

Klebsiella pneumoniae suşlarında kolistin direncinin saptanmasında otomatize sistemlerin sıvı mikrodilüsyon ile karşılaştırılması

Comparison of automated systems using liquid microdilution for the determination of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* strains

Burak EZER¹ (ID), Zekeriya TAŞKIN² (ID), Kadir KABA³ (ID), Selin UĞRAKLI² (ID), Metin DOĞAN² (ID)

ÖZET

Amaç: Çoklu ilaç direncine sahip *Klebsiella pneumoniae* suşlarında kolistin direncinin saptanmasında otomatize sistemler altın standart yöntem olan sıvı mikrodilüsyon yöntemine göre hatalı sonuçlar vermektedir. Otomatize sistemlerin kolistin direncini doğru saptamasıyla ilgili kıyaslama yapılan çalışmalar literatürde kısıtlıdır. Bu çalışmada; üç yıllık dönemde çeşitli klinik örneklerden izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında kolistin duyarlılıklarının belirlenmesinde sıvı mikrodilüsyon yöntemi referans alınarak Vitek2 Compact otomatize sistemi ve Phoenix otomatize sisteminin duyarlılık sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: *K. pneumoniae* suşlarının tanımlanması konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve otomatize bakteri tanımlama sistemi (Vitek2 bioMérieux, MarcyL'Etoile, Fransa) ve Phoenix otomatize sistem (Bectondickinson, M50 , ABD) kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri de yine aynı cihazlarla

ABSTRACT

Objective: In the detection of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* strains with multidrug resistance, automated systems give more erroneous results than the gold standard method, the liquid microdilution method. Comparative studies on the correct detection of colistin resistance by automated systems are limited in the literature. In this study; it is aimed to compare Vitek2 Compact and Phoenix automated systems by using liquid microdilution method in the determination of colistin susceptibility in *K. pneumoniae* strains isolated from various clinical specimens over a three-year period.

Methods: Identification of *K. pneumoniae* strains was performed using conventional microbiological methods and automated bacterial identification systems which are Vitek2 (bioMérieux, MarcyL'Etoile, France) and Phoenix (Becton dickinson, M50 , USA). Antibiotic susceptibility tests were also performed with the same devices. Colistin sensitivity was determined

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Beyhekim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Konya, Türkiye

²Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Konya, Türkiye

³Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD., Konya, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Burak EZER

Beyhekim Mahallesi Devlethane Sokak No: 2/C Selçuklu / Konya - Türkiye

E-posta / E-mail : dr.burakezer@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 05.04.2023

Kabul Tarihi / Accepted : 01.03.2024

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.48243

Ezer B, Taşkin Z, Kaba K, Uğraklı S, Doğan M. *Klebsiella pneumoniae* suşlarında kolistin direncinin saptanmasında otomatize sistemlerin sıvı mikrodilüsyon ile karşılaştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(1): 13 - 20

yapılmıştır. Kolistin duyarlılığı ise hem otomatize yöntemlerle hem de sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile eş zamanlı olarak belirlenmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda; Vitek2 otomatize sistem için Kategorik Uyum (KU) oranı %93,71 , Çok Büyük Hata (ÇBH) oranı %6,89 , Büyük Hata (BH) oranı ise %1,41 tespit edilmiştir. Phoenix otomatize sistem için ise KU oranı %95,05, ÇBH oranı %3,44, BH oranı ise %1,50 olarak tespit edilmiştir. Vitek2 için; özgüllük %86,10, lambda değeri ise 0,82, kappa değeri 0,83 olarak tespit edilmiştir. Phoenix için ise; özgüllük %88,20, lambda değeri ise 0,82, kappa değeri 0,87 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: *K. pneumoniae* için kolistin duyarlılığının saptanmasında Phoenix otomatize sisteminin Vitek2 otomatize sisteme göre referans yöntemle daha uyumlu olduğu tespit edilmiş olup, bu konuyla ilgili destekleyici çok merkezli daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Vitek2, Phoenix, kolistin, direnc

simultaneously with both automated methods and liquid microdilution method.

Results: In our study, for the Vitek2 automated system, the Categorical Agreement (CA) ratio is 93.71%, the Very Major Error (VME) rate is 6.89%, and the Minor Error (ME) rate is 1.41%. For the Phoenix automated system, the CA ratio is 95.05%, the VME rate is 3.44%, and the ME rate is 1.51%. Vitek2; specificity is 86.10%, lambda value is 0.82, and kappa value is 0.83. For the Phoenix system, specificity is 88.20%, lambda value is 0.82, and kappa value is 0.87.

