



## KOLİSTİN ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTİNİN VITEK 2 VE SIVI MİKRODİLÜSYON YÖNTEMLERİYLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

### Comparative Evaluation of VITEK 2 and Broth Microdilution Methods for Colistin Antimicrobial Susceptibility Test

Bırol ŞAFAK<sup>1</sup>, Özge TOMBAK<sup>1</sup>, Aynur EREN TOPKAYA<sup>2</sup>

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, TÜRKİYE.  
Yeditepe Üniversitesi Kozyatağı Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji, İstanbul, TÜRKİYE.

Bu çalışma, 6-8 Nisan 2018 tarihinde İstanbul'da düzenlenen "13. Antimikrobik Kemoterapi Günleri"nde poster bildiri olarak sunulmuştur.

Çalışma, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 30.05.2019 tarih ve 2019.97.06.18 sayılı izni alınmıştır.

#### Öz

**Amaç:** Kolistin için hassas duyarlılık test yöntemlerine ihtiyaç vardır. Çalışmamızda VITEK 2 (bioMérieux, Marcy-L'Etoile, Fransa) otomatize sistem ile sıvı mikrodilüsyon yöntemini karşılaştırarak, VITEK 2 yönteminin kolistin duyarlılığını saptamadaki etkinliğini belirlemeyi amaçladık.

**Materyal ve Metot:** Çeşitli Gram negatif bakterilerin kolistin duyarlılığı için laboratuvarımızda kullandığımız VITEK 2 otomatize sistem ve sıvı mikrodilüsyon yöntemini geriye dönük olarak karşılaştırıldı. Suşların tanımlanması konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve VITEK 2 otomatize bakteri tanımlama sistemi kullanılarak yapıldı.

**Bulgular:** Çoğunluğu yoğun bakım ünitelerinden (n=56) izole edilen suşlar olmak üzere 104 Gram negatif mikroorganizmanın kolistin duyarlılık sonuçları karşılaştırıldı. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi referans alındığında VITEK 2 ile 7 çok büyük hata (% 6.7), 4 büyük hata (% 3.8) tespit edildi. VITEK 2 için duyarlılık %92.9, özgüllük %20, pozitif prediktif değer %95.8, negatif prediktif değer % 12.5 olarak bulundu.

**Sonuç:** Çalışmamızda VITEK 2, % 6.7'lik çok büyük hata oranı ve <% 90 genel uyum oranıyla yöntem kabulü için gerekli kriterleri sağlayamadı. Kolistin duyarlılığını saptamada VITEK 2'nin kullanılabilirliği ile ilgili çok sayıda çalışmada farklı sonuçlar olsa da çalışmamızda yöntem kabulü için gerekli kriterleri sağlayamamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kolistin, sıvı mikrodilüsyon, otomatize antibiyotik duyarlılık sistemi.

#### Abstract

**Aim:** Accurate susceptibility testing methods are needed for colistin. In our study, we aimed to determine the efficacy of VITEK 2 (bioMérieux, Marcy-L'Etoile, France) in detecting colistin sensitivity by comparing the broth microdilution method with VITEK 2 automated system.

**Materials and Methods:** We retrospectively compared VITEK 2 automated system and broth microdilution method for colistin sensitivity of various Gram-negative bacteria. The isolates were identified by conventional microbiological methods and VITEK 2 automated bacterial identification system.

**Results:** The colistin susceptibility results of 104 Gram-negative microorganisms were compared, mostly from intensive care units (n = 56). When the broth microdilution method was taken as a reference, 7 very major errors (6.7%) and 4 major errors (3.8%) were determined in VITEK 2. The sensitivity was 92.9%, specificity was 20%, positive predictive value was 95.8%, negative predictive value was 12.5%.

**Conclusion:** In our study, VITEK 2 could not meet the required criteria for the acceptance of the method due to the very major errors of 6.7% and the agreement of <90%. Although there are different results in many studies about the use of VITEK 2 in detecting the sensitivity of colistin, in our study did not meet the criteria for acceptance of the method.

