitek-2 results, EA was only 61.7%, CA was 87.4%/72.1%, the major error (ME) was 6.3%/7.4%, and no VME was produced. The results using the disk diffusion method, CA was only 85.9%/46.5%, the minor error (mE) was 1.9%/2.6%, and the ME was 0.7%/5.6%. A total of 251 CRKP tigecycline MIC $<2\mu\text{g}/\text{mL}$ was determined by the BMD method. Most of the MIC values measured by the E-test method were the same as or different from the BMD method by ± 1 dilution. The MIC values measured by the Vitek-2 method were higher than those of the BMD method. 1, 2, and 3 dilutions accounted for 40.2%, 27.5% and 10.4%, respectively. **Conclusion** The vast majority of CRKP in Liaoning still maintains high sensitivity to tigecycline. For CRKP, the E-test method, the Vitek-2 method, and the disk diffusion method are not suitable for the detection of tigecycline sensitivity alone. Joint detection can be considered and the BMD method should be referred to when results are inconsistent.

Key words Tigecycline; Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; Microbial sensitivity tests

肺炎克雷伯菌是寄居于人体呼吸道及肠道的条件致病菌,为革兰阴性肠杆菌科细菌,常造成严重的院内感染,如败血症、尿路感染、腹腔内感染等。随着抗生素的广泛使用,细菌耐药现象日益严重。碳青霉烯类抗生素,即亚胺培南、美罗培南等,具有抗菌活性强、抗菌谱广、对超广谱 β -内酰胺酶(extended spectrum β -lactamases, ESBLs)稳定等特点,常用来治疗多重耐药肺炎克雷伯菌导致的严重感染。然而,自从碳青霉烯酶的发现,使这些细菌对几乎除了替加环素(tigecycline, TIG)及多黏菌素外的所有抗生素高度耐药,因此,替加环素引起了学者的高度重视,被认为是治疗耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)感染的最后一道防线^[1]。

替加环素是为抵抗四环素类抗生素耐药而对米诺环素进行修饰而成的衍生物,是一种新型的甘氨酸环素类抗生素。2005年,美国食品与药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准替加环素治疗复杂的腹腔感染、复杂的皮肤和软组织感染以及社区获得性细菌性肺炎^[2]。2012年在我国批准上市。但目前,我国所采用的美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)制定的标准中尚无替加环素的体外药敏试验的操作指南及结果判定标准,并且替加环素的理化性质不稳定,进行体外药敏试验时对环境要求较高,因此,临床实验室常采用的药敏方法在对替加环素耐药性评估方面往往会出现偏差。为了向临床合理应用替加环素治疗CRKP感染提供可靠的依据,评价替加环素对CRKP不同体外药敏试验的方法学尤为重要。

本研究共收集辽宁省内多家大型三甲医院分离的CRKP 269株,分别采用微量肉汤稀释法、KB纸片扩散法、Vitek-2仪器法及E试验法检测其对替加

环素的耐药表型,比较检测结果的差异性,对不同体外药敏试验的方法学进行评价,且本研究首次对国产药敏纸片及E试验药敏试验条进行评估,旨在初步了解辽宁地区CRKP对替加环素的耐药情况,更严谨地为临床合理用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

收集辽宁省多家大型三甲医院自2011年1月—2016年12月住院患者非重复CRKP共269株,其中中国医科大学附属盛京医院41株、辽宁省人民医院144株、大连医科大学附属第一医院38株、大连市中心医院20株、中国医科大学附属第一医院10株、中国人民解放军第202医院9株、辽阳市中心医院5株、本溪市中心医院1株、辽宁中医药大学附属医院1株。在受试菌株中,46.5%(125/269)来源于重症监护病房,11.2%(31/269)来源于呼吸内科,9.7%(26/269)来源于急诊科,5.2%(14/269)来源于神经外科,4.8%(13/269)来源于神经内科。受试菌株标本类型包括:痰液66.9%(180/269),血液11.9%(32/269),尿液7.1%(19/269),其他14.1%(38/269)。标准质控菌株为大肠埃希菌ATCC25922。

