

Karbapenemaz Üreten *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Karbapenem İnaktivasyon Testi ve Modifiye Hodge Testinin Karşılaştırılması

Comparison of Carbapenem Inactivation Test and Modified Hodge Test in Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains

İsmail Davarcı¹, Mücahide Esra Koçoğlu², Ferhat Zengin²

¹Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Erzincan, Türkiye

²İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Özet

Amaç: Karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* türleri dünyanın her yerinden giderek artan sıklıkta bildirilmektedir. Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae* infeksiyonlarının tedavisinde karbapenemlerin kullanılması, karbapenemaz üreten suşların hızlı ve basit bir yöntemle saptanmasını zorunlu hale getirmiştir. Bu çalışmada, moleküler olarak karbapenemaz ürettiği doğrulanmış *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında modifiye Hodge testinin ve karbapenem inaktivasyon testinin tanısal değerinin kıyaslanması ve rutin laboratuvar pratiğinde kullanımının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmamıza deney grubunu oluşturmak üzere karbapenem direncine sebep olan direnç geni polimeraz zincir reaksiyonu ile gösterilmiş 64 *K. pneumoniae* ve kontrol grubunu oluşturmak üzere GSBL-negatif ve karbapeneme duyarlı 40 *K. pneumoniae* suşu dahil edilmiştir. Meropenem, imipenem ve ertapenem ayrı ayrı tüm suşlara karşı modifiye Hodge testi ve karbapenem inaktivasyon testiyle denenmiştir. Karbapenem inaktivasyon testinde altıncı saatte ön değerlendirme, 24. saatte son değerlendirme yapılmıştır.

Bulgular: Modifiye Hodge testinin karbapenemaz varlığının belirlenmesindeki duyarlılığı, meropenem, imipenem ve ertapenem için sırasıyla %60.9, %62.5 ve %68.8 olarak bulunmuştur. Karbapenem inaktivasyon testinin karbapenemaz varlığının belirlenmesindeki duyarlılığı, meropenem, imipenem ve ertapenem için altıncı saatte sırasıyla %32.8, %75 ve %96.9 iken, 24. saatte %64.1, %84.4 ve %96.9 olarak saptanmıştır. GSBL üretmeyen ve karbapenemlere duyarlı bulunan *K. pneumoniae* suşlarıyla yapılan modifiye Hodge ve karbapenem inaktivasyon testlerinde pozitiflik görülmemiştir.

Abstract

Objective: Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* are reported increasingly everywhere throughout the world. Rapid and simple detection of carbapenemase-producing strains has become imperative because of the use of carbapenems in the treatment of extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* infections. In this study, we aimed to compare the diagnostic value of modified Hodge test and carbapenem inactivation test for *Klebsiella pneumoniae* isolates producing carbapenemase, verified by molecular method, and to evaluate their use in routine laboratory practice.

Methods: 64 *K. pneumoniae* strains which have shown resistance gene causing carbapenem resistance by the polymerase chain reaction, and 40 ESBL-negative and carbapenem-susceptible *K. pneumoniae* strains have been included in this study. Meropenem, imipenem and ertapenem were studied separately in modified Hodge test and carbapenem inactivation test was performed for all strains. Carbapenem inactivation test was evaluated at the 6th hour for preliminary decision and at the 24th hour for the final decision.

Results: The sensitivity of the modified Hodge test using meropenem, imipenem and ertapenem for detecting presence of carbapenemase was 60.9%, 62.5% and 68.8%, respectively. In the carbapenem inactivation test with meropenem, imipenem and ertapenem, sensitivity to determine carbapenemase production was 32.8%, 75% and 96.9% after 6 hours, and 64.1%, 84.4% and 96.9% after 24 hours, respectively. There were no positive results in modified Hodge and carbapenem inactivation tests with *K. pneumoniae* strains that were ESBL-negative and carbapenem-susceptible.

Cite this article as: Davarcı İ, Koçoğlu ME, Zengin F. [Comparison of carbapenem inactivation test and modified Hodge test in carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains]. *Klinik Derg.* 2018; 31(3): 223-6. Turkish.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence:

İsmail Davarcı, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Erzincan, Türkiye

E-posta/E-mail: ismaildavarci@hotmail.com

(Geliş / Received: 12 Şubat / February 2018; Kabul / Accepted: 5 Haziran / June 2018)

DOI: 10.5152/kd.2018.54



Sonuçlar: Sonuç olarak karbapenemaz kodlayan genleri tespit etmek için moleküler testler gereklidir. Ancak yeterli altyapısı olmayan laboratuvarlarda karbapenemaz varlığının belirlenmesi için karbapenem inaktivasyon testi, modifiye Hodge testinden daha iyi bir alternatif olabilir. *Klimik Dergisi 2018; 31(3): 223-6.*

Anahtar Sözcükler: Karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae*, karbapenem inaktivasyon testi, modifiye Hodge testi.

Giriş

Karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* ailesine ait türler dünyanın her yerinde giderek artan sıklıkta bildirilmektedir. Karbapeneme dirençli mikroorganizmalarla gelişen infeksiyonlarda, mortalite ve morbiditenin arttığı, hastanede yatış süresinin uzadığı ve tedavi maliyetlerinde artış olduğu görülmektedir. Karbapenem direnci karbapenemaz üretimi, porin kaybı ve artmış eflüks pompa fonksiyonuyla ilişkili olabilir (1). Günümüzde *Enterobacteriaceae* ailesine ait türlerde karbapenem direncinin belirlenmesinde, karbapenemler için belirlenmiş en son sınır değerlerinin kullanılması yeterlidir ve bu değerler kullanıldığı sürece hasta sonuçlarını bildirirken bir karbapenemaz testi yapmak gerekli değildir. Ancak karbapeneme dirençli bu türlerde, karbapenem direncinin karbapenemazlar aracılığıyla olması, diğer mekanizmalara göre direncin yayılımı açısından çok daha büyük bir tehdit olarak kabul edilmektedir. Çünkü karbapenemazları kodlayan genler genellikle plazmid ve integron gibi mobil genetik elemanlar üzerindedir ve suşlar arasında kolaylıkla yayılabilir. Sonuç olarak karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* ailesinde bulunan türlerin karbapenemaz üretilip üretilmediği bilgisi, öncelikle infeksiyon kontrolü ve epidemiyolojik amaçlarla gerekmektedir (2). Bununla birlikte, özellikle *Enterobacteriaceae* ailesindeki genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten türlere bağlı infeksiyonların tedavisinde giderek artan sıklıkta karbapenem kullanılması, karbapenemaz üreten suşların hızlı ve basit bir yöntemle saptanmasını zorunlu hale getirmiştir (3).

Bir suşun karbapenemaz ürettiğini tespit etmek için genellikle karbapenemaz üretimini kodlayan genleri ortaya koyan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılır (4-6). Bu yöntem bilinen karbapenemaz kodlayan genleri tespit edebilir ancak karbapenemaz kodlayan genlerin ve bunların varyantlarının sayısı hızla artmaktadır. Diğer taraftan karbapenemaz üretimini saptayan karbapenem inaktivasyon testi (KIT), MALDI-TOF MS karbapenem hidrolizi, biyokimyasal testler (Carba NP vb.) ve elektrokimyasal ölçümler (Bogaerts-Yunus-Glupczynski testi) gibi fenotipik testler de mevcuttur. Bu testler, bakterinin karbapenemaz kodlayan gen diziliminden bağımsız olarak karbapenemaz üretimini tespit edebilmektedir (4,7).

KIT 2015 yılında tanımlanmış yeni bir yöntem olmakla birlikte eğitimli personel ve özel ekipman gerektirmez ve maliyeti düşüktür (3,8). Modifiye Hodge testi (MHT) ise Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından karbapenemaz tespitinde önerilmeye devam eden bir testtir (9).

Bu çalışmada, moleküler olarak karbapenemaz ürettiği doğrulanmış *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında MHT ve KIT'in tanısal değerinin kıyaslanması ve rutin laboratuvar pratiğinde kullanımının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Conclusions: As a result, molecular tests are essential to detect carbapenem encoding genes. However, we believe that the carbapenemase inactivation test is a better alternative to the modified Hodge test to detect carbapenemase production in laboratories without adequate infrastructure. *Klimik Dergisi 2018; 31(3): 223-6.*

Key Words: Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, carbapenem inactivation test, modified Hodge test.

Yöntemler

Bakteriler: Çalışmaya çeşitli klinik örneklerden 2016-2017 yıllarında izole edilen, tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılık testi VITEK® 2 (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Fransa) otomatize sistemiyle gerçekleştirilen 104 *K. pneumoniae* suşu dahil edilmiştir. Karbapenemlerden en az birisine duyarlılığı azalmış olarak bulunan suşlarda Etest® (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Fransa) ile ertapenemin minimal inhibitör konsantrasyon değerleri belirlenerek doğrulama yapılmıştır. Değerlendirme European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) standartlarına göre yapılmıştır (10).

Polimeraz zincir reaksiyonu: Moleküler çalışmalar için toplanan izolatlarda karbapenemaz üretimine neden olan *bla*_{OXA-48}, *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{VIM-1} ve *bla*_{IMP} genleri "real-time" PCR yöntemiyle Microbial DNA qPCR Assay (Qiagen, Hilden, Almanya) kiti kullanılarak araştırılmıştır. Amplifikasyon ve analizler Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Mortlake, NSW, Avustralya) cihazında yapılmıştır.

Modifiye Hodge testi: *Escherichia coli* ATCC 25922 standard suşunun taze pasajlarından alınarak 0.5 McFarland standardı bulanıklığında hazırlanan süspansiyonlar, 1:10 oranında sulandırılarak Mueller-Hinton agarı (MHA) (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Fransa) plaklarına yayılmıştır. Plâğin ortasına bir karbapenem diski yerleştirilmiştir. Test edilecek bakteriler plâğin merkezinden perifer doğru düz çizgi şeklinde ekilmiştir. Plaklar etüvde 18-20 saat inkübe edildikten sonra değerlendirilmiştir. Bu işlem meropenem, imipenem ve ertapenem için ayrı ayrı yapılmıştır. *E. coli* ATCC 25922 suşunun duyarlılık zonu çapının çizgi ekimi yapılan bakteri taraflarında yonca yaprağı şeklinde bozulması ve bu bölgede *E. coli*'nin üremesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Karbapenem inaktivasyon testi: KIT için çalışmaya karbapenemaz enzimi üretimi araştırılan izolatları 4 McFarland standardı bulanıklığında 3 ml steril distile su içinde süspansiyon hazırlanmış ve içine karbapenem diski (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Fransa) atılmıştır. İki saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 0.5 McFarland standardı bulanıklığında *E. coli* ATCC 29522 inoküle edilmiş MHA plâğına, süspansiyondan alınan karbapenem diski yerleştirilmiş ve altı saat 35°C'de inkübe edilmiştir. Altı saatlik sürenin sonunda ön değerlendirme yapılmıştır. Tüm testler 24 saat daha inkübe edilerek tekrar değerlendirilmiştir. Ertapenem için 25 mm'nin, imipenem ve meropenem için 22 mm'nin altında zon çapı olması ve/veya zon içi üreme görülmesi durumunda test pozitif kabul edilmiştir.

Deney grubunda MHT ve KIT için test edilen antimikrobiyalle pozitif bulunan suş sayısı deney grubundaki suş sayısına bölünerek testin duyarlılığı hesaplanmıştır.

Bulgular

Karbapenem direncine sebep olan direnç geni PCR ile gösterilen 64 *K. pneumoniae* suşu, deney grubunu; GSBL-

Tablo 1. Deney Grubunda Modifiye Hodge Testi ve Karbapenem İnaktivasyon Testi Sonuçları

Karbapenemazlar	Sayı	Modifiye Hodge Testi			Karbapenem İnaktivasyon Testi*		
		ERT	IMP	MEM	ERT	IMP	MEM
		Sayı	Sayı	Sayı	Sayı	Sayı	Sayı
OXA-48	36	31	27	26	35	32	31
NDM-1	18	5	6	5	17	13	7
OXA-48 + NDM-1	8	7	6	7	8	7	3
OXA-48 + KPC	1	1	1	1	1	1	0
VIM-1	1	0	0	0	1	1	0
Toplam	64	44	40	39	62	54	41

*24 saat sonraki değerlendirme. ERT: ertapenem, IMP: imipenem, MEM: meropenem.

negatif karbapeneme duyarlı 40 *K. pneumoniae* suşu da kontrol grubunu oluşturmuştur.

Deney grubunda imipenem ve ertapenem direnç oranı %100, meropenem direnç oranı %98.4 olarak bulunmuştur. Bu mikroorganizmaların 45'inde bla_{OXA-48} , 26'sında bla_{NDM-1} birinde bla_{KPC} ve birinde bla_{VIM-1} geni saptanmıştır. Suşların dokuzunda iki farklı direnç geni birden bulunmuştur (Tablo 1).

KİT'in altıncı saatinde yapılan ön değerlendirmede meropenem, imipenem ve ertapenemin duyarlılığı sırasıyla %32.8, %75 ve %96.9 olarak tespit edilmiştir. Yirmi dört saat sonra yapılan son değerlendirmede ise bu antimikrobisallerin duyarlılığı sırasıyla %64.1, %84.4 ve %96.9 olarak bulunmuştur.

Meropenem, imipenem ve ertapenemle yapılan MHT'nin duyarlılığının sırasıyla %60.9, %62.5 ve %68.8 olduğu gözlenmiştir.

Kontrol grubundaki suşlarla yapılan MHT ve KİT sonuçlarında hiç pozitiflik görülmemiştir.

İrdeleme

Son yıllarda Gram-negatif bakterilerde artan direnç biçimleri bütün dünyada hızla yayılmaktadır. Hasta bakımının gelişmesi, yaşamın desteklenmesi için destek tedavilerine ve invazif girişimlere başvurulması antibiyotik direncinin yayılmasını kolaylaştırmaktadır (3). Gram-negatif bakteriler içinde yer alan özellikle karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* suşları neredeyse tüm antimikrobisallere dirençli olup, hastanede salgınlara yol açabilmektedir (11). Bu da hastanede yatış süresinin uzamasına, morbidite ve mortalitede artışa yol açmaktadır (2). Bu nedenle bu direncin doğru tespiti enfeksiyon kontrol çalışmaları açısından önemlidir. Karbapenemazların doğru tespitinde öncelikle azalmış karbapenem duyarlılığının değerlendirilmesi ve sonrasında fenotipik olarak enzim hidrolizine bağlı testlerin ya da biyokimyasal testlerin yapılması önerilmektedir. MHT, CLSI tarafından önerilen karbapenemaz tespitine yönelik uygulaması kolay bir test olması nedeniyle öne çıkmaktadır (9). Son yıllarda ise van der Zwaluw ve arkadaşları (7) tarafından fenotipik bir test olarak geliştirilen KİT kullanıma girmiştir. Bu test 2017 yılında CLSI tarafından 'modifiye KİT' adı altında farklı bir şekilde yayımlanmıştır (9).

Günümüzde gradyan test stripleri, Carba NP ve PCR gibi birçok yöntemle karbapenemaz tespiti yapmak mümkündür (12-15). Ancak bu yöntemlerin pahalı olması nedeniyle rutin laboratuvarlarda çok az uygulanmaktadır. KİT'in en dikkat

çekici özelliği maliyetinin düşük, uygulamasının kolay ve duyarlılığının yüksek olmasıdır. Bununla birlikte bla_{OXA} tipi karbapenemaz salgılayan ya da mukoid kolonisi olan suşlarda düşük duyarlılığa sahip olduğunu bildiren çalışmalar da vardır (16,17).

van der Zwaluw ve arkadaşları (7) ile Bayramoğlu ve arkadaşları (18) yaptıkları çalışmalarda KİT'in duyarlılığını %100, Tijet ve arkadaşları (19) ise yaptıkları çalışmada KİT'in duyarlılığını %99 bulmuşlardır. Çalışmamızın verileri bu çalışmalardan düşüktür. Çalışmamızda üç farklı karbapenem diskini kullanmakla birlikte ertapenem diskiyle daha yüksek duyarlılıkta sonuçlar elde edilmiştir. Bunun nedeni bu çalışmanın %70.3'ünde de belirlenmiş olan OXA-48'in, ertapenemi, diğer karbapenemlerden daha kolay hidrolize edebilmesi olabilir. Bununla birlikte ertapenem ve imipenemle elde ettiğimiz sonuç Demiray ve arkadaşları (8)'nin verilerinden yüksek olurken, meropenemle elde ettiğimiz sonuçlar bu çalışmanın verilerinden düşüktür. Bu nedenle yeni kullanıma girmiş olan bu testle ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

KİT ilk tanımlandığında 400 µl su içine bir öze dolusu bakteri eklenerek süspansiyon hazırlanmıştır (7). Bizim çalışmamızda ise, belli bir standardı yakalamak açısından 4 McFarland standardı bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. KİT'te altı saat sonra ön değerlendirmenin yapılabileceği bildirilmiştir (7). Altı saat sonra yapılan değerlendirmelerde zon içi üremeler görülemediğinden yanlış sonuçlar alınabileceği gözlenmiştir. Bu nedenle değerlendirmenin 24 saat inkübasyondan sonra yapılmasının daha doğru sonuçlar elde edilmesine katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

KİT'te inkübasyonun 24 saate uzatılması ve yüksek konsantrasyonlu bakteri süspansiyonuyla çalışılması dezavantajdır. Ancak KİT'in MHT gibi kolay uygulanabilir ve maliyetinin az olması nedeniyle, moleküler yöntemlerle karbapenemaz genlerinin varlığını gösterebilecek altyapısı ve olanağı olmayan mikrobiyoloji laboratuvarlarında karbapenemaz direncinin saptanması için iyi bir alternatif olduğu söylenebilir.

