

Kolistinin Gram-negatif Bakterilere İn Vitro Etkinliğinin Belirlenmesinde BD Phoenix100 Sistemi ve Kolistin Sıvı Disk Elüsyon Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

Evaluation of the BD Phoenix100 System and Colistin Broth Disk Elution Method for Antimicrobial Susceptibility Testing of Colistin Against Gram-negative Bacteria

Özlem KOYUNCU ÖZYURT¹, Betil ÖZHAK¹, Dilara ÖĞÜNÇ¹, Emre YILDIZ¹, Dilek ÇOLAK¹, Filiz GÜNSEREN², Gözde ÖNGÜT¹

¹ Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya.

¹ Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Antalya, Turkey.

² Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya.

² Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Antalya, Turkey.

Makale Atfı: Koyuncu Özyurt Ö, Özhak B, Öğünç D, Yıldız E, Çolak D, Günseren F, Öngüt G. Kolistinin gram-negatif bakterilere in vitro etkinliğinin belirlenmesinde BD Phoenix100 sistemi ve kolistin sıvı disk elüsyon yöntemlerinin değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2019;53(3):254-261.

ÖZ

Çok ilaca dirençli gram-negatif bakterilerle oluşan enfeksiyonlar, özellikle sağlık kuruluşlarında giderek artan bir sorundur. Kolistin, tedavi seçeneklerinin sınırlı olduğu bu tür enfeksiyonlar için son seçenek antibiyotiklerden biridir. Kolistine karşı direncin artması küresel bir sorundur. Kolistin duyarlılığının belirlenmesinde "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" ve "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)" ortak çalışma grubu referans yöntem olarak, ISO-standart sıvı mikrodilüsyon yöntemini (20776-1) önermiştir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi pratik bir yöntem olmadığı için rutin klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında tercih edilmemektedir; rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kolistin direncinin belirlenmesi için henüz basit ve doğru fenotipik saptama yöntemleri kesin olarak tanımlanmamıştır. Çalışmamızda kolistin gram-negatif bakterilere in vitro etkinliğinin belirlenmesinde BD Phoenix100 (Becton Dickinson, ABD) sistemi ve kolistin sıvı disk elüsyon yöntemlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Hastanemizde 2016-2018 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen, 199 *Klebsiella pneumoniae*, 163 *Acinetobacter baumannii*, 34 *Escherichia coli*, 20 *Enterobacter* spp. ve üç *Citrobacter* spp. olmak üzere toplam 419 gram-negatif bakteri izolatu çalışmaya alınmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi referans yöntem olarak kullanılmıştır ve ISO-standart sıvı mikrodilüsyon yöntemi (20776-1) ve CLSI/EUCAST önerilerine göre çalışılmıştır. Kolistin sıvı disk elüsyon yöntemi uygulaması sırasında her izolat için disk eklenmemiş bir adet ve sırasıyla 1, 2 ve 4 adet 10 µg'lık kolistin diski eklenmiş üç adet olmak üzere toplam dört adet 10 ml katyon eklenmiş Mueller Hinton sıvı besiyeri içeren tüp hazırlanarak, 0 (üreme kontrol), 1, 2 ve 4 µg/ml son konsantrasyonlar elde edilmiştir. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyondan

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Dilara Öğünç, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 07070, Antalya, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 535 350 9783, **E-posta (E-mail):** dogunc@akdeniz.edu.tr

sonra her tüpe 50 µl bakteri süspansiyonu eklenmiştir. 35°C'de 16-20 saat inkübasyon sonrası minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri gözle değerlendirilmiştir. BD Phoenix100 sistemi için üretici firmanın önerileri izlenmiştir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin sıvı disk elüsyon yöntemi arasındaki kategorik uyum %99.3, çok büyük hata oranı ve büyük hata oranı sırasıyla %0.2 ve %0.5 olarak saptanmıştır. BD Phoenix100 sistemi ile kategorik uyum %95, çok büyük hata oranı %5 olarak saptanmıştır. Sonuçlarımız kolistin sıvı disk elüsyon yönteminin, referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırıldığında performansının iyi olduğunu göstermiştir. Çok büyük hata oranı yüksek olan BD Phoenix100 sistemi ise, kolistine dirençli ve kolistine duyarlı izolatları güvenilir bir şekilde ayırt etmemektedir.

