

Enterokoklarda Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci

Gönül Çiçek-Şentürk, İlknur Erdem, Saim Yüksel, Serpil Akın-Ertem, Paşa Göktaş

Özet: Enterokoklar diğer birçok bakteri türünde varolan virülans faktörlerine sahip olmamalarına rağmen, çevre şartlarına dayanıklı olmaları, çeşitli antibiyotiklere intrinsek dirençli olmaları ve yeni direnç geliştirme yeteneklerinden dolayı son on yılda hastane infeksiyonlarının ve süperinfeksiyonların önemli nedenleri arasında yer almaktadır. Son yıllarda enterokoklarda, antibiyotiklere karşı giderek artan oranda kazanılmış tipte direnç gelişimi gözlenmektedir. Bu bakterilerde özellikle yüksek düzey aminoglikozid direnci (YDAD) varlığı tedavide önemli bir sorun olmaktadır. Bu çalışmada hastanemizde yatarak tedavi gören hastaların klinik örneklerinden izole edilen 68 enterokok suşunda Brain Heart Infusion Agar (Oxoid) besiyerinde 2000 g/ml streptomisin ve 500 g/ml gentamisin içeren plaklar hazırlanarak standard agar dilüsyon tarama yöntemi ile YDAD, yüksek içerikli gentamisin diski kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) araştırılmıştır. Kontrol suşu olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 kullanılmıştır. Agar dilüsyon tarama yöntemi ile bakılan YDGD ve yüksek düzey streptomisin direnci (YDSD) sonuçlarına göre, 68 enterokok suşunun 24'ünde (%35.2) YDGD, 32'sinde (%48.2) YDSD tespit edildi. *E. faecalis* suşlarının 12 (%28.5)'sinde YDGD, 19 (%46.3)'unda YDSD; *E. faecium* suşlarının 10 (% 52.6)'unda YDGD, 10 (%52.6)'unda da YDSD saptanmıştır. Tüm suşların 21 (%30.2)'inde, *E. faecalis* suşlarının 10 (%24.4)'unda, *E. faecium* suşlarının 8 (%42.1)'inde hem YDGD hem de YDSD tespit edilmiştir. Dört *E. durans* suşunun birisinde YDGD ve YDSD birlikte bulunurken, diğerlerinde YDAD saptanmamıştır. İki *E. casseliflavus* suşunun birisinde de hem YDGD hem de YDSD birlikte tespit edilmiştir. *E. avium* suşunda YDAD tespit edilmemiştir. Aynı sonuçlar yüksek içerikli disk difüzyon yönteminde de saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Enterokok, aminoglikozid direnci, gentamisin, streptomisin.

Summary: High-level aminoglycoside resistance among enterococci. Enterococci have not many virulence factors as most of the other bacteria. They are able to grow and survive under harsh conditions. They have intrinsic resistance to various antibiotics and able to acquire new mechanisms of resistance. For these reasons, enterococci are an important cause of superinfections and nosocomial infections in recent years, and acquired type resistance to various antibiotics are being increased among enterococci. In the treatment of enterococcal infections, especially high-level aminoglycoside resistance (HLAR) is an important problem. In this study, 68 enterococcal strains isolated from clinical materials of hospitalized patients were included. HLAR was investigated by using standard agar dilution screen method, and high-level gentamicin resistance (HLGR) was investigated by using high content disk diffusion method. *E. faecalis* ATCC 29212 was used as a control strain. According to the agar dilution method, HLGR and high-level streptomycin resistance (HLSR) was detected in 24 (35.2%) and 32 (48.2%) of all enterococcal strains, respectively. In 21 (30.2%) of 68 enterococcal strains have both HLGR and HLSR. 12 (28.5%) *E. faecalis* strains have HLGR, 19 (46.3%) have HLSR. 10 (52.6%) *E. faecium* strains have HLGR, 10 (52.6%) have HLSR. Both HLGR and HLSR was detected in 10 (24.4%) of *E. faecalis* strains, in 8 (42.1%) of *E. faecium* strains, in one of 4 *E. durans* strains, in one of 2 *E. casseliflavus* strains. The same results were detected with the high content disk diffusion method.

