المجلة العراقية للبحوث الانسانية والاجتماعية والعلمية
Iraqi Journal of Humanitarian, Social and Scientific Research
Print ISSN 2710-0952-Electronic ISSN 2790-1254
العدد 10 لسنة 2023
No 10 August 2023

التوصيف الجزيئي لمقاومة مضادات الامينوكلايكوسيدات في المكورات المعوية

روزه عبد الكريم علوان
أ.د. أزهار نوري حسين
جامعة القادسية – كلية التربية
الايميل : roseaabdalkarem88@gmail.com الايميل : azhar.almousawi@qu.edu.iq

الخلاصة Abstract

هدفت الدراسة الحالية الى تحديد مقاومة مضادات الأمينوكلايكوسايد بين عزلات *Enterococcus faecalis* المعزولة من اخماج المسالك البولية و لتحقيق ذلك جمعت 300عينة ادرار من المرضى الذين يعانون من خمج المسالك البولية من كلا الجنسين وبأعمار تراوحت بين 20-78 سنة من مستشفيات محافظة الديوانية خلال الفترة (2021/7/1 الى 2021/12/1)، تم زراعة هذه العينات على وسط Rapid HiEnterococci agar. وشخصت بواسطة تقنية الـPCR باستعمال جين *16SrRNA* إذ اظهرت النتائج ان 21 من العزلات تعود لبكتريا *E. faecalis* . ثم تم تأكيدها هذه النتيجة من خلال تحليل التسلسل التتابعي لجينات الـ*16s rRNA* و *Esp* و *aac(6')-Ie–aph(2")-Ia* و *aph (2') - Ic* و *aph (2 ") – Id*. خضعت جميع بكتريا المكورات المعوية البرازية المعزولة من خمج المسالك البولية لاختبار الحساسية للمضادات الحيوية الأمينوكلايكوسايد في المختبر بطريقة انتشار الأقراص المعدلة لقد وجد أن عزلات بكتريا المكورات المعوية البرازية مقاومة عالية للمضادات الكاناميسين و النيوميسين 100%، و بنسبة 92.2% للمضادات الأميكاسين و التوبراميسين، بينما ظهر مستوى واطئ للمقاومة بنسبة 77.7 و 74 للجنتاميسين و الستربتوميسين على التوالي. تم الكشف عن جينات مقاومة مضادات الأمينوكلايكوسايد *aac(6')-Ie–aph(2")-Ia* و *aph (2') - Ic* و *aph (2 ") - Id* بواسطة تقنية الـ PCR وقد اظهرت النتائج ان نسبة جين *aac(6')-Ie–aph(2")-Ia* كانت 80.95% وجين *aph (2') - Ic* كانت 76.19% و جين *aph (2 ") - Id* كانت 61.9% في بكتريا الـ*E. faecalis* .

كلمات مفتاحية : التوصيف الجزيئي ، مضادات الامينوكلايكوسيدات ، المكورات المعوية

Molecular Characterization Of Resistance To Antiaminoglycosides In Enterococci

Rose Abdul Karim Alwan
Dr. Azhar Nuri Hussein
Al-Qadisiyah University - College of Education
Email: roseaabdalkarem88@gmail.com Email: azhar.almousawi@qu.edu.iq

Abstract

The current study aimed to determine the resistance to aminoglycoside antibiotics among Enterococcus faecalis isolates isolated from urinary tract infections. To achieve this, 300 urine samples were collected from patients suffering from urinary tract infections of both sexes, with ages ranging from 20-78 years, from Diwaniyah governorate hospitals during the period (1/ 7/2021 to 1/12/2021), these samples were cultured on Rapid HiEnterococci agar medium. It was diagnosed by PCR using the 16SrRNA gene, as the results showed that 21 of the isolates belonged to E. faecalis. This result was then confirmed by sequencing analysis of the 16s rRNA genes, Esp, aac(6')-Ie–aph(2")-Ia, aph(2′)-Ic, and aph(2″)-Id. All were subjected to Enterococcus faecalis bacteria isolated from urinary tract infection to test sensitivity to aminoglycoside antibiotics in the laboratory by modified disk dissemination method. resistance by 77.7 and 74% to gentamicin and streptomycin, respectively.The antiaminoglycoside

resistance genes aac(6')-Ie–aph(2")-Ia, aph(2′)-Ic, and aph(2″)-Id were detected by PCR technique, and the results showed that the percentage of aac(6')-Ie–aph(2")-Ia gene was 80.95%, aph (2′) - Ic was 76.19%, and aph (2″) - Id was 61.9%. in E. faecalis bacteria.

Keywords: molecular characterization, anti-aminoglycosides, enterococci

المقدمة Introduction

تعد المكورات المعوية من البكتريا موجبة لصبغة كرام و المنتشرة في الطبيعة، وخاصة على الأسطح المخاطية للإنسان والحيوان، ولكنها توجد أيضاً في التربة والمياه ومنتجات الألبان وغيرها من المنتجات الغذائية وعلى النباتات. في ظل ظروف معينة تسبب مجموعة متنوعة من الالتهابات لدى البشر. تحدث معظم حالات العدوى في المرضى المقيمين في المستشفى، وقد تم التعرف مؤخراً على هذه البكتريا باعتبارها واحدة من أكثر الأسباب شيوعاً لعدوى المستشفيات (García-Solache and Rice, 2019).

يشمل طيف الاخماج التي تسببها المكورات المعوية اخماج المسالك البولية (UTIs) و اخماج الجروح (معظمها جراحية وجروح الحروق) وتجرثم الدم. وكثيراً ما ترتبط أيضاً بأخماج شغاف القلب و اخماج داخل البطن و اخماج الحوض. قد تحدث أيضاً عدوى بالمكورات المعوية في الجهاز التنفسي والجهاز العصبي المركزي وكذلك خمج الأذن و خمج الجيوب الانفية و خمج المفاصل الإنتاني و خمج الاربطة، على الرغم من ندرة حدوثها (Beganovic *et al.*, 2018). تعد المكورات المعوية البرازية *Enterococcus faecalis* هي أكثر أنواع المكورات المعوية شيوعاً المعزولة من العينات السريرية البشرية بمعدل 80-90% من العزلات، تليها المكورات المعوية *Enterococcus faecium* بمعدل 5-10% (Teixeira *et al.*, 2013).

تُعزى الامراضية في المكورات المعوية إلى مجموعة متنوعة من عوامل الضراوة، والتي يمكن تقسيمها إلى مجموعتين: عوامل الضراوة المُفرزة مثل السيتولايسين (Cytolysin A)، و الجيلاتينيز (Gelatinase)، و الهيالورونيداز (Hyaluronidase) وعوامل الضراوة السطحية للخلية مثل مواد التجميع (Aggregation substance)، والبروتين السطحي للمكورات المعوية (Enterococcal Surface Protein)، ومستضد التهاب الشغاف (Endocarditis antigen A)، والبروتين المرتبط بالكولاجين (Collagen binding protein)، مما يوفر دوراً مهماً في تكوين الأغشية الحيوية، والالتصاق بالخلايا المضيفة، وغزو وتسهيل تطور المرض، جنباً إلى جنب مع جينات مقاومة المضادات الحياتية (هنا تضاف المقاومة) ، ويعد رصد لمقاومة للمضادات الحيوية بين عزلات *Enterococcus* أمراً مهماً لتفادي انتشارها كمسببات مرضية (Geraldes *et al.*, 2022)، و لتحقيق هدف هذه الدراسة تحتم علينا اتباع عدة خطوات لتحقيق ذلك، من خلال اتباع ما يأتي:

1. عزل و تشخيص بكتريا *Enterococcus faecalis* المعزولة من ادرار الأشخاص المصابون بأخماج المسالك البولية في مدينة الديوانية، وسط العراق.
2. الكشف عن مقاومة بكتريا المكورات المعوية البرازية للمجموعة مضادات الأمينوكلايكوسيدات باستعمال طريقة Kirby Bauer disc diffusion method .
3. التوصيف الجزيئية لجينات المسؤولة عن مقاومة مضادات الأمينوكلايكوسيدات اهما هي *aac (6')- Ie-aph (2")- Ia* و *aph (2") - Ic*، و *aph (2") – Id*.
4. اجراء تحليل التسلسل التتابعي (DNA sequencing)، لبعض جينات عوامل الضراوة و المقاومة للمضادات الأمينوكلايكوسيدات التي تمتلكها بكتريا *E. faecalis* تسجيل العزلات بموقع NCBI

المواد وطرائق العمل Material and methods

الدراسة الميدانية

جمعت 300 نموذج من عينات الإدرار الوسطي (Midstream urine)، في ساعات الصباح الأولى من المرضى ولكلا الجنسين وبأعمار تراوحت بين 20-78سنة المراجعين والراقدين في مستشفيات النسائية والأطفال التعليمي و الديوانية التعليمي و المختبرات الاهلية الخارجية في محافظة

القادسية للفترة الممتدة من 2021/7/1 الى 2021/12/1، الذين يعانون من أعراض اخماج المسالك البولية، باستعمال حاويات جمع (Containers) معقمة و محكة الاغلاق ونقلت مباشرة إلى مختبر الأحياء المجهرية لزراعتها،مع تسجيل معلومات طبية تخص المرضى باستمارة تتضمن الاسم والجنس و العمر .

الدراسة المختبرية

اختبار الحساسية

استخلاص المادة الجينية لعزلات المكورات المعوية البرازية

تم تنشيط عزلات بكتريا المكورات المعوية البرازية لغرض دراستها جزيئاً و ذلك بعد زرعها على وسط المغذي السائل (Nutrient broth)، لضمان الحصول على الحامض النووي (DNA)، نقي من خلال اعتماد عدة الاستخلاص المجهزة من قبل الشركة (Amb)، الكندية و حسب الخطوات التالية:

1. نقل الراسب البكتيري الناتج من عملية النبذ المركزي بسرعة 14000 دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة للوسط السائل المحضن، أي بما يعادل 10^9x1 خلية بكتيرية الى انبوبة ابندروف معقمة بسعة 1.5 مل بواسطة ماصة معقمة و تم التخلص من العالق.
2. أُضافة (200) مايكرو ليتر من انزيم (Lysozyme) بتركيز 0.8ملغم/200مل الى انبوبة الابندروف ثم مزجت محتوياتها جيداً بواسطة جهاز المازج الدوار (Vortex)، بعدها حضنت الانبوبة لمدة ساعة واحدة في حاضنة الـ PCR عند درجة حرارة 37مْ.
3. بعد الحضانة يتم اضافة (20) مايكرو ليتر من محلول (Proteinase K) لتحليل البروتينات و الخلايا، واضافة (200) مايكرو ليتر من محلول المنظم (LB1) الى انبوبة الابندروف ثم وضعت في جهاز المازج الدوار لمزج محتوياتها بعدها وضعت في حاضنة الـ PCR بدرجة 60مْ لمدة 15 دقائق.
4. بعد اكتمال الحضانة، يتم اضافة (200) مايكرو ليتر من كحول الإيثانول المطلق ذو تركيز 100% وخلط المزيج بقوة بواسطة المازج الدوار، ثم نقل جميع المحتويات الانبوبة اعلاه الى عمود (GD)، المثبت في انبوب الجمع مع اجراء عملية النبذ المركزي بسرعة 16000 دورة /دقيقة لمدة 30 ثانية.
5. نقلت جميع المخاليط من الى عامود (Spin Column) سعة 2 مل وضع في أُنبوبة الجمع (Collection tube) سعة2 مل ونقل له جميع الخليط من (Eppendorf tubes) السابقة.
6. نبذت الأنابيب السابقة مركزياً بسرعة 8000 دورة/دقيقة لمدة دقيقة واحدة بعدها نُقل (Spin Column) إلى أنبوبة جمع جديدة و أهملت الأنابيب الجمع السابقة .
7. أُضيفت (500) مايكرو ليتر من دارئ W1 إلى عمود (Spin Column) ثم طردت الأنابيب مركزياً بسرعة 8000 دورة/ دقيقة لمدة دقيقة واحدة ثم وضع (Spin Column) في أنبوبة الجمع جديدة و تهمل أنابيب الجمع السابقة (تكرر هذه الخطوة).
8. يوضع (Spin Column) في انبوبية جديدة و تنبذ مركزياً بسرعة 12.500دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة ثم تم التخلص من الانبوبة .
9. وضع (Spin Column) في انبوبية جديدة سعة 1.5 مل و يعرض للهواء لمدة دقيقة واحدة للتخلص من الكحول.
10. نقلت الأعمدة الحاوية على الحمض النووي إلى أنابيب أبندروف معقمة وأضيف 50 مايكرو ليتر من دارئ الإذابة Elution Buffer (EL3) يضاف الى مركز الأنبوبة ثم يترك لمدة 5 دقائق لإذابة ثم طردت مركزياً لمدة دقيقة واحدة بسرعة 12.500 دورة/ دقيقة.
11. حفظت الانابيب الحاوية على الـ DNA بدرجة حرارة -20مْ لحين الاستعمال.

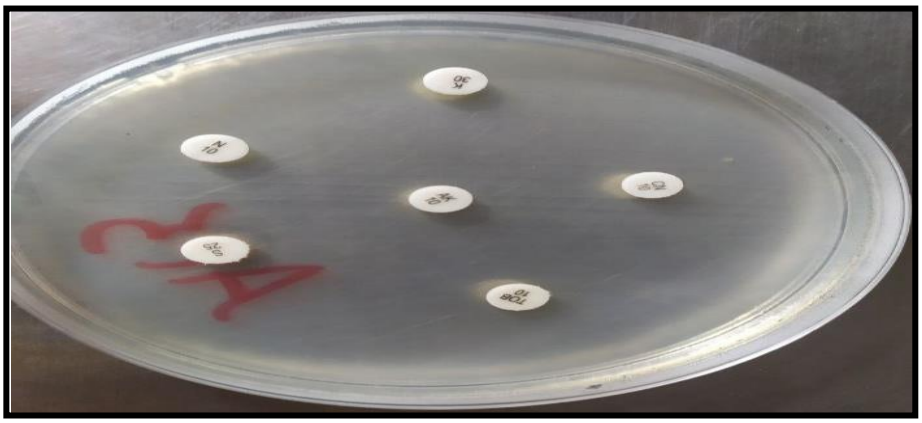
النتائج و المناقشة Results &Disscation

في هذه الدراسة، تم جمع 300 عينة ادرار سريرية للتحري عن بكتريا المكورات المعوية Enterococci خلال المدة الممتدة من (2021/7/1) لغاية (2021/12/1) من المرضى الراقدين و

المراجعين الذين يعانون من اخماج المسالك البولية الذين تم إدخالهم إلى مستشفيات مدينة الديوانية ومن المختبرات الاهلية الخارجية، خضعت جميع عينات الادرار التي تم جمعها للزراعة الهوائية على أوساط زرعية المستعملة في الدراسة و لوحظ أنه من إجمالي 300 عينة ادرار، أظهرت 200 عينة ادرار 66.6% إيجابية الزراعة البكتيرية، في حين لم يلاحظ أي نمو بكتيري في 100عينة ادرار 33.3%، تقاربت هذه النتيجة مع ما توصل اليه Sahib و Xigheer (2019)، إذ وجدوا ان عدد العينات الادرار التي أعطت نتيجة زرع إيجابي 57% بينما كانت عينات الادرار التي لم تظهر أي نمو عند زراعتها على الأوساط الزرعية 43% وهذا قد يعود الى وجود احياء مجهرية أخرى التي تكون زراعتها بصعوبة مثل الفطