DOI: https://doi.org/10.34883/PI.2021.10.3.017
УДК 579.61:[615.33:615.015.12]

Петровская Т.А.[1], Тапальский Д.В.[1], Азизов И.С.[2], Эйдельштейн М.В.[2]
[1] Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь
[2] Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии Смоленского государственного медицинского университета, Смоленск, Россия

Petrovskaya T.[1], Tapalski D.[1], Azizov I.[2], Edelstein M.[2]
[1] Gomel State Medical University, Gomel, Belarus
[2] Institute of Antimicrobial Chemotherapy of the Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

Сравнительная оценка методов определения минимальных концентраций колистина, эффективно подавляющих развитие экстремально-антибиотикорезистентных микроорганизмов

Comparative Evaluation of the Methods for Determining the Minimum Inhibitory Concentrations of Colistin that Effectively Suppress the Development of Extreme Antibiotic-Resistant Microorganisms

Резюме

Введение. Получение точного количественного результата определения чувствительности к полимиксинам критически важно для назначения этиотропной терапии инфекций, вызванных экстремально-антибиотикорезистентными микроорганизмами.
Цель. Сравнение доступных методов прямого определения минимальных подавляющих концентраций колистина.
Материалы и методы. Для 62 клинических штаммов Klebsiella pneumoniae и контрольных штаммов Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 определены минимальные подавляющие концентрации (МПК) колистина. Выполнено сопоставление результатов, полученных референтным методом микроразведений в бульоне, методом элюции в бульон из дисков (CBDE) и с использованием планшетов FRCOL Sensititre.
Результаты. Результаты определения МПК, полученные с использованием планшетов Sensititre и методом CBDE, хорошо коррелировали с результатами референтного метода во всем диапазоне концентраций. Категориальное соответствие с референтным методом отмечено для 93,5% результатов, полученных с использованием планшетов FRCOL Sensititre, и 96,8% результатов, полученных методом CBDE. Существенное соответствие (совпадение значений МПК или отличие на ±1 разведение) отмечено для 93,5–100% результатов. Результаты определения МПК колистина для контрольных штаммов соответствовали целевым значениям (референтный метод, метод CBDE) либо не выходили за пределы допустимого диапазона (Sensititre).

Заключение. Метод CBDE и коммерческие наборы Sensititre позволяют получать воспроизводимые результаты МПК колистина для K. pneumoniae, которые хорошо согласуются с результатами референтного метода микроразведений в бульоне.
Ключевые слова: Klebsiella pneumoniae, колистин, минимальная подавляющая концентрация, метод микроразведений.

Abstract

Introduction. Obtaining an accurate quantitative result of determination of the sensitivity to polymyxins is critically important for prescribing etiotropic therapy for infections caused by extremely antibiotic-resistant microorganisms.
Purpose. The aim of the study is to compare the available methods for direct determination of the minimum inhibitory concentrations of colistin.
Materials and methods. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of colistin were determined for 62 clinical strains of Klebsiella pneumoniae and control strains of Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853. Comparison of the obtained results was conducted with the reference broth microdilution method, the disc broth elution method (CBDE), and using FRCOL Sensititre plates.
Results. The MIC results obtained using the Sensititre plates and the CBDE method correlated with the results of the reference method over the entire concentration range. Categorical agreement with the reference method was noted for 93.5% of the results obtained using the Sensititre and 96.8% of the results obtained using the CBDE method. Significant agreement (coincidence of MIC values or difference by ± 1 dilution) was noted for 93.5–100% of the results. The results of determination of the MIC of colistin for the control strains corresponded to the target values (reference method, CBDE method), or did not exceed the permissible range (Sensititre).
Conclusion. The CBDE method and the commercial Sensititre kits provide reproducible colistin MIC results for K. pneumoniae that are in good agreement with the reference broth microdilution method.
Keywords: Klebsiella pneumoniae, colistin, minimum inhibitory concentration, microdilution method.

■ ВВЕДЕНИЕ

В условиях массового распространения множественной устойчивости к антибиотикам среди энтеробактерий и грамотрицательных неферментирующих бактерий полимиксины часто используются в качестве препаратов последнего резерва. Получение точного количественного результата определения чувствительности к полимиксинам весьма важно для назначения этиотропной терапии [1]. Определение чувствительности к колистину сопряжено с рядом трудностей, связанных с его большой молекулярной массой, наличием катионных свойств и медленной диффузией в агаре. В соответствии с рекомендациями Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) для определения чувствительности к колистину должен использоваться метод последовательных разведений в бульоне [2]. Диско-диффузионный метод и методы градиентной диффузии неприменимы, поскольку дают несогласованные результаты с референтным методом микроразведений в бульоне на полистироловых планшетах [3].