Conclusion: In determining colistin susceptibility for *K. pneumoniae*, the Phoenix automated system was found to be more compatible with the reference method than the Vitek2 automated system, and more supportive multicenter studies are needed on this subject.

Key Words: Vitek2, Phoenix, colistin, resistance

GİRİŞ

Çoklu ilaç direncine sahip *K. pneumoniae* suşlarının görülme sıklığı dünya genelinde artmaktadır. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* (CRKP) sağlık hizmetli ilişkili enfeksiyonlara sıklıkla yol açabilmekte ve mortalitesi yüksek salgınlara neden olabilmektedir (1). Karbapenem dirençli suşlar, tüm beta laktamlara in vitro dirençli olup, genelde kinolon direncine de sahip oldukları için bu hastalarda son seçenek olarak kolistin tercih edilmektedir. Bundan dolayı artan kolistin direnci, bu vakaların yönetimi açısından oldukça önemli bir sorun olarak görülmektedir. Plazmit aracılı direncin kolay yayılabilme potansiyeli nedeniyle kolistin direnci küresel bir sorun haline gelmiştir (2).

Kolistin duyarlılığın belirlenmesinde; disk difüzyon yöntemi, gradient difüzyon yöntemi ve otomatize sistemlerin kullanılabilmesinin yanı sıra, Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) -

Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST)'ın aldığı ortak bir kararla, *Enterobacteriaceae*, *P. aureginosa* ve *Acinetobacter* spp.'de kolistin duyarlılığının çalışılmasında en güvenilir yöntemin Mueller-Hinton buyyonda sıvı mikrodilüsyon (BMD) yöntemi olduğu ve duyarlılıkların belirlenmesinde BMD yönteminin kullanılması gerektiği belirtilmiştir (3). Sıvı mikrodilüsyon yöntemi otomatik yöntemlere göre çalışması daha zahmetli yöntemdir. Bu nedenle standardizasyon ve karşılaştırmalı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada; üç yıllık periyotta hastanemiz klinik örneklerinde izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında kolistin duyarlılıkların belirlenmesinde sıvı mikrodilüsyon yöntemi referans alınarak Vitek2 Compact otomatize sistemi ve Phoenix otomatize sisteminin duyarlılık sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Mayıs 2019 - Ekim 2022 yılları arasında kabul edilen klinik örneklerden izole edilen *K. pneumoniae* suşları çalışmaya dahil edilmiştir. Aynı hastanın birden fazla örneğinde üreyen izolatların ilki çalışmaya dahil edilmiştir. Suşların tanımlanması konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve otomatize bakteri tanımlama sistemi Vitek2 (bioMérieux, MarcyL'Etoile, Fransa) ve Phoenix otomatize sistem (Becton dickinson, M50, ABD) kullanılarak yapılmış olup, antibiyotik duyarlılık testleri de yine aynı cihazlarla çalışılmıştır. Kolistin duyarlılığı ise hem otomatize yöntemlerle hem de sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile eş zamanlı olarak belirlenmiştir. Çalışmamıza dahil edilen suşların kolistin duyarlılıkları EUCAST kriterlerine göre *Enterobacteriace* spp. için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri $>2 \mu\text{g/mL}$ ise kolistine dirençli kabul edilmiştir (4). Antibiyotik duyarlılık testleri Ekim 2019- Mayıs 2022 yılları arasında Phoenix ve Vitek2 otomatize sistem ile çalışılmış fakat kolistin duyarlılığı sıvı mikrodilüsyon testine göre bildirilmiştir.

Örneklem büyüklüğü için G power 3.1 analizi kullanılmış olup beklenen ve gözlenen değerler oluşturulmuştur. Program üzerinden ki-kare goodness testi kullanılarak hesaplamalar yapılmış olup alfa değeri 0,05 alınmıştır. Affect size W değeri 493 örnek olan grupta 0,84; 465 örnek olan grupta ise 0,87 olarak bulunmuştur. Beta değeri 1 olarak saptanmış, çalışmanın gücü %100 olarak hesaplanmıştır.

Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Kolistin sülfat tozu Sigma (St Louis MO, USA) temin edilmiştir. 128 mg/L konsantrasyonda stok solüsyonları elde edilmiştir. İzolatlar stok solüsyon dilüsyonu yapıldıktan sonra uygun konsantrasyonlarda mikropleytlere eklenmiştir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi, ISO kriterlerine uygun olacak şekilde 96 kuyucuklu polistiren içeren steril pleytlerde BBL

Mueller Hinton II broth (Becton Dickinson) kullanılarak yapılmıştır. Stok solüsyonlardan seri dilüsyonlar (0,32-32 mg/L) yapılmıştır. Son kuyucuk kontrol olarak değerlendirilmiştir. Tüm izolatlardan 0,5 McFarland olacak şekilde süspansiyon hazırlanmıştır. Ardından mikrodilüsyon plaklarına 5×10^5 cfu/mL bakteri konsantrasyonu eklenip mikropleytler 36°C 'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Negatif kontrol olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu, pozitif kontrol olarak *Escherichia coli* NCTC 13846 suşu kullanılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Otomatize sistemlerin sıvı mikrodilüsyon yöntemi referans alınarak yapılan karşılaştırılmasında kategorik uyum (KU) oranı dikkate alınmıştır. Kategorik uyum; test suşunun EUCAST 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 (5). Referans testi olan sıvı mikrodilüsyon sonuçlarıyla, Vitek2 ve Phoenix sonuçları karşılaştırılıp; KU, ÇBH ve BH oranları hesaplanmıştır. Uluslararası Standartlar Teşkilatı (ISO) tarafından belirlenen kriterlere göre kabul edilebilir performans, KU için ≥ 90 ; ÇBH ve BH'ler için ≤ 3 olarak belirlenmiştir (6). Mikrotüp dilüsyon yöntemiyle; Vitek2 ve Phoenix otomatize sistemlerinin kolistin duyarlılık sonuçlarını karşılaştırmak için SPSS programı kullanılarak kapa ve lambda değerleri hesaplanmıştır. Ayrıca, mikrotüp dilüsyon yöntemiyle; Vitek2 ve Phoenix otomatize sistemlerinin kolistin duyarlılık sonuçları ki-kare testi kullanılarak kıyaslanmıştır. Hem Vitek2 hem Phoenix otomatize sistemi için; duyarlılık, özgüllük, negatif prediktif değer, pozitif prediktif değer ve doğruluk değerleri Excell programıyla hesaplanmıştır. Vitek2 ve Phoenix için güven aralıkları ayrı ayrı hesaplanmıştır.

Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih:10.02.2023, Karar no: 2023/4179).

BULGULAR

Çalışmaya alınan suşlardan 493 *K. pneumoniae* suşunun kolistin duyarlılıkları Vitek2 otomatize sistem

ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır. Eş zamanlı olarak 493 *K. pneumoniae* suşunun 465'i ise Phoenix otomatize sistem ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır. 28 *K. pneumoniae* suşu ise ihale döneminde başka bir otomatize cihaza geçilmesinden dolayı Phoenix ile sıvı mikrodilüsyon karşılaştırılmasına dahil edilmemiştir.

K. pneumoniae izole edilen örneklerin dağılımına Tablo-1'de yer verilmiştir.

Tablo 1. *K.pneumoniae* izole edilen örneklerin dağılımı (%)

Örnek çeşidi	Yüzde
Bronkoalveolar lavaj	%43,82
Kan	%22,69
Yara	%11,61
İdrar	%9,83
Drenaj	%4,18
Kateter (intravasküler)	%2,61
Balgam	%2,09
Apse	%1,35
Beyin omurilik sıvısı	%0,5
Boğaz sürüntüsü	%0,5
Periton sıvısı	%0,3
Plevra sıvısı	%0,2
Vajen sürüntüsü	%0,2

