

## PAPER DETAILS

TITLE: Kolistin Direncinin Saptanmasında Sivi Mikrodilüsyon ve Otomatize Sistem Sonuçlarının  
Karsılaştırılması

AUTHORS: Yeliz TANRIVERDİ, Canberk ÇINAR, Kemal BILGIN, Demet GÜR VURAL, Asuman

BİRİNCİ

PAGES: 297-301

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/781661>

## **Kolistin Direncinin Saptanmasında Sıvı Mikrodilüsyon ve Otomatize Sistem Sonuçlarının Karşılaştırılması\***

Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI <sup>1</sup>, Canberk ÇINAR <sup>1</sup>, Kemal BİLGİN <sup>1</sup>,  
Demet GÜR VURAL <sup>1</sup>, Asuman BİRİNCİ <sup>1</sup>

### **Öz**

**Amaç:** Kolistin çok ilaca dirençli Gram negatif bakterilerin tedavisinde kullanımı artan antibiyotiklerden biridir. Duyarlılığının belirlenmesinde European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) tarafından önerilen Mueller-Hinton buyyonda sıvı mikrodilüsyon (BMD) yöntemi altın standart olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada Vitek2 Kompakt otomatize cihazının belirlediği duyarlılık sonucuyla BMD yönteminin sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya 126 Gram negatif izolat dahil edilmiştir. Bu izolatların kolistin duyarlılığı Vitek2 Kompakt otomatize sistemiyle belirlenmiş olup tüm örneklerin kolistin duyarlılığı BMD yöntemi ile de çalışılmıştır.

**Bulgular** Otomatize sistemde 126 izolatın 16 tanesi kolistin dirençli olarak bulunmuştur (%12,7). BMD yönteminde 126 izolatın 34 tanesi kolistin dirençli olarak bulunmuştur (%27). İki yöntem karşılaştırıldığında otomatize sistem için kategorik uyum (KU) oranı %84,12, büyük hata (BH) oranı %1,09, çok büyük hata (ÇBH) oranı da %55,88 olarak saptanmıştır. Otomatize sistem ile incelenen izolatların minimum inhibitör konsantrasyon değerleri (MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub>) sırasıyla 0,5 µg/ml ve 16 µg/ml olup BMD yöntemi ile elde edilen sonuçların MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,5 µg/ml ve 2 µg/ml olarak bulunmuştur.

**Sonuç:** Otomatize sistem sonuçlarına bakıldığında dirençli izolat sayısının daha az olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar ile otomatize sistemde dirençli olan izolatların gözden kaçabileceği görülmektedir. Kolistin duyarlılığında EUCAST'ın önerdiği BMD yönteminin kullanılmasının gerekliliği ve otomatize sistemlerin beklentileri tam olarak karşılamadığı bu çalışma ile vurgulanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal duyarlılık; kolistin; sıvı mikrodilüsyon.

## **Comparison of the Results of the Microdilution and Automated System in Determination of Colistin Resistance**

### **ABSTRACT**

**Aim:** Colistin is one of the antibiotics with increasing usage in the treatment of multidrug-resistant Gram-negative bacteria. The Mueller-Hinton broth microdilution (BMD) method proposed by the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) is the gold standard for the determination of sensitivity. The aim of this study was to compare the sensitivity of the Vitek2 Compact automated device with BMD results.

**Material and Methods:** Total of 126 Gram negative isolates participated in the study. Colistin sensitivity of the isolates was determined by Vitek2 Compact automated system and BMD method.

**Results:** Sixteen of 126 isolates in the automated system were found to be colistin resistant (12.7%). Colistin resistance was found in 34 (126%) out of 126 isolates with BMD. These two methods, the categorical adjustment (KU) ratio for the automated system was found to be 84.12%, major error (BH) was 1.09%, and very large error (MDI) was 55.88%. The minimum inhibitory concentration values (MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub>) of the isolates studied in the automated system were 0.5 µg / ml and 16 µg / ml. The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> values of the results obtained by BMD method were 0.5 µg / ml and 2 µg / ml.

**Conclusion:** When the automated system results are examined, it is seen that the rate of resistant isolates is less.

1 Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

\*Bu çalışma, 27-31 Mayıs 2020 tarihleri arasında Antalya'da düzenlenen 34. ANKEM kongresinde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI, e-mail: yeliztanriverdi@gmail.com  
Geliş Tarihi / Received: 07.08.2019, Kabul Tarihi / Accepted: 09.06.2020

With these results it is seen that resistant isolates can be overlooked in automated system. In the sensitivity of colistin, it was seen that the automated system did not fully meet the expectations.

