أنتقال الجينات المشفرة لمقاومة المضاد الحياتي الفانكومايسين بين عزلات بكتريا *Enterococcus* spp. داخل وخارج الجسم الحي

محمد فرج المرجاني[1] و مها مخلف كاظم[2] و كفاح احمد جاسم [3]
[2,1]قسم علوم الحياة /كلية العلوم – الجامعة المستنصرية / بغداد- العراق
[3]مختبر الصحه العامة المركزي / بغداد – العراق
تاريخ تقديم البحث 2014/5/5 - تاريخ قبول البحث 2014/6/22

ABSTRACT

Total of (33) *Enterococcus* isolates were taken from hospitalized patients. The highest number of *Enterococcus* isolates wers isolated from Urine (30 isolates) followed by blood (3 isolates), 20 isolates belong to *E. faecalis* and 10 isolates belong to *E. faecium* .

The Antimicrobials susceptibility test by using the discs method, it has been found that there is a clear variation in the resistance of isolates were studied for the used antibiotics , as it was found that the *E. faecalis* isolates were highly sensitive to Ampicillin and Imipenem, all isolates were resistant to Oxacillin. The Vancomycin susceptibility test for all isolates was done and results showed that (25)% of *E. faecalis* isolates and (40)% of *E. faecium* isolates were resistant to this antibiotic. Minimum Inhibitory concentrations(MICs) for vancomycin were determined, vancomycin resistant *E. faecium* isolates had MICs between (4-64) µg/ml, while vancomycin resistant *E. faecalis* isolates had MICs (4 -512) µg/ml. The detection of plasmid DNA in Vancomycin – Resistant Enterococcus (VRE) isolates by gel electrophoresis showed that some of these isolates had plasmid bands with different sizes. The bacterial conjugation experiments among *Enterococcus* isolates had gained success in transfer of vancomycin resistance among the isolates by *in vitro* and *in vivo* conjugation.

The detection of *van* genes by Polymerase Chain Reaction showed that all isolates with MICs ≥ (64) µg/ml have *vanA* genotype, while Two isolates with MIC (32) µg/ml have *vanB* genotype .

Keywords: Vancomycin –resistant *Enterococcus* ,PCR

الخلاصة

حصلنا على (33) عزلة تعود لجنس *Enterococcus* من الراقدين بالمستشفيات بواقع (30) عزلة من عينات الإدرار و (3) عزلات من عينات الدم، أما على مستوى النوع فقد شخصت (20) عزلة تعود للنوع *E. faecalis* و(10) عزلات تعود للنوع *E. faecium* .

أظهرت نتائج فحص الحساسية للمضادات المايكروبية فعالية كل من مضادي Imipenem و Ampicillin تجاه عزلات بكتريا *E. faecalis*، أما بكتريا *E. faecium* فقد أظهرت عزلاتها حساسية عالية تجاه مضاد Imipenem. فضلا عن ذلك فقد أظهرت العزلات جميعها مقاومة لمضاد Oxacillin. من جهه اخرى كانت (25)% من عزلات بكتريا *E. faecalis* مقاومة للفانكومايسين ، بينما بلغت نسبة المقاومة لهذا المضاد (40)% بين عزلات بكتريا *E. faecium* . حدد التراكيز المثبط الدنيا (MICs) للفانكومايسين بين العزلات المقاومة لهذا المضاد بطريقة التخفيف بالوسط السائل، أذ تراوحت قيم MIC لعزلات بكتريا *E. faecalis* بين (4-512) مايكروغرام\مل، أما بالنسبة لبكتريا *E.faecium* فتراوحت قيم MIC لعزلاتهـــا بين (4-64) مايكروغـرام\مـــل. بيّنت نتائج التحري عن الدنا البلازميدي بالترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز لعدد من عزلات بكتريا المكورات المعوية المقاومة للفانكومايسين ((Vancomycin –resistant *Enterococcus* (VRE)) إحتواء بعض هذه العزلات على حزم بلازميدية مختلفة الأحجام.

أجريت عمليات الإقتران البكتيري خارج الجسم الحي (*In vitro*) وداخل الجسم الحي (*In vivo*)، وأظهرت النتائج نجاح عمليات الإقتران، إذ لوحظ إنتقال صفة مقاومة الفانكومايسين بين الخلايا قيد الدراسة الامر الذي قد يعزى الى إحتمالية كون جينات هذه الصفة محمولة على بلازميدات إقترانية تُسهل إنتقالها عبر الإنتقال الأفقي من خلية لأخرى ضمن النوع نفسه أو الأنواع الأخرى.