▼ ▲ К содержанию

Ввиду неприменимости диско-диффузионного метода в интерпретационных таблицах EUCAST отсутствуют пограничные значения диаметров зон подавления роста для колистина в отношении энтеробактерий, P. aeruginosa, Acinetobacter spp. [2]. Метод градиентной диффузии дает несогласованные результаты даже в случае получения адекватных значений МПК для контрольных штаммов. Определение чувствительности к колистину автоматизированными системами также не позволяет получать надежные результаты [3, 4].

В то же время рекомендованное EUCAST определение МПК колистина методом микроразведений в бульоне традиционно считается трудоемким и дорогостоящим и поэтому редко используется в повседневной практике микробиологических лабораторий.

Применение коммерческих тест-систем, позволяющих реализовать метод микроразведений в бульоне, значительно упрощает выполнение исследований, поскольку не требует проведения сложных подготовительных процедур и использования дополнительного оборудования. На рынке появляется ряд диагностических систем, основанных на прямом определении МПК колистина методом последовательных микроразведений. В их числе FRCOL Sensititre (Thermo Fisher Scientific, США), SensiTest Colistin (Liofilchem, Италия), Micronaut MIC Strip Colistin (Merlin Diagnostika GmbH, Германия), UMIC Colistin (Biocentric, Франция) [5–8].

В 2019 г. Институт клинических и лабораторных стандартов (CLSI) предложил для определения МПК колистина метод, в котором в качестве источника колистина используются стандартные диски, помещаемые в количестве от 1 до 4 в пробирки с 10 мл МХБ. Метод CBDE отличается простотой и доступностью для рутинного использования. Он пригоден для тестирования энтеробактерий и P. aeruginosa [9].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнение доступных методов прямого определения минимальных подавляющих концентраций колистина.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для установления минимальных подавляющих концентраций колистина были использованы 62 штамма K. pneumoniae с множественной и экстремальной устойчивостью к антибиотикам. Штаммы были выделены от пациентов при проведении многоцентровых исследований в 12 городах Беларуси в 2015–2020 гг., реидентифицированы с помощью микробиологического анализатора VITEK 2 Compact (bioMerieux, Франция) и хранились в рабочей коллекции при –62° С в бульоне с сердечно-мозговой вытяжкой с добавлением 30% глицерина. МПК колистина определяли также для штаммов из Американской коллекции типовых культур E. coli ATCC 25922 и P. aeruginosa ATCC 27853 с известными значениями МПК.

В качестве референтного метода определения МПК колистина использован метод микроразведений в бульоне в соответствии со стандартом ISO 20776-1 [10]. МПК определяли в диапазоне концентраций 0,125–128 мг/л. Использовали субстанцию сульфата колистина (Carl Roth, Германия, Art. No. CN31.3), двукратные разведения готовили

в катион-сбалансированном бульоне Мюллер-Хинтон (Oxoid, Великобритания), тестирование выполняли в стерильных круглодонных 96-луночных полистироловых планшетах.

Дополнительно определяли МПК колистина коммерческой системой Sensititre (Thermo Scientific, США) на планшетах FRCOL в диапазоне концентраций 0,12–128 мг/л в соответствии с инструкциями производителя. Стандартный инокулюм (0,5 МакФарланд, контроль денситометром) вносили в бульон Мюллер-Хинтон с буфером TES Sensititre, после чего заполняли им планшеты. Учет результатов выполняли визуально с использованием рамки Sensititre Manual Viewbox.

Кроме того, определяли МПК колистина модифицированным методом разведений в бульоне, предложенным CLSI (Colistin broth disk elution, CBDE) [9], в котором в качестве источника колистина используются стандартные диски с нагрузкой антибиотика на диск 10 мкг (BD, США). Исследование выполняли в стеклянных стерильных пробирках ПБ-2-16-150. Вносили в пробирки по 10 мл катион-сбалансированного бульона Мюллер-Хинтон. Для каждого исследуемого штамма маркировали по 4 пробирки: «1 мг/л», «2 мг/л», «4 мг/л» и «контроль». Асептично вносили стандартные диски, содержащие 10 мкг колистина в пробирки с бульоном: 1 диск в пробирку с надписью «1 мг/л», 2 диска в пробирку с надписью «2 мг/л», 4 диска в пробирку с надписью «4 мг/л». Для лучшей элюции антибиотика в бульон каждую пробирку с дисками вортексировали в течение 10 с, после чего выдерживали пробирки 30 мин. при комнатной температуре.