**Keywords:** Colistin, sıvı mikrodilüsyon, otomatize antimikrobial susceptibility system.

#### Corresponding Author / Sorumlu Yazar:

Bırol ŞAFAK  
Adres: Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tekirdağ/TÜRKİYE  
E-posta: bsafak@nku.edu.tr

#### Article History / Makale Geçmişi:

Date Received / Geliş Tarihi: 26.06.2019  
Date Accepted / Kabul Tarihi: 27.12.2019

## GİRİŞ

Çoklu ilaç direnci ve yeni antibiyotiklerin keşfindeki gecikmeler Gram negatif mikroorganizmaların tedavisinde güçlükler neden olmaktadır. Oluşan bu durum, 1980'lerin başında rapor edilen nefrotoksisite ve nörotoksisite nedeniyle terk edilen kolistin çoğul dirençli *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* gibi Gram negatif bakterilere karşı yeniden kullanımına neden olmuştur<sup>1</sup>.

Kolistin (polimiksin E), 1947'de keşfedilmiştir ve 1959'dan beri Gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan eski bir antibiyotiktir. Gram negatif bakterilerin dış membran lipopolisakarid (LPS) yapısını hedef alır. Kolistin peptidi ve LPS arasındaki bağlanma, zar bütünlüğünü azaltarak geçirgenliğini artırır ve hücre içeriğinin sızmasıyla hücre ölümüne neden olur. Diğer antibiyotiklerle kombinasyon halinde verilmelidir ve ampirik tedavi ve monoterapi için önerilmez<sup>2</sup>. Kullanımı giderek artan kolistin daha az toksik ve iyi bir klinik etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir<sup>3</sup>.

Kolistin, karbapenem dirençli *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisi için tercih edilen ilaç haline gelmiştir<sup>4</sup>.

Polimiksin duyarlılık testlerinde polimiksinlerin agar içine zayıf difüzyonu, doğal katyonik özellikleri, hetero-direncinin oluşması gibi çeşitli zorluklar bulunmaktadır<sup>5</sup>. Kolistin molekülünün büyüklüğü zayıf difüzyona neden olur ve duyarlı dirençli ayrımı yapılamayacağından disk difüzyon yöntemi uygulanmamalıdır. Gradyent testlerinde minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri düşük çıkmakta ve hatalı olarak duyarlı sonuç alınmaktadır. Bu nedenle kalite kontrol sonuçları istenilen aralıkta çıksa bile kolistin

duyarlılığı için gradyent testlerinden kaçınılmalıdır. Yarı otomatize sistemlerde ise duyarlı olmayan aralıklar için çok büyük hatalar gösterilmiştir<sup>6</sup>. Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Test komitesi (EUCAST) önerilerine göre halen tek geçerli yöntem sıvı mikrodilüsyondur<sup>7</sup>.

Çalışmamızda kolistin duyarlılığının belirlenmesinde, VITEK 2 otomatize sistemi ile altın standart sıvı mikrodilüsyon yönteminin sonuçlarını geriye dönük olarak karşılaştırarak VITEK 2 otomatize sisteminin etkinliğini belirlemeyi amaçladık.

## MATERYAL VE METOT

**Suşlar:** Suşların tanımlanması konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve otomatize bakteri tanımlama sistemi VITEK 2 (bioMérieux, Marcy-L'Etoile, Fransa) kullanılarak yapıldı.