Girlich ve arkadaşları (20) özellikle bla_{NDM-1} geni taşıyan suşlarda MHT'nin duyarlılığını %50 olarak bulmuşlar ve test sırasında $ZnSO_4$ eklenmesinin testin duyarlılığını artırdığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise sadece bla_{NDM-1} geni taşıyan 18 suş olup MHT'nin duyarlılığı meropenem ve ertapenem için %27.8, imipenem için %33.3'tür. Ancak çalışma sırasında $ZnSO_4$ eklenmemiştir. Özellikle bla_{NDM-1} geni taşıyan

suşlarda bu testin duyarlılığının düşük olmasını buna bağlamaktayız. Aynı suşlarda KİT'in duyarlılığı incelendiğinde meropenem için %38.9, imipenem için %72.2, ertapenem için ise %94.4 bulunmuştur.

Sonuç olarak karbapenemaz kodlayan genleri tespit etmek için moleküler testler gereklidir. Ancak yeterli altyapısı olmayan laboratuvarlarda karbapenemaz saptamak için KİT'in, MHT'den daha iyi bir alternatif olduğunu düşünmekteyiz.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Kaynaklar

1. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(10): 1791-8.
2. Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20(9): 821-30.
3. Nordmann P, Poirel L. Strategies for identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2013; 68(3): 487-9.
4. Dallenne C, Da Costa A, Decre D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2010; 65(3): 490-5.
5. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011; 70(1): 119-23.
6. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in Acinetobacter spp. *Int J Antimicrob Agents.* 2006; 27(4): 351-3.
7. van der Zwaluw K, de Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, de Neeling AJ, Schouls LM. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PLoS One.* 2015; 10(3): e0123690.
8. Demiray T, Aydemir O, Kılıç U, Yılmaz K, Köroğlu M, Altındış M. Karbapenem dirençli Klebsiella pneumoniae izolatlarında karbapenemaz saptanmasında karbapenemaz inaktivasyon testinin kullanımı. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2017; 47(2): 78-82.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.* Twenty-fifth Informational Supplement. CLSI Document M100-S27. Wayne PA: CLSI, 2017.
10. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1, valid from 2018-05-15 [Internet]. Basel, Switzerland: EUCAST [erişim 1 Haziran 2018]. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.1_Breakpoint_Tables.pdf.
11. Carrër A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay AA, Badur S, Nordmann P. Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae isolates in Istanbul, Turkey. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52(8): 2950-4.
12. Patel JB, Rasheed JK, Kitchel B. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: activity, epidemiology, and laboratory detection. *Clin Microbiol Newslett.* 2009; 31(8): 55-62.
13. Kılıç Ü, Demiray T, Altındış M. Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae izolatlarının saptanmasında fenotipik ve genotipik metotlar. *Ankem Derg.* 2016; 30(2): 62-75.
14. Tijet N, Boyd D, Patel SN, Mulvey MR, Melano RG. Evaluation of the Carba NP test for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 57(9): 4578-80.
15. Osterblad M, Hakanen AJ, Jalava J. Evaluation of the Carba NP test for carbapenemase detection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58(12): 7553-6.
16. Cohen Stuart J, Leverstein-Van Hall MA; Dutch Working Party on the Detection of Highly Resistant Microorganisms. Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae. *Int J Antimicrob Agents.* 2010; 36(3): 205-10.
17. Yigit H, Queenan AM, Rasheed JK, et al. Carbapenem resistant strain of Klebsiella oxytoca harboring carbapenem-hydrolyzing β -lactamase KPC-2. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47(12): 3881-9.
18. Bayramoğlu G, Uluçam G, Gençoğlu Özgür Ç. Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae suşlarının saptanmasında karbapenem inaktivasyon yönteminin değerlendirilmesi [Mektup]. *Mikrobiyol Bül.* 2016; 50(3): 505-7.
19. Tijet N, Patel SN, Melano RG. Detection of carbapenemase activity in Enterobacteriaceae: comparison of the carbapenem inactivation method versus the Carba NP test. *J Antimicrob Chemother.* 2016; 71(1): 274-6.
20. Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2012; 50(2): 477-9.