1.2 仪器与试剂

Vitek-2全自动细菌鉴定与药敏分析仪及革兰阴性细菌药物敏感性卡AST-N335(法国Bio-Merieux公司),替加环素标准品(Toronto Research Chemicals),替加环素药敏纸片及替加环素E试验法药敏试验条(温州市康泰生物科技有限公司),M-H肉汤(英国Oxoid公司),MH琼脂培养基(沈阳彦程生物制品有限公司)。纸片扩散法、E-试验法及微量肉汤稀释法所用M-H琼脂或96孔板均需置于37℃恒温孵箱,避光培养16~18h后读取药敏结果,判读实验结果时质控菌株ATCC25922抑菌圈直径范

围应为 20~27mm, MIC 值范围应为 0.0~0.25µg/mL 以证明在控^[3]。

1.3 结果判读标准

本研究参照 FDA 肠杆菌科标准及欧洲药敏试验委员会 (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) 标准^[4-5]对结果进行判读 (表 1)。

1.4 数据分析

以微量肉汤稀释法为金标准, 比较 KB 纸片扩散法、Vitek-2 仪器法及 E 试验法的一致性。基本一致率 (essential agreement, EA): 被评估方法所得 MIC 值与金标准 MIC 值相同或者相差 ±1 个稀释度的菌株百分比。分类一致率 (categorical agreement, CA): 被评估方法药敏试验结果 (敏感、中介、耐药) 与金标准一致的菌株百分比。小误差 (minor error, mE): 被评估方法将中介判定为敏感或耐药。大误差 (major error, ME): 被评估方法将敏感判定为耐药。重大误差 (very major error, VME): 被评估方法将耐药判定为敏感。根据 CLSI 要求, 可接受误差范围为: EA 和 CA 90%, VME ≤ 1.5%, ME ≤ 3%, mE ≤ 10%^[6]。

2 结果

2.1 4 种药敏试验方法测定 CRKP 对替加环素的敏感性分布

269 株 CRKP 经微量肉汤稀释法测得替加环素 MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 分别为 0.5 和 1µg/mL, E 试验法的 MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 较微量肉汤稀释法均低 1 个稀释度

表 1 替加环素对肺炎克雷伯菌药敏判定标准

Tab. 1 Interpretation criteria of tigecycline for *Klebsiella pneumoniae*

参照标准	抑菌圈直径 /mm			MIC/(µg/mL)		
	S	I	R	S	I	R
FDA	≥ 16	13~15	≤ 12	≤ 2	4	≥ 8
EUCAST	≥ 18	15~17	< 15	≤ 1	2	> 2

注: “S” 示敏感; “I” 示中介; “R” 示耐药

(0.25 和 0.5µg/mL), 而 Vitek-2 法的 MIC₉₀ 较微量肉汤稀释法高出 2 个稀释度。按照 FDA 及 EUCAST 判定标准, E 试验法敏感率最高, 分别为 100%(269/269)、98.9%(266/269); Vitek-2 法耐药率最高, 分别为 8.6%(23/269)、13.4%(36/269); 纸片扩散法的中介率最高, 分别为 11.9%(32/269)、46.5%(125/269)。4 种药敏试验方法测定 CRKP 对替加环素的敏感性分布见表 2。

2.2 3 种方法与微量肉汤稀释法检测结果比较

以微量肉汤稀释法为参考方法, E 试验法的 EA 为 90.0%(242/269), 多数菌株 MIC 值较微量肉汤稀释法低 1~2 个稀释度。按 FDA 判定标准, E 试验法的 CA 最高, 为 97.4%(262/269), Vitek-2 法和纸片扩散法的 CA 较低, 分别为 87.4%(235/269)、85.9%(231/269), 但均未出现 VME。Vitek-2 法的 EA 较低, 为 61.7%(166/269) 且 ME 最高, 为 6.3%(17/269)。按 EUCAST 判定标准, E 试验法 CA 仍最高, 为 92.9%(250/269), 而纸片扩散法 CA 最低, 仅为 46.5%(125/269)。E 试验法 VME 最高, 为 1.9%(5/269), E 试验法、Vitek-2 法、纸片扩散法的 ME 分别为 0%(0/269)、7.4%(20/269)、5.6%(15/269), 见表 3。