**Sıvı mikrodilüsyon yöntemi:** EUCAST önerileri göz önüne alınarak sıvı mikrodilüsyon yöntemi için polistren mikropleytler ve 25 mg/L Ca<sup>++</sup> ve 12.5 mg/L Mg<sup>++</sup> eklenen Müller-Hinton buyyon (Oxoid, İngiltere) kullanıldı. Her mikroorganizma için 8 kuyucuk kullanılmıştır. Tüm kuyucuklara 100µl Müller-Hinton buyyon eklendi. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi için kolistin seri dilüsyonları (16-0.5 mg/L) ilk 6 kuyucuğa yapıldı. Daha sonra mikroorganizmalardan 0.5 McFarland bulanıklıkta hazırlanan inokulum 1:10 dilüe edildikten sonra sterilite kuyucuğu hariç diğer ilk 7 kuyucuğa 5 µl olarak ekildi. Böylece her kuyucuktaki bakteri yoğunluğu 5x10<sup>5</sup> CFU/ml olarak ayarlandı. Üreme kontrolünde 7. kuyucuk, sterilizasyon kontrolünde ise 8. kuyucuk kullanıldı. Negatif kalite kontrol için *Escherichia coli* ATCC 25922, pozitif kalite kontrol için *Proteus mirabilis* ATCC 12453 kullanıldı. Mikropleytler 35±2°C'de 20-24 saat inkübe edildi. Üremenin olmadığı en düşük antimikrobiyal ilaç konsantrasyonu MİK olarak tespit edildi.

EUCAST önerileri doğrultusunda  $\leq 2$  mg/L değerleri duyarlı kabul edildi. VITEK 2 otomatize sistemde ise duyarlı suşlarda MİK değeri  $\leq 0.5$  mg/L olarak rapor edildi.

Çalışma, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 30-05-2019 tarih ve 2019.97.06.18 sayılı izni alınarak, Helsinki deklarasyonu prensiplerine uygun olarak gerçekleştirildi.

## BULGULAR

Çoğunluğu yoğun bakım ünitelerinden (n=56) izole edilenler olmak üzere 104 Gram negatif mikroorganizmada kolistin duyarlılık sonuçları karşılaştırıldı. Etkenlerin dağılımı *Pseudomonas aeruginosa* (n=36), *Klebsiella spp* (n=28), *Escherichia coli* (n=18), *Acinetobacter baumannii* (n=12), *Enterobacter spp* (n=10) şeklindeydi. Sıvı mikrodilüsyon ile duyarlı tespit edilen 96 etkenden 92'si VITEK 2 ile duyarlı, dirençli tespit edilen 8 etkenden 1'i VITEK 2 ile dirençli bulundu. VITEK 2 ile 7 (% 6.7) çok büyük hata, 4 (% 3.8) büyük hata, % 75.9 temel uyum oranı tespit edildi. MİK değerleri Tablo 1'de gösterildi. Etkenlere göre temel uyum oranları ise Tablo 2'de gösterildi.

**Tablo 1.** Sıvı mikrodilüsyon ve VITEK 2 Kolistin MİK değerleri

Sıvı mikrodilüsyon MİK (mg/L)	VITEK 2 MİK (mg/L)					
	$\leq 0.5$	1	2	4	8	$\geq 16$
$\geq 16$	5	1				1
8	1					
4						
2	14			1		1
1	13	2				
$\leq 0.5$	63			1	1	

\*VITEK 2 için kırmızı alan çok büyük hatayı, turuncu alan ise büyük hatayı göstermektedir.

**Tablo 2.** Sıvı mikrodilüsyon referans olarak alındığında VITEK 2 için uyum oranları

	<i>P. aeruginosa</i> n=36	<i>Klebsiella spp</i> n=28	<i>E.coli</i> n=18	<i>A. baumannii</i> n=12	<i>Entero-bacter spp</i> n=10	Tüm İzolatlar n=104
Temel Uyum (%)	77,7	60,7	88,8	91,6	70	75,9
Çok Büyük Hata (%)	1	2	1	1	2	7
Büyük Hata (%)	2	1	1	0	0	4

Çalışmamızda EUCAST önerileri doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon referans alındığında VITEK 2 için duyarlılık % 95.8 (92/96), özgüllük % 12.5 (1/8), pozitif prediktif değer % 92.9 (92/99), negatif prediktif değer % 20 (1/5) olarak bulundu. VITEK 2'de pozitif prediktif değer yüksek olmasına rağmen 4 büyük hata tespit edildi, negatif prediktif değer çok düşüktü ve 7 çok büyük hata görüldü.