Из суточных культур исследуемых микроорганизмов готовили стандартизированный инокулюм (0,5 МакФарланд, контроль денситометром). Вносили по 50 мкл инокулюма в каждую пробирку, конечная расчетная концентрация микробных клеток составляла $7{,}5\times10^5$ $мл^{-1}$. Содержимое каждой пробирки осторожно перемешивали на вортексе. Пробирки инкубировали при 35 °С в течение 16–18 ч. Наличие роста оценивали визуально. Дополнительно исследовали контроли стерильности бульона и дисков (пробирки с 10 мл МХБ и пробирки с 10 мл МХБ и дисками с колистином), в них не вносили культуры микроорганизмов, после инкубации рост в этих контролях отсутствовал.

Исследования с клиническими штаммами K. pneumoniae выполнялись однократно каждым из трех методов, исследования с контрольными штаммами из коллекции АТСС – в трех повторах для каждого метода. Поскольку диапазон допустимых значений МПК колистина для E. coli ATCC 25922 и P. aeruginosa ATCC 27853 оказался ниже 1 мг/л (минимальной концентрации колистина, тестируемой методом CBDE), мы расширили диапазон тестируемых концентраций. Использовали концентрацию 0,5 мг/л (1 диск с 10 мкг колистина на 20 мл бульона) и 0,25 мг/л (1 диск с 10 мкг колистина на 40 мл бульона). Дополнительные концентрации использовали только при тестировании контрольных штаммов.

Исследования выполнялись квалифицированным персоналом лаборатории, имеющим опыт регулярного использования метода микроразведений в бульоне. Исследования всеми тремя методами проводились параллельно в один день, использовались среды, диски с антибиотиком, диагностические планшеты из одной партии.

Оценку результатов выполняли в соответствии с ISO 20776-2 [11]. Если результат определения МПК, полученный сравниваемым методом,

▼ ▲ К содержанию

совпадал с результатом, полученным референтным методом микроразведений в бульоне, либо отличался от него не более чем на одно двукратное разведение, он учитывался как существенное соответствие (essential agreement, EA). Если результат определения МПК, полученный сравниваемым методом, относился к той же интерпретационной категории («чувствительный», «устойчивый»), что и результат, полученный референтным методом, он учитывался как категориальное соответствие (categorical agreement, CA).

Большое расхождение (major discrepancy, MD) регистрировалось, если результат испытания референтным методом был интерпретирован как «чувствительный», а результат испытания сравниваемым методом – как «резистентный». Очень большое расхождение (very major discrepancy, VMD) регистрировалось, если результат испытания референтным методом был интерпретирован как «резистентный», а результат испытания сравниваемым методом – как «чувствительный».

Поскольку метод CBDE предполагает определение МПК колистина только в диапазоне концентраций от 1 мг/л до 4 мг/л, существенное соответствие оценивалось только для штаммов с МПК колистина, находящимися в указанном диапазоне (при тестировании референтным методом).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Значения МПК колистина для 62 клинических изолятов K. pneumoniae, определенные референтным методом микроразведений в бульоне, находились в диапазоне 0,12–128 мг/л (рис. 1). Значения МПК вблизи контрольных точек EUCAST [2] (чувствительность к колистину при МПК ≤2 мг/л, устойчивость при МПК >2 мг/л) выявлены у 22 штаммов (МПК 1 мг/л – у 14 штаммов, МПК 2 мг/л – у 3 штаммов, МПК 4 мг/л – у 5 штаммов).