**Keywords:** Antimicrobial susceptibility; colistin; broth microdilution.

## GİRİŞ

Çok ilaca dirençli Gram-negatif bakteriler dünyada birçok ülkeden artan oranlarda bildirilmektedir (1). Bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi oldukça güçtür ve bu nedenle yüksek mortalite ve morbidite oranlarına sahiptirler (2). Hastanelerde gram-negatif bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde gereksiz ve uygunsuz antibiyotik kullanımı çoklu antibiyotik direnci gösteren bakterilerin artmasının en önemli nedenleri arasındadır (3). Gram negatif bakteriler içinde en önemli hastane enfeksiyonu etkenleri; *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella* türleridir (4).

Kolistin, polimiksin grubu bir antibiyotik olup, daha önceki yıllarda nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi yan etkilerinden dolayı kullanımı azalmıştır (5). Ancak günümüzde kolistin, karbapenem dirençli Gram negatif etkenlerin tedavisi için tigesiklin ile birlikte artan oranda kullanılmaktadır (6). Karbapenem dirençli izolatlar bütün beta-laktamlara in-vitro dirençli olup, bu bakterilerde sıklıkla kinolon gruplarına da direnç gözlenmekte ve son seçenek tedavi olarak kolistin kullanılabilmektedir (7). *P. aeruginosa*, *A. Baumannii* ve *K. Pneumoniae* gibi çok ilaca dirençli gram-negatif bakterilerin son yıllarda artması sebebiyle bu ilaca olan gereksinim de giderek artmaktadır. Kolistin kullanımının artması, dünya çapında kolistin direncinin ortaya çıkmasına yol açmıştır (8). Kolistin duyarlılığın belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi, gradient difüzyon yöntemi ve otomatize sistemler kullanılmaktaydı. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ortak bir kararla, *Enterobacteriaceae*, *P. Aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp.'de kolistin duyarlılığının çalışılmasında en güvenilir yöntemin Mueller-Hinton buyyonda mikrodilüsyon (BMD) yöntemi olduğunu ve duyarlılıkların belirlenmesine BMD yönteminin kullanılması gerektiği belirtmiştir (9). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterlerine göre *Pseudomonas* spp. , *Acinetobacter* spp. ve *Enterobacteriaceae* için kolistin MİK değeri  $>2 \mu\text{g/ml}$  ise o bakteriler kolistine dirençli olarak kabul edilmektedir (10). Bu öneriler doğrultusunda laboratuvarımızda kolistin duyarlılığının belirlenmesinde BMD yöntemi kullanılmaktadır. Bu çalışmada son yıllarda özellikle karbapenem dirençli izolatlarda kullanımı artan kolistinin Vitek2 Compact otomatize sistemiyle elde edilen duyarlılığı ile referans yöntem olan BMD yöntemi ile bulduğumuz sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