## TARTIŞMA

Tüm dünyada çoğul dirençli Gram negatif bakteriyel infeksiyonların tedavisinde artan şekilde polimiksinler kullanılmaktadır. Kolistin duyarlılığını belirlemede otomatize sistemler, sıvı mikrodilüsyon ve agar dilüsyon gibi farklı fenotipik yöntemler kullanılmaktadır. Polimiksin duyarlılık testinde; polimiksinin katyonik özellikleri agar ortamında zayıf difüzyon, mikroplaklara adsorpsiyon, güvenilir bir duyarlılık testinin olmaması, profesyonel kuruluşlarının spesifik bir sınır değer vermemesi, Tween 80'in sinerjik etkisi gibi çok sayıda zorluk bulunmaktadır<sup>8</sup>. Ayrıca çoğunluğu duyarlı popülasyon ile birlikte bulunan dirençli bir mikroorganizma alt popülasyonu (heterorezistans), antibiyotik varlığında aktif olarak büyümekte ve tedavi başarısızlığına neden olabilmektedir. Kolistin heterorezistansını saptamadaki tanısal testlerin yetersizlikleri, etkisiz tedavi nedeniyle hasta morbiditesinin ve mortalitesinin artmasına neden olabilmektedir<sup>9</sup>. Bakterilerin kendi yapısal özelliklerine bağlı zorluklar da bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak *Acinetobacter baumannii*'nin yavaş üremesi gösterilmiştir<sup>10</sup>.

Altın standart olarak kullanılan sıvı mikrodilüsyon yönteminin ise rutin laboratuvarında uygulamasında zorlukların olması ve oluşabilecek hatalı sonuçları önlemek için yeni besiyeri ve mikropalak kullanımının geliştirilmesi çalışmaları bildirilmiştir<sup>11,12</sup>. Ayrıca sıvı mikrodilüsyon yöntemine alternatif olarak kolay uygulanabilir ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesi çalışmaları da yapılmıştır. Humphries ve ark. sıvı disk elüsyon ve agar testinde yüksek kategorik uyum bulmuştur ve bu yöntemler CLSI tarafından onaylanmıştır<sup>13</sup>. Bir başka çalışmada da sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin sıvı disk elüsyon yöntemi arasındaki kategorik uyum % 99.3, çok büyük hata oranı % 0.2 olarak saptanmıştır<sup>14</sup>. Ucuz ve güvenilir test olarak gösterilen bir başka yöntem olan ResaPolymyxin testi ile 4 saatte sonuç alınmış, duyarlılık ve özgüllük değerleri % 100'e yakın bulunmuştur<sup>15,16</sup>. Başka bir çalışmada da 2 saat içerisinde sonuçlanan, çok büyük hata tespit edilmeyen ve kategorik uyumu % 99 olan Flow sitometri tekniği bildirilmiştir<sup>17</sup>.

Şu anda kullanımda olan yöntemlerin sıvı mikrodilüsyon testi ile karşılaştırdığı çok sayıda çalışma bildirilmiştir. Bunların bazıları sonuçların uyumlu bazıları da uyumsuz olduğunu vurgulamıştır. Gradyent difüzyon ve agar dilüsyon testinin sonuçlarının kolistin duyarlılığını saptamada yetersiz olduğu bildirilmiştir<sup>18,19</sup>. Akın ve ark. Polimiksin B için gradyent difüzyon, disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri arasında fark bulunmadığını bildirmiştir<sup>20</sup>. Bir çalışmada ise Polimiksin B duyarlılık testi için gradyent difüzyon ve agar dilüsyon yönteminin sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle uyumunun iyi olduğu, disk difüzyonun ise tarama için kullanılabilmesi vurgulanmıştır<sup>21</sup>. Başka bir çalışmada disk difüzyon yönteminin kolistin duyarlılığını ölçmek için yüksek hata oranları nedeniyle güvenilir olmayan bir yöntem olduğu;