Key Words: Enterococcus, aminoglycoside resistance, gentamicin, streptomycin.

Giriş

Enterokoklar son on yılda nozokomiyal bakteriyemi, cerrahi yara infeksiyonları ve üriner sistem infeksiyonlarında etken olarak daha fazla izole edildikleri için, giderek artan oranda önem kazanmışlardır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) verilerine göre, enterokoklar, nozokomiyal üriner sistem ve yara infeksiyonlarında ikinci, nozokomiyal bakteriyemilerde ise üçüncü sıklıkla izole edilmektedir. Yirmiye yakın türü olmasına rağmen, insanlarda en sık izole edilen türleri *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dur (1-6).

Enterokoklar, β-laktam antibiyotikler, aminoglikozidler (düşük düzeyde), linkozamidler, trimetoprim-sülfametoksazol

gibi bazı antibiyotiklere karşı intrinsek olarak dirençlidirler. Ayrıca plazmidleri ve transpozonları aracılığı ile tetrasiklinlere, makrolidlere, kloramfenikole, aminoglikozidlere (yüksek düzeyde) ve vankomisine direnç kazanabilirler. Nitekim 1970'li yılların başında streptomisine, 1979 yılında ise gentamisine yüksek düzeyde dirence sahip suşlar bildirilmiştir. 1983 yılında da enterokoklarda β-laktamaz yapımı tespit edilmiş ve 1988 yılında da vankomisine dirençli enterokok (VRE) suşları tanımlanmıştır (7-10).

Enterokok infeksiyonlarının tedavisinde yüksek düzey aminoglikozid direnci (YDAD)'nin olması ciddi sorunlara yol açabilmektedir. Bu nedenle bu tür infeksiyonların tedavisi planlanırken, YDAD'nin dikkate alınması ve bu direncin araştırılması gerekmektedir. Çalışmamızda, hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokoklarda YDAD araştırılmıştır.

Tablo 1. Disk Difüzyon Yöntemi ile Agar Dilüsyon Tarama Yönteminin Karşılaştırmalı Sonuçları

Suş	YDGD oranları			
	Agar Dilüsyon Tarama Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi	
	Sayı	(%)	Sayı	(%)
<i>E. faecalis</i> (n=42)	12	(28.5)	12	(28.5)
<i>E. faecium</i> (n=19)	10	(52.6)	10	(52.6)
<i>E. casseliflavus</i> (n=2)	1	(50.0)	1	(50.0)
<i>E. durans</i> (n=4)	1	(25.0)	1	(25.0)
<i>E. avium</i> (n=1)	-	-	-	-

Yöntemler

Bu çalışmaya, Haziran 2001-Mayıs 2002 tarihleri arasında, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen, yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 68 enterokok suşu alındı. Bakteriler türlerine göre ayrılarak, agar dilüsyon tarama yöntemi ile yüksek düzey aminoglikozid direnci araştırıldı. Ayrıca yüksek içerikli gentamisin diski (120 µg) kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) araştırılmıştır. Kontrol suşu olarak *E. faecalis* ATCC 29212 kullanılmıştır (11-13).

Laboratuvara gelen örneklere sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanmıştır:

1. Gelen örneklerin tümü önce %5 koyun kanlı agara ekildi. Koloni morfolojisi değerlendirildi. Küçük, gri, parlak, buğulu görünüme sahip olan koloniler değerlendirilmeye alındı.
2. %5 koyun kanlı agarda üreyen şüpheli kolonilere Gram boyaması yapıldı. Yapılan boyamada ikili oval diplokoklar ya da kısa zincirli Gram-pozitif koklar değerlendirilmeye alındı.
3. *Katalaz testi*: Enterokoklar, sitokrom enzimleri olmadığı için katalaz testinde negatif reaksiyon verirler. Bu amaçla lam üzerine bir miktar bakteri koyarak üzerine 1-2 damla %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatıldı. Hava kabarcıkları oluşturmayan suşlar negatif olarak değerlendirildi ve çalışmaya alındı.
4. *Tuz tolerans testi*: Enterokok suşları %6.5'lük NaCl içeren ortamda ürerler. Bu testi gerçekleştirmek için, 2-3 koloni bakteri %6.5 NaCl içeren beyin-kalp infüzyonu buyyonu içerisine ekildi. 35°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Buyyonda üreme sonucu bulanıklık oluşturan suşlar pozitif olarak değerlendirilip çalışmaya alındı. Bulanıklık oluşturmeyenler ise negatif kabul edilerek çalışma dışı bırakıldı.
5. *PYR testi*: Enterokokları ayırmaya yarayan testlerden biride PYR testidir. Bu amaçla Oxoid firmasından hazır olarak temin edilen PYR (L-pirolidonil-beta-naftilamid) testi kullanıldı. Test prospektüsüne uygun olarak yapıldı. PYR emdirilmiş filtre kağıdı üzerine 1-2 koloni bakteri konuldu, üzerine tampon solüsyonu damlatıldı. 5 dakika beklendi. Daha sonra üzerine