Anahtar kelimeler: *Kolistin sıvı disk elüsyon yöntemi; BD Phoenix100 sistemi; kolistin sıvı mikrodilüsyon yöntemi.*

ABSTRACT

Infections with multidrug resistant gram-negative bacteria is a growing problem especially in health care settings. Colistin is one of the last resort antibiotics for such infections in which treatment options are limited. Increasing resistance to colistin is a global problem. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) study groups have recommended the ISO-standard broth microdilution method (20776-1) as the reference method for the determination of colistin susceptibility. Since the broth microdilution method is not a practical method, it is rarely used in routine clinical microbiology laboratories, yet simple and accurate phenotypic detection methods for the determination of colistin resistance in routine microbiology laboratories are not precisely defined. The aim of this study was to evaluate BD Phoenix100 (Becton Dickinson, USA) system and colistin broth disk elution method for the detection of in vitro activity of colistin against gram-negative bacteria. A total of 419 gram-negative bacteria, including 199 *Klebsiella pneumoniae*, 163 *Acinetobacter baumannii*, 34 *Escherichia coli*, 20 *Enterobacter* spp., and three *Citrobacter* spp. isolates which were isolated from various clinical samples in our hospital between 2016-2018 were tested. The broth microdilution method was used as the reference method applying ISO-standard broth microdilution methods (20776-1) and CLSI/EUCAST recommendations. For colistin broth disk elution method, final concentrations of 0 (growth control), 1, 2 and 4 µg/ml were obtained by adding 10 µg colistin disks to four tubes containing 10 ml cation-adjusted Mueller Hinton broth per isolate. After incubation at room temperature for 30 minutes, 50 µl of standardized inoculum suspensions were added to the tubes. Colistin minimum inhibitor concentration (MIC) values were read visually after 16-20 hours of incubation at 35°C in ambient air. Manufacturer's recommendations were followed for BD Phoenix100 system. The categorical agreement between the reference broth microdilution method and the colistin broth disk elution method was 99.3%, very major error and major error rates were 0.2% and 0.5%, respectively. For BD Phoenix100 system, the categorical agreement was 95%, with a very major error rate of 5%. Our results showed that colistin broth disc elution method worked well compared to the reference broth microdilution method. The BD Phoenix100 system, with a high very major error rate, does not reliably distinguish colistin-resistant and colistin-susceptible strains.

Keywords: *Colistin broth disk elution method; BD Phoenix100 system; colistin broth microdilution method.*

GİRİŞ

Çok ilaca dirençli gram-negatif bakterilerin ortaya çıkışı ve bu mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlarda tedavi seçeneklerinin kısıtlı oluşu kolistin (Polimiksin E) gibi katyonik polipeptitlere olan klinik ve bilimsel ilginin artmasına neden olmuştur. Kolistin ilk olarak 1960'lı yıllarda klinik kullanıma sunulmuş, ancak 1970'lerde toksisitesi nedeniyle yerini diğer antibiyotiklere bırakmış, günümüzde ise çok ilaca dirençli gram-negatif bakterilerle oluşan enfeksiyonlarda ilk seçeneklerden biri olmuştur¹. Kolistin, gram-negatif bakterilerin dış hücre membranındaki lipopolisakarit ve fosfolipitlere bağlanıp, membran lipitlerinin fosfat gruplarındaki Ca²⁺ ve Mg²⁺ iyonları ile yer değiştirir. Sonuçta dış hücre membranı

bozular, hücre içeriği boşalır ve bakterisidal etki gözlenir¹. Lipid A'nın sentezinden sorumlu iki bileşenli düzenleyici sistemi kodlayan genlerdeki mutasyonlar sonucu lipopolisakkaritin modifikasyonu veya kaybı kolistine kazanılmış direncin en sık nedenidir^{2,3}. Bir diğer mekanizma, henüz ülkemizde yaygın olmayan plazmit aracılı dirençtir⁴. Kolistin için antimikrobiyal duyarlılık testleri teknik olarak sorunludur. Bunun ana nedeni, kolistinin büyük ve amfipatik yapısının agarda difüzyonunu zorlaştırması, bunun da disk difüzyon ve gradiyent şerit test yöntemlerinin performansını düşürmesidir. Birçok çalışmada, hem disk difüzyon hem de gradiyent şerit test için kategorik uyumun kabul edilemez düzeylerde olduğu bildirilmiştir. Disk difüzyon için %32'ye, gradiyent şerit test için %53'e kadar çok büyük hata oranları saptanmıştır⁵. 2017 yılında "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" ve "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)" ortak çalışma grubu, kolistin için referans yöntem olarak, sürfaktan olmadan ISO-standart sıvı mikrodilüsyon yöntemini (20776-1) önermiştir⁶. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi dışında, kolistinin in vivo aktivitesini güvenilir bir şekilde tahmin eden bir in vitro testin henüz tanımlanmamış olduğu açıktır⁶. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi pratik bir yöntem olmadığı için rutin klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında nadiren uygulanmaktadır.

Çalışmamızda kolistinin gram-negatif bakterilere in vitro etkinliğinin belirlenmesinde BD Phoenix100 (Becton Dickinson, ABD) sistemi ve kolistin sıvı disk elüsyon (KSDE) yöntemlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde 2016-2018 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 199 *Klebsiella pneumoniae*, 163 *Acinetobacter baumannii*, 34 *Escherichia coli*, 20 *Enterobacter* spp. ve üç *Citrobacter* spp. izolatı çalışmaya alındı. Testler yapılmadan önce, her bir izolatın saflığından emin olmak için Columbia kanlı agar plağına (BBL, BD, ABD) pasajları yapıldı.

Kolistin Sıvı Disk Elüsyon (KSDE) Yöntemi

Her izolat için 10 ml katyon eklenmiş Mueller Hinton sıvı besiyeri içeren dört adet tüp alındı. Tüplere 0 (üreme kontrol), 1, 2 ve 4 adet kolistin diski (10 µg; BD, ABD) eklendi. Otuz dakika oda sıcaklığında inkübasyon sonrasında, her tüpe 0.5 McFarland standardı bulanıklığına eşdeğer bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonundan 50 µl eklendikten sonra vortekslendi. 35°C'de 16-20 saat inkübasyon sonrası minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri belirlendi³.

BD Phoenix100 Sistemi (Becton Dickinson, ABD)

İzolatların kolistine in vitro duyarlılıkları üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı.

Referans Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Kolistin sülfat (Sigma Aldrich, Almanya) kullanılarak, 128 ile 0.125 mg/L konsantrasyonlar arasında, çift kat dilüsyonlar şeklinde hazırlanan mikropklarlarda ISO-standart sıvı mikrodilüsyon yöntemi (20776-1) uyarınca ve CLSI/EUCAST önerilerine göre çalışıldı.

Referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile uyumsuz sonuç elde edilen izolatlar her üç yöntem ile tekrar çalışıldı. Referans yöntem ile tekrar uyumsuz bulunan ilgili test sonuçları, uyumsuz sonuç olarak değerlendirmeye alındı. Kalite kontrol suşları olarak *E.coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, kolistine dirençli *E.coli* NCTC 13846 (mcr-1 pozitif) kullanıldı.

Sonuçların Değerlendirilmesi

Sonuçlar EUCAST standartlarında belirlenen klinik sınır değerlere göre (≤ 2 mg/L duyarlı ve > 2 mg/L dirençli) değerlendirildi⁷. Çok büyük hata; referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile dirençli, KSDE yöntemi veya BD Phoenix100 sistemi ile duyarlı, büyük hata; referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile duyarlı, KSDE yöntemi veya BD Phoenix100 sistemi ile dirençli olması olarak tanımlandı. Kabul edilebilir performans; referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırılan yöntem arasında kategorik uyumun $> \%89.9$, çok büyük hata oranının $\leq \%1.5$ ve büyük hata oranının $\leq \%3$ olması olarak tanımlandı⁸.

BULGULAR

Referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile çalışmaya alınan 199 *K.pneumoniae* izolatının 89 (%44.7)'u kolistine duyarlı, 110 (%55.3)'ü dirençli, 163 *A.baumannii* izolatının 111 (%68.1)'i kolistine duyarlı, 52 (%31.9)'si dirençli, 34 *E.coli* izolatının 27 (%79.4)'si kolistine duyarlı, 7 (%20.6)'si dirençli, 20 *Enterobacter* spp. izolatının 12 (%60)'si kolistine duyarlı, 8 (%40)'i dirençli ve üç *Citrobacter* spp. izolatının 2 (%66.7)'si kolistine duyarlı, 1 (%33.3)'i dirençli olarak saptanmıştır. Çalışılan izolatların referans sıvı mikrodilüsyon testi ile MİK değerlerine göre dağılımı Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo I. İzolatların Referans Sıvı Mikrodilüsyon Testi ile MİK Değerlerine Göre Dağılımı

Test edilen mikroorganizma	İzolatların MİK değerlerine göre dağılımı (mg/L)											
	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	> 128
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n= 199)	15	23	22	27	3		14	17	39	24	8	7
<i>Acinetobacter baumannii</i> (n= 163)	4	22	40	36	8	9	2	2	1	4	3	32
<i>Escherichia coli</i> (n= 34)	1	9	12	5		1		2	1	1		2
<i>Enterobacter</i> spp. (n= 20)	1	6	3	2		1	1	2	1			3
<i>Citrobacter</i> spp. (n= 3)			2				1					

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu.

A.baumannii, *E.coli*, *Enterobacter* spp. ve *Citrobacter* spp. izolatlarında referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile KSDE yöntemi arasındaki kategorik uyum %100 olarak saptanmıştır. İki *K.pneumoniae* izolatının referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin MİK değeri 2 mg/L iken, KSDE yöntemi ile bir izolatın MİK değeri 4 mg/L, diğerinin MİK değeri > 4 mg/L olarak saptanmıştır. Bir *K.pneumoniae* izolatının referans yöntemle MİK değeri 4 mg/L iken KSDE yöntemi ile MİK değeri 2 mg/L olarak saptanmıştır. *K.pneumoniae* izolatlarında çok büyük hata oranı ve büyük hata oranı sırasıyla %0.5 ve %1, iki yöntem arasındaki kategorik uyum ise %98.5 olarak belirlenmiştir. Tüm izolatlar birlikte değerlendirildiğinde sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile KSDE yöntemi arasındaki kategorik uyum %99.3, çok büyük hata oranı ve büyük hata oranı sırasıyla %0.2 ve %0.5 olarak saptanmıştır. İzolatların referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan kolistin MİK değerleri ve KSDE yöntemi ile saptanan kolistin MİK değerlerine göre karşılaştırılması Tablo II'de gösterilmiştir.

A.baumannii izolatlarında referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile BD Phoenix100 sistemi arasındaki kategorik uyum %96.3 olarak saptanmıştır. Altı *A.baumannii* izolatının kolistin MİK değeri ≥ 4 mg/L iken bu izolatlar BD Phoenix100 sistemi ile kolistine duyarlı olarak bulunmuş, çok büyük hata oranı %3.7 olarak belirlenmiştir.

K.pneumoniae, *E.coli*, *Enterobacter* spp. ve *Citrobacter* spp. izolatlarında referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile BD Phoenix100 sistemi arasındaki kategorik uyum %94.1 olarak saptanmıştır. Altı *Enterobacter* spp., altı *E.coli*, iki *K.pneumoniae* ve bir *Citrobacter* spp. suşunun kolistin MİK değeri ≥ 4 mg/L iken bu izolatlar BD Phoenix100 sistemi ile kolistine duyarlı olarak bulunmuş, çok büyük hata oranı %5.9 olarak belirlenmiştir. Tüm izolatlar birlikte değerlendirildiğinde referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile BD Phoenix100 sistemi arasındaki kategorik uyum %95, çok büyük hata oranı %5 olarak saptanmıştır. İzolatların referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan kolistin MİK değerleri ve BD Phoenix100 yöntemi ile saptanan kolistin MİK değerlerine göre karşılaştırılması Tablo III'te gösterilmiştir.

Tablo II. İzolatların Referans Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Saptanan Kolistin MİK Değerleri ve Kolistin Sıvı Disk Elüsyon Yöntemi ile Saptanan Kolistin MİK Değerlerine Göre Karşılaştırılması

		KSDE yöntemi ile kolistin MİK (mg/L) değerlerine göre izolat sayıları (n= 419)			
		≤ 1	2	4	> 4
Referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin MİK (mg/L) değerlerine göre izolat sayıları (n= 419)	≤ 1	216	14		
	2	1	8	1	1
	4			9	2
	> 4		1	2	164

KSDE: Kolistin sıvı disk elüsyon, MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu.

Tablo III. İzolatların Referans Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Saptanan Kolistin MİK Değerleri ve BD Phoenix100 Yöntemi ile Saptanan Kolistin MİK Değerlerine Göre Karşılaştırılması

		BD Phoenix100 sistemi ile kolistin MİK (mg/L) değerlerine göre izolat sayıları (n= 419)			
		≤ 1	2	4	> 4
Referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin MİK (mg/L) değerlerine göre izolat sayıları (n= 419)	≤ 1	230			
	2	11			
	4	6	1	3	1
	> 4	13	1	1	152

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu.

TARTIŞMA

Kolistin direncinin basit ve doğru olarak fenotipik tespiti, rutin mikrobiyoloji laboratuvarları için bir sorun olmaya devam etmektedir. Simner ve arkadaşları³ çalışmalarında, altısı *mcr-1* pozitif *E.coli* olmak üzere toplam 171 izolatta (*Acinetobacter* spp., *P.aeruginosa* ve *Enterobacteriaceae*) kolistin MİK değerlerinin belirlenmesinde KSDE yönteminin doğruluğunu değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, tüm izolatlar birlikte değerlendirildiğinde, KSDE yöntemi ile referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi arasındaki kategorik uyumun %98, esas uyumun %99, çok büyük hata oranının %8 olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada test edilen altı *mcr-1* pozitif *E.coli* değerlendirildiğinde, KSDE yöntemi ile referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi arasındaki esas uyum %100 iken, *mcr-1* pozitif *E.coli* izolatının üçünün KSDE yöntemi ile MİK değeri 2 mg/L (sokak tipi) ve referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile yapılan ilk testte 4 mg/L (sokak tipi olmayan) olarak saptandığından, kategorik uyum ve çok büyük hata oranı %50 olarak belirlenmiştir. *mcr-1 E.coli* dışındaki izolatlarda iki test arasındaki kategorik uyum ve esas uyumun %100 olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar tanımladıkları yöntemin kolistine in vitro duyarlılığın belirlenmesinde, mevcut sınırlamaların çoğunu aşan, doğru, basit ve pratik bir yöntem olduğunu belirtmişler ancak *mcr*-pozitif izolatlarda KSDE yöntemi ile MİK değerlerinin düşük saptanabilmesi nedeniyle, bu yöntem ile MİK değeri 2 mg/L olan izolatlarda, kolistin MİK'lerinin referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile doğrulanması ve MİK 2 mg/L olanların *mcr* genleri varlığı açısından değerlendirilmesini önermişlerdir³. Çalışmamızda Simner ve arkadaşlarının³ bulguları ile benzer olarak, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile KSDE yöntemi arasındaki kategorik uyum %99.3 olarak saptanmıştır.

Otomatize sistemler klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında iş yükünü azaltmaları, tekrarlanabilirliklerinin yüksek olması, uzman sistem analizi ile veri yönetimi yapılabilmesi ve daha kısa sürede sonuca ulaşılabilmesi nedeniyle sık kullanılan yöntemlerdir⁸. Çalışmamızda referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile BD Phoenix100 sistemi arasındaki kategorik uyum kabul edilebilir sınırlar içindeyken (%95), çok büyük hata oranı kabul edilebilir sınırların üzerinde (%5) saptanmıştır. Jayol ve arkadaşları⁹, *Enterobacteriaceae* üyesi 123 klinik izolatın (40 kolistine duyarlı ve 83 kolistine dirençli) kolistine in vitro duyarlılığını tespit etmek için BD Phoenix100 sistemi (Becton Dickinson, ABD) ve yeni geliştirilen ve

literatürde tanımlandığı şekilde gerçekleştirilen Rapid Polymyxin NP testinin performanslarını, referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırarak değerlendirmişlerdir. Kolistine duyarlı izolatların tümü BD Phoenix100 sistemi ile kolistine duyarlı saptanırken, Rapid Polymyxin NP ile bir izolatta büyük hata saptanmıştır. Her iki yöntemde plazmit aracılı *mcr-1* veya *mcr-2* pozitif izolatların tümünde kolistin direnci doğru olarak tanımlanmıştır. *mcr-1* veya *mcr-2* negatif olan kolistine dirençli izolatlarda Rapid Polymyxin NP ile bir, BD Phoenix100 sistemi ile on izolatta çok büyük hata saptanmıştır. Araştırmacılar kolistinin klinik olarak endike olduğu durumlarda, BD Phoenix100 sistemi ile kolistine duyarlı bulunan izolatlarda referans sıvı mikrodilüsyon yönteminin kullanılmasını önermişlerdir⁹. *A.baumannii* izolatlarında kolistine in vitro duyarlılığının saptanmasında BD Phoenix100 ve Vitek2 (bioMerieux, Fransa) sisteminin performansının araştırıldığı bir diğer çalışmada, her iki sistemle kategorik uyumun kabul edilebilir sınırların altında olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar çok büyük hata oranını, bizim bulgularımızdan farklı olarak BD Phoenix100 için %41.4, Vitek2 için %37.9 olarak belirlemişlerdir¹⁰.

Çalışmamızın kısıtlılığı, izolatlarımızda henüz ülkemizde yaygın olmayan plazmit aracılı kolistin direnç genlerinin varlığının araştırılmamış olmasıdır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre, KSDE yöntemi referans yöntemle yüksek uyumu nedeniyle kolistine in vitro duyarlılığın saptanmasında klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında bu amaçla kullanılabilecek bir yöntemdir. Farklı türleri içeren ve *mcr* pozitif izolatların sayıca fazla olduğu çalışmalarla bulgularımızın desteklenmesi yararlı olacaktır. BD Phoenix100 sistemi ile çalışılan kolistin duyarlılık testi sonuç bölümünde, duyarlılık kategorisi belirtilmeyip sadece MİK değeri verilmekte ve üretici firmanın, elde edilen sonucun farklı bir yöntemle doğrulanmasını öneren notu yer almaktadır. Çalışmamızda da BD Phoenix100 sistemi ile çok büyük hata oranının kabul edilebilir sınırların üzerinde bulunmuş olması nedeniyle, özellikle kolistine duyarlı olarak belirlenen izolatların doğrulanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Biswas S, Brunel JM, Dubus JC, Reynaud-Gaubert M, Rolain JM. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. Expert Rev Anti Infect Ther 2012;10(8):917-34.
2. Patel JB, Richter SS. Mechanisms of resistance to antibacterial agents, pp:1212-45. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DW (eds), Manual of Clinical Microbiology. 2015, 11th ed. ASM Press, Washington DC.
3. Simner PJ, Bergman Y, Trejo M, Roberts AA, Marayan R, Tekle T, et al. Two-site evaluation of the colistin broth disk elution test to determine colistin in vitro activity against gram-negative bacilli. J Clin Microbiol 2019;57(2) pii: e01163-18.
4. Sarı AN, Süzük S, Karatuna O, Öğünç D, Karakoç AE, Çizmeci Z, et al. Results of a multicenter study investigating plasmid mediated colistin resistance genes (*mcr-1* and *mcr-2*) in clinical *Enterobacteriaceae* isolates from Turkey. Mikrobiyol Bul 2017;51(3):299-303.

5. Jerke KH, Lee MJ, Humphries RM. Polymyxin susceptibility testing: a cold case reopened. *Clin Microbiol Newsl* 2016;38(9):69-77.
6. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST): 2016. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E) as recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf
7. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST): 2018. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 8.1. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.1_Breakpoint_Tables.pdf.
8. Karlowski JA, Richter SS. Antimicrobial susceptibility testing systems, pp: 1274-85. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DW (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 2015, 11th ed. ASM Press, Washington DC.
9. Jayol A, Nordmann P, Lehours P, Poirel L, Dubois V. Comparison of methods for detection of plasmid-mediated and chromosomally encoded colistin resistance in *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect* 2018; 24(2):175-9.
10. Vourli S, Dafopoulou K, Vrioni G, Tsakris A, Pournaras S. Evaluation of two automated systems for colistin susceptibility testing of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 2017;72(9):2528-30.