Çalışmamızda Vitek2 otomatize sistemde elde edilen sonuçlara göre 493 izolatın 219'u kolistin dirençli (%44,4) olarak saptanmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen sonuçlara göre de 493 izolatın 246 (%49,89)'sı kolistin dirençli olarak bulunmuştur. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve Vitek2 otomatize sistemin ikisinin de beraber kolistin duyarlı saptadığı izolat sayısı 240 (%48,68) olarak belirlenmiştir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve Vitek2 otomatize sistemin ikisinin de beraber kolistin dirençli saptadığı izolat sayısı 212 (%43) tespit edilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon yönteminin kolistin duyarlı, Vitek2 otomatize sistemin kolistin

dirençli saptadığı izolat sayısı 7 (%1,41) bulunmuştur. Sıvı mikrodilüsyon yönteminin kolistin dirençli, Vitek2 otomatize sistemin kolistin duyarlı saptadığı izolat sayısı 34 (%6,89) olduğu görülmüştür. Ki-kare testi sonucuna göre sıvı mikrodilüsyon ile Vitek2 yönteminin sonuçları arasında istatistiksel derecede anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,001$). Ki-kare testine göre anlamlı bir fark olmasına rağmen Vitek2 testi altın standart sıvı mikrodilüsyon test sonuçlarını yüksek derece doğru öngörmektedir ($\lambda = 0,824$; $p < 0,001$). Vitek2 ve sıvı mikrodilüsyon test sonuçları yüksek derecede uyumlu çıkmıştır ($K = 0,834$; $p < 0,001$).

Çalışmamızda, Phoenix otomatize sistemde elde edilen sonuçlara göre 465 izolatin 127'si kolistin dirençli (%27,31) olarak saptanmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen sonuçlara göre de 465 izolatin 136'sı (%29,24) kolistin dirençli olarak belirlenmiştir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve Phoenix otomatize sistemin ikisinin de beraber kolistin duyarlı saptadığı izolat sayısı 322 (%88,21) tespit edilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve Phoenix otomatize sistemin ikisinin de beraber kolistin dirençli saptadığı izolat sayısı 120 (%25,8) olduğu görülmüştür. Sıvı mikrodilüsyon yönteminin kolistin dirençli, Phoenix otomatize sistemin kolistin duyarlı saptadığı izolat sayısı 16'dır (%3,44). Sıvı mikrodilüsyon yönteminin kolistin duyarlı, Phoenix otomatize sistemin kolistin dirençli saptadığı izolat sayısı ise 7 (%1,505) tespit edilmiştir. Ki-kare testi sonucuna göre sıvı mikrodilüsyon ile Phoenix yönteminin sonuçları arasında istatistiksel derecede anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,001$). Ki-kare testine göre anlamlı bir fark olmasına rağmen Phoenix testi altın standart sıvı mikrodilüsyon test sonuçlarını yüksek derece doğru öngörmektedir ($\lambda=0,825$; $p<0,001$). Phoenix ve sıvı mikrodilüsyon test sonuçları yüksek derecede uyumlu çıkmıştır (Kappa:0,878;

$p<0,001$). Genel olarak, Phoenix ve Vitek2 otomatize sistemleri altın standart sıvı mikrodilüsyon yöntemi kadar iyi sonuç vermemesine rağmen ikisinin de sıvı mikrodilüsyon yöntemi sonucunu yüksek derecede öngörme ve uyum içinde olduğu saptanmıştır. Phoenix otomatize sistem sıvı mikrodilüsyon sonucunu öngörmeye ve uyum açısından Vitek2 otomatize sistemine göre daha yüksek bulunmuştur.

Tablo-2'de kolistin duyarlılığı için Sıvı mikrodilüsyon , Vitek2 ve Phoenix otomatize sistem yöntemlerinin karşılaştırılmasına yer verilmiştir. (%95 güven aralıkları değerlerine parantez içinde yer verilmiştir).

Vitek2 için; duyarlılık %97,1 (%95,1-99), özgüllük %86,1 (%84,1-88,0), negatif prediktif değer %96,8 (%94,8-98,7), pozitif prediktif değer %87,6 (%85,6-89,5), doğruluk oranı %91,6 (%89,6-93,5), lambda değeri ise 0,8 (0,6-0,9), kappa değeri 0,8 (0,6-0,9) olarak tespit edilmiştir.

Phoenix için ise; duyarlılık %97,1 (%95,1-99), özgüllük %88,2 (%86,2-90,1), negatif prediktif değer %94,5 (%92,5-96,4), pozitif prediktif değer %95,3 (%93,3-97,2), doğruluk oranı %95 (%93-96,9), lambda değeri ise 0,8 (0,6-0,9), kappa değeri 0,8 (0,6-0,9) olarak belirlenmiştir.