微量肉汤稀释法测定替加环素 MIC < 2µg/mL 的 CRKP, 即较敏感的菌株共 251 株, E 试验法测得绝大多数 MIC 值与微量肉汤稀释法相同或相差 ±1 个稀释度, MIC 值低于微量肉汤稀释法 2 个稀释度的占 5.6%(14/251); Vitek-2 法测得大多数 MIC 值高于微量肉汤稀释法, 其中高于微量肉汤稀释法 1~3 个稀释度的分别占 40.2%(101/251)、27.5%(69/251) 和 10.4%(26/251)。微量肉汤稀释法测定替加环素 MIC ≥ 2µg/mL 的 CRKP, 即较耐药的菌株共 18 株, E 试验法测得所有结果均低于微量肉汤稀释法, 其中低于微量肉汤稀释法 1~4 个稀释度的分别占 33.3%(6/18)、50%(9/18)、11.1%(2/18) 和 5.6%(1/18); Vitek-2 法测大多数 MIC 值高于微量肉汤稀释法,

表 2 4 种药敏试验方法测定 CRKP 对替加环素的敏感性分布 [% (株)]

Tab. 2 Comparison of interpretative results and MIC₅₀ and MIC₉₀ of CRKP to tigecycline by susceptibility testing methods [% (No.)]

药敏方法	FDA/%			EUCAST/%			MIC/(µg/mL)	
	S	I	R	S	I	R	MIC ₅₀	MIC ₉₀
CRKP(n=269)								
微量肉汤稀释法	97.4(262/269)	2.2(6/269)	0.4(1/269)	93.3(251/269)	4.1(11/269)	2.6(7/269)	0.5	1
E 试验法	100(269/269)	0(0/269)	0(0/269)	98.9(266/269)	1.1(3/269)	0(0/269)	0.25	0.5
Vitek-2 法	86.6(233/269)	4.8(13/269)	8.6(23/269)	69.5(187/269)	17.1(46/269)	13.4(36/269)	0.5	4
纸片扩散法	85.5(230/269)	11.9(32/269)	2.6(7/269)	43.5(117/269)	46.5(125/269)	10(27/269)	-	-

“-”: 表示无数据, 因纸片扩散法无具体 MIC 值

表3 E 试验法、Vitek-2 法、纸片扩散法与微量肉汤稀释法检测结果比较 [% (株)]

Tab. 3 Incidence of errors for selected testing methods [% (No.)]

药敏方法	EA	FDA				EUCAST			
		CA	mE	ME	VME	CA	mE	ME	VME
CRKP(n=269)									
E 试验法	90.0(242/269)	97.4(262/269)	2.2(6/269)	0(0/269)	0.4(1/269)	92.9(250/269)	4.1(11/269)	0(0/269)	1.9(5/269)
Vitek-2 法 ^a	61.7(166/269)	87.4(235/269)	1.9(5/269)	6.3(17/269)	0(0/269)	72.1(194/269)	3.7(10/269)	7.4(20/269)	0(0/269)
纸片扩散法	-	85.9(231/269)	1.9(5/269)	0.7(2/269)	0(0/269)	46.5(125/269)	2.6(7/269)	5.6(15/269)	0.4(1/269)

注：“a”：本研究中所用的革兰阴性细菌药物敏感性卡 AST-N335 替加环素检测下限为 $\leq 0.5\mu\text{g/mL}$ ，此处数据按 $0.5\mu\text{g/mL}$ 统计；“-”：无数

表4 E 试验法、Vitek-2 法与微量肉汤稀释法 MIC 值比较 [% (株)]

Tab. 4 Comparison of MIC values between E-test method, Vitek-2 method and broth microdilution method [% (No.)]

药敏方法	与微量肉汤稀释法测定 MIC 值相差稀释度 / 个							
	-4	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
微量肉汤稀释法 MIC $< 2\mu\text{g/mL}$ CRKP (n=251)								
E 试验法	0(0/251)	0(0/251)	5.6(14/251)	41.4(104/251)	42.6(107/251)	10(25/251)	0.4(1/251)	0(0/251)
Vitek-2 法 ^a	0(0/251)	0(0/251)	0(0/251)	0.4(1/251)	21.5(54/251)	40.2(101/251)	27.5(69/251)	10.4(26/251)
微量肉汤稀释法 MIC $\geq 2\mu\text{g/mL}$ CRKP (n=18)								
E 试验法	5.6(1/18)	11.1(2/18)	50(9/18)	33.3(6/18)	0(0/18)	0(0/18)	0(0/18)	0(0/18)
Vitek-2 法 ^a	0(0/18)	0(0/18)	0(0/18)	5.6(1/18)	16.7(3/18)	33.3(6/18)	44.4(8/18)	0(0/18)

注：“a”：本研究中所用的革兰阴性细菌药物敏感性卡 AST-N335 替加环素检测下限为 $\leq 0.5\mu\text{g/mL}$ ，此处数据按 $0.5\mu\text{g/mL}$ 统计，检测上限为 $\geq 8\mu\text{g/mL}$ ，此处数据按 $8\mu\text{g/mL}$ 统计

其中高于微量肉汤稀释法 1~2 个稀释度的分别占 33.3%(6/18) 和 44.4%(8/18)，见表 4。

3 讨论

目前，由 CRKP 引起的感染的治疗并未标准化，且通常取决于临床微生物学实验室提供的药敏试验结果。替加环素越来越多地应用于这些感染的治疗，评估其对 CRKP 的抗菌活性十分重要，因此，确保临床常用药敏试验方法的准确性是尤为必要的。

本研究中，微量肉汤稀释法结果显示，替加环素对 CRKP 保持较高的抗菌活性， MIC_{50} 和 MIC_{90} 分别为 0.5 和 $1\mu\text{g/mL}$ ；E 试验法的敏感率最高，为 100%/98.9%(FDA/EUCAST 判定标准)，且无耐药菌株产生，此法较微量肉汤稀释法 MIC 值普遍低 1~2 个稀释度；Vitek-2 法的耐药率最高，为 8.6%/13.4%(FDA/EUCAST 判定标准)，多数菌株检测 MIC 结果明显高于微量肉汤稀释法，此结果与相关研究报道相符^[7-8]。纸片扩散法的中介率和耐药率都较高，分别为 11.9%/46.5% 和 2.6%/10%(FDA/EUCAST 判定标准)。

E 试验法、Vitek-2 法、纸片扩散法与微量肉汤稀释法检测结果比较发现，E 试验法的 EA 与 CA 均符合 CLSI 标准，即大于 90%，无 ME，但存在 VME，可能是由于 E 试验法所测 MIC 值稀释度普遍低于微量肉汤稀释法，尤其是耐药性较高的 CRKP，

出现 VME 的可能性更大。Vitek-2 法为国内微生物实验室常用的药敏检测方法，但本研究结果显示，其 EA 与 CA 均较低，EA 仅为 61.7%，显著低于 CLSI 参考标准，无 VME，但 ME 较高，为 6.3%/7.4%(FDA/EUCAST 判定标准)。类似的研究报道表明^[9]，Vitek-2 法适合检测对替加环素敏感的大肠埃希菌，但对 $\text{MIC} > 2\mu\text{g/mL}$ 的菌株，Vitek-2 法测得的替加环素的敏感率会显著低于微量肉汤稀释法。纸片扩散法的 CA 最低，为 85.9%/46.5%(FDA/EUCAST 判定标准)，按 FDA 标准，纸片扩散法的 mE、ME 均在参考范围内，且无 VME。但纸片扩散法易受多种因素影响，如预温育时间、接种菌含量、抗生素含量及其扩散能力、琼脂厚度、纸片保存条件等等，因此，此法仍需大量临床样本加以验证。

微量肉汤稀释法测得 MIC 值 $\geq 2\mu\text{g/mL}$ 的 CRKP 共 18 株，其中 E 试验法经反复复核后，测得 MIC 值低于微量肉汤稀释法 1~4 个稀释度的分别占 33.3%(6/18)、50%(9/18)、11.1%(2/18) 和 5.6%(1/18)，而微量肉汤稀释法测得 MIC 值 $< 2\mu\text{g/mL}$ 的 251 株 CRKP 中，绝大部分菌株 E 试验法测得的 MIC 值相同或降低 1 个稀释度。可见，对于耐药性越高的 CRKP，E 试验法与微量肉汤稀释法的一致性越低，VME 较高，对临床用药的指导意义也随之减低；而微量肉汤稀释法测得 MIC 值 $\geq 2\mu\text{g/mL}$ 的 18 株 CRKP

