

Denizli’de Sığır ve Besicilerden İzole Edilen Enterokok Türlerinin Antibiyotik Direnç Paternleri

Antibiotic Resistance Patterns of Enterococcus species Isolated from Cattle and Cattle Farmers in Denizli, Turkey

Ergun Mete , İlnur Kaleli 

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye

Öz

Amaç: Enterokokların intrinsik antibiyotik direnci olması ve ek antibiyotik direncini hızla kazanabilme kapasiteleri, enfeksiyonları tedavi etmeyi zorlaştırır. Hayvanlarda enterokok enfeksiyonları ender olarak antimikrobiyal ajanlar ile tedavi edilir. Bununla birlikte, diğer enfeksiyonların tedavisi süresince, büyüme promotörleri veya profilaktik olarak antibiyotik kullanıldığında enterokoklar, gastrointestinal sistemdeki varlıklarından dolayı, antimikrobiyallere maruz kalırlar. Bu çalışmada, besicilerden ve sığırlardan izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik dirençlerinin bölgesel dağılım farklarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya alınan örnekler Denizli ve çevresinde, 4 farklı bölgeden (21 farklı yerleşim yeri) toplanmıştır. Yetmiş iki sığır ve 111 besiciden alınan rektal sürüntü ve dışkı örnekleri izolasyon için Enterococcosel Agar (ECA) ve Enterococcosel Broth (Becton Dickinson, Heidelberg, Germany) besiyerlerine ekildi. Enterokokların tanımlanmasında koloni morfolojisi, koyun kanlı agardaki hemoliz karakterleri, Gram boyama, katalaz testi, %40 safralı eskülin hidrolizi, 10°C ve 45°C’de üreme özellikleri, %6.5 NaCl besiyerinde üreme yeteneği ve pyrrolidonyl-beta-naphthylamide testleri yapıldı. İzole edilen enterokokların antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Mueller Hinton agar besiyeri kullanılarak araştırıldı. Betalaktam antibiyotikler [(penisilin (10 IU), ampisilin (10 µg), sefaklor (30 µg), sefalotin (30 µg)] aminoglikozidler [(yüksek düzey gentamisin (120 µg), yüksek düzey streptomisin (300 µg)], kinolon [siprofloksasin (5 µg)] ve tetrasiklin (30 µg) duyarlılıkları incelenmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada toplam 161 (96 besici, 65 sığır) enterokok suşu izole edilmiştir. Besicilerden elde edilen izolatlarda II., III. ve IV. bölgede siprofloksasin direnci; I. bölgeye göre daha yüksek bulunmuştur. Sığırlardan elde edilen izolatlarda ise I. ve II. bölgede betalaktam ve siprofloksasin direnci; III. ve IV. bölgeye göre daha yüksek bulunmuştur. Sığır izolatlarının hiçbirinde tetrasiklin direnci saptanmamıştır.

Sonuç: Sunulan çalışmada elde edilen verilere göre bölgesel veteriner hekimlikte antibiyotik kullanımının çok farklı olabileceği, kullanılan antibiyotik yapısına göre besici ve sığır izolatlarında farklı direnç görülebileceği öngörülmüştür.

Anahtar kelimeler: Enterokok, besici ve sığır, antimikrobiyal direnç

ABSTRACT

Objective: The intrinsic antibiotic resistance of enterococci and their ability to rapidly gain additional antibiotic resistance make it difficult to treat infections. In animals, enterococcal infections are rarely treated with antimicrobial agents. However, during the treatment of other infections, when growth promoters or prophylactic antibiotics are used, enterococci in the gastrointestinal tract are exposed to the antimicrobials. The aim of this study was to investigate the differences in regional distribution of antibiotic-resistant Enterococci strains isolated from cattle and cattle farmers in Denizli, Turkey.