Tablo 2. Kolistin duyarlılığı için sıvı mikrodilüsyon, Vitek2 ve Phoenix otomatize sistem yöntemlerinin karşılaştırılması

Yöntem	Dirençli(%)	Duyarlı(%)	KU	BH	ÇBH
Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi	%49,89	%50,11	Referans	Referans	Referans
Vitek2 Otomatize Sistem	%44,42	%55,58	%93,71	%1,41	%6,89
Phoenix Otomatize sistem	%27,31	%72,68	%95,05	%1.505	%3,44

TARTIŞMA

Çoklu ilaca dirençli organizmalar, küresel olarak sağlıksistemleri üzerinde artan bir yük oluşturmaktadır. Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* (CRE) artık dünya çapında rapor

edilmektedir. CRE enfeksiyonlarının tedavisinde güçlükler yaşanmaktadır ve sınırlı antibiyotik seçenekleri mevcuttur. Kolistin genelde CRE ile meydana gelen enfeksiyonların tedavisinde son seçenek olarak kullanılan bir antimikrobiyal ajandır.

Polimiksinler, yüksek nefrotoksisite ve nörotoksisite oranlarına ilişkin endişeler nedeniyle klinisyenler tarafından daha az sıklıkla kullanılan antibiyotiklerdendir (7). Ancak son yıllarda artan CRE enfeksiyonu oranları nedeniyle polimiksinlerin kullanımı artmıştır (8). Birçok antibiyotiğin duyarlılıklarını araştırmak için çok değişik yöntemler kabul edilirken kolistin için durum farklılık göstermektedir. Disk difüzyon yönteminin, kolistin direncini tespit etmede güvenilir olmadığıyla ilgili çalışmalar mevcuttur (9, 10).

Kolistin E-test sonuçlarının sıvı mikrodilüsyon yöntemine göre %35,5 oranında hatalı sonuçlar verdiğini tespit eden çeşitli çalışmalar mevcuttur (11). 2017 yılında CLSI ve EUCAST tarafından kolistin duyarlılık testlerinde altın standart olarak sıvı mikrodilüsyon yönteminin kullanılması gerektiği vurgulanmıştır (12).

Antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde, otomatize yöntemler MİK oranlarını bildirmesi ve çalışılmasındaki kolaylıklardan dolayı bir çok laboratuvarıda tercih edilir hale gelmiştir. Küçük laboratuvarlarda sıvı mikrodilüsyon yönteminde kaliteyi sağlamak zordur. Ayrıca eğitilmiş personel yetersizliği ve sıvı mikrodilüsyon yönteminin rutin olarak uygulanamaması nedeniyle yarı veya tam otomatik tanımlama/antimikrobiyal duyarlılık testi (ID/AST) sistemlerinin kullanılması yaygınlaşmıştır. Yoğun bakım ünitelerinde şüpheli sepsis tedavisi için kullanımı artan kolistin duyarlılığını doğru tespit etmek açısından otomatize sistemlerin güvenilirliğinin sorgulanması gerekmektedir (13). 2017 yılındaki bir çalışmada; kolistin duyarlılık testi için %36'lık çok büyük bir hata oranıyla kolistin duyarlılığını tespit etmesinden dolayı Vitek2 otomatize sistemin güvenilirliğinin sorgulanması gerektiği belirtilmiştir (14). Başka bir çalışmada ise, Vitek2 otomatize sistem tarafından belirlenen kolistin MİK değerlerinin, özellikle *Enterobacter cloacae* ve *Acinetobacter baumannii* kompleks izolatları için güvenilir olmadığı rapor edilmiştir (15). Vitek2 otomatize sistem ve sıvı mikrodilüsyon yönteminin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada ise KU oranını %96,7, ÇBH oranını %0, BH oranını %3,3 olarak tespit edilmiştir (16).

Çalışmamızda; Vitek2 ve Phoenix otomatize

sistemleri kolistin duyarlılığında referans metod kabul edilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırılmıştır.

Vitek 2 otomatize sistem için KU oranı %93,71 , ÇBH oranı %6,89 , BH oranı ise %1,41 bulunmuştur. Phoenix otomatize sistem için ise KU oranı %95,05, ÇBH oranı %3,44, BH oranı ise %1.505 tespit edilmiştir.

Bu sonuçlara göre ÇBH oranının Vitek 2 ve Phoenix otomatize sistem için kabul edilebilir sınırlarda olmadığı, BH oranının ve KU oranının hem Vitek2 hem de Phoenix otomatize sistem için kabul edilebilir sınırlarda olduğu belirlenmiştir (KU için; ≥ 90 , ÇBH için; ≤ 3 , BH için; ≤ 3).