%0.015 p-dimetil-aminosinnamaldehyd içeren ayıraçtan 1-2 damla döküldü. PYR'nin hidrolizi ile oluşan beta-naftilamin ile ayırıcının reaksiyona girmesi sonucu, filtre kağıdı üzerinde pembe renk oluşturan suşlar pozitif olarak değerlendirildi. Pembe renk oluşturmayan suşlar ise negatif olarak değerlendirilerek çalışmaya alınmadı.

6. *45°C'de üreme*: Tüm suşlara %5 koyun kanlı agara pasaj yapılarak 45°C'ye ayarlanmış etüvde 48 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreyen suşlar çalışmaya alındı.

7. Buraya kadar yapılan testlerin sonucunda çalışmaya alınan suşlar *Enterococcus* spp. olarak adlandırıldı. Daha sonra API20 Strep (bioMérieux) kiti ile bakterilerin tür düzeyinde idantifikasyonu yapıldı.
8. Agar dilüsyon tarama yöntemi ile YDAD'yi araştırmak için beyin-kalp infüzyon agar (Oxoid) besiyerinde 2000 g/ml streptomisin ve 500 g/ml gentamisin içeren plaklar hazırlandı. Gentamisin sülfat tozu Bilim İlaç firmasından, streptomisin sülfat tozu İbrahim Ethem Ulagay ilaç firmasından temin edildi. Firmaların verdiği antibiyotik potensleri dikkate alınarak antibiyotik tozlarının ağırlığı hesaplandı. Tartılan antibiyotik tozlarından NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) standard alınarak distile su ile stok çözelti hazırlandı.

Hazırlanan agar plaklarına, 18-24 saatlik üreme sonrasında alınan kolonilerden hazırlanmış 0.5 McFarland standardındaki bakteri süspansiyonlarından 10'ar 1 damlatıldı. Sonuçlar 35°C'de normal atmosferde 24 saatlik inkübasyon sonrası değerlendirildi. Birden fazla koloni dirençli olarak kabul edildi. YDSD için plaklar bir 24 saatlik inkübasyona daha bırakıldı. Kontrol suşu olarak *E. faecalis* ATCC 29212 kullanıldı.

9. Disk difüzyon yöntemi için Mueller-Hinton agar (Oxoid) plakları hazırlandı. Plaklara, standard Kirby-Bauer disk difüzyon yönteminde olduğu gibi bakterilerin 0.5 McFarland ayarındaki süspansiyonundan yüzey ekimi yapıldı. 120 g gentamisin (Oxoid) içeren disk konuldu. 18-24 saat, 35°C'de inkübe edildi. 10 mm'den küçük zon çapı oluşturan kökenler yüksek düzey dirençli olarak kabul edildi (6,11-13).

Sonuçlar

İncelenen enterokokların 42'si *E. faecalis*, 19'u *E. faecium*, 4'ü *E. durans*, 2'si *E. casseliflavus*, 1'i de *E. avium* olarak tanımlanmıştır. Agar dilüsyon tarama yöntemi ile bakılan yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) ve yüksek düzey streptomisin direnci (YDSD) sonuçlarına göre, 68 enterokok suşunun 24'ünde (%35.2) YDGD, 32'sinde (%48.2) YDSD tespit edildi. Ayrıca yüksek içerikli gentamisin diski kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile YDGD araştırıldı. Disk difüzyon yöntemi ile agar dilüsyon tarama yöntemi karşılaştırıldı, sonuçlar Tablo 1'de yer almaktadır.