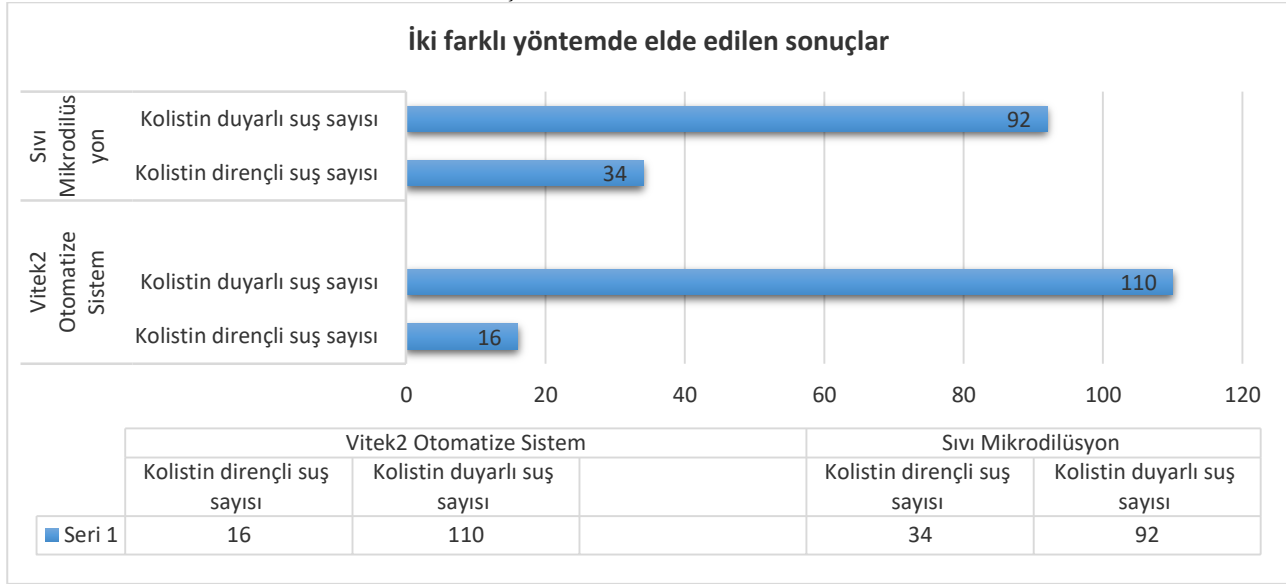
Çalışmada Mart 2018-Nisan 2019 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiş olan çeşitli klinik örneklerden izole edilen çoğu karbapenem dirençli gram negatif bakteriyel izolatların kolistin duyarlılığı araştırılmıştır. İzolatların duyarlılığı Vitek2 Compact otomatize sisteminde ve BMD yöntemiyle çalışılmıştır. Sonuçlar EUCAST kriterlerine göre değerlendirilmiştir (10). Buyyon mikrodilüsyon yönteminde aktif madde olarak kolistin sülfat (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) üreticinin önerileri doğrultusunda süspansiyon haline getirilerek  $256 \mu\text{g/ml}$ 'lik stok solüsyonları hazırlanmıştır. Stok solüsyonundan alınarak mikrodilüsyon plaklarındaki Mueller-Hinton buyyonunda seri dilüsyonlar ( $0.25-128 \mu\text{g/ml}$ ) yapılmıştır. Tüm izolatlardan 0.5McFarland standardı bulanıklığında süspansiyon hazırlandıktan sonra son bakteri konsantrasyonu  $5 \times 10^5 \text{cfu/ml}$  olacak şekilde mikrodilüsyon plaklarına eklenmiş ve mikropalaklar 16-20 saat  $35^\circ\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir. Üremenin olmadığı en düşük kolistin konsantrasyonu minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak tespit edilmiştir. Çalışma için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan alınmış etik kurul onayı bulunmaktadır (B.30.2.ODM.0.20.08/742-797). Çalışma sırasında Araştırma ve Yayın Etiğine uyulmuştur.

### İstatistiksel Analiz

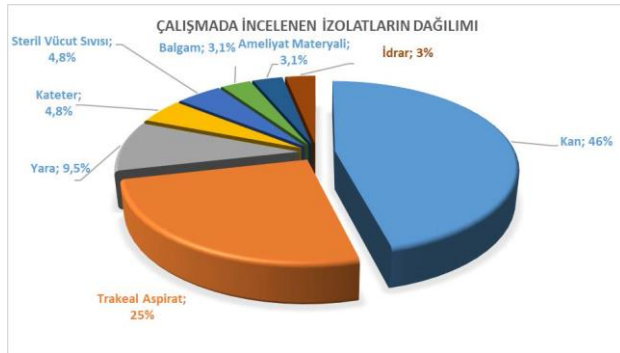
BMD ve otomatize sistemin karşılaştırılmasında kategorik uyum (KU) oranı dikkate alınmıştır. Kategorik uyum; test suşunun CLSI vb. kriterlerine göre yorumlanan duyarlılık sonuçlarının (duyarlı, orta duyarlı, dirençli) uyumu olarak tanımlanmıştır. Büyük hata (BH) bir antibiyotik duyarlılık testinde dirençli, referans testinin duyarlı sonuç vermesi; çok büyük hata (ÇBH) ise bir antibiyotik duyarlılık testinde duyarlı iken referans testinin dirençli sonuç vermesi olarak tanımlanmıştır (11). Referans testi olan BMD sonuçlarıyla, Vitek2 sonuçları karşılaştırıldı ve KU, ÇBH ve BH oranları hesaplandı. International Organization for Standardization (ISO) (12) tarafından belirlenen kriterlere göre kabul edilebilir performans, KU için  $\geq 90\%$ ; ÇBH ve BH'ler için  $\leq 3\%$  olarak belirlenmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya 126 Gram negatif izolat (*Acinetobacter* spp. n=73, *Klebsiella* spp. n=43, *P. aeruginosa* n= 4, *E. coli* n=1, *Providencia* spp. n=1, *Enterobacter* spp. n=3, *Serratia* spp. n=1) dahil edilmiştir. İncelenen örneklerin 58'si (%46) kan, 32'si trakeal aspirat (%25,4), 12'si yara (%9,5), 6 'sı kateter (%4,8), 6'sı steril vücut sıvısı (%4,8), 4'ü balgam (%3,1), 4'ü ameliyat materyali (%3,1) ve 4'ü de idrar (%3,1) örneğidir. Bu örneklerin kolistin duyarlılığı Vitek2 Compact otomatize sisteminde çalışılmış olup tüm örneklerin kolistin duyarlılığı BMD ile de çalışılmıştır.

**Tablo 1.** Vitek2 ve BMD ile Elde Edilen Sonuçlar**Tablo2.** Kolistin Duyarlılığı için BMD ve Vitek2'nin Karşılaştırılması

| Yöntem                     | Duyarlı (%) | Dirençli (%) | MİK <sub>50</sub> (µg/ml) | MİK <sub>90</sub> (µg/ml) | KU       | BH       | ÇBH      |
|----------------------------|-------------|--------------|---------------------------|---------------------------|----------|----------|----------|
| Sıvı mikrodilüsyon yöntemi | 73,02%      | 26,98%       | 0,5                       | 2                         | Referans | Referans | Referans |
| Vitek2 Kompakt             | 87,30%      | 12,70%       | 0,5                       | 16                        | 84,12%   | 1,09 %   | 55,88 %  |

**Şekil 1.** Çalışmada İncelenen İzolatların Dağılımı

Otomatize sistemde elde edilen sonuçlara göre 126 suşun 16'sı (%12,7) kolistin dirençli olarak saptanmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen sonuçlara göre de 126 izolattan 34'ü (%27) kolistin dirençli olarak saptanmıştır. Vitek2 Kompakt otomatize sistemiyle incelenen izolatların MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,5µg/ml ve 16 µg/ml olup BMD yöntemi ile elde edilen sonuçların MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0,5µg/ml ve 2 µg/ml olarak bulunmuştur.

Otomatize sistemden ve altın standart yöntem olan sıvı mikrodilüsyon yönteminden elde edilen kolistine direnç oranları karşılaştırıldığında KU oranı %84,12 olarak bulunmuş olup BH oranı %1,09, ÇBH oranı da %55,88 olarak saptanmıştır.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Kolistin, özellikle karbapeneme dirençli Gram-negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde nefrotoksisite gibi yan etkilerine rağmen kullanımı giderek artan antibiyotiklerdendir. Fakat günümüzde kolistin direncinin de yaygınlaşmasıyla klinisyenlerin tedavi seçenekleri giderek azalmaktadır (8). Kolistine duyarlılık testlerinde en önemli zorluk duyarlılığın belirlenmesindeki sorunlardır (13). Polimiksinler özellikle agar yüzeyinde zayıf yayılım gösterdiğinden disk difüzyon ve gradient difüzyon sonuçlarında hatalı veriler elde edilebilmektedir (14). Disk difüzyon yöntemi uygulama kolaylığı nedeniyle kolistin duyarlılığında sık kullanılan bir yöntem olmakla birlikte sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında güvenilir olmayan sonuçlar verdiği bilinmektedir (15). Kolistin duyarlılığı için referans yöntem CLSI-EUCAST önerilerine göre BMD olarak belirlenmiştir (16). Tan ve ark. antimikrobiyal duyarlılık yöntemlerini karşılaştırdıkları validasyon çalışmasında otomatize sistemlerden Vitek2 Kompakt ile agar dilüsyon yöntemini karşılaştırmış, Vitek2 Kompakt'ın kolistin duyarlılığının belirlenmesinde güvenilir olmayan sonuçlar verdiğini bildirmiştir (17). Vitek2 Kompakt ve BMD yönteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada KU %94,1, ÇBH oranı %0,7, büyük hata oranı %0 olarak bildirilmiştir (18). Vitek2, Micro Scan, E test ve agar dilüsyon yöntemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada Vitek2 otomatize sisteminin KU oranı %99,1 olarak bulunmuştur (19).

Kolistin duyarlılığının karşılaştırıldığı bir çalışmada BMD yöntemi ile Vitek2 Kompakt' nin tüm izolatlar için KU oranı %96,7, ÇBH oranı %0, BH oranı %3,3 olarak bulunmuştur (20). Rojas ve ark. yaptığı bir çalışmada ise gradient test ile yapılan kolistin duyarlılık sonuçlarının BMD yöntemlerine göre %35 hata oranı verdiğini ve güvenilir olmadığı da belirtilmiştir (21). Bizim çalışmamızda olduğu gibi Vitek2 Kompakt gibi ticari test yöntemlerinin EUCAST önerilerini karşılamadığı görülmüştür. Tüzemen ve ark. kolistin direncinde BMD ve otomatize sistemlerinin karşılaştırdığı bir çalışmada otomatize sistemde referans yöntem olan BMD' ye göre, KU oranının %92, ÇBH oranının %0 ve BH oranının %8 olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada otomatize sistemde kolistin için MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla >4µg/ml ve >4µg/ml olduğu, BMD yönteminde de MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 32µg/ml ve ≥64µg/ml olduğu bulunmuştur (22). Ancak Tüzemen ve ark. çalışmasında, seçilen izolatların otomatize sistemde dirençli tespit edilmiş izolatlar olması nedeniyle ÇBH hiç saptanmamıştır. Biz çalışmamızda Vitek2 Kompakt otomatize sistemi ile kolistin duyarlılığında referans kabul edilen BMD yöntemi ile karşılaştırdık ve Vitek2 Kompakt otomatize sisteminde saptanan kolistin direnç oranını daha düşük bulduk (%12,7). KU oranını %84,12, ÇBH oranını %55,88, BH oranının da %1,09 olarak tespit ettik. Buna göre KU ve ÇBH oranının kabul edilebilir sınırlarda olmadığını BH oranının kabul edilebilir sınırlarda olduğunu belirledik (KU için; (≥%90) , ÇBH için; (≤3) , BH için; (≤3)). Özellikle BMD yöntemi ile dirençli bulduğumuz ve otomatize sistemin duyarlı olarak tespit ettiği izolat sayısının varlığı ÇBH oranının oldukça yüksek olmasının sebeplerindendir.

Vitek2 otomatize sistemi ve BMD yönteminin karşılaştırıldığı çalışma sayısı çok fazla bulunmamaktadır yapılmış çalışmalarda ise genellikle Vitek2 otomatize sisteminin beklentileri karşılamadığı görülmüş olup aksini söyleyen çalışmalar da mevcuttur. Ancak son yapılan çalışmalar kolistin direncini saptamak için otomatize sistemlerin kullanılmaması, BMD yönteminin kullanılması gerektiğini vurgulamaktadır. EUCAST da BMD yönteminin kullanılması konusunda laboratuvarları uyarmaktadır (23). Çalışmada test ettiğimiz izolat sayısının sınırlı olması ve önceleri kolistin duyarlılığı tespitinde kullanılan gradient difüzyon yönteminin test edilmemiş olması çalışmamızın kısıtlılıkları arasındadır. Kullanımı gittikçe artan bu antibiyotik direnç oranlarının azımsanmayacak düzeyde olduğu, otomatize sistemle dirençli suşların gözden kaçabileceği bilinmelidir.

**Yazarların Katkıları:** Fikir/Kavram: Y.T.Ç., K.B., A.B.; Tasarım: Y.T.Ç., D.G.V.; Veri Toplama ve/veya İşleme: Y.T.Ç., C.Ç.; Analiz ve/veya Yorum: Y.T.Ç., C.Ç., K.B., D.G.V.; Literatür Taraması: Y.T.Ç., C.Ç.; Makale Yazımı: Y.T.Ç., C.Ç., A.B.; Eleştirel İnceleme: Y.T.Ç., K.B., D.G.V., A.B.

#### KAYNAKLAR

1. Pereira GH, Garcia DO, Mostardeiro M, Fanti KS, Levin AS. Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: two-year epidemiologic

follow-up in a tertiary hospital. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013; 108(1): 113-5.