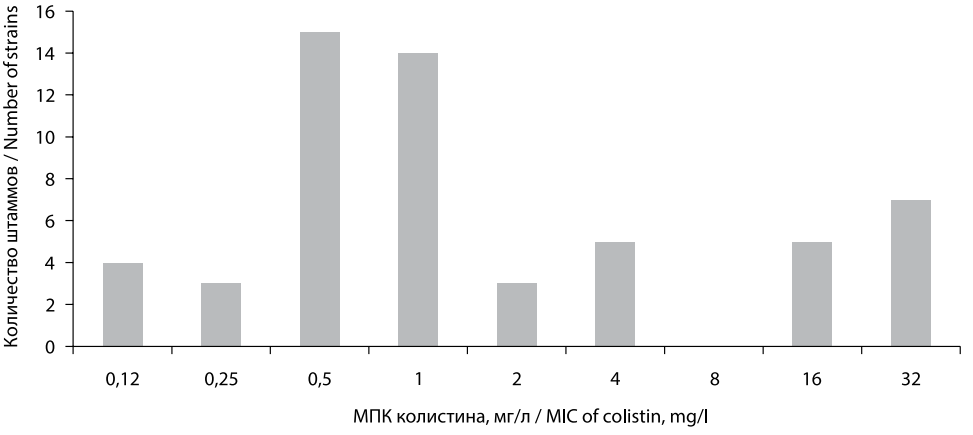

Рис. 1. Распределение МПК колистина для клинических изолятов K. pneumoniae, установленное с использованием референтного метода микроразведений в бульоне

Fig. 1. Colistin MIC distribution for clinical isolates of K. pneumoniae, reference broth microdilution method

▼ ▲ К содержанию

Результаты определения МПК, полученные с использованием планшетов Sensititre и методом CBDE, хорошо коррелировали с результатами референтного метода во всем диапазоне концентраций (табл. 1, 2).

Результаты, полученные на планшетах Sensititre, у 43,5% штаммов совпадали с результатами референтного метода (EA), у 50,0% штаммов

Таблица 1

Распределение МПК (мг/л) колистина для клинических изолятов K. pneumoniae, полученных референтным методом и с помощью системы Sensititre

		Референтный метод микроразведений в бульоне										
		≤0,12	**0,25**	**0,5**	**1**	**2**	**4**	**8**	**16**	**32**	**64**	**128**
Sensititre	**≤0,12**	1	1									
	0,25	2	1									
	0,5	1	1	9	4							
	1			6	7	1	1*					
	2				3	2	3*					
	4						1					
	8											
	16								2			
	32								2	2		
	64								1	4	1	
	128									1	4	1

Примечание: * очень большое расхождение (VMD).

Table 1

Distribution of MIC (mg/l) of colistin for clinical isolates of K. pneumoniae obtained with the reference method and using the Sensititre system

		Broth microdilution reference method										
		≤0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
Sensititre	≤0,12	1	1									
	0,25	2	1									
	0,5	1	1	9	4							
	1			6	7	1	1*					
	2				3	2	3*					
	4						1					
	8											
	16								2			
	32								2	2		
	64								1	4	1	
	128									1	4	1

Note: * very large discrepancy (VLD).

Таблица 2

Распределение МПК (мг/л) колистина для клинических изолятов K. pneumoniae, полученных референтным методом и методом CBDE

		Референтный метод микроразведений в бульоне										
		≤0,12	**0,25**	**0,5**	**1**	**2**	**4**	**8**	**16**	**32**	**64**	**128**
CBDE	**≤1**	4	3	15	13	2						
	2				1	1	2*					
	4						3					
	≥8								5	7	5	1

Примечание: * очень большое расхождение (VMD).

▼ ▲ К содержанию

Table 2
Distribution of MIC (mg/l) of colistin for clinical isolates of K. pneumoniae obtained with the reference method and the CBDE method

		Broth microdilution reference method										
		≤0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
CBDE	<1	4	3	15	13	2						
	2				1	1	2*					
	4						3					
	>8								5	7	5	1

Note: * very large discrepancy (VLD).

отличались на ±1 разведение (CA) (существенное соответствие МПК у 93,5% штаммов) (табл. 3), у 6,5% штаммов отличались на ±2 разведения (ME). Отмечена тенденция к некоторому завышению значений МПК колистина на 1 разведение при концентрациях ниже 1 мг/л: получены значения МПК, выше референтных, для 40,3% штаммов, ниже референтных – для 16,1% штаммов. Подобные результаты наблюдались в исследовании E. Yusuf et. al. для коммерческих продуктов определения МПК колистина, основанных на использовании метода микроразведений в бульоне [12]. Для 4 штаммов с референтными значениями МПК 4 мг/мл (устойчивость в соответствии с критериями EUCAST v.11) на планшетах Sensititre получены значения МПК 2 мг/л и 1 мг/л (чувствительность в соответствии с критериями EUCAST), что согласно ISO 20776-2 расценивается как «очень большое расхождение». Особенностью определения чувствительности к полимиксинам является отсутствие интерпретационной категории промежуточной чувствительности (чувствительности при увеличенной экспозиции антибиотика), поэтому отличия МПК от референтных, находящихся возле контрольной точки 2 мг/л, будут интерпретироваться как большие (MD) или очень большие (VMD) расхождения (VMD; цветом выделены результаты, учитываемые как существенное соответствие).

Таблица 3
Сопоставление результатов определения МПК колистина на планшетах Sensititre и методом CBDE с референтным методом последовательных микроразведений в бульоне

		Sensititre	CBDE
Существенное соответствие (EA)	n	58	22*
	%	93,5	100,0*
Категориальное соответствие (CA)	n	58	60
	%	93,5	96,8
Большое расхождение (MD)	n	0	0
	%	0,0	0,0
Очень большое расхождение (VMD)	n	4	2
	%	6,5	3,2

Примечание: * рассчитано только для штаммов с МПК колистина в диапазоне 1–4 мг/л.

Table 3
Comparison of colistin MIC results on Sensititre plates and the CBDE method with the reference broth microdilution method

		Sensititre	CBDE
Essential agreement (EA)	n	58	22*
	%	93.5	100.0*
Categorical agreement (CA)	n	58	60
	%	93.5	96.8
Major discrepancy (MD)	n	0	0
	%	0.0	0.0
Very large discrepancy (VLD)	n	4	2
	%	6.5	3.2

Note: * Calculated only for strains with colistin MIC in the range of 1–4 mg/l.

При определении МПК колистина методом CBDE получено категориальное соответствие с результатами референтного метода для всех исследованных штаммов, большие (MD) и очень большие (VMD) расхождения отсутствовали. Отмечена простота постановки теста и интерпретации его результатов (рис. 2). Оценка существенного соответствия референтным значениям МПК оказалась возможной только для 22 штаммов. Для всех из них результаты определения МПК совпадали со значениями, полученными референтным методом, либо отличались не более чем на одно разведение.

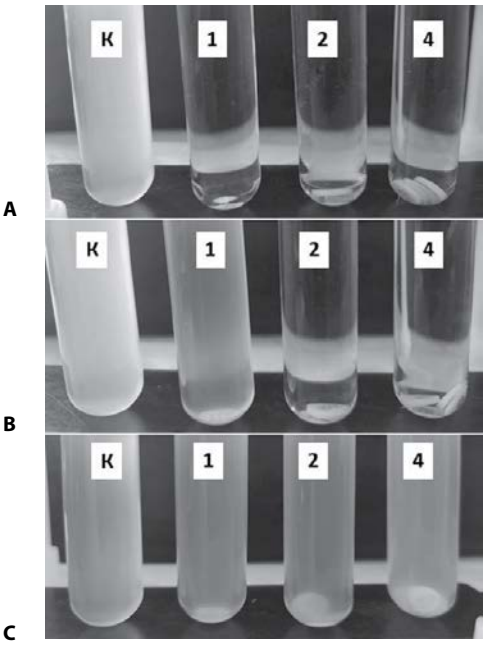

Рис. 2. Результаты определения МПК колистина методом CBDE: A – K. pneumoniae БК-172, МПК ≤1 мг/л; B – K. pneumoniae БК-115, МПК 2 мг/л; C – K. pneumoniae БК-045, МПК ≥8 мг/л

Fig. 2. The results of determination of the MIC of colistin with the CBDE method: A – K. pneumoniae BK-172, MIC ≤1 mg/l; B – K. pneumoniae BK-115, MIC 2 mg/l; C – K. pneumoniae BK-045, MIC ≥8 mg/l

▼ ▲ К содержанию

Все результаты определения МПК колистина для контрольных штаммов E. coli ATCC 25922 и P. aeruginosa ATCC 27853, полученные референтным методом и методом CBDE (с дополнительным тестированием концентраций колистина 0,25 мг/л и 0,5 мг/л), соответствовали целевым значениям. При использовании планшетов Sensititre соответствовали целевым значениям 5 результатов определения МПК, 1 результат находился в допустимом диапазоне (табл. 4).

