

به نام خداوند جان و خرد

کزین برتر اندیشه بر نگذرد

Clinical Microbiology laboratory

The two most important pieces of information for a clinician are:

whether an infectious agent is present

which antimicrobial agent should provide adequate therapy

Antibiotics

On 7 April 2011, World Health Day, the World Health Organization (WHO) announced that

urgent actions were necessary if the effectiveness of antibiotics was to be ensured in the future



MDR, XDR, PDR

• ادامه آزمایش تعیین حساسیت ضد میکروبی (آنتی بیوگرام)	سنجه	حداکثر امتیاز هر سنجه	حداکثر امتیاز هر سؤال	امتیاز کسب شده	کاربرد ندارد	توضیحات
۴۸	آیا در آزمایشگاه، عقونت های مقاوم ناشی از باکتری های MDR (Multidrug resistant)، XDR (Extensively drug resistant) و PDR (Pandrug resistant) به پزشک معالج و پرستار یا پزشک کنترل عقونت به عنوان نتیجه بحرانی و نیز به صورت دوره ای گزارش می شود؟ توجه: (اگر آزمایشگاه عقونت های مقاوم ناشی از هر کدام از باکتری های MDR، XDR، PDR را گزارش کند، امتیاز سنجه اول را به طور کامل می گیرد. ضمناً آزمایشگاه یا امتیاز سنجه گزارش توسط نرم افزار را می گیرد، یا امتیاز سنجه گزارش دستی راه پنایراین حداکثر امتیاز این سؤال، ۵ می باشد).	آگاهی کارکنان و گزارش موارد زیر: MDR: باکتری هایی که حداقل به سه آنتی بیوتیک از سه کلاس مختلف مقاوم باشند. XDR: باکتری هایی که تنها به یک یا دو آنتی بیوتیک از کلاس های مختلف حساس باشند. PDR: باکتری هایی که به تمامی آنتی بیوتیک های مورد آزمایش مقاوم باشند.	۱	۵		
	گزارش توسط نرم افزار WHONET 5.6	۲				
	گزارش دستی (غیر از نرم افزار WHONET)	۱				
	وجود سوابق گزارش فوری یا دوره ای و صحت سوابق	۲				
۴۹	آیا در آزمایشگاه عقونت / استافیلوکوکوس / اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) تشخیص و گزارش داده می شود؟	وجود دستورالعمل بر اساس "استاندارد CLSI M100 ویرایش سال ۲۰۱۷ و پس از آن"	۱	۴		
	آگاهی کارکنان از دستورالعمل و اجرای آن	۱				
	وجود سوابق تشخیص و گزارش MRSA و صحت سوابق توجه: برای تشخیص استافیلوکوکوس / اورئوس مقاوم به متی سیلین، استفاده از دیسک سقوکسی تین الزامی است.	۲				

CLSI



29th Edition

M100

Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing

This document includes updated tables for the Clinical and Laboratory Standards Institute antimicrobial susceptibility testing standards M02, M07, and M11.

A CLSI supplement for global application.

MDR, XDR, PDR

No consensus has yet been reached on the definition and use of terms such as MDR, XDR, PDR

MDR, XDR, PDR

In a joint initiative by the European Centre for Disease Prevention and Control (**ECDC**) and the Centers for Disease Control and Prevention (**CDC**), a first meeting of experts was held in **Stockholm**

MDR, XDR, PDR

The expert group decided to concentrate on applying the definitions to:

- *S. aureus*
- Enterococcus spp.
- Enterobacteriaceae (other than Salmonella and Shigella)
 - *P. aeruginosa*
 - Acinetobacter spp

MDR, XDR, PDR

- Mycobacteria
- *Streptococcus pneumonia*
- Salmonella spp.
- Shigella spp.
- *Neisseria gonorrhoeae*

Were excluded

MDR, XDR, PDR

Only **acquired antimicrobial** resistance was taken into consideration in creating definitions for MDR, XDR and PDR

Intrinsic resistance was not addressed

MDR

MDR Definition:

The definition most frequently used for Gram-positive and Gram-negative bacteria is 'resistant to three or more antimicrobial classes'

MDR

Another method used to characterize bacteria as MDR, is when they are 'resistant to one key antimicrobial agent'

MDR

These bacterial isolates may have public health importance due to resistance to only one key antimicrobial agent, but they often **demonstrate cross or co-resistance to multiple classes of antimicrobials, which makes them MDR**

MDR

Creating an acronym for a bacterium based on its resistance to a key antimicrobial agent (e.g. methicillin resistance in *S. aureus*, i.e. MRSA) immediately highlights its epidemiological significance

Table 1A. Suggested Groupings of Antimicrobial Agents Approved by the US Food and Drug Administration for Clinical Use That Should Be Considered for Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Microbiology Laboratories in the United States

GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Enterobacteriaceae	Pseudomonas aeruginosa	Staphylococcus spp.	Enterococcus spp. ^m
	Ampicillin ^c	Ceftazidime	Azithromycin ^b or clarithromycin ^b or erythromycin ^b	Ampicillin ^f Penicillin ^g
	Cefazolin ^d	Gentamicin Tobramycin		
	Gentamicin ^c Tobramycin ^c	Piperacillin-tazobactam	Clindamycin ^b	
			Oxacillin ^{kk,*,†,§} Cefoxitin ^{i,k,†} (surrogate test for oxacillin)	
Penicillin ⁱ				
		Trimethoprim- sulfamethoxazole		
GROUP B OPTIONAL PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Amikacin ^c	Amikacin	Ceftaroline ^h	Daptomycin ^{h,*}
	Amoxicillin-clavulanate Ampicillin-sulbactam	Aztreonam	Daptomycin ^{i,*}	Linezolid Tedizolid ^g
	Ceftazidime-avibactam	Cefepime	Linezolid Tedizolid ^h	
	Ceftolozane-tazobactam	Ceftazidime-avibactam	Doxycycline Minocycline ^b Tetracycline ^a Vancomycin [*]	Vancomycin
	Meropenem-vaborbactam	Ceftolozane-tazobactam		
	Piperacillin-tazobactam			
	Cefuroxime	Ciprofloxacin Levofloxacin	Doxycycline Minocycline ^b Tetracycline ^a	
	Cefepime	Doripenem Imipenem Meropenem		
	Cefotetan Cefoxitin	Ciprofloxacin ^c Levofloxacin ^c Doripenem Ertapenem Imipenem Meropenem Trimethoprim-sulfamethoxazole ^c	Vancomycin [*]	
	Cefotaxime ^{a,d} or ceftriaxone ^{a,d}			
	Ciprofloxacin ^c Levofloxacin ^c		Rifampin ^g	
	Doripenem Ertapenem Imipenem Meropenem			
	Trimethoprim-sulfamethoxazole ^c			

Table 1A. (Continued)

GROUP C SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Enterococcus spp.</i> ^m
	Aztreonam		Chloramphenicol ^b	Gentamicin (high-level resistance testing only)
	Ceftazidime		Ciprofloxacin or levofloxacin	Streptomycin (high-level resistance testing only)
	Ceftriaxone			
	Chloramphenicol ^{b,c}		Moxifloxacin	Dalbavancin ^{h,*}
	Tetracycline ^a		Gentamicin ⁱ	Oritavancin ^{h,*}
			Dalbavancin ^{h,*}	Telavancin ^{h,*}
			Oritavancin ^{h,*}	
			Telavancin ^{h,*}	
GROUP U SUPPLEMENTAL FOR URINE ONLY	Cefazolin (surrogate test for uncomplicated UTI) [‡]		Nitrofurantoin	Ciprofloxacin
	Fosfomycin ^e		Sulfisoxazole	Levofloxacin
	Nitrofurantoin		Trimethoprim	Fosfomycin ^g
	Sulfisoxazole			Nitrofurantoin
	Trimethoprim			Tetracycline ^a

^a MIC testing only; disk diffusion test unreliable

Test/Report Groups

Group A are considered appropriate for inclusion in a **routine, primary testing panel**, as well as for routine **reporting of results** for the specific organism groups

Test/Report Groups

Group B comprises agents that may warrant primary testing. However, they may be reported only selectively

Test/Report Groups

Group C comprises **alternative or supplemental antimicrobial agents** that may require testing in those institutions that harbor endemic or epidemic **strains resistant to several of the primary drugs**

Test/Report Groups

Group C for treatment of patients allergic to primary drugs; for treatment of unusual organisms; or for reporting to infection control as an epidemiological aid

Test/Report Groups

Group U (“urine”) lists certain antimicrobial agents that are used only or primarily for **treating urinary tract infections**

Antibiotic Classes

➤ Beta lactams

- Ampicillin

➤ Cephalosporines

- Cefazolin
- Cefotaxime
- Cefazolin
- Cefuroxime
- Cefepime
- Cefoletan
- Cefotetan
- Cefoxitin
- Cefotaxime
- Ceftriaxone

➤ b-lactamase inhibitors

- tazobactam
- clavulanate
- sulbactam
- aztronam

➤ Carbapenems

- Ertapenem
- Imipenem
- Meropenem

Antibiotic Classes

➤ Aminoglycosides

- Gentamicin
- Tobramycin
- Amikacin

➤ Fluroquinolones

- Ciprofloxacin
- Levofloxacin

➤ Chloramphenicol

➤ Trimethoprim-Sulfamethoxazole

- Sulfisoxazole
- Trimethoprim

➤ Nitrofurantoin

➤ Fosfomycin

➤ Tetracycline

MDR, XDR, PDR

Within the definition for MDR, a unique rule was applied when defining antimicrobial resistance for a *S. aureus* isolate that is an **MRSA**.