Method: Samples collected from four regions (21 settlements) in and around Denizli. Rectal swabs and stool specimens from 72 cattle and 111 cattle farmers were sown on Enterococcosel Agar (ECA) and Enterococcosel Broth medium (Becton Dickinson, Heidelberg, Germany) for isolation of bacteria. Colony morphology, haemolysis characteristics in sheep blood agar, Gram staining, catalase test, 40% biliary hydrolysis, 10°C and 45°C reproduction characteristics, 6.5% NaCl growth ability and pyrrolidonyl-beta-naphthylamide tests were performed to identify enterococci. The antibiotic susceptibility of the isolated enterococci was investigated using the Kirby-Bauer disk diffusion method and Mueller-Hinton agar medium. Sensitivities to beta-lactam antibiotics (penicillin, 10 IU; ampicillin, 10 µg; cefaclor, 30 µg; and cephalothin, 30 µg), aminoglycosides (high concentrations of gentamicin, [120 µg]; and streptomycin, [300 µg]), quinolone (ciprofloxacin, 5 µg) and tetracycline (30 µg) were examined.

Results: A total of 161 Enterococcus strains were isolated in this study, 96 from cattle farmers and 65 from cattle. Ciprofloxacin resistance in isolates from cattle farmers was found to be higher in Regions II, III, and IV than in Region I. Beta-lactam and ciprofloxacin resistance in isolates from cattle was found to be higher in Regions I and II than in Regions III and IV. Tetracycline resistance was not found in any of the bovine isolates.

Conclusion: According to the data obtained in the study, it was predicted that the use of antibiotics in veterinary medicine varies widely by region, and that different antibiotic resistances may be seen in isolates from cattle farmers and cattle according to the antibiotics used in each region.

Keywords: Enterococci, cattle farmer and cattle, antimicrobial resistance

Alındığı tarih:

22.03.2019

Kabul tarihi:

08.05.2019

Yayın tarihi:

30.06.2019

ORCID Kayıtları

E. Mete 0000-0002-0854-2440

İ. Kaleli 0000-0001-9689-8297

✉ ergunmete@pau.edu.tr

GİRİŞ

Enterokoklar, insan gastrointestinal kanalından kaynaklanan ve belirli koşullar altında insanlarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilen yaygın kommensal bakterilerdir⁽¹⁾. Fırsatçı patojen olarak endokardit, sepsisemi, gibi ciddi enfeksiyonlara neden olurlar⁽²⁾. Son zamanlarda en sık izole edilen nozokomiyal patojenler arasındadır⁽³⁾. Enterokokların intrinsik antibiyotik direnci ve ek antibiyotik direncini hızla kazanabilme kapasiteleri, enfeksiyonları tedavi etmeyi zorlaştırır ve bu nedenle önemli bir enfeksiyon kontrol yükü oluşturur⁽⁴⁾. Antibiyotik direnci, dünya genelindeki insan sağlığına yönelik önde gelen bir tehdittir ve bu da sağlık bakım maliyetini büyük ölçüde artırır. Enterokoklar, 1970'lerde ve 1980'lerde kan dolaşımı, idrar yolları ve cerrahi yaralarda antibiyotik dirençli enfeksiyon nedenlerinden biri olarak önem kazanmıştır⁽⁵⁾.

Enterokok enfeksiyonlarının tedavisi zordur. Monoterapi, genellikle β -laktamlar gibi bakterisidal olan ajanlarda bile bakteristatik aktivite sağlar. Enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kılavuzlar enterokok endokarditi için ilk seçenek olarak kombinasyon tedavisini önermektedir. Duyarlı kökenlere karşı, bakterisidal aktivite elde etmek için sıklıkla ampisilin ve bir aminoglikozit kombinasyonu kullanılır. Bununla birlikte, aminoglikozidlere yüksek düzey direnç birçok ülkede yaygındır. Eğer bunlara direnç var ise glikopeptid antibiyotik seçilmesi gereklidir. Ancak suşların çoğu kez çoklu antibiyotik direncine sahip olması ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin (YDAD) varlığına ilaveten, giderek artan oranda bildirilen vankomisin direnci tedavide önemli sorun olarak karşımıza çıkmaktadır⁽⁶⁾.