Полученные результаты хорошо согласуются с результатами многоцентровых валидационных исследований методов определения МПК колистина, выполненных при поддержке Института клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) и Европейского комитета по определению чувствительности к противомикробным препаратам (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST). При определении чувствительности к колистину для 70 штаммов грамотрицательных бактерий коммерческие системы, использующие метод микроразведений в бульоне, демонстрировали категориальное соответствие 92,9–95,7% результатов в сравнении с референтным методом [12]. При определении МПК колистина для 102 клинических изолятов E. coli и 221 клинического изолята K. pneumoniae с использованием системы Sensititre категориальное соответствие отмечено для 98,5% результатов, существенное соответствие – для 72,5% результатов [13]. Система Sensititre демонстрировала высокую степень соответствия с референтным методом микроразведений в бульоне при тестировании штаммов энтеробактерий с плазмидно-опосредованной устойчивостью к колистину [14].

В исследовании R.M. Humphries et. al. с использованием коллекции из 270 изолятов Enterobacterales, 122 изолятов P. aeruginosa и 106 изолятов Acinetobacter spp. существенное соответствие было отмечено для 94,4% результатов CBDE, категориальное соответствие – для 97,9% результатов. При тестировании штаммов Enterobacterales категориальное соответствие отмечено для 98,6% полученных результатов, штаммов

Таблица 4
Результаты определения МПК колистина для контрольных штаммов

	E. coli ATCC 25922				**P. aeruginosa ATCC 27853**			
	0,25*	**0,5****	**1****	**2***	**0,5***	**1****	**2****	**4***
Референтный метод			3				3	
Sensititre			2	1			3	
CBDE		1	2			2	1	

Примечания: * допустимые значения МПК (мг/л); ** целевые значения МПК (мг/л).

Table 4
Results of determination of the MIC of colistin for control strains

	E. coli ATCC 25922				P. aeruginosa ATCC 27853			
	0,25*	0,5**	1**	2*	0,5*	1**	2**	4*
Reference method			3				3	
Sensititre			2	1			3	
CBDE		1	2			2	1	

Notes:* permissible values of the IPC (mg/l); ** target values of MIC (mg/l).

P. aeruginosa – 99,3% результатов, штаммов Acinetobacter spp. – 98,3% результатов [9]. Основываясь на этих данных, подкомитет CLSI по тестированию на чувствительность к антимикробным препаратам одобрил метод CBDE для определения чувствительности к колистину только для штаммов Enterobacterales и P. aeruginosa [15]. Выполненное в двух микробиологических лабораториях США сравнение методов определения чувствительности к колистину для 166 штаммов грамотрицательных бактерий позволило выявить категориальное соответствие для 99% результатов тестирования методом CBDE и существенное соответствие для 98% результатов [16].

Необходимо отметить, что, в отличие от планшетных методов микроразведений в бульоне, метод CBDE характеризуется более низкой пропускной способностью, требует использования нескольких пробирок с бульоном и дисков с колистином для каждого исследуемого штамма, а также достаточного пространства в инкубаторе. Поэтому лаборатории, ежедневно выполняющие значительные количества исследований, будут отдавать предпочтение коммерчески доступным методам микроразведений в бульоне.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метод CBDE и коммерческие наборы Sensititre позволяют получать воспроизводимые результаты МПК колистина для K. pneumoniae, которые хорошо согласуются с результатами референтного метода микроразведений в бульоне.

Замена субстанции колистина стандартными дисками делает метод CBDE доступным для широкого рутинного использования в микробиологических лабораториях.

Вклад авторов: Петровская Т.А. – анализ литературы, планирование и выполнение микробиологических исследований, подготовка текста рукописи; Тапальский Д.В. – научное руководство, анализ литературы, анализ и интерпретация полученных данных, редактирование рукописи; Азизов И.С., Эйдельштейн М.В. – планирование исследования, интерпретация полученных данных, редактирование рукописи.