Intrinsic Resistance

- The antimicrobial activity of the drug is clinically insufficient or antimicrobial resistance is innate, rendering it clinically useless
- Antimicrobial susceptibility testing is therefore unnecessary, although it may be performed as part of panels of test agents

Intrinsic Resistance

Enterobacteriaceae are intrinsically resistant to :

- ✓ penicillin G
- ✓ glycopeptides
- ✓ macrolides (with some exceptions)
- ✓ rifampicin
- ✓ daptomycin
- ✓ linezolid

Intrinsic Resistance

Non-fermentative Gram-negative bacteria are intrinsically resistant to:

- penicillin G
- cefazolin
- cefoxitin
- cefamandole
- cefuroxime
- glycopeptides
- Macrolides
- Rifampicin
- daptomycin
- linezolid

Intrinsic Resistance

Gram-positive bacteria are also intrinsically resistant to:

- ✓ aztreonam
- ✓ polymyxin B/colistin
- ✓ nalidixic acid

Antimicrobial agents that must not be reported susceptible

- Salmonella spp and Shigella spp.
 - 1st and 2nd generation cephalosporines
 - cephamycines (cefoxitin)
 - aminoglycosides

Antimicrobial agents that must not be reported susceptible

Oxacillin resistant staphylococcus spp.

- Penicillin
- Carbapenems
- Cephems

Antimicrobial agents that must not be reported susceptible

Enterococcus

- ❖ Aminoglycosides
- ❖ Cephalosporines
- ❖ Clindamycines
- ❖ SXT

The following antimicrobial agents should not be routinely reported for bacteria isolated from CSF

Agents administered by oral route only

- 1st- and 2nd-generation cephalosporins
- Clindamycin
- Macrolides
- Tetracyclines
- Fluoroquinolones



XDR

XDR

Bacteria that are classified as XDR are epidemiologically significant due:

1. to their resistance to multiple antimicrobial agents
2. to their ominous **likelihood of being resistant to all**, or almost all, approved antimicrobial agents

XDR

In the medical literature XDR has been used as an acronym for several different terms such as:

- 'extreme drug resistance'
- 'extensive drug resistance'
- 'extremely drug resistant'
- 'extensively drug resistant'

XDR

Initially, the term XDR was created to describe extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* (XDR MTB)

'resistance to the first-line agents **isoniazid** and **rifampicin**, to **a fluoroquinolone** and to at least one of the three-second-line parenteral drugs (i.e. **amikacin**, **kanamycin** or **capreomycin**)'

XDR

Non-susceptible to ≥ 1 agent in
all but ≤ 2 categories

PDR

PDR

pandrug resistant (PDR) means
'resistant to all antimicrobial agents'

in order for a particular species and a bacterial isolate of this species to be characterized as PDR, it must be tested and found to be resistant to all approved and useful agents

PDR

Examples of current definitions are:

'resistant to almost all commercially available antimicrobials'

'resistant to all antimicrobials routinely tested'

'resistant to all antibiotic classes available for empirical treatment'

MDR, XDR, PDR

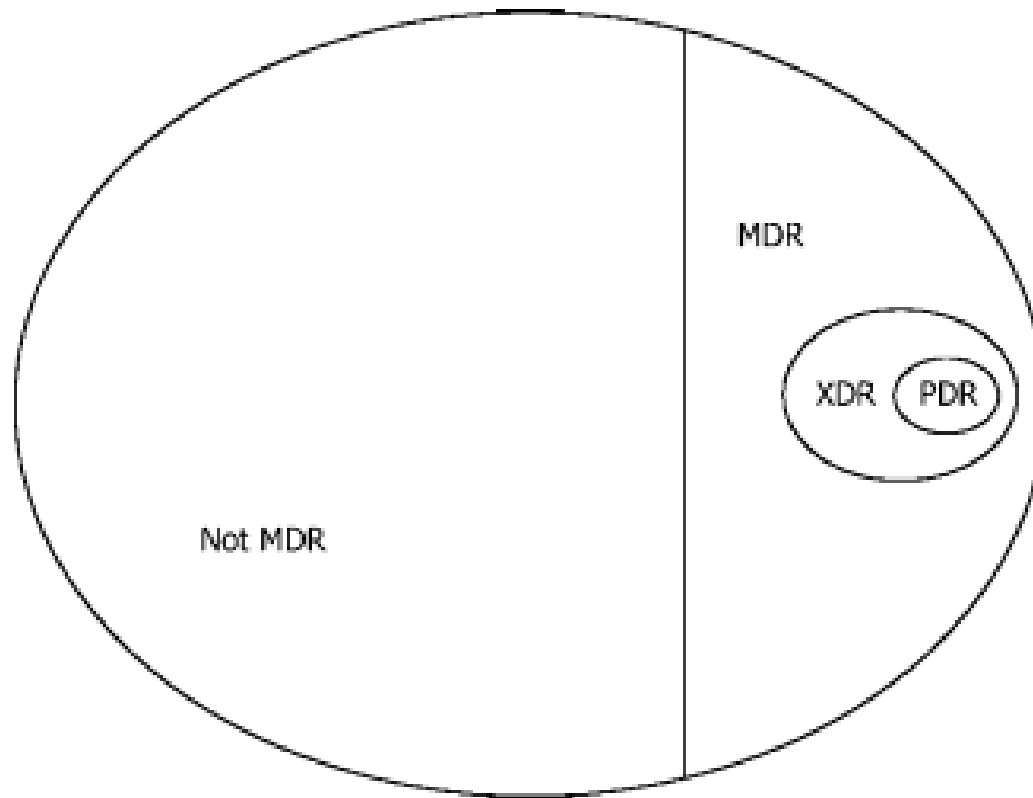


FIG. 1. Diagram showing the relationship of MDR, XDR and PDR to each other.

MDR, XDR, PDR

There are bacterial species within certain organism groups (i.e. the Enterococcus spp.

that are **intrinsically resistant** to one or more antimicrobial agents within a category or to all agents within a category.

When applying the definitions for MDR, XDR and PDR to these organisms, those agents or categories will need to be removed and not included in the analysis.

MDR, XDR, PDR

Finally, available rules of **partial or complete cross-resistance** from EUCAST and CLSI were applied to the lists of antimicrobial agents in order to minimize the number of agents proposed for testing.

MDR, XDR, PDR

An example of a rule for full cross-resistance is when an *E. coli* isolate is tested and found to be non-susceptible to **ciprofloxacin**, it is considered non-susceptible to all **fluoroquinolones**.

MDR, XDR, PDR

A bacterial isolate is considered resistant to a 'class' when it is resistant to one or more antimicrobial agents within that 'class'. Thus, according to this definition, **carbapenem resistance in *Klebsiella* spp. would be defined as 'resistance to imipenem or meropenem or ertapenem or doripenem'**

MDR Bacteria in Laboratories

MDR

- **MRSA** (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*)
- **ESBL** (Extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae)
- **VRE** (Vancomycin-resistant Enterococci)
- **HLAR** (High-Level Aminoglycoside Resistance)
- **CRE** (Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae)

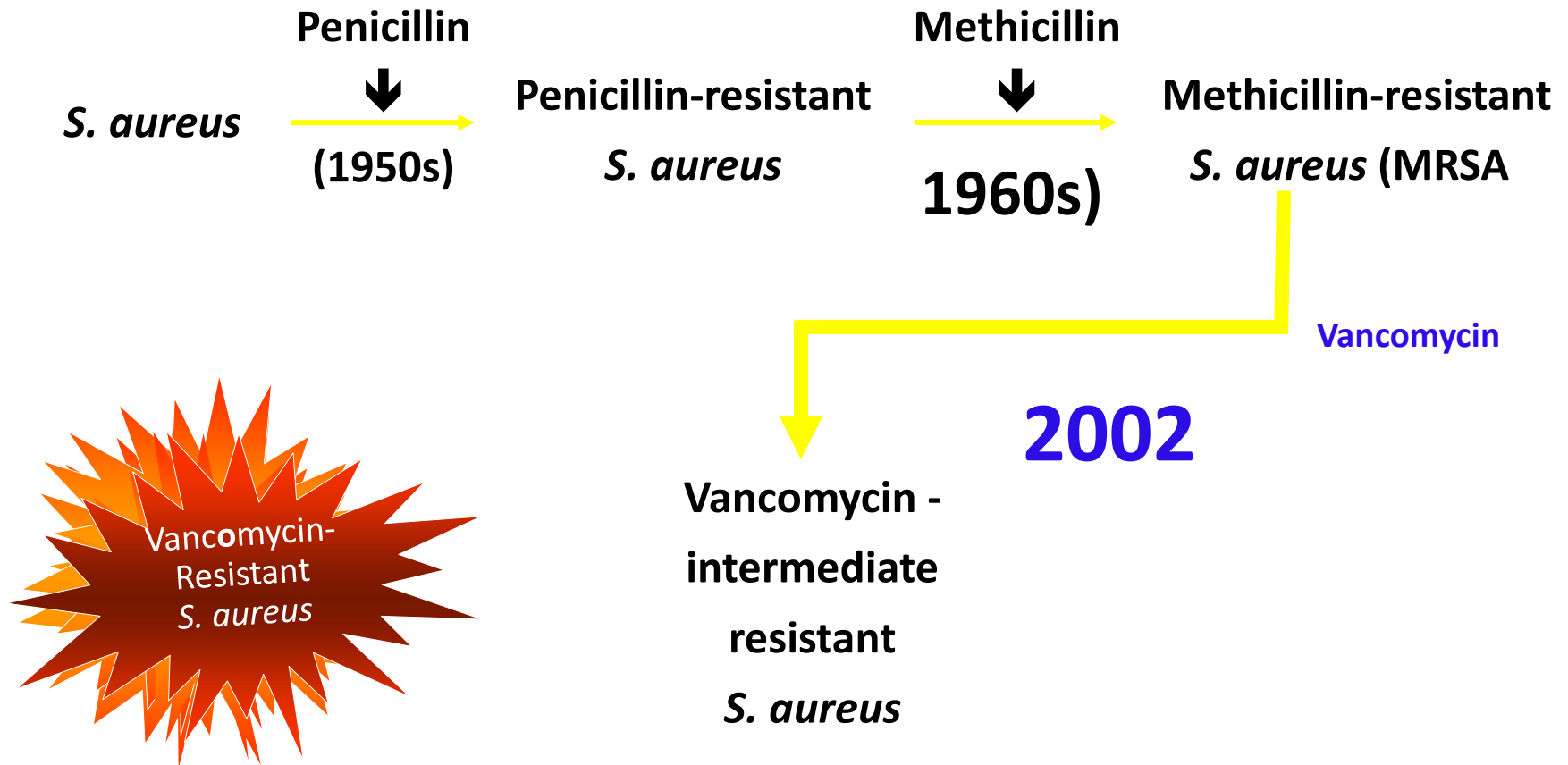
MRSA

MRSA

Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) were first reported in **1961 in UK** and have since become a major nosocomial pathogen worldwide.

Treatment of infection caused has become problematic.

Evolution of Antimicrobial Resistance



MRSA

Are few implicated risks factors for MRSA

- Indiscriminate use of multiple antibiotics especially in developing countries
 - Prolonged hospital stay
 - Intravenous drug abuse
 - Carriage of MRSA in nose

MRSA

Most resistance to oxacillin in staphylococci is mediated by the *mecA* genes, which directs the production of supplemental penicillin-binding protein, PBP 2a, and is expressed either homogeneously or heterogeneously

MRSA

- Homogenous resistance is easily detected with standard testing method
- Whereas **heterogenous** expression may be more difficult to detect with some methods because **only a fraction of the population (e.g. 1 in 100,000 cells)** express the resistance

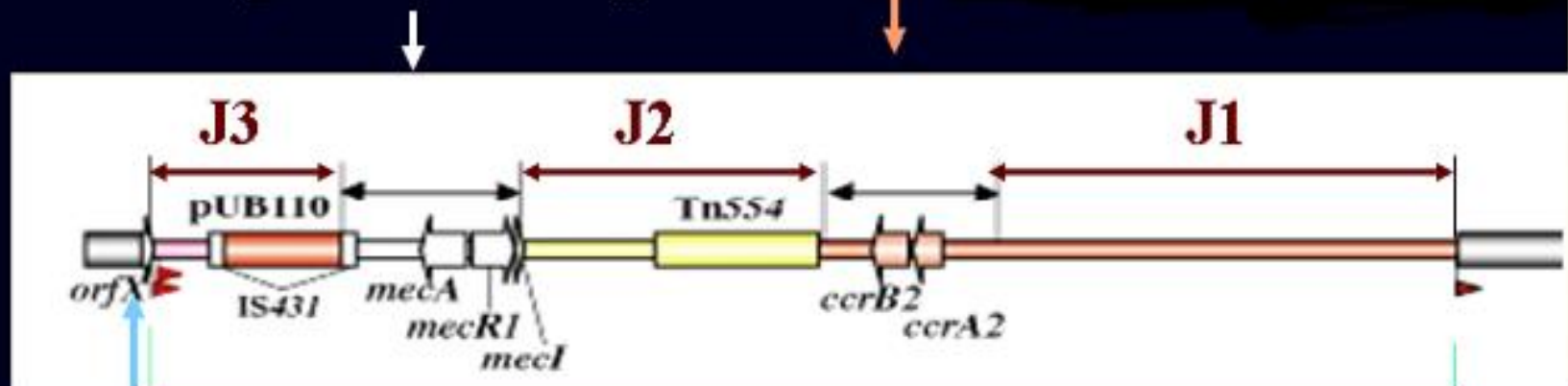
Staphylococcal Cassette Chromosomes

All MRSA strains carry a mobile genetic element called staphylococcal cassette chromosome (SCC) which harbours the *mecA* gene. This gene encodes penicillin-binding protein 2a that confers resistance to β -lactam antibiotics.

Eleven distinct types of SCCmec have been recognized.