2. Öztürk O, Öztürk C, Delialioğlu N, Emekdaş G. Çoklu antibiyotik dirençli gram negatif bakterilerde kolistin duyarlılığının belirlenmesi. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2010; 3(3): 15-20.
3. Kılınç Ç, Güçkan R, Kahveci M, Kayhan Y, Pirhan Y, Özalp T. Kan kültürlerinde üreyen gram negatif izolatların dağılımı ve antibiyotik direnç profilleri. Int J Basic Clin Med. 2015; 3(3): 125-30.
4. Arman D. Yoğun bakımda gram negatif bakteri sorunu. Ankem Derg. 2009; 23: 148-56.
5. Kaye KS, Pogue JM, Tran TB, Nation RL, Li J. Agents of last resort: Polymyxin resistance. Infect Dis Clin North Am. 2016; 30(2): 391-414.
6. Koçak CÖ, Hazırolan G. Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* klinik izolatlarında kolistin direnci. Türk Mikrobiyoloji Cem Derg. 2019; 49(1): 17-23.
7. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. Lancet Infect Dis. 2009; 9(4): 228-36.
8. Grégoire N, Aranzana-Climent V, Magréault S, Marchand S, Couet W. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of colistin. Clin Pharmacokinet. 2017; 56(12): 1441-60.
9. eucast.org [Internet]. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1 Basel: EUCAST [Cited: March 2018]. Available from: [http://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/previous\\_versions\\_of\\_documents/](http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents/).
10. eucast.org [Internet]. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E). As recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. Basel: EUCAST [Cited March 2018]. Available from: [http://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/previous\\_versions\\_of\\_documents/](http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents/).
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Development of In Vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters. Approved Guideline. 3rd ed. CLSI document M23-A3. Wayne, PA: CLSI, 2008.
12. International Organization for Standardization. ISO 20776-2:2007. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems. Susceptibility testing of infectious agents evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices - Part 2: Evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. Geneva: ISO. Dis Clin North Am. 2016; 30(2): 391-414. <https://www.iso.org/standard/41631.html>.
13. Vasoo S. Susceptibility testing for the polymyxins: two steps back, three steps forward? J Clin Microbiol. 2017; 55(9): 2573-82.
14. Humphries RM. Susceptibility testing of the polymyxins: where are we now? Pharmacotherapy. 2015; 35(1): 22-7.



15. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AM, Diederer BM, Kluytmans JA, van Keulen PH. Comparative evaluation of the Vitek 2, disk diffusion, Etest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob Agents Chemo Ther.* 2007; 51(10): 3726-30.
16. Eucast [Internet]. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E) As recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. 2016 [Cited: December 2018]. Available from: [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/General\\_documents/Recommendations\\_for\\_MIC\\_determination\\_of\\_colistin\\_March\\_2016.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf).
17. Tan TY, Ng SY. Comparison of E test, Vitek and agar dilution for susceptibility testing of colistin. *Clin Microbiol Infect.* 2007; 13(5): 541-4.
18. Chew KL, La MV, Lin RT, Teo JW. Colistin and polymyxin B susceptibility testing for carbapenem-resistant and mcr-positive *Enterobacteriaceae*: comparison of Sensititre, Microscan, Vitek 2, and E test with broth microdilution. *J Clin Microbiol.* 2017; 55(9): 2609-16.
19. Lee SY, Shin JH, Lee K, et al. Comparison of the Vitek 2, MicroScan, and Etest methods with the agar dilution method in assessing colistin susceptibility of blood stream isolates of *Acinetobacter* species from a Korean university hospital. *J Clin Microbiol.* 2013; 51(6): 1924-6.
20. Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, et al. Comparative evaluation of colistin susceptibility testing methods among carbapenem-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemo ther.* 2015; 59(8): 4625-30.
21. Rojas LJ, Salim M, Cober E, et al. Colistin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: laboratory detection and impact on mortality. *Clin Infect Dis.* 2017; 64(6): 711-8.
22. Tüzemen NÜ, Efe K, Akalın H, Özakın C. Retrospective evaluation of colistin-resistant isolates in automated system by gradient diffusion method and broth microdilution method. *Klinik Derg.* 2019; 32(1): 57-61.
23. Giske CG, Kahlmeter G. Colistin antimicrobial susceptibility testing can the slow and challenging be replaced by the rapid and convenient? *Clin Microbiol Infect.* 2018; 24(2): 93-4.