Tablo 2. *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarında YDGD ve YDSD oranları

	<i>E. faecalis</i>		<i>E. faecium</i>	
	(n=42)	(%)	(n=19)	(%)
YDGD	12	(28.5)	10	(52.6)
YDSD	19	(46.3)	10	(52.6)

YDAD araştırılan 42 *E. faecalis* suşunun 12'sinde YDGD, 19'unda YDSD; 19 *E. faecium* suşunun 10'unda YDGD, 10'unda da YDSD saptandı. Agar dilüsyon yöntemi ile *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarındaki YDGD ve YDSD oranları Tablo 2'de verilmiştir.

Tanımlanan 68 enterokok suşunun 21'inde (%30.2) hem YDGD hem de YDSD direnci saptandı. 42 *E. faecalis* suşunun 10'unda (%24.4), 19 *E. faecium* suşunun da 8'inde (%42.1) her iki direnç birlikte bulundu. Dört *E. durans* suşundan birisinde YDGD ve YDSD bir arada bulunurken, diğerlerinde YDAD tespit edilmedi. İki *E. casseliflavus* suşunun birisinde de hem YDGD hem de YDSD saptandı. *E. avium* suşunda YDAD saptanmadı.

İrdeleme

İlk tanımlandığında insan barsağının zararsız mikroorganizmaları olarak düşünülen ve uzun yıllar boyunca infeksiyon etkeni olarak nadiren karşımıza çıkan enterokoklar, son on yılda nozokomiyal bakteriyemi, üriner sistem infeksiyonu, yara infeksiyonlarında etken olarak daha sık izole edilmektedir. Günümüzde enterokoklar ABD verilerine göre nozokomiyal infeksiyon etkenleri arasında 2. sırada nozokomiyal bakteriyemide ise 3. sırada gösterilmektedir (3-5,14,15).

Enterokok infeksiyonlarındaki bu artışın yanı sıra, bu bakterilerde var olan çoklu antibiyotik direnci de önemli bir sorun

oluşturmaktadır. Klinik örneklerden izole edilen enterokokların in vitro direnç durumlarının saptanması, bu tür infeksiyonların tedavisinde, uygun antibiyotiğin seçilmesinde önem taşımaktadır.

YDAD direnci araştırdığımız 68 enterokok suşunun 24'ünde (%35.2) YDGD, 32'sinde (%48.2) YDSD, 21'inde (%30.8) hem YDGD hem de YDSD olduğu saptandı. Hem gentamisine hem streptomisine dirençli suşlarda, streptomisin ANT(3'') ve gentamisin AAC(6')-APH(2'') aminoglikozid modifiye edici (AME) enzimlerinin sentez edildiği düşünülebilir. YDGD olan, buna karşılık YDSD'si olmayan 3 suşa ise bu direnç tipinden sorumlu enzimler AAC(6')-APH(2'') ve APH(2'') olabilir. ANT(3'') ve ANT(6') enzimleri varlığında sadece YD SD ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda YDGD olmayan, ancak YDSD olan 11 enterokok suşu tespit edilmiştir. Her iki antibiyotiğe duyarlılığın saptandığı 21 enterokok suşunda AME sentezi yapılmadığı düşünülebilir. *E. faecium* suşlarının tamamında kromozomal kaynaklı bir asetiltransferaz [AAC(6'')] olmakla birlikte, bu enzim kanamisin, amikasin, netilmisin, sisomisin, isepamisin ve tobramisinini modifiye etmektedir. Ancak YDAD oluşturulamamakta, bu enzim için gentamisin ve streptomisin de substrat olmadığından, bu antibiyotiklere yüksek düzeyde direnç gelişmemektedir (10).