بيّنت نتائج التحري عن الجينات المشفرة لمقاومة للفانكومايسين بين النوعين *E. faecalis* و *E. faecium* أن الجين *vanA* هو الأكثر إنتشارا بين العزلات المحلية بالمقارنة مع الجين *vanB* إذ إحتوت العزلات

جميعها التابعة لكلا النوعين وذات MIC ≤(64) مايكروغرام\مل على جين*vanA* عدا عزلتين كانت إحداهما تعود لبكتريا *E. faecalis* والأخرى تعود لبكتريا *E. faecium* اللتان لهما MIC(32) مايكروغرام \مل إحتوت كل منهما على جين *vanB* .

المقدمة

يُعد جنس *Enterococcus spp.* من الأجناس البكتيرية المتعايشة (Commensal) في القناة المعدية المعوية للإنسان والحيوان، إزداد الإهتمام بها بعد سنة 1970 عندما لوحظ أنها أصبحت من الأسباب الرئيسة للإصابات المكتسبة عن طريق المستشفيات (Nosocomial Infections) بنسب إمراضية ووفيات عالية [1].

تمثل هذه البكتريا أحدى المسببات الرئيسة لإلتهابات المجاري البولية و إصابات إلتهاب شغاف القلب (Endocarditis) إذ وجد أن لها قابلية الإلتصاق بصمامات القلب السليمة والمدمرة ، فضلا عن تجرثم الدم (Bacteremia) [2 و3] . و قد تزامنت الإصابات المرتفعة مع الإنتشار الواسع لإستعمال المضادات المايكروبية التي تكون هذه البكتريا مقاومة لها لاسيما بالنسبة للسلالات المقاومة للفانكومايسين (VRE)، ولم تقتصر على البالغين فقط ، وإنما سجلت إصابات بين الأطفال حديثي الولادة خاصة بمرض السحايا [4]. عزلت أول سلالة مقاومة للفانكومايسين(VRE) في المملكة المتحدة سنة 1980، وبدأت تزداد نسبة الإصابة والإستعمار(Colonization) بهذه البكتريا بشكل ثابت ، إذ يعد إستعمار القناة المعوية للإنسان والحيوان على حد سواء من أهم العوامل التي تزيد من نسبة الإصابة بها ما يجعلها مستودعاً لها و بالتالي يصبح الكائن الحامل لها مضيفاً دائماً والذي يعد الخطوة الأولى نحو الإصابة بهذه البكتريا [5].

سُجل أول ظهور لبكتريا VRE في الولايات المتحدة سنة 1988، بعدها ظهرت حالات عديدة في أنحاء مختلفة من العالم شملت أوروبا وأمريكا اللاتينية، وتكمن خطورة الإصابة بهذه السلالات في قابليتها على نقل مقاومة الفانكومايسين الى أجناس أخرى مثل بكتريا *Staphylococcus aureus*، إذ ظهرت أول حالة إنتقال لمقاومة الفانكومايسين من بكتريا VRE إلى بكتريا Methicillin-Resistant *S. aureus*(MRSA) في الولايات المتحدة سنة 2003 [6 و 7] ، كما يعد إنتقال جين مقاومة الفانكومايسين *vanA* بمستويات عالية من بكتريا *E. faecalis* إلى بكتريا *S. aureus* بوساطة الترانزبوزون الإقتراني *Tn1546* من المخاطر الصحية التي تواجه الأطباء والباحثين نتيجة الإنتشار السريع لهذه المقاومة بين المكورات المعوية وقابليتها على نشر جينات المقاومة من خلال الإنتقال الأفقي المتمثل بالإقتران سواء من خلال الجينات القافزة أو البلازميدات الإقترانية [8] .

تمثل القناة المعوية للبائن بيئة مهمة لإنتقال الجينات ضمن النوع الواحد وبين الأنواع والأجناس المختلفة كونها تعد موطنا تجتمع فيه أنواع بكتيرية متنوعة تمثل النبيت الطبيعي للأمعاء بما فيها المكورات المعوية مما يجعلها مصدرا لنشر جينات المقاومة من خلال إكتسابها بالإقتران الذي يحصل داخل الأمعاء[9] .

تعد بكتريا *Enterococcus* المقاومة للفانكومايسين مشكلة صحية على المستوى العالمي، **تهدف هذه الدراسة** الى دراسة أنتشار هذه البكتريا المقاومة للفانكومايسين في المستشفيات المحلية ودراسة محتواها الوراثي ومدى انتقال هذه المقاومة بين عزلات البكتريا داخل وخارج الجسم الحي.