2. *ccr* gene complex

1. *mec* gene complex



3. Direct repeats/ Inverted repeats

4. integrated at the 3' end of *orfX*

Antibiotic Resistance

1. HA MRSA

2. In the last decade community-associated
(CA)-MRSA strains have emerged

Antibiotic Resistance

Treatment options include the new drugs:

- vancomycin
- linezolid
- daptamycin
- tigecycline
- fifth-generation cephalosporins,
ceftobiprole and ceftavoline

Methicillin (oxacillin) susceptibility testing

Microbiology laboratories have an important role in detection of MRSA. They are two major method for detection of MRSA in laboratory.

- Phenotypic Methods
- Genotypic Methods

Genotypic Methods

Accurate routine phenotypic detection of MRSA is difficult by using standard phenotypic methods. This has been ascribed to the heterogeneous expression of Methicillin resistance in many strains of *S. aureus*. **Using of PCR** for detection of *mecA* is **gold standard method** for detection of MRSA

Phenotypic Methods for detection of MRSA

- Disk diffusion Methods (Oxacillin and Cefoxitin)
- Dilution methods (for MIC)
- E-test method
- Agar screening method
- Latex agglutination method
- MRSA Chromoagar
- Automated methods

Oxacillin Based Methods

Oxacillin susceptibility results can be applied to the other penicillinase-stable penicillins (ie, **cloxacillin , dicloxacillin, flucloxacillin, methicillin and nafcillin**)

Cefoxitin -Based Methods

The results of tests using Cefoxitin (either broth microdilution or disk diffusion tests using a 30 μ g Cefoxitin disk) and alternate breakpoint can be used to predict *mecA*-mediated oxacillin resistance in *S. aureus*.

Cefoxitin tests are equivalent to oxacillin MIC in sensitivity and specificity for *S. aureus*.

Cefoxitin

For coagulase-negative staphylococci currently only the cefoxitin disk diffusion test has been validated for predication of *mecA*-mediated resistance. The Cefoxitin disk diffusion test has equivalent sensitivity to oxacillin MIC tests **but greater specificity** (,the Cefoxitin disk tests more accurately identifies oxacillin - susceptible strains than oxacillin MIC tests). There are no disk difusion recomondation for CoNS.

استافیلوکوکهای مقاوم به متی سیلین

شرایط تست آزمایشگاهی را می توان برای افزایش بیان مقاومت به اگزاسیلین به صورت زیر بهبود بخشید:

- تهیه سوسپانسیون به صورت روش تلقیح مستقیم سوسپانسیون
- انکوباسیون تست ها در درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی گراد (نه بالاتر از آن)
- خواندن نتیجه تست بعد از دوره انکوباسیون ۲۴ ساعت کامل
- غنی سازی محیط مولر هینتون براث یا آگار با ۲ درصد NaCl برای آزمایشات رقیق سازی

پلیت غربالگری اگزاسیلین

شامل مولر هینتون آگار غنی شده با ۴% NaCl و $6\mu\text{g/mL}$ اگزاسیلین می باشد برای شناسایی MRSA مورد استفاده قرار می گیرد.

- برای انجام تست غربالگری اگزاسیلین، یک سوسپانسیون 0/5 مک فارلند برای انجام آزمایش انتشار از دیسک آماده می شود. یک سواب به داخل این سوسپانسیون فرو برده شده و بر یک ناحیه ای از محیط مولر هینتون آگار به اندازه تقریبی 2×5 سانتی متر به صورت یکنواخت کشت داده می شود.
- بعد از انکوباسیون به مدت یک شبانه روز در 35°C درجه سانتی گراد، رشد (بیشتر از یک کلنی) نشان دهنده این است که ایزوله نسبت به اگزاسیلین مقاوم می باشد. با وجود این، این روش به صورت قابل اعتمادی **استافیلوکوک های کوآگولاز منفی مقاوم به اگزاسیلین را شناسایی نمی کند.**

استافیلوکوک لوگدوننسیس

در ارتباط با ارگانیسم استافیلوکوک لوگدوننسیس (*Staphylococcus lugdunensis*) کوآگولاز منفی، اگرچه آن یک استافیلوکوک کوآگولاز منفی می باشد ولی به دلیل خصوصیات مشابه آن با استافیلوکوک اورئوس، بایستی نتایج غربالگری آزمایش سفوکسیتین برای آن با استفاده از معیارهای تفسیری استافیلوکوک اورئوس انجام شود. این نکته مهم است که یافته های حاصل از تست انتشار از دیسک سفوکسیتین **به عنوان حساسیت یا مقاومت به آگزاسیلین گزارش گردد؛** در واقع نتایج سفوکسیتین نباید گزارش داده شود.