YDAD'nin prevalansı her geçen gün artmaktadır. Enterokoklarda YDAD'nin ülkelere ve yıllara göre dağılımı incelendiğinde, 1990 yılında ABD'den Yagupsky ve arkadaşları (16), YDGD'yi %27, YDSD'yi %32 olarak saptamışlar; 1997 yılında Hindistan'dan Bhat ve arkadaşları (17), YDGD'yi %10, YDSD'yi %12 oranında bildirmişlerdir. Aynı şekilde Chiew ve arkadaşları (18) tarafından 1992 yılında Japonya'da yapılan bir çalışmada YDGD %43, YDSD %38 olarak bildirilmiştir; Udo ve arkadaşları (19) tarafından 2002 yılında Kuveyt'te yapılan bir çalışmada enterokoklarda YDGD %15.9, YDSD %33 olarak bildirilmiştir. Ülkelere ve yıllara göre enterokoklarda YDAD sonuçları Tablo 3'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 3. Ülkelere ve Yıllara Göre Enterokoklarda YDAD

Araştırmacılar(Kaynak)	Ülke	Yıl	Sayı	YDGD (%)	YDSD (%)
Yagupsky <i>et al.</i> (16)	ABD	1990	62	(27)	(32)
Bryce <i>et al.</i> (20)	Kanada	1991	140	(12)	*
Nicostri <i>et al.</i> (21)	İtalya	1992	75	(28)	(57)
Chiew <i>et al.</i> (18)	Japonya	1992	250	(43)	(38)
Chiew <i>et al.</i> (22)	Singapur	1992	225	(22)	(38)
Töreci ve Öngen (23)	Türkiye	1993	100	(11)	(15)
Karabiber ve Karahan (24)	Türkiye	1995	100	(25)	(41)
Bhat <i>et al.</i> (17)	Hindistan	1997	421	(10)	(12)
Çınar <i>et al.</i> (25)	Türkiye	1999	111	(50.5)	(41.4)
Hsieh (26)	Tayvan	2000	96	(52)	(50)
Akalm (27)	Türkiye	2000	200	(32)	*
Miskeen ve Deodhar (28)	Yunanistan	2002	147	(36.9)	(33)
Udo <i>et al.</i> (19)	Kuveyt	2002	195	(15.9)	(21)
Erbek <i>et al.</i> (29)	Türkiye	2002	264	(9)	(12.5)
Çaylan <i>et al.</i> (30)	Türkiye	2002	95	(52)	(41)
Bu çalışma	Türkiye	2002	68	(35.2)	(48.2)

*Çalışılmamış

Tablo 4. *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarında YDAD

Araştırmacılar (Kaynak)	<i>E. faecalis</i>		<i>E. faecium</i>	
	YDGD (%)	YDSD (%)	YDGD (%)	YDSD (%)
Bhat <i>et al.</i> (17)	8.2	8.7	33	42
Papaparaskevos <i>et al.</i> (31)	22	40	0	33
Barisic <i>et al.</i> (32)	37	52	76.2	76.2
Akgül <i>et al.</i> (33)	62	20	63	0
Kuzucu <i>et al.</i> (34)	8.3	*	63	*
Bu çalışma	28.5	46.3	52.6	52.6

*Çalışılmamış

2000 yılında Akalın (27), hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarından izole edilen 200 enterokok suşunda YDGD'yi %32 oranında saptamıştır. Bizim çalışmamızda ise YDGD %35 oranında saptanmıştır. Farklı çalışmalarda saptanan enterokoklardaki YDAD sonuçları Tablo 4'te verilmiştir.

YDAD *E. faecium* suşlarında daha fazla görülmektedir. Fakat bazı çalışmalarda *E. faecium* türlerinde YDGD veya YDSD saptanmamıştır. YDSD saptanmayan *E. faecium* suşlarında streptomisin ANT(3'') ve ANT(6') AME enzimlerinin olmaması; YDGD saptanmayan *E. faecium* suşlarında ise gentamisin AAC(6')-APH(2'') bifonksiyonel enziminin ve APH(2'') enziminin olmayışı ile açıklanabilir.