المواد وطرائق العمل

- **العزلات البكتيريه**

جُمعت (268) عينة سريرية، توزعت بين (151) عينة إدرار و(101) عينة دم و(16) عينة سائل النخاع الشوكي ، من مستشفيات مختلفة في مدينة بغداد لغرض عزل بكتريا *Enterococcus*. زرعت العينات على وسط اكار الدم ثم نقلت الى الأوساط الأنتقائية بعدها شخصت العزلات اعتماداً على الصفات المجهرية والزرعية على وسط المانيتول الملحي ووسطي أكار EJ وأكار Bile esculine وأجري عدد من الفحوصات الكيموحيوية حسب ما جاء في [10]. بعدها اعتمد التشخيص بإستعمال تقنية PCR باستعمال البوادئ النوعية المكملة ضمن جينات *sod A* وفقا لما ذكر في [11] الخاص بتشخيص النوع *E. faecalis* هو

F -3- 5- ACTTATGTGACTAACTTAACC و

R-3- 5 TAATGGTGAATCTTGGTTTGG

وتسلسل البادئ الخاص بتشخيص النوع *E. faecium* هو

F 5 GAAAAAACAATAGAAGAATTAT-3 ، و

R 3 TGCTTTTTTGAATTCTTCTTTA -5

- **فحص الحساسية للمضادات المايكروبية**

أختبرت حساسية العزلات تجاه (11) مضاداً مايكروبيا مختلفاً بإستعمال طريقة الأقراص على وسط مولر هنتون الصلب، وحددت المقاومة والحساسية أعتماداً على الاقطار القياسية حسب CLSI [12]، والمضادات المستعملة هي: (E)Erythromycin, (V) Vancomycin (RA)Rifampicin, (TE)Tetracycline, (S)Streptomycin,(OFX)Ofloxacin. (AM)Ampicillin, (OX)Oxacillin, (AZL)Azlocillin, (IMP)Imipeneme, (FEP)Cefepime,

- **تحديد التركيز المثبط الادنى (MIC) لمضاد الفانكومايسين**

حدد التركيز المثبط الادنى (MIC) لمضاد الفانكومايسين بطريقة التخافيف المتضاعفه المتسلسله بالوسط الزرعي السائل، أعتمدت نقطة التوقف حسب CLSI [12].

- **عزل DNA البكتيري**

عزل الدنا البلازميدي والكروموسومي من عزلات البكتريا المقاومة لمضاد الفانكومايسين باعتماد عدة أستخلاص الدنا المجهزة من شركة promega (USA) من العزلات البكتيرية المشخصة ورحلت نتائج الاستخلاص باستعمال هلام الاكاروز .

- **الاقتران البكتيري خارج الجسم الحي (*in vitro*)**

أجري الإقتران البكتيري على ورقة الترشيح وحسب ماجاء في [13] أذ إنتخبت العزلات البكتيرية *E. faecalis* وبكتريا *E. faecium* المقاومة للفانكومايسين بوصفها عزلات مانحة (Donor) في حين أعتمدت السلاله القياسية *E. faecalis* JH2-2 بوصفها عزلة مستلمة (Recipient) تم الحصول عليها من الكلية الملكية في المملكه المتحده .

- **الاقتران البكتيري داخل الجسم الحي (*in vivo*)**

أجري الإقتران البكتيري داخل الجسم الحي حسب ماجاء في [9 و 14]، أُستعملت في هذه التجربة أربعة فئران (Germ – free female mice) وضعت في أقفاص معقمة وبظروف تغذية معقمة. كما إنتخبت عزلتان بكتيريتان تعودان للنوعين *E. faecalis* و*E. faecium* كعزلات مانحة (مقاومة للفانكومايسين) والسلاله *E. faecalis* JH2-2 بوصفها عزلة مستلمة. جُرِّعت الفئران بواقع (0.2) مل من العالق البكتيري للخلايا المستلمة عن طريق الفم وتُركت لمدة ثلاثة أيام ،جُرعت بعدها كل فأرة بـ (0.2) مل من عالق الخلايا البكتيرية المانحة ، وذلك بعد مرور (3) أيام من التجريع الأول، قتلت الفئران بعد (3) ايام وجمعت محتويات

القولون لكل فأرة في أنابيب منفصلة تحتوي كل منها على (5) مل من المحلول الفسلجي، أجريت بعدها تخافيف عشرية من عالق محتويات القولون ونُشر كل منها على الأطباق الحاوية على الوسط الإنتقائي بعدها حُضنت بدرجة (37)°م لمدة (24) ساعة لتحديد أعداد الخلايا الإقترانية .