gradyent difüzyon, agar dilüsyon ve VITEK 2 sisteminin referans metod olan sıvı mikrodilüsyon ile yüksek düzeyde uyum gösterdiği bildirilmiştir<sup>22</sup>. van der Heijden ve ark. tarafından bildirilen bir çalışmada ise gradyent test ile iyi sonuçlar alınsa da referans metod olan sıvı mikrodilüsyon ile konfirme edilmesi gerektiği vurgulanmıştır<sup>23</sup>. Bir başka çalışmada Sıvı makrodilüsyon testi için kategorik uyumun % 100 olduğu bildirilmiştir<sup>24</sup>.

Hazır ticari kitlerinin uyumluluğunun araştırıldığı çalışmalar da bildirilmiştir. MicroNAUT (MERLIN Diagnostika GmbH, Bornheim, Germany), SEMPA1 (custom Sensititre plate, Thermo Fisher Scientific, East Grinstead, UK) ve ComASP Colistin panel (Liofilchem®) gibi hazır ticari sıvı mikrodilüsyon kitlerinin iyi korelasyon gösterdiği bulunmuştur<sup>18,25</sup>.

Otomatize sistemlerden BD Phoenix100 Sistemi (Becton Dickinson, ABD) ve MicroScan (Beckman Coulter, Brea, CA)'in sonuçlarının yetersiz olduğu vurgulanmıştır<sup>14,26,27</sup>. VITEK 2 otomatize sisteminin ise kullanılmasını öneren çalışmaların yanı sıra kolistinlere dirençli Gram negatif izolatları tespit etmek için düşük bir duyarlılık gösterdiği ve heterodirençli alt popülasyonları tespit etmek için güvenilir olmadığını vurgulayan çalışmalar da bildirilmiştir<sup>5,20,26-29,30</sup>.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde hata oranlarının değerlendirilmesi için bazı eşik değerlerin uygulanması gerektiği bildirilmiştir. Jorgensen, yeni bir antibiyotik duyarlılık testinin verifikasyonu için bazı kriterler önermiştir: çok büyük hata oranı (bir bakteri için dirençli olan antibiyotiğin duyarlı verilmesi)  $\leq$  %3, toplam büyük (duyarlı antibiyotiğin dirençli verilmesi) ve küçük hata (orta duyarlı antibiyotiğin duyarlı veya dirençli verilmesi) oranı  $\leq$  %7 ve temel uyum oranı (iki farklı yöntem arasındaki uyumun 1 dilüsyon

çinde olması)>% 90 olması gerektiğini bildirmiştir<sup>31</sup>. Buna göre çalışmamızda VITEK 2, referans yöntem olan sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle karşılaştırıldığında % 95.8 duyarlılık ve % 92.9 pozitif prediktif değere sahip olmasına rağmen, % 6.7'lik çok büyük hata oranı ve % 75.9 temel uyum oranıyla yöntem kabulü için gerekli kriterleri sağlayamamıştır. VITEK 2'nin karşılaştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar alınmış, bir kısmı yeterli olduğunu vurgularken bir kısmı da yetersiz olduğunu bildirmiştir<sup>5,20,26-29,30</sup>.

Farklı yöntemlerin EUCAST önerilerine göre halen tek geçerli yöntem olan sıvı mikrodilüsyon ile karşılaştırıldığı çok sayıda çalışma günümüzde de yapılmaktadır. Ancak kullanımda olan rutin yöntemler ve ticari olarak üretilen otomatize ve manuel sistemlerin sıvı mikrodilüsyon ile karşılaştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar alınması ve onaylanan bazı yeni geliştirilmiş testlerin olması nedeniyle yöntemlerin daha fazla optimize ve standardize edilmesi ve uluslararası kılavuzların uyumlu hale getirilmesi sağlanmalıdır.