YDAD'ye hastanede yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen enterokoklarda daha fazla oranda rastlanmaktadır. Çünkü hastanede yatan hastalarda bir veya daha fazla antibiyotik kombine edilmekte, bu da enterokokların yatan hastaların gastrointestinal sisteminde kolonize olmalarına yol açabilmektedir (16). Barisic ve arkadaşları (32)'nin yaptıkları bir çalışmada, hastanede yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen enterokoklarda YDGD %37 olarak hesaplanırken, ayakta takip edilen hastaların klinik örneklerinden izole edilen enterokoklarda ise bu oran %11 olarak saptanmıştır. Ülkemizde Özkuyumcu ve arkadaşları (35), 372 yatan hastanın 264'ünün rektal sürüntü örneklerinde enterokok kolonizasyonu saptamışlar, %11 oranında da YDAD tespit etmişlerdir. Çınar ve arkadaşları (25) da hastane infeksiyon etkeni olarak izole edilen enterokoklarda gentamisin direncini %50.5, streptomisin direncini %41.4 oranında tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da hastanemizde yatarak tedavi gören hastaların klinik örneklerinden izole edilen enterokok suşlarında YDGD %35.2, YDSD %48.2 oranlarında tespit edilmiştir.

Çalışmamızda tüm suşlarda YDGD yüksek içerikli disk difüzyon yöntemi ile de araştırıldı. Yüksek içerikli disk difüzyon yöntemi standard agar tarama yöntemi ile %100 uyumlu idi. Kuzucu ve arkadaşları (34)'nin 138 enterokok suşunda YDAD saptamak için yüksek içerikli disk difüzyon yöntemi ile buyyonda mikrodilüsyon tarama yöntemi kullandıkları bir çalışmada, her iki yöntem arasında %100 uyumluluk saptanmıştır. Chiew ve arkadaşları (22), yüksek içerikli disk difüzyon, agar dilüsyon tarama ve buyyonda mikrodilüsyon tarama yöntemlerinin üçünü kullanarak enterokoklarda YDAD araştırmışlar, sonuçta agar dilüsyon tarama yöntemi ile yüksek içerikli disk difüzyon yöntemi arasında %100 bir uyumluluk tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak enterokoklar ile oluşan nozokomiyal infeksiyonların sıklığı giderek artmakta ve bu bakteriler aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı giderek artan oranda direnç geliştirmektedirler. Ciddi enterokok infeksiyonlarında antibiyotik tedavisinin başarısı, hücre duvarını etkileyen bir antibiyotik ile aminoglikozid kombinasyonunun sinerjistik bakterisid etkisine bağlıdır. Enterokok infeksiyonlarının tedavisinde YDAD'nin olması ciddi sorunlara yol açabilmektedir. Bu nedenle bu tür

infeksiyonların tedavisi planlanırken, YDAD'nin dikkate alınması ve bu direncin araştırılması gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Murray BE. The life and times of the enterococcus. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3: 46-65
2. Chenoweth C, Schaberg D. The epidemiology of enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9: 80-9
3. Zervos MJ, Lewis CM. Clinical manifestations of enterococcal infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9: 111-7
4. Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am J Med* 1991; 91: 72-5
5. Moellering RC. Enterococcus species, Streptococcus bovis, and Leuconostoc species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Vol 2. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000: 2147-56
6. Lefort A, Mainandi JL, Tod M, Lortholy O. Antierococcal antibiotics. *Med Clin North Am* 2000; 6: 1471-95
7. Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin resistant enterococci. *Lancet* 1988; 1: 57-8
8. Derbentli Ş. Nozokomiyal enterokok infeksiyonları. *Galenos* 1998; 23: 14-7
9. Facklam RR, Teixeria LM. Enterococcus. In: Collier L, Balows A, Sussman M, eds. *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. Vol 2 (Systematic Bacteriology). 9th ed. London: Edward Arnold, 1998: 669-82
10. Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. Üçüncü baskı, İzmir: Barış Yayınları, 2002: 495-523
11. Patterson JE, Zervos MJ. High-level gentamicin resistance in enterococcus: microbiology, genetic basis and epidemiology. *Rev Infect Dis* 1990; 12: 644-52
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods For Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests For Bacteria That Grow Aerobically*. Fourth ed. NCCLS Document M7-A4. Wayne, Pa: NCCLS, 1997
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing; Informational Supplement*. Document M100-S11. Wayne, Pa: NCCLS, 2001
14. Bouza E, Son Juan R, Voss A, Kluytmans J, on behalf of the Co-operative Group of the European Study Group on Nosocomial Infections (ESGNI). A European perspective on nosocomial urinary tract infections. 1. report on the microbiology workload, etiology and antimicrobial susceptibility (ESGNI-003 study) *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 523-31
15. Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 586-9
16. Kuzucu Ç, Uncu H, Berkem R, Acar N. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılmasında kullanılan tarama yöntemlerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bül* 2000; 34: 239-43

17. Yagupsky P, Petry S, Menegus MA. Comparison of four methods for testing high level aminoglycoside resistance in enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9: 133-5.
18. Bryce EA, Zemcov SJV, Clarke AM. Species identification and antibiotic resistance patterns of the enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991; 10: 745-7
19. Nicostrì E, Tarasi A, Visco Camandini U, Gelfusa U, Di Rosa R, Di Rosa E, Venditti N, Serra P. High-level aminoglycoside resistance among enterococci: evaluation of an agar screen susceptibility test. *J Chemother* 1992; 4: 9-11
20. Chiew YF, Tosaka M, Yamane N. Prevalence of enterococcal high-level aminoglycoside resistance in Japan. Comparative detection by three methods. *Diag Microbiol Infect Dis* 1993; 16: 145-8
21. Chiew YF, Lim SW, Kuah BG, Liew HY. Prevalence in Singapore of enterococci with high level aminoglycoside and comparison of three methods for their detection. *J Infect* 1993; 27: 125-31
22. Töreci K, Öngen B. İdrardan izole edilen enterokoklarda antibiyotik direnci: beta laktamlara ve aminoglikozidlere yüksek düzeyde direnç. *Ankem Derg* 1993; 7: 217-23
23. Karabiber N, Karahan M. Çeşitli örneklerden izole edilen enterokoklarda yüksek düzey streptomisin ve gentamisin direnci. *Ankem Derg* 1995; 9: 1-7
24. Bhat KG, Chitra P, Bhat MG. High-level aminoglycoside resistance in enterococci isolated from hospitalized patients. *Indian J Med* 1997; 105: 198-9
25. Hsieh SR. Antimicrobial susceptibility and species identification for clinical isolates of enterococci. *J Microbiol Immunol Infect* 2000; 33: 253-7
26. Akalın NA. *Enterokoklarda Antibiyotik Direnci ve Antibiyotik Dışı İlaçların Bu Dirence Etkisi*. Doktora Tezi. İstanbul: Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2000
27. Miskeen PA, Deodhar L. Antimicrobial susceptibility pattern of enterococcus species from urinary tract infections. *J Assoc Physicians India* 2002; 50: 378-81
28. Udo EE, Al-Sweih N, John P, Chugh TD. Antibiotic resistance of enterococci isolated at a teaching hospital in Kuwait. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43: 233-8
29. Erbek S, Özakın C, Gedikoğlu S. Enterokok suşlarında saptanan yüksek düzeyli aminoglikozid ve glikopeptid direnci. *Hastane İnfeksi Derg* 2002; 6: 142-9
30. Papaparaskevos J, Vatopovlos A, Tassios PT, Avlami A, Legokis NJ, Kalapothaki V. Diversity among high level aminoglycoside resistance enterococci. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 277-83
31. Barisic Z, Punda-Polic V. Antibiotic resistance among enterococcal strains isolated from clinical specimens. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 16: 65-8
32. Akgül SG, Sümerkan B. Enterokok türlerinde vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılması. *İnfeksi Derg* 1999; 13: 67-70
33. Çaylan M, Üstünakın M, Kadımov V, Aydın K, Köksal İ. Klinik örneklerden izole edilen enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması [Özet]. *Ankem Derg* 2002; 16: 105
34. Özkuyumcu C, Köseoğlu Ö, Günalp A. Hastanede yatan hastalarda vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılması. *Mikrobiyol Bül* 1998; 32: 185-94
35. Çınar T, Leblebicioğlu H, Sünbül M, Eroğlu C, Esen Ş, Günaydın M. Enterokoklarda yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direncinin araştırılması. *Flora* 1999; 2: 114-9