- **الكشف عن** جينات *vanA* و *vanB* **في عزلات بكتريا** ***Enterococcus spp.***

أختيرت البوادئ النوعية المُستهدفة لجينات *vanA* و*vanB* (جدول 1) في بكتـــــريا *E. faecalis* و *E. faecium* وفقاً لما ذكر في [15 و 16].

جدول 1 : البوادئ المستعملة للكشف عن جينات *vanA* و*vanB* بين عزلات الدراسة.

ت	البادئ	تتابع البادئ 5`——3`	عدد القواعد bp	حجم الناتج bp	المصدر
1	*vanA*-F	GGGAAAACGACAATTGC	17	732	15
	R	GTACAATGCGGCCGTTA	17		
2	*vanB*-F	AAGCTATGCAAGAAGCCATG	20	536	16
	R	CCGACAATCAAATCATCCTC	20		

النتائج والمناقشة

تم الحصول على (33) عزلة تعود لجنس *Enterococcus spp.* بواقع (30) عزلة من عينات الإدرار و(3) عزلات من عينات الدم ، فيما لم نحصل على أي عزلة من عينات سائل النخاع الشوكي . أما على مستوى النوع فقد تم تشخيص (20) عزلة تعود للنوع *E. faecalis*، شملت (17) عزلة من عينات الإدرار بنسبة عزل (11.25)% و(3) عزلات من عينات الدم بنسبة عزل (2.97)%، في حين شُخصت (10) عزلات تعود للنوع *E. faecium* بنسبة عزل (6.62)% و قد عزلت جميعها من عينات الإدرار (جدول 2).

جدول 2: أعداد ونسب عزلات انواع بكتريا *Enterococcus spp.* قيد الدراسة

نوع العينات	عدد العينات	عدد عزلات بكتريا *Enterococcus spp*	نسب عزلها%	عدد ونسبة عزلات *E.faecalis*			عدد ونسبة عزلات *E.faecium*		
				عدد	نوعي*	اجمالي**	عدد	نوعي*	اجمالي**
Urine	151	30	19.86	17	56.66	11.25	10	33.33	6.62
Blood	101	3	2.97	3	100	2.97	-	-	-
CSF	16	-	-	-	-	-	-	-	-
المجموع	268	33		20			10	-	-

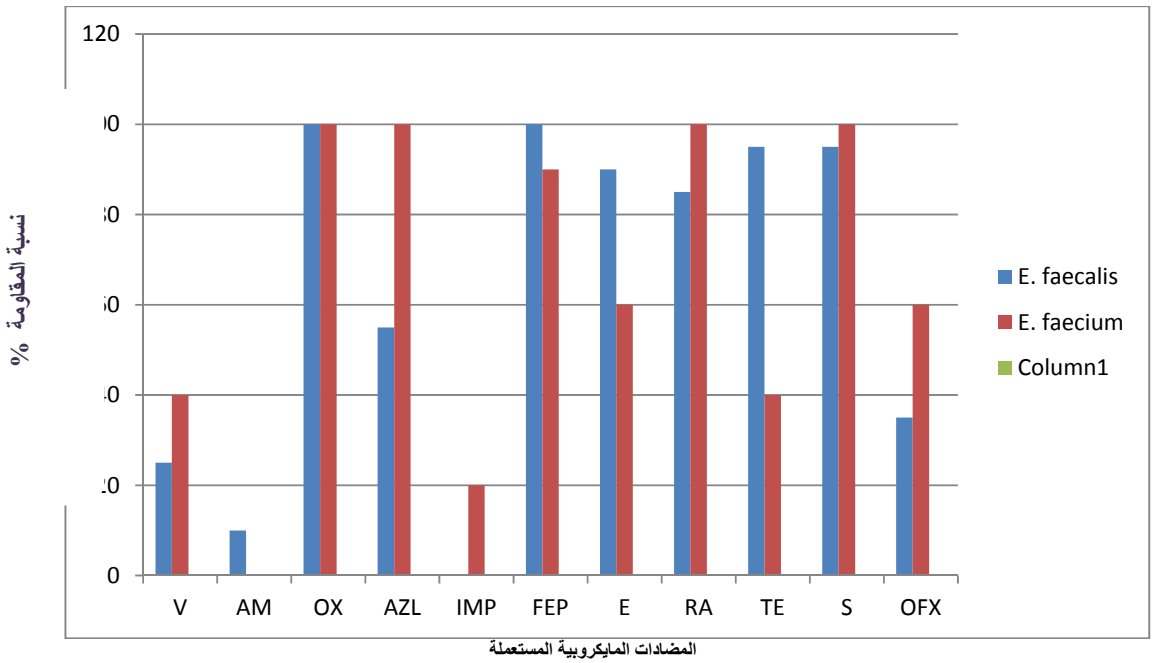
*النوعي من مجموع العزلات لكل عينة (ادرار ، دم ، CSF) . **الإجمالي من مجموع العينات.

لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل إليه [17] الذي بين أن نسب العــزل الإجمـــالي لبكتريا *E. faecalis* من عينات الإدرار كانت (6.94)% ، عزلت (27) عزلة تعود للنوع *E. faecalis* مقابل (3) عزلات تعود للنوع *E. faecium* ، بينما اتفقت نتائجنا مع ماتوصل إليه [18] الذي بيّن أن نسب عزل بكتريا *E. faecium* من الإدرار (6.21)%.

تُعد المستشفيات ووحدات العناية المركزة من أهم مصادر أنتقال هذه البكتريا سواء للمرضى الراقدين فيها لتلقي العلاج لفترات طويلة والأصحاء، وأن أكثر الأصحاء عرضة للإستعمار من قبل هذه البكتريا هم العاملين في مجال الرعاية الصحية، ما يجعلهم مضائف من الممكن أن تنتقل هذه البكتريا عن طريق أيديهم الملوثة إلى المرضى والمرافقين لهم ، وبالتالي تتضاعف مخاطر الإصابة [19] ، قد يعود سبب الإختلاف في نسبة العزل بين الدراسات إلى: طبيعة العينات ، ونوع الدراسة ، وحجم العينة ، والموقع الجغرافي الذي أخذت منه العينات .

أظهرت نتائج فحص الحساسية للمضادات المايكروبية (شكل 1) فعالية كل من مضادي Imipenem وAmpicillin تجاه عزلات بكتريا *E. faecalis*، في حين كانت عزلات هذه البكتريا مقاومة بنسبة (100)% لمضادي Oxacillin و Cefepime، أما بالنسبة لبكتريا *E.faecium* فقد أظهرت عزلاتها حساسية عالية تجاه Imipenem و كانت عزلاتها أكثر حساسية تجاه Ampicillin ، فضلا عن أن جميع العزلات كانت مقاومة لمضاد Oxacillin.

من جانب اخر كانت (25)% من عزلات بكتريا *E. faecalis* مقاومة للفانكومايسين، بينما بلغت نسبة المقاومة لهذا المضاد (40)% بين عزلات بكتريا *E. faecium* . حددت التراكيز المثبطة الدنيا (MICs) للفانكومايسين بين العزلات المقاومة لهذا المضاد بطريقة التخفيف بالوسط السائل، تراوحت قيم MIC لعزلات بكتريا *E. faecalis* بين (4-512) مايكروغرام\مل، أما بالنسبة لبكتريا *E. faecium* فتراوحت قيم MIC لعزلاتهـــا بين (4-64) مايكروغـرام\مـــل. وجد [17] من خلال دراسة أجراها على (27) عزلة من بكتريا *E. faecalis* معزولة من إلتهابات المجاري البولية أن هذه العزلات جميعها حساسة وبنسبة (100)% للفانكومايسين، ووجدت (18) أن (18) % من عزلات *E. faecium* المعزولة من إدرار وبراز أشخاص أصحاء كانت مقاومة للفانكومايسين. وجد [20] أن نسبة حساسية عزلات بكتريا *E. faecalis* و*E. faecium* المعزولة من بعض مستشفيات الهند للفانكومايسين بلغت (97.9)% و (97.8)% على التوالي ، وبلغت نسبة المقاومة (58)% بين عزلات بكتريا *E. faecium* المعزولة من المرضى خلال دراسة أجراها [21] في حين أن نسبة مقاومة عزلات بكتريا *E. faecium* المعزولة من الدواجن في الدراسة نفسها كانت (40)%.