Authors' contribution: Petrovskaya T. – analysis of literature, planning and implementation of microbiological studies, preparation of the text of the manuscript; Tapalski D. – scientific supervision, analysis of literature, analysis and interpretation of the obtained data, editing the manuscript; Azizov I., Edelstein M. – research planning, interpretation of the obtained data, editing the manuscript.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Karaiskos I., Lagou S., Pontikis K., Rapti V., Poulakou G. (2019) The "old" and the "new" antibiotics for mdr gram-negative pathogens: for whom, when, and how. *Front Public Health*., vol. 7, p. 151. doi:10.3389/fpubh.2019.00151
2. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (2021). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0 Available at: https://eucast.org/clinical_breakpoints/ (accessed Jun 12, 2021).
3. Chew K.L., La M.-V., Lin R.T.P., Teo J.W.P. (2017) 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*., vol. 55, no 9, pp. 2609–2616. doi:10.1128/JCM.00268-17
4. Singhal L., Sharma M., Verma S. (2018) Comparative evaluation of broth microdilution with polystyrene and glass-coated plates, agar dilution, E-Test, Vitek, and disk diffusion for susceptibility testing of colistin and polymyxin B on carbapenem-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Microb Drug Resist*., vol. 24, no 8, pp. 1082–1088. doi:10.1089/mdr.2017.0251
5. Richter S.S., Karichu J., Otiso J. (2018) Evaluation of sensititre broth microdilution plate for determining the susceptibility of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae to polymyxins. *Diagn Microbiol Infect Dis*., vol. 91, no 1, pp. 89–92. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2018.01.005
6. Galani I., Adamou P., Karaiskos I., Giamarellou H., Souli M. (2018) Evaluation of ComASP™ Colistin (formerly SensiTest™ Colistin), a commercial broth microdilution-based method to evaluate the colistin minimum inhibitory concentration for carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae isolates. *J Glob Antimicrob Resist*., vol. 15, pp. 123–126. doi:10.1016/j.jgar.2018.07.006
7. Bardet L., Okdah L., Le Page S., Baron S.A., Rolain J.-M. (2019) Comparative evaluation of the UMIC Colistine kit to assess MIC of colistin of gram-negative rods. *BMC Microbiol*., vol. 19, no 1, p. 60. doi:10.1186/s12866-019-1424-8
8. Matuschek E., Åhman J., Webster C., Kahlmeter G. (2018) Antimicrobial susceptibility testing of colistin – evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Acinetobacter spp. *Clin Microbiol Infect*., vol. 24, no 8, pp. 865–870. doi:10.1016/j.cmi.2017.11.020
9. Humphries R.M., Green D.A., Schuetz A.N. (2019) Multicenter evaluation of colistin broth disk elution and colistin agar test: a report from the clinical and laboratory standards institute. *J Clin Microbiol*., vol. 57, no 11, pp. 01269–19. doi:10.1128/JCM.01269-19
10. ISO 20776-1:2006. (2006) «Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices» – Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases. 1st ed. Switzerland, 19 p. Available at: https://www.iso.org/standard/41630.html (accessed Jun 12, 2021).
11. ISO 20776-2:2007 (2007) «Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems. susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices» - Part 2: Evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. 1st ed. Switzerland, 9 p. Available at: https://www.iso.org/standard/41631.html (accessed Jun 12, 2021).
12. Yusuf E., van Westreenen M., Goessens W., Croughs P. (2020) The accuracy of four commercial broth microdilution tests in the determination of the minimum inhibitory concentration of colistin. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*., vol. 19, no 1, p. 42. doi:10.1186/s12941-020-00383-x
13. Mirza H., Bıçakçıgil A., Liste Ü., Sancak B. (2021) Evaluation of a commercial broth microdilution panel for colistin susceptibility testing of clinical isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. *Clin Lab*., vol. 67, no 05/2021 Available at: https://www.clin-lab-publications.com/article/3752 (accessed 16 June 2021). doi:10.7754/Clin.Lab.2020.200822
14. Jayol A., Nordmann P., André C., Poirel L., Dubois V. (2018) Evaluation of three broth microdilution systems to determine colistin susceptibility of Gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother*., vol. 73, no 5, pp. 1272–1278. doi:10.1093/jac/dky012
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2021) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 31st ed. CLSI Supplement M100, USA. Available at: https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/ (accessed June 16, 2021).
16. Simner P.J., Bergman Y., Trejo M. (2019) Two-site evaluation of the colistin broth disk elution test to determine colistin *in vitro* activity against gram-negative bacilli. Burnham C-AD, ed. *J Clin Microbiol*., vol. 57, no 2. Available at: https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/JCM.01163-18 (accessed 16 June 2021).

Подана/Submitted: 18.06.2021
Принята/Accepted: 06.09.2021
Контакты/Contacts: tapalskiy@gsmu.by