استافیلوکوک‌های مقاوم به متی‌سیلین

گاهی اوقات استافیلوکوک‌های مقاوم به آگزاسیلین در آزمایشگاه نسبت به سایر عوامل بتالاکتام از قبیل سفالوسپورین‌ها حساس ظاهر می‌شوند ولی این عوامل از نظر بالینی ناموثرند. در نتیجه تمامی استافیلوکوک‌های مقاوم به آگزاسیلین می‌بایست نسبت به تمامی عوامل بتالاکتام **(شامل سفالوسپورین‌ها، ترکیب بتالاکتام و ترکیبات مهارکننده بتالاکتاماز و کرباپنمازها)**، در صورتی که این عوامل آزمایش شوند، بدون در نظر گرفتن نتایج شرایط آزمایشگاهی بایستی مقاوم گزارش شوند. در عمل، بهتر است آزمایش انتشار از دیسک سفوکسیتین به آسانی انجام شده و حساسیت به سایر عوامل بتالاکتام بر اساس اینکه آیا یک ایزوله استافیلوکوکی به آگزاسیلین مقاوم یا حساس است، استنباط گردد.

Why are oxacillin and cefoxitin tested instead of methicillin

- First, methicillin is no longer commercially available in the United States.
- Second, oxacillin maintains its activity during storage better than methicillin
- Is more likely to detect hetero-resistant strains.

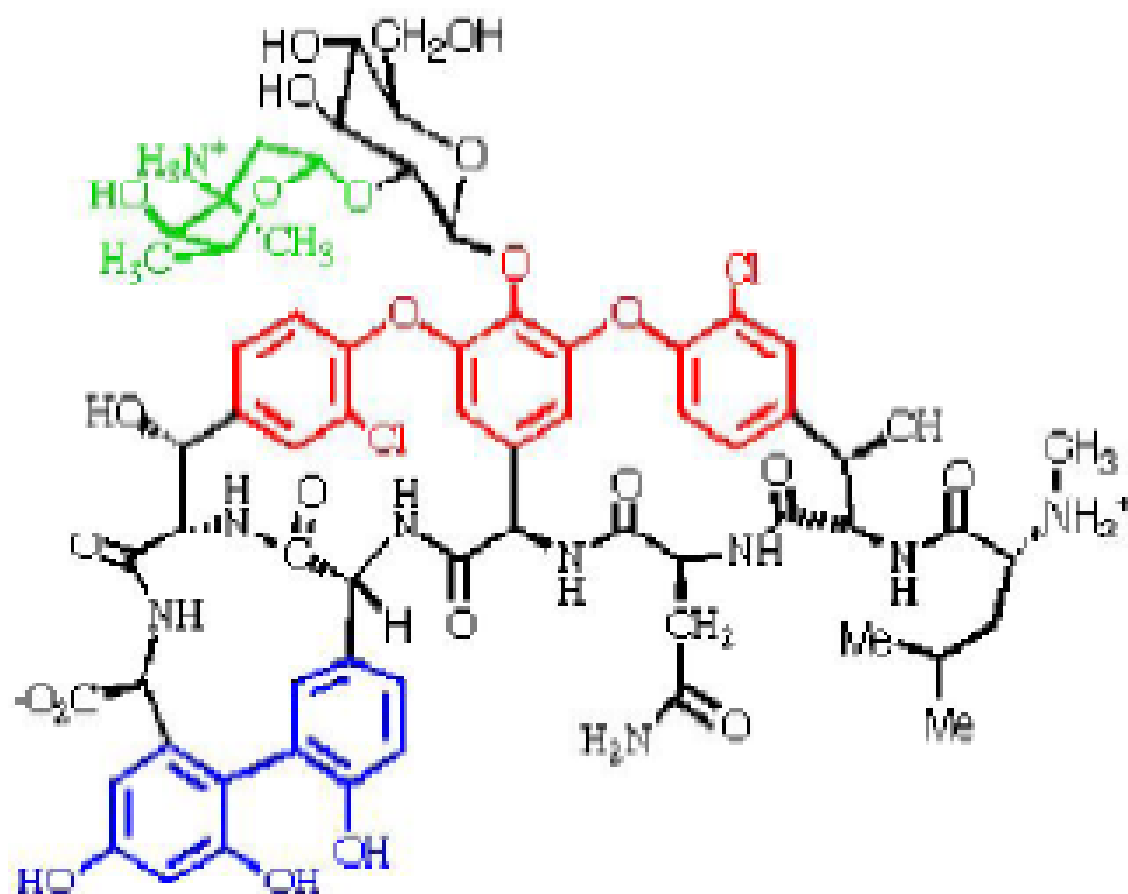
Antibiotic Resistance

The antibiotic of choice for treating nosocomial MRSA infections is the glycopeptide vancomycin. **Strains with reduced susceptibility to vancomycin** have emerged as a result of **multiple mutations in chromosomal genes that result in reorganization and thickening of the cell wall**

Vancomycin Resistant Enterococci

Vancomycin Resistance

- **Vancomycin** had been in clinical use for more than 30 years
 - **Teicoplanin** is another glycopeptide antibiotic it is not available in the United States but has been used in Europe



vancomycin

Originally obtained
from *Streptomyces*
orientalis

Active only against
G⁺ bacteria (large
molecule unable to
penetrate outer
membrane of G-
bacteria)

Used for treatment
of oxacillin resistant
G⁺ infections

Vancomycin Resistance

- Active against **methicillin-resistant** *staphylococci* and other gram-positive bacteria
- In 1988, Uttley et al. were the first to report the isolation of vancomycin-resistant *Enterococci* England

شناسایی مقاومت به ونکومايسين در انتروکوک

- پلیت غربالگری ونکومايسين آگار محتوی Brain –heart infusion agar (BHI) غنی شده با $6 \mu\text{g/mL}$ ونکومايسين می باشد که در غربالگری ایزوله های مقاوم به ونکومايسين بسیار مفید می باشد. از پلیت غربالگری ونکومايسين آگار یکسانی می توان به منظور تست کردن انتروکوک ها و استافیلوکوک اورئوس برای آزمایش مقاومت به ونکومايسين یا حساسیت کاهش یافته به آن استفاده نمود.

شناسایی مقاومت به ونکومایسین در انتروکوک

- مقاومت سطح پایین به ونکومایسین در گونه های انتروکوک متحرک از قبیل *Enterococcus gallinarum* و *Enterococcus casseliflavus*، ذاتی است و با انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین (VRE) واقعی برای اهداف کنترل عفونت متفاوت می باشد. علاوه بر این گونه های *Leuconostoc*، *Pediococcus* و *Lactobacillus spp* نیز مقاومت سطح بالای ذاتی به ونکومایسین را نشان می دهند؛ که این باکتری ها می بایست به دقت از لحاظ مورفولوژی از انتروکوک های مشابه افتراق داده شوند.

شناسایی مقاومت سطح بالا به آمینو گلیکوزید در انتروکوک ها (High-Level Aminoglycoside Resistance)

انتروکوک ها به طور ذاتی نسبت به غلظت پایین آمینوگلیکوزیدها مقاوم هستند، که استفاده آنها را به عنوان عامل منفرد برای درمان عفونت های انتروکوکی مستثنی می کند. این مقاومت سطح پایین بوسیله جذب ضعیف دارو توسط سلول های انتروکوک ایجاد می شود. برای ایزوله های با **مقاومت سطح پایین به آمینوگلیکوزیدها**، یک برهمکنش هم افزایی (سینرژیستی) زمانی روی می دهد که یک آمینوگلیکوزید همراه با یک عامل فعال بر علیه دیواره سلولی مانند آمپی سیلین، پنی سیلین یا ونکومایسین تجویز گردد.

شناسایی مقاومت سطح بالا به آمینو گلیکوزید در انتروکوک ها (High-Level Aminoglycoside Resistance)

با وجود این، بعضی اوقات، انتروکوک ها **یک مقاومت سطح بالا به آمینوگلیکوزیدها** را توسعه می دهند که در آن آمینوگلیکوزید حالت سینرژسم را با عوامل فعال بر علیه دیواره سلولی (**آمی سیلین، پنی سیلین یا ونکومايسين**) نشان نمی دهد. مقاومت سطح بالا به آمینوگلیکوزید در انتروکوک ها معمولاً در نتیجه غیرفعال شدن آنزیماتیک دارو ها می باشد

شناسایی مقاومت سطح بالا به آمینو گلیکوزید در انتروکوک ها (High-Level Aminoglycoside Resistance)

آنزیم هایی که جنتامایسین را تخریب می کنند، همچنین موجب تخریب **توبرامایسین، آمیکاسین و کانامایسین** نیز می شوند. در نتیجه هیچ یک از این عوامل در درمان عفونت های جدی ایجاد شده بوسیله انتروکوک با مقاومت بالا نسبت به جنتامایسین استفاده نمی شوند. با وجود این اگر ایزوله همزمان به استرپتومایسین مقاوم نباشد، استرپتومایسین می تواند مورد استفاده قرار بگیرد، اگر چه بعضی ایزوله ها واجد مقاومت سطح بالا به هر دو آنتی بیوتیک جنتامایسین و استرپتومایسین می باشند.

شناسایی مقاومت سطح بالا به آمینو گلیکوزید در انتروکوک ها (High-Level Aminoglycoside Resistance)

آزمایش انتشار از دیسک نیز توصیف شده است که
از دیسک های خاص محتوی غلظت بالایی از
جنتامایسین ($120\text{ }\mu\text{g}$) یا **استرپتومایسین ($300\text{ }\mu\text{g}$)**
استفاده می گردد.