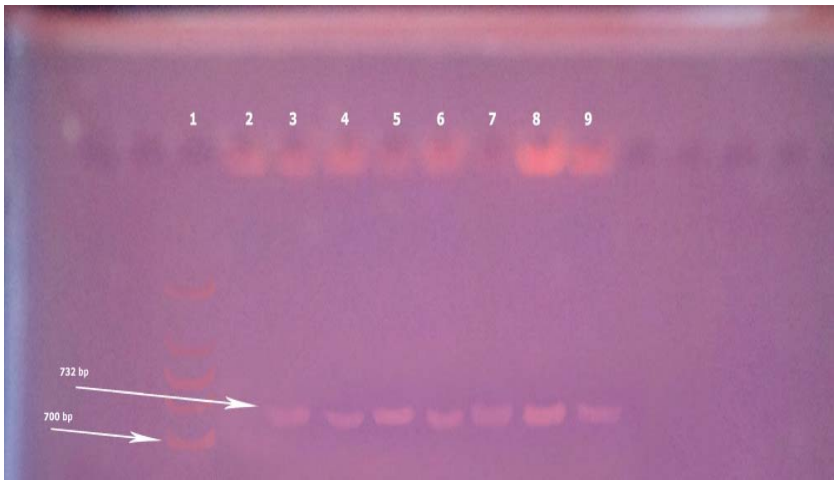


(E)Erythromycin, (RA)Rifampicin, (TE)Tetracycline, (S)Streptomycin,(OFX)Ofloxacin. (AM)Ampicillin, (V) Vancomycin (OX)Oxacillin, (AZL)Azlocillin, (IMP)Imipeneme, (FEP)Cefepime,

شكل 1 : حساسية عزلات بكتريا *Enterococcus* للمضادات المايكروبية.

بيَنت نتائج التحري عن الدنا البلازميدي بالترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز لعدد من عزلات بكتريا المكورات المعوية المقاومة للفانكومايسين إحتواء بعض هذه العزلات على حزم بلازميدية مختلفة الأحجام. أجريت بعدها عمليات الإقتران البكتيري خارج الجسم الحي (*In vitro*) وداخل الجسم الحي (*In vivo*)، أظهرت النتائج نجاح عمليات الإقتران، إذ لوحظ إنتقال مقاومة الفانكومايسين بين الخلايا ما يدل على إحتمال كون الجينات المشفرة لهذه الصفة محمولة على بلازميدات إقترانية تُسهل إنتقالها عبر الإنتقال الأفقي من خلية لأخرى ضمن النوع ذاته أو الأنواع الأخرى.

بيَنت نتائج التحري عن جينات مقاومة الفانكومايسين في بكتريا VRE بين النوعين *E. faecalis* و *E. faecium* أن جينات المقاومة *vanA* هي الأكثر إنتشارا بين العزلات المحلية بالمقارنة مع جينات *vanB*، إذ إحتوت العزلات جميعها سواء التابعة لكلا النوعين وذات MIC ≤(64) مايكروغرام\مل على جين *vanA* (شكل 2) عدا عزلتين كانت إحداهما عزلة سريرية تعود لبكتريا *E. faecalis* والأخرى تعود لبكتريا *E. faecium* اللتان لهما MIC (32) مايكروغرام \مل إذ إحتوت كل منهما على جين *vanB*.



شكل 2: الترحيل الكهربائي لناتج تفاعل PCR لبكتريا VRE بإستعمال البوادئ النوعية لجين *van A*.
المسار (1) الدليل الحجمي المسار (9-3) عزلات بكتريا .*Entrococcus* spp المقاومة للفانكومايسين

وجد Simjee وجماعته [22] أن جينات مقاومة مضاد الفانكومايسين في بكتريا *Entrococcus* spp. المقاومة للفانكومايسين (VRE) المعزولة من الإنسان أظهرت تطابقا مع تلك الجينات في بكتريا VRE المعزولة من كلاب مصابة بإلتهابات المجاري البولية في الولايات المتحدة، ما يدل على وجود تبادل في عوامل المقاومة بين السلالات، حتى وإن إختلف الكائن الذي عزلت منه ، الامر الذي قاد إلى الإعتقاد بأن الحيوانات القريبة من الإنسان قد تؤدي دوراً في نشر عوامل المقاومة، وبالتالي وصولها إلى الإنسان. كما شخص البلازميدينpSL1 وpSL2 في عزلات لبكتريا *E. faecalis* عزلت من الإنسان والدجاج ، مما يعطي مؤشرا على حصول تبادل في المعلومات الوراثية بين السلالات سواء كانت معزولة من الإنسان أو الدجاج الذي يُعد مستودعا لبكتريا VRE ويدل على فعالية الإنتقال الأفقي لجينات المقاومة المتعددة بما فيها مقاومة الفانكومايسين من الحيوان إلى الإنسان بوساطة بلازميدات مستجيبة لفرمونات الجنس [23] .

إن هذه السلالات ما زالت تظهر عند التحري عن وجودها سواءً في الأغذية أو فضلات الحيوانات التي تُعدُ مصدرا لنقل جينات المقاومة من السلالات المعزولة من الحيوانات إلى السلالات المعزولة من الإنسان، ويحدث هذا الإنتقال للجينات بشكل رئيس داخل أمعاء الإنسان، الذي يكون أكثر عُرضةً لدخول سلالات VRE المعزولة من الحيوانات من خلال تناوله للمُنتجات الحيوانية، أو تعامله المباشر مع الحيوانات التي أُستعملت المضادات الجرثومية في تربيتها بوصفها محفزات للنمو[19].

إن إنتشار المقاومة المتعددة للمضادات الجرثومية بما فيها مقاومة المضادات الكلايكوببتيدية بين أنواع المكورات المعوية (GRE) (Glycopeptide Resistant Enterococci) وبشكل خاص بين سلالات النوع *E. faecium* أصبح يُشكل مشكلة عالمية مع بعض الإختلافات في وبائية هذه البكتريا بين دول أوروبا والولايات المتحدة، إذ تُسجّل حالات إصابة و بنسب عالية بهذه البكتريا داخل بيئة المستشفيات ، وخاصة وحدات العناية المركزة في الولايات المتحدة بالمقارنة مع نسب إصابة واطئة تُسجّل خارج بيئة المستشفيات سواء في المجتمع أو الحيوانات أو المنتجات الحيوانية، يرتبط إنتشار سلالات VRE في أوروبا بإستعمال مضاد Avoparcin بوصفه مُحفز للنمو في تربية الحيوانات والذي يعطي دليلا على إنتقال هذه السلالات من الحيوانات إلى الإنسان عبر الإنتقال الأفقي لجينات المقاومة، علما أن Avoparcin لا يُستعمل في الولايات المتحدة إذ يقتصر إستعمال المضادات الكلايكوببتيدية فيها على الأغراض الطبية وهذا ما يُفسر الإختلاف في مصادر عزل السلالات المقاومة [24]. من الاستنتاجات المهمة للدراسة الحالية إنتقال صفة مقاومة الفانكومايسين بين الخلايا قيد الدراسة ما قد يعزى الى إحتمالية كون جينات هذه الصفة محمولة

على بلازميدات إقترانية تُسهل إنتقالها عبر الإنتقال الأفقي من خلية لأخرى ضمن النوع ذاته أو الأنواع الأخرى.

المصادر

[1] Lam M.C., Seemann T., Bulach D.M., Gladman S.L., Chen H., Haring V., Moore R.J., Ballard S., Grayson M.L. ,Johnson P.D. Howden,B. and Stinear,T.B. "Comparative Analysis of the First Complete *Enterococcus faecium* Genome" . ***J. Bacteriol.,* 194** (9) : 2334-2341, 2012.

[2] Agersø **Y.**, Lester **C.H.**, Porsbo **L.J.**, Orsted **I.**, Emborg **H.D**. and Olsen **K.** "Vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* isolates from a Danish patient and two healthy human volunteers are possibly related to isolates from imported turkey meat". **J Antimicrob Chemother**., 62 :844–5 , 2008.

[3] Poulsen L.L. , Bisgaard M. , Son N.T. ,Trung N.V. , An, H.M.and Dalsgaard,A. "*Enterococcus faecalis* Clones in Poultry and in Humans with Urinary Tract Infections" Vietnam . Emerg Infect Dis., 18 (7) :1096-1100, 2012.

[4] Nannini E.C. and Murray B.E. "In Gillespie, S.H. and Hawkey, P.M. Principles and Practice of Clinical Bacteriology" . 2nd edition . John Wiley and Sons. Ltd. pp:59-68. 2006.

[5] Harbarth,S. , Cosgrove S. and Carmeli Y. "Effects of Antibiotics on Nosocomial Epidemiology of Vancomycin-Resistant Enterococci" . ***Antimicrob. Agents Chemother.* 46** (6): 1619-1628 , 2002.

[6] Cha J.O. , Jung Y.H. , Lee H.R. , Yoo J.I and Lee Y.S. "Comparison of genetic epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from humans and poultry". ***J Med Microbiol* ., 61** (8): 1121-1128, 2012.

[7] Furuno J.P., Perencevich E.N., Johnson J.A., Wright M.O., McGregor J.C., Morris J.G. ; et al. "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci co-colonization". Emerg Infect Dis . 11(10):1539-1544, 2005.

[8] Zirakzadeh,A. and Patel,R. 'Vancomycin-Resistant Entero-cocci: Colonization,Infection,Detection, and Treatment". Clin. Proc., 81:529-536, 2006.

[9] Dahl K.H., Mater D.D., Flores M.J., Johnsen P.J., Midtvedt T., Corthier G. and Sundsfjord A. "Transfer of Plasmid and Chromosomal glycopeptide resistance determinants occur more readily in the digestive tract of mice than *in vitro* and exconjugants can persist stably *in vivo* in the absence of glycopeptide selection" J. Antimicrob. Agent. Chemother., 59(3):478-486, 2007.

[10] Forbes B.A. , Sahm D.F. and Weissfeld A.S. "Baily and Scott's:Diagnostic Microbiology".12th edition. Mosby,Inc. Baltimore, USA. p:266-277, 2007.

[11] Jackson C.R. , Fedorka-Cray P.J. and Barrett J.B. "Use of Genus – and Species – Specific Multiplex PCR for Identification of Enterococci" J. Clin. Microbiol., 42(8):3558-3565, 2004.

[12] CLSI . "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing", 19th supplement, CLSI document M100-S19. 29(3). CLSI, Wayne, Pennsylvania, USA , 2009.

[13] Dahl K.H. , Lundblad E.W. and Røkenes T.P. "Genetic linkage of the *vanB2* gene cluster to *Tn5382* in vancomycin-resistant entero- cocci and characterization of two novel insertion sequences". J. Microbiol., 146:1469-79, 2000.

[14] Bourgeois-Nicolas N., Massias L. and Couson B. "Dose Dependence of Emergens of Resistance Linezolid in *Enterococcus faecalis In vivo"*. J. Infect. Dis. ,195(10):1480-1488, 2007.

[15] Dutka-Malen S., Evers S. and Courvalin P."Detection of Glycopeptide Resistance Genotypes and Identification to the species level of Clinically Relevan Enterococci by PCR" J. Clin. Microbiol., 33(1):24-27, 1995.

[16] Elsayed S., Hamilton N., Boyd D. and Mulvey M. "Improved Primer Design for Multiplex PCR Analysis of Vancomycin- Resistant *Enterococcus spp"*. J.Clin. Microbiol., 39(6):2367-2368, 2001.

[17] السعدي ، فاطمة صبيح. "دراسة مقاومة بكتريا *Enterococcus faecalis* المسببة لإلتهابات المجاري البولية لبعض المضادات الحيوية و إنتاجها لإنزيمات β-lactamase "، رسالة ماجستير ، كلية العلوم \ الجامعة المستنصرية، 2007 .

[18] جاسم ، هالةعباس. "دراسة إنتاجية البكتريوسين من بكتريا *Enterococcus faecium* المعزولة من مصادر سريرية "، رسالة ماجستير ، كلية العلوم \ الجامعة المستنصرية ،2011.

[19] Dahl K.H., Mater D.D., Flores M.J., Johnsen P.J., Midtvedt T., Corthier G. and Sundsfjord A. "Transfer of Plasmid and Chromosomal glycopeptide resistance determinants occur more readily in the digestive tract of mice than *in vitro* and exconjugants can persist stably *in vivo* in the absence of glycopeptide selection" J. Antimicrob. Agent. Chemother., 59(3):478-486 ,2007.

[20] Chaudhary U., Shamma M. and Yadav A. "Antimicrobial Susceptipility Patterns of Common and Unusual *Enterococcus* species Isolated from Clinical Specimens" J. Infect. Dis. Antimicrob. Agent., 24:55-62 , 2007.

[21] Oh J.Y., Au S., Jin J.S., Lee Y.C., Cho D.T. and Lee J.C."Phenotypic and Genotyping Differences of the Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* Isolates from Humans and Poultry in Korea" J. Microbiol., 45(5):466-472 , 2007.

[22] Simjee S., White D.G., McDermott P.F.,Wagner D.D., Zervos M.J., Donabedian S.M. , English L.L., Hayes J.R. and Walker R.D. "Characterization of *Tn1546* in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from Canin Urinary Tract Infections: Evidence of Gene Exchange between Human and Animal Enterococci" J. Clin. Microbiol., 40(12):4659-4665,2002.

[23] Lim S.K., Tanimoto K., Tomita H.and Ike Y."Pheromone-Responsive Conjugative Vancomycin Resistance Plasmids in *Enterococcus faecalis* Isolates from Humans and Chicken Feces". J. Appl. Environ .Microbiol ., 72(10):6544-6553, 2006.

[24] Hershberger E. , Oprea S. F., Donabedian S. M. , Perri M., Bozigar P. Bartlett P. and Zervos M. J. "Epidemiology of antimicrobial resistance in enterococci of animal origin" J. Antimicrob. Chemother., 55:127-130, 2005.