Hayvanlarda enterokok enfeksiyonları ender olarak antimikrobiyal ajanlar ile tedavi edilir. Bununla birlikte, diğer enfeksiyonların tedavisi süresince, büyüme promotörleri veya profilaktik olarak antibiyotik kullanıldığında enterokoklar gastrointestinal yolağının üyeleri olarak antimikrobiyallere maruz kalırlar⁽⁷⁾. Bu çalışmada besicilerden ve sığırlardan izole edilen

enterokok suşlarının antibiyotik dirençlerinin bölgesel dağılım farkları incelenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda, 111 besici (sığır yetiştiricisi) ve 72 sığırdan alınan rektal sürüntü ve dışkı örneklerinden izole edilen enterokok suşları incelenmiştir. Örnekler Denizli ve çevresinde, 4 farklı bölgeden (21 farklı yerleşim yerinden) toplanmıştır. Bölgeler coğrafik yapı, sağlık ve veteriner hizmetlerindeki farklılıklara göre gruplandırılmıştır. Bölgeler ana özelliklerine göre gruplandırıldığında her bölge için ayrı trafik ana karayolunun bulunduğu (I. bölge; Denizli İzmir karayolu çevresi ve Menderes vadisi; II. bölge; Denizli-Uşak karayolu ve Çal, Çivril, Baklan ovası; III. bölge; Denizli-Ankara karayolu, Çardak-Acıgöl ovası; IV. Bölge; Denizli-Muğla-Antalya karayolları ve Acıpayam, Tavas ovaları) yerler göz önüne alınarak ayrılmıştır. Bu nedenle bölgeler arası veterinerlik tedavi hizmetlerinin geçişi bulunmadığı düşünülmüştür.

Dışkı örnekleri kuru ve temiz dışkı toplama kaplarına alındı. Steril pamuklu eküvyonlarla alınan rektal sürüntü örnekleri 3 ml fosfat tamponlu su (PBS) içine konuldu. Alınan tüm örnekler iki saat içinde laboratuvara getirildi ve ekimleri yapıldı⁽⁸⁾. Tüm örnekler Enterococcosel agar (ECA) ve Enterococcosel sıvı (ECB) (BD, Maryland, ABD) besiyerlerine ekildi. Ekimler 37°C'de ECA için 24 saat, ECB için 48 saat inkübe edildi. ECB inkübasyonu sonunda eskülünü hidrolize ederek koyu kahverengi-siyah renk değişimi olan ve olmayan kültürlerden 0.1 ml alınarak ECA besiyerine pasajlanarak 24 saat inkübasyona bırakıldı. Enterokokların tanımlanmasında koloni morfolojisi, koyun kanlı agardaki hemoliz karakterleri, Gram boyama, katalaz testi, %40 safralı eskülün hidrolizi, 10°C ve 45°C'de üreme özellikleri, %6.5 NaCl besiyerinde üreme yeteneği ve Pyrrolidonyl-beta-Naphthylamide (PYR) testleri yapıldı⁽⁹⁾.

Enterokok olarak saptanan suşlar için; arginin dihidrolaz aktivitesi, mannitol, sorboz, sükröz, rafinoz, laktoz, arabinoz ve sorbitolden asit oluşturmaları,

piruvat kullanımı, hareket ve pigment oluşum özelliklerine göre tür ayrımları yapıldı⁽⁹⁾.

İzole edilen enterokokların antibiyotik duyarlılıkları "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Mueller Hinton agar besiyeri kullanılarak araştırıldı⁽¹⁰⁾. Vankomisin (30 µg), teikoplanin (30 µg), Betalaktam antibiyotikler [(penisilin (10 IU), ampisilin (10 µg), sefaklor (30 µg), sefalotin (30 µg)) aminoglikozidler [(yüksek düzey gentamisin (120 µg), yüksek düzey streptomisin (300 µg)], siprofloksasin (5 µg) ve tetrasiklin (30 µg) duyarlılıkları incelenmiştir. Beta-laktamaz aktiviteleri ise nitrosefin diski ile saptandı. İstatistiksel analiz, SPSS (Windows Ver 21.0, SPSS Inc., ABD) kullanılarak yapıldı. Direnç oranları χ^2 kare ve Fisher kesin χ^2 testi ile karşılaştırıldı ve p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışmada, toplam 161 (96 besici, 65 sığır) enterokok suşu izole edilmiştir. Çalışmaya alınan örneklerin dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Besicilerden izole edilen kökenlerin hepsinde betalaktam, aminoglikozid ve siprofloksasin direnci sığırlardan izole edilen kökenlere göre daha yüksek bulunmuştur. Sığırlarda tetrasiklin direnci saptanmamıştır (Tablo 2).

Besicilerden elde edilen izolatlarda siprofloksasin direnci II., III ve IV. bölgede I. bölgeye göre daha yüksek bulunmuştur (Tablo 3).

Tablo 1. İzole edilen enterokok suşlarının bölgelere göre dağılımı.

Bölge	Besici		Sığır		Toplam	
	Örnek	İzolasyon	Örnek	İzolasyon	Örnek	İzolasyon
I	28	21	18	16	46	37
II	28	24	18	18	46	42
III	27	25	18	17	45	42
IV	28	26	18	14	46	40
Toplam	111	96	72	65	183	161

Tablo 2. Besici ve sığırlardan izole edilen enterokokların antibiyotiklere direnç durumları (N=toplam köken sayısı, n=Dirençli köken sayısı).

	Besici (N=96) n (%)	Sığır (N=65) n (%)	Toplam (N=161) n (%)	p
Betalaktamlar*	51 (53)	21 (32.3)	72 (44.7)	<0.01
Aminoglikozid ^{YD}	1 (1)	6 (9.2)	7 (4.3)	<0.05
Siprofloksasin	75 (78)	10 (15.4)	85 (52.6)	<0.01
Tetrasiklin	33 (34)	0	33 (20.5)	-

*Betalaktam: Ampisilin, Sefaklor, Sefalotin; YD: Gentamisin ve Streptomisin Yüksek Düzey

Tablo 3. Besicilerden elde edilen izolatların bölgelere göre direnç (n) durumları.

	I. bölge (n=21)	II. bölge (n=24)	III. bölge (n=25)	IV. bölge (n=26)	Toplam	p
Betalaktamlar*	11 (52.4)	14 (58.3)	14 (56)	12 (53.8)	51	0.83
Aminoglikozid ^{YD}	0	1 (4.2)	0	0	1	-
Siprofloksasin	10 (47.6)	19 (79.2)	22 (88)	24 (92.3)	75	<0.01
Tetrasiklin	5 (23.8)	7 (29.2)	13 (52)	8 (30.8)	33	0.17

*Betalaktam: Ampisilin, Sefaklor, Sefalotin; YD: Gentamisin ve Streptomisin Yüksek Düzey

Sığırlardan elde edilen izolatlarda ise I. ve II. bölgede betalaktam direnci; III. ve IV. bölgeye göre daha yüksek bulunmuştur. Sığır izolatlarında siprofloksasin direnci I. ve II. bölgede III. ve IV. bölgeye göre daha yüksek bulunmuştur. Sığır izolatlarının hiçbirinde tetrasiklin direnci saptanmamıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Sığırlardan elde edilen izolatların bölgelere göre direnç (n) durumları.

	I. bölge (n=16)	II. bölge (n=18)	III. bölge (n=17)	IV. bölge (n=14)	p**
Betalaktamlar*	7 (43.7)	11 (61.1)	1 (5.9)	2 (14.3)	<0.01
Aminoglikozid ^{YD}	2 (12.5)	2 (11.1)	0	2 (14.3)	-
Siprofloksasin	5 (31.3)	4 (22.2)	0	1 (7.1)	<0.05*
Tetrasiklin	0	0	0	0	-

*Betalaktam: Ampisilin, Sefaklor, Sefalotin; YD: Gentamisin ve Streptomisin Yüksek Düzey; **Fisher Exact test

TARTIŞMA

Enterokoklar toprakta, suda, gıdalarda, hayvanlarda, kuşlarda ve böceklerde doğal olarak bulunurlar. İnsanlarda özellikle gastrointestinal sistem ve genitouriner sistemde yerleşirler. İnsan dışkısından elde edilen enterokok türleri coğrafya ve beslenmeye bağlı değişiklikler gösterirler⁽⁸⁾.

Hayvan türlerinde kullanılan antibiyotik miktarının yaygınlığına göre bakteri direnci değişmektedir. Tavuk ve domuzlarda antibiyotik kullanımı daha yaygın olduğu için izole edilen bakterilerde direnç düzeyi sığırlardan izole edilenlere göre daha yüksek bulunmuştur⁽¹¹⁻¹⁴⁾.

Thal ve ark.⁽¹⁵⁾ çeşitli hayvanlardan izole ettikleri enterokokların özellikle de *Enterococcus faecium* suşlarının ampisilin, streptomisin ve gentamisine tek veya çoklu şekilde dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Avrupa'da çok merkezli bir çalışmada, domuzlarda ve tavuklarda sığırlara göre *E. faecium* ve *Enterococcus faecalis* için çok yüksek oranlarda tetrasiklin direncine (%67.4-78.3) rastlanmıştır⁽¹⁶⁾. Daniel ve ark.⁽¹⁷⁾ Malezya'da yaptıkları çalışmada, çiftlik hayvanlarında tetrasiklin direncini %62 ve penisilin direncini %40, siproflaksasin direncini %30, gentamisin direncini %30 olarak bulmuşlardır. Malezya'nın 2 farklı bölgesini antibiyotik direnci açısından karşılaştırdıklarında ise, penisilin (%46 ve %25) ve siproflaksasin direncinde (%45 ve %23) bölgesel farklılık saptamışlardır. Ülkeler ve bölgeler arasında antibiyotik seçiminden kaynaklanan antibiyotik direnç farklılıkları vardır. Örneğin, Japonya'da domuzlardan izole edilen bakterilerdeki yüksek tetrasiklin direncinin nedeni tedavide sıklıkla tetrasiklin kullanılmasıdır⁽¹⁸⁾.

Antimikrobiyallere direnç, dirençli bakterilerin iletilmesi veya mobil DNA elementlerinin yatay gen transferi ile hayvanlardan insanlara aktarılabilir. Direnç genleri genellikle bulaşıcı plazmitler, transpozonlar, gen kasetleri veya diğer mobil genetik elementlerde bulunur. Suşlar, türler ve hatta cinsler arasında dirençli genlerin yatay transferi nedeniyle, hayvanla-

rın kommensal mikroflorası, direnç genlerinin rezervuarı olarak işlev görebilir⁽¹⁹⁾. Dirençli bakteriler, hayvan rezervuarlarından insanlara, yiyecek, su ve çevrenin dışkı yoluyla kirletilmesi yoluyla veya hayvanlarla doğrudan temas yoluyla bulaşabilir⁽²⁰⁾.

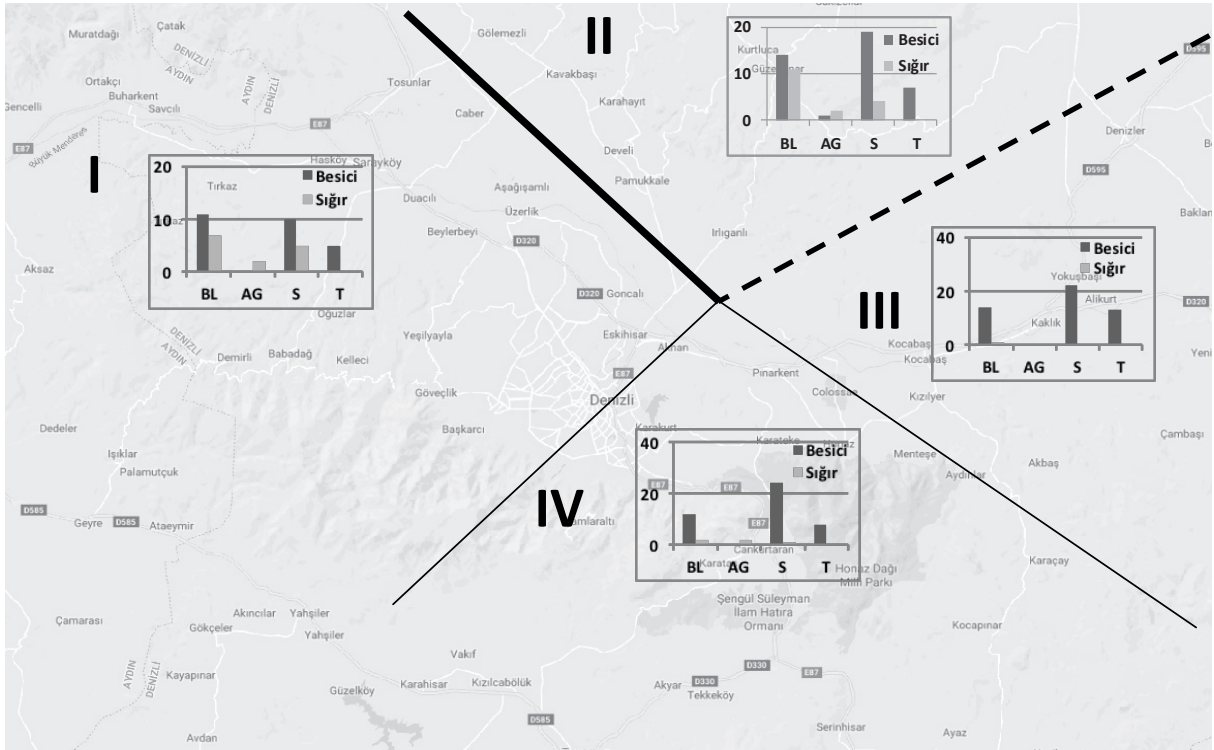
Besi hayvanlarında dirençli bakterilerin ortaya çıkması, gıda zinciri yoluyla hayvanlardan insanlara geçme olasılığı nedeniyle halk sağlığı endişesi yaratmıştır^(21,22). Antibiyotikler hem insan hem veterinerlikte bakteriyel hastalığa karşı birincil savunmadır. Direnç gen dağılımını yavaşlatmak ve yeni direnç genlerinin ortaya çıkmasını önlemek için hem insan hem veterinerlikte antibiyotiklerin daha ölçülü kullanılması gerekir. Hayvanlarda antibiyotik direnç genlerinin keşfedilmesi, bağırsak mikrobiyomlarının bilinen ve yeni antibiyotik direnç genlerinin bir deposu olduğunu ve dirençli bakterilerin ve direnç genlerinin insan ve hayvan mikrobiyomları arasında paylaşıldığını ortaya koymuştur⁽²³⁾.

Çalışmamızda, hayvan izolatlarında betalaktam antibiyotiklere direnç %32.3, aminoglikozidlere direnç %9.2, siproflaksasine direnç %15.4 olarak bulunurken, tetrasikline dirençli suş bulunamamıştır.

İnsan izolatlarında ise betalaktam antibiyotiklere direnç %53, aminoglikozidlere direnç %1, siproflaksasine direnç %78 ve tetrasiklin direnci %34 olarak bulunmuştur.

Besicilerden elde edilen izolatlarda siproflaksasin direnci I. bölgede diğer bölgelere göre daha düşük bulunmuştur. Sığırlardan elde edilen izolatlarda ise III. ve IV. bölgede betalaktam direnci; I. ve II. bölgeye göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca sığır izolatlarında siproflaksasin direnci I. ve II. bölgede daha yüksek bulunmuştur. Besiciler ile sığırlar arasında antibiyotik dirençlerinin farklı olması hayvanlarda antibiyotik kullanımının insanlara göre daha az olmasına ve kullanılan antibiyotik miktarına bağlı olabilir.

Sunulan araştırmada elde edilen verilere göre, bölgesel veteriner hekimlikte antibiyotik kullanımının çok



Şekil 1. Besici ve siğirlerden elde edilen enterokok izolatlarının bölgelere göre dağılımı.

(BL:β-Laktam, AG: yüksek düzey gentamisin, S: yüksek düzey streptomisin, T: tetrasiklin).

farklı olabileceği, kullanılan antibiyotik yapısına göre besici ve siğir izolatlarında farklı direnç görülebileceği öngörülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Prematunge C, MacDougall C, Johnstone J, et al. VRE and VSE bacteremia outcomes in the era of effective VRE therapy: a systematic review and meta-analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2016;37(1):26-35. <https://doi.org/10.1017/ice.2015.228>
2. Sava IG, Heikens E, Huebner J. Pathogenesis and immunity in enterococcal infections. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(6):533-40. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03213.x>
3. Guzman Prieto AM, van Schaik W, Rogers MR, et al. Global emergence and dissemination of enterococci as nosocomial pathogens: attack of the clones? *Front Microbiol.* 2016;7:788. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00788>
4. Gao W, Howden BP, Stinear TP. Evolution of virulence in *Enterococcus faecium*, a hospital-adapted opportunistic pathogen. *Curr Opin Microbiol.* 2017;41:76-82. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.11.030>
5. Gilmore MS, Lebreton F, van Schaik W. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era. *Curr Opin Microbiol.* 2013;16(1):10-6. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.01.006>
6. Lebreton F, Willems RJL, Gilmore MS. *Enterococcus* diversity, origins in nature, and gut colonization. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N (Eds). *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection.* Boston/ABD: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014:5-64. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190427/> (Erişim tarihi:01/02/2019)
7. Yim J, Smith JR, Rybak MJ. Role of combination antimicrobial therapy for vancomycin resistant *Enterococcus faecium* Infections: Review of the current evidence. *Pharmacotherapy.* 2017;37(5):579-92. <https://doi.org/10.1002/phar.1922>
8. Mete E. Besicilerde vankomisine dirençli enterokok araştırılması [Tıpta Uzmanlık Tezi]. Denizli: Pamukkale Üniversitesi, 2003.

9. Mete E, Kaleli İ. Besici ve sığırlardan izole edilen enterokok türlerinin dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları. Mikrobiyol Bul. 2006;40(1-2):75-80.
10. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 18th Informational Supplement, Document M100-S19. CLSI, Wayne, ABD; 2009.
11. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. The Gram-positive cocci. Part II: Streptococci, Enterococci and streptococcus-like bacteria. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, Philadelphia; JB Lippincott, 1997:577-677.
12. Facklam RR, Sahm DF, Teixeira LM. Enterococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover YH (Eds). Manual of Clinical Microbiology. Washington: ASM, 1999:297-305.
13. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall G. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Microbiol Rev. 2000;13(4):686-707. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.4.686>
14. Murray BE. Vancomycin-resistant enterococci. Am J Med. 1997;102(3):284-93. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(99\)80270-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(99)80270-8)
15. Thal LA, Chow JW, Mahayni R, et al. Characterization of antimicrobial resistance in enterococci of animal origin. Antimicrob Agent Chemother. 1995;39(9):2112-5. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.9.2112>
16. de Jong A, Simjee S, Garch FE, et al. Antimicrobial susceptibility of enterococci recovered from healthy cattle, pigs and chickens in nine EU countries (EASSA Study) to critically important antibiotics. Vet Microbiol. 2018;216:168-75. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.02.010>
17. Daniel DS, Lee SM, Gan HM, Dykes GA, Rahman S. Genetic diversity of *Enterococcus faecalis* isolated from environmental, animal and clinical sources in Malaysia. J Infect Public Health. 2017;10(5):617-23. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.02.006>
18. Harada K, Asai T. Role of antimicrobial selective pressure and secondary factors on antimicrobial resistance prevalence in *Escherichia coli* from food producing animals in Japan. J Biomed Biotechnol. 2010;2010:180682. <https://doi.org/10.1155/2010/180682>
19. Yates CM, Pearce MC, Woolhouse MEJ, Amyes SGB. High frequency transfer and horizontal spread of apramycin resistance in calf faecal *Escherichia coli*. J Antimicrob Chemother. 2004;54(2):534-7. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh353>
20. Wasteson Y, Johannessen GS, Bruheim T, Urdahl AM, O'Sullivan K, Rorvik LM. Fluctuations in the occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 on a Norwegian farm. Lett Appl Microbiol. 2005;40(5):373-7. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01673.x>
21. van den Bogaard AE, Stobberingh EE. Antibiotic usage in animals: Impact on bacterial resistance and public health. Drugs. 1999;58(4):589-607. <https://doi.org/10.2165/00003495-199958040-00002>
22. Wegener HC. Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. Curr Opin Microbiol. 2003;6(5):439-45. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2003.09.009>
23. Allen HK. Antibiotic resistance gene discovery in food-producing animals. Curr Opin Microbiol. 2014;19: 25-9. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.06.001>