#### Kaynaklar

1. Couet W, Grégoire N, Marchand S, Mimoz O. Colistin pharmacokinetics: the fog is lifting. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(1):30-9.
2. Loho T, Dharmayanti A. Colistin: an antibiotic and its role in multiresistant Gram-negative infections. *Acta Med Indones.* 2015;47(2):157-68.
3. Dhariwal AK, Tullu MS. Colistin: re-emergence of the 'forgotten' antimicrobial agent. *J Postgrad Med.* 2013;59(3):208-15.
4. Sader HS, Rhomberg PR, Farrell DJ, Jones RN. Differences in potency and categorical agreement between colistin and polymyxin B when testing 15,377 clinical strains collected worldwide. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015;83(4):379-81.
5. Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clin Microbiol Rev.* 2017;30(2):557-596.
6. Antimicrobial susceptibility testing of colistin - problems detected with several commercially available products, updated April 2019. [http://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/warnings/](http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/warnings/)
7. Antimicrobial susceptibility testing of colistin - problems detected with several commercially available products, issued July 2016 and it is still valid April 2019. [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Warnings/Warnings\\_docs/Warning\\_-\\_colistin\\_AST.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Warnings/Warnings_docs/Warning_-_colistin_AST.pdf)
8. Ezadi F, Ardebili A, Mirnejad R. Antimicrobial Susceptibility Testing for Polymyxins: Challenges, Issues, and Recommendations. *J Clin Microbiol.* 2019;28;57(4).

9. Sherman EX, Wozniak JE, Weiss DS. Methods to Evaluate Colistin Heteroresistance in *Acinetobacter baumannii*. *Methods Mol Biol.* 2019;1946:39-50.
10. Rodriguez CH, Traglia G, Bastias N, Pandolfo C, Bruni G, Nastro M, Barrios R, Bavastro EM, Rey MC, Marques IA, Heger F, Vay C, Fernandez JS, Ramirez MS, Famiglietti A. Discrepancies in susceptibility testing to colistin in *Acinetobacter baumannii*: The influence of slow growth and heteroresistance. *Int J Antimicrob Agents.* 2019 Nov;54(5):587-91.
11. Gwozdziński K, Azarderakhsh S, Imrzioglu C, Falgenhauer L, Chakraborty T. An Improved Medium for Colistin Susceptibility Testing. *J Clin Microbiol.* 2018;25;56(5).
12. Sharafi T, Ardebili A. Plastic binding feature of polymyxins: the effect on MIC susceptibility measurements. *Infect Drug Resist.* 2019;27;12:2649-53.
13. Humphries RM, Green DA, Schuetz AN, Bergman Y, Lewis S, Yee R, Stump S, Lopez M, Macesic N, Uhlemann AC, Kohner P, Cole N, Simner PJ. Multicenter Evaluation of Colistin Sıvı Disk Elution and Colistin Agar Test: a Report from the Clinical and Laboratory Standards Institute. *J Clin Microbiol.* 2019;23;57(11)
14. Koyuncu Özyurt Ö, Özhak B, Ögünç D, Yıldız E, Çolak D, Günseren F, Öngüt G. Evaluation of the BD Phoenix100 System and Colistin Sıvı Disk Elution Method for Antimicrobial Susceptibility Testing of Colistin Against Gram-negative Bacteria. *Mikrobiyol Bul.* 2019;53(3):254-61.
15. Germ J, Poirel L, Kisek TC, Spik VC, Seme K, Premru MM, Zupanc TL, Nordmann P, Pirs M. Evaluation of resazurin-based rapid test to detect colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38(11):2159-62.
16. Mathilde Lescat, Laurent Poirel, Camille Tinguely Patrice Nordmann. A Resazurin Reduction-Based Assay for Rapid Detection of Polymyxin Resistance in *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol.* 2019 Feb 27;57(3).
17. Fonseca E Silva D, Silva-Dias A, Gomes R, Martins-Oliveira I, Ramos MH, Rodrigues AG, Cantón R, Pina-Vaz C. Evaluation of rapid colistin susceptibility directly from positive blood cultures using a flow cytometry assay. *Int J Antimicrob Agents.* 2019;54(6):820-3.
18. Matuschek E, Ahman J, Webster C, Kahlmeter G. Antimicrobial susceptibility testing of colistin - evaluation of seven commercial MIC products against standard sıvı microdilution for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(8):865-87.
19. Asar L, Pfefferle S, Lütgehetmann M, Hoffmann A, Katchanov J, Aepfelbacher M, Rohde H, Maurer FP. Influence of local epidemiology on the performance of common colistin drug susceptibility testing methods. *PLoS One.* 2019;14(6):e0217468.
20. Akin FE, Bayram A, Balci I. Comparison of disc diffusion, E-test, and sıvı microdilution methods for the determination of resistance to colistin, polymyxin B, and tigecycline in multi-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *Mikrobiyol Bul.* 2010;44(2):203-10.
21. Behera B, Mathur P, Das AKapil A, Gupta B, Bhoi S, Farooque K, Sharma V, Misra MC. Evaluation of susceptibility testing methods for polymyxin. *Int J Infect Dis.* 2010;14(7):e596-601.
22. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AM, Diederer BM, Kluytmans JA, vanKeulen PH. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, etest, sıvı microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(10):3726-30.
23. van der Heijden IM, Levin AS, De Pedri EH, Fung L, Rossi F, Duboc G, Barone AA, Costa SF. Comparison of disc diffusion, E test and sıvı microdilution for testing susceptibility of carbapenem-resistant *P. aeruginosa* to polymyxins. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2007 Aug;6:8.
24. Mehri Haeili, Mahsa Kafshdouz, Zeinab Pishnian, Mohammad Mehdi Feizabadi, Luis Martinez-Martinez.