中, Vitek-2 法测定 MIC 值中 $\geq 8\mu\text{g/mL}$ 的 CRKP 高达 14 株, 对于微量肉汤稀释法测得 MIC 值为 $1\mu\text{g/mL}$ 的 25 株 CRKP 中, Vitek-2 法测定仍有 14 株 MIC 值 $\geq 4\mu\text{g/mL}$ 。可见, 对于敏感性越高的 CRKP, Vitek-2 法所测结果与微量肉汤稀释法的一致性越低, ME 较高, 而对于非敏感的 CRKP, Vitek-2 法与微量肉汤稀释法的一致性较高。总之, 类似研究同样可发现当微量肉汤稀释法测得 CRKP 敏感率较高时, E 试验法与微量肉汤稀释法的一致性较高^[10]; 当微量肉汤稀释法测得 CRKP 耐药率较高时, Vitek-2 法的结果与微量肉汤稀释法一致性较高^[11]。因此, 微生物实验室应严格监测医院及地区的耐药趋势, 必要时采用微量肉汤稀释法进一步确认。

综上所述, 微量肉汤稀释法是目前被认为检测替加环素体外药物敏感性的金标准方法, 但操作较繁琐且对药物及培养基等要求较高, 我国已有明确的替加环素体外药敏试验的专家共识^[2], 操作时应严格遵照执行; 纸片扩散法测定结果错误率较高, 并不适合单独用于临床样本检测; E 试验法虽然与微量肉汤稀释法的一致性较高, 但对于替加环素耐药的 CRKP, 其测定 MIC 值显著偏低, 可见, 国产药敏纸片及 E 试验条均需要进一步验证; Vitek-2 法 ME 较高, 其测定 MIC 值显著高于微量肉汤稀释法。因此, CRKP 对替加环素耐药性检测的几种常用药敏试验方法均有其局限性, 可考虑联合检测, 对于结果不一致的情况, 均应参考微量肉汤稀释法。

本次研究收集了辽宁省内多家大型三甲医院的 CRKP, 药敏试验结果发现, 绝大多数 CRKP 对替加环素仍保持较高的敏感性, 可见, 替加环素对于临床治疗 CRKP 感染仍是一个重要的手段。

参考文献

- [1] Sun Y, Cai Y, Liu X, *et al.* The emergence of clinical resistance to tigecycline[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2013, 41(2): 110-116.
- [2] Stein G E, Babinchak T. Tigecycline: an update[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2013, 75(4): 331-336.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-seven edition[S]. Wayne, PA: CLSI, 2017.
- [4] 王辉, 俞云松, 王明贵, 等. 替加环素体外药敏试验操作规程专家共识 [J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(7): 584-587.
- [5] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters[S]. Version 5.0, 2015
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. M23-A3—Development of *in vitro* susceptibility testing criteria and quality control parameters: Approved guideline[S]. Wayne, PA: CLSI, 2008.
- [7] Zarkotou O, Pournaras S, Altouvas G, *et al.* Comparative evaluation of tigecycline susceptibility testing methods for expanded-spectrum cephalosporin- and carbapenem-resistant Gram-negative pathogens[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(11): 3747-3750.
- [8] Marchaim D, Pogue J M, Tzuman O, *et al.* Major variation in MICs of tigecycline in Gram-negative bacilli as a function of testing method[J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(5): 1617-1621.
- [9] Huang T D, Berhin C, Bogaeas P, *et al.* *In vitro* susceptibility of multidrug-resistant Enterobacteriaceae clinical isolates to tigecycline[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2012, 67(11): 2696-2699.
- [10] Lat A, Clock S A, Wu F, *et al.* Comparison of polymyxin B, tigecycline, cefepime and meropenem MICs for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* by broth microdilution, Vitek 2 and E-test[J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(5): 1795-1798.
- [11] Rechenchoski D Z, Dambrozio A M L, Vivan A C P, *et al.* Antimicrobial activity evaluation and comparison of methods of susceptibility for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *Enterobacter* spp. isolates[J]. *Braz J Microbiol*, 2017, 48(3): 509-514.