Çalışmamızda; Phoenix otomatize sistemle tespit edilen KU oranının Vitek2 otomatize sisteme göre daha yüksek olması; ÇBH oranının da Phoenix otomatize sistemde Vitek2 otomatize sisteme göre daha düşük olmasından dolayı, *K. pneumoniae* için kolistin duyarlılığının saptanmasında Phoenix otomatize sisteminin Vitek2 otomatize sisteme göre referans yöntemle daha uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Negatif prediktif değer hariç duyarlılık, özgünlük, pozitif prediktif değer, doğruluk, lambda değeri, kappa değeri Phoenix otomatize sistemde daha yüksek olduğu için Vitek2 otomatize sistemden kolistin direncini saptamada referans yöntemle daha uyumlu sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

Çalışmamızın kısıtlılıkları, bakteriye ait çeşitli virülans faktörleri ve izolatların geliştirdikleri farklı direnç mekanizmalarının bilinmemesidir.

Yapılmış çalışmalarda da genellikle Vitek2 otomatize sisteminin kolistin duyarlılığını tespit etmesinde beklentileri karşılamadığı görülmüş olup; Vitek2 otomatize sistemin sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle yüksek oranda uyum gösterdiğini tespit etmiş olan çalışmalar da mevcuttur (17). Kolistin duyarlılığını test etmek için yapılan çalışmalar genellikle VITEK 2 (bioMérieux) ile yapılmıştır. 2021 yılında merkezimizden yapılmış başka bir çalışmada KU %93,3, BH oranı %1,1, Kappa değeri 0,85 olarak tespit edilmiş olup çalışmamıza da benzer sonuçlar elde edilmiştir. ÇBH oranı ise çalışmamızda %6,89 olarak daha düşük saptanmıştır (18). Çalışmamızda, ÇBH oranının daha düşük saptanmasının Vitek2 otomatize sistemin güncellemelerine bağlı iyileştirmelerine

ve suşlardaki direnç durumunun farklılığına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızda ise Vitek2 otomatize sistemin yanı sıra Phoenix otomatize sistem de kullanılmış olup, Phoenix otomatize sistemle ilgili karşılaştırma çalışmaları literatürde daha azdır. Yapılan bir çalışmada, Vitek2 ve Phoenix otomatize sistemlerinin Enterobacteriaceae ailesi için kolistin duyarlılığı saptanmasında yanlış duyarlı sonuçlar verdiği ancak yanlış dirençli sonuçlar vermediğinden dolayı otomatize sistemlerin kolistin için verdiği dirençli sonuçların kabul edilebileceği belirtilmiştir (19). Güney Kore’de yapılan başka bir çalışmada ise Phoenix otomatize sistemle Gram negatif bakterilerde kolistin direncinin saptanması incelendiğinde, KU oranının %90 dan fazla, ÇBH ve BH oranının da %3 den az olduğu tespit edilmiş olup, Phoenix otomatize sistemlerin Gram negatif

bakterilerde kolistin direnci saptamada daha güvenilir olduğu çalışmamıza benzer şekilde bildirilmiştir (20). Sonuç olarak kolistin direncini saptamak için otomatize sistemlerin kullanılmaması, sıvı mikrodilüsyon yönteminin kullanılması gerektiği görülmektedir. EUCAST da yeterli teknik ekipman ve eleman varlığında sıvı mikrodilüsyon yönteminin kolistin direncinin tespitinde kullanılmasını tavsiye etmektedir (21). Kullanımı gittikçe artan kolistin direnç oranlarının azımsanmayacak düzeyde olduğu, otomatize sistemlerle dirençli suşların gözden kaçabileceği bilinmektedir (22). Otomatize sistemlerden Phoenix otomatize sisteminin Vitek2 otomatize sisteme göre kolistin dirençli suşlarda referans yöntemle daha uyumlu sonuçlar verdiği çalışmamızda tespit edilmiş olup, destekleyici çok merkezli daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

ETİK KURUL ONAYI

* Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu’nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih:10.02.2023, Karar no: 2023/4179).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Pereira GH, Garcia DdO, Mostardeiro M, Fanti KS, Levin AS. Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: two-year epidemiologic follow-up in a tertiary hospital. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2013;108:113-5.
2. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis*, 2009;9(4):228-36.
3. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1 Basel: EUCAST. http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents/, Date Accessed: March 20, 2018.
4. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E). As recommended by the joint CLSIEUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. Basel: EUCAST. http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents/, Date Accessed: March 20, 2018.
5. Development of In Vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters. Approved Guideline. 3rd ed. CLSI Document M23-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008.

6. ISO IOFS, vitro -Cltai, of dtsSt, of iaeop, 2: astd-P, antimicrobial Eopo, et al. ISO. Dis Clin North Am, 2016; 30(2): 391-414. <https://www.iso.org/standard/41631.html>.
7. Landman D, Georgescu C, Martin DA, Quale J. Polymyxins revisited. Clin Microbiol Rev, 2008;21(3):449-65.
8. Landman D, Georgescu C, Martin DA, Quale J. Polymyxins revisited. Clin Microbiol Rev, 2008;21(3):449-65.
9. Hindler JA, Humphries RM. Colistin MIC variability by method for contemporary clinical isolates of multidrug-resistant gram-negative bacilli. J Clin Microbiol, 2013;51(6):1678-84.
10. Moskowitz SM, Garber E, Chen Y, Clock SA, Tabibi S, Miller AK, et al. Colistin susceptibility testing: evaluation of reliability for cystic fibrosis isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. J Antimicrob Chemother, 2010;65(7):1416-23.
11. Rojas LJ, Salim M, Cober E, Richter SS, Perez F, Salata RA, et al. Colistin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Laboratory detection and impact on mortality. Clin Infect Dis, 2017;64(6):711-8.
12. Matuschek E, Åhman J, Kahlmeter G, Yagupsky P. Antimicrobial susceptibility testing of *Kingella kingae* with broth microdilution and disk diffusion using EUCAST recommended media. Clin Microbiol Infect, 2018;24(4):396-401.
13. Despotovj A, Milpaevj B, Milpaevj I, Mitrovi N, Cirkovic A, Jovanovj Sa, et al. Hospital-acquired infections in the adult intensive care unit-epidemiology, antimicrobial resistance patterns, and risk factors for acquisition and mortality. Am J Infect Contr, 2020.
14. Chew KL, La MV, Lin RTP, Teo JWP. Colistin and polymyxin B susceptibility testing for carbapenem-resistant and mcr-positive Enterobacteriaceae: comparison of sensititre, MicroScan, Vitek 2, and etest with broth microdilution. J Clin Microbiol, 2017;55(9):2609-16.
15. Lai CC, Chen YS, Lee NY, Tang HJ, Lee SSJ, Lin CF, et al. Susceptibility rates of clinically important bacteria collected from intensive care units against colistin, carbapenems, and other comparative agents: results from Surveillance of Multicenter Antimicrobial Resistance in Taiwan (SMART). Infect Drug Resist, 2019;12:627-40.
16. Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, Hadjichristodoulou C, Gennimata V, Pournaras S, et al. 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.
17. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AMGA, Diederer BMW, Kluytmans JAJW, van Keulen PHJ. 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 and Chemother, 2007;51:3726 -30.
18. Uğrakli S, Doğan M. Comparative evaluation of Vitek 2 and etest methods with the reference broth microdilution for antimicrobial susceptibility testing of colistin among multi-drug resistant gram-negative bacteria. Flora J Infect Dis Clin Microbiol. 2021;26:518-27.
19. Pfennigwerth N, Kaminski A, Korte-Berwanger M, Pfeifer Y, Simon M, Werner G, et al. Evaluation of six commercial products for colistin susceptibility testing in Enterobacterales. Clin Microbiol Infect, 2019;25(11):1385-9.
20. Hong JS, Kim D, Kang DY, Park BY, Yang S, Yoon EJ, et al. Evaluation of the BD Phoenix M50 automated microbiology system for antimicrobial susceptibility testing with clinical isolates in Korea. Microb Drug Resist, 2019;25(8):1142-8.
21. 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.
22. Lee SY, Shin J-H, Lee K, Joo MY, Park K-H, Shin M-G, et al. Comparison of the Vitek 2, microscan, and etest methods with the agar dilution method in assessing colistin susceptibility of bloodstream isolates of *Acinetobacter* species from a Korean University Hospital. J Clin Microbiol, 2013;51:1924-6.