- Comparison of susceptibility testing methods for determining the activity of colistin against Gram-negative bacilli of clinical origin. *J Med Microbiol.* 2019 Jan;68(1):60-6.
25. Galani I, Adamou P, Karaiskos I, Giamarellou H, Souli M. Evaluation of ComASP™ Colistin (formerly SensiTest™ Colistin), a commercial sıvı microdilution-based method to evaluate the colistin minimum inhibitory concentration for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *J Glob Antimicrob Resist.* 2018 Dec;15:123-6.
26. Pfennigwerth N, Kaminski A, Korte-Berwanger M, Pfeifer Y, Simon M, Werner G, Jantsch J, Marlinghaus L, Gatermann SG. Evaluation of six commercial products for colistin susceptibility testing in Enterobacterales. *Clin Microbiol Infect.* 2019 Nov;25(11):1385-89.
27. Chew KL(1), La MV(2), Lin RTP(3)(4), Teo JWP(3) Colistin and Polymyxin B Susceptibility Testing for Carbapenem-Resistant and mcr-Positive Enterobacteriaceae: Comparison of Sensititre, MicroScan, Vitek 2, and Etest with Sıvı Microdilution. *J Clin Microbiol.* 2017;55(9):2609-16.s
28. Piewngam P, Kiratisin P. Comparative assessment of antimicrobial susceptibility testing for tigecycline and colistin against *Acinetobacter baumannii* clinical isolates, including multidrug-resistant isolates. *Int J Antimicrob Agents.* 2014;44(5):396-401.
29. Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, Hadjichristodoulou C, Gennimata V, Pournaras S, Tsakris A. Comparative Evaluation of Colistin Susceptibility Testing Methods among Carbapenem-Nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(8):4625-30.
30. Girardello R, Cury AP, Franco MRG, Di Gióia TR, de Almeida JN Jr, de Araújo MRE, da Silva Duarte AJ, Rossi F. Colistin susceptibility testing and Vitek-2™: is it really useless? *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2018 Aug;91(4):309-11.
31. Jorgensen JH. Selection criteria for an antimicrobial susceptibility testing system. *J Clin Microbiol.* 1993;31(11):2841-4.

---

Çalışma, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 30.05.2019 tarih ve 2019.97.06.18 sayılı izni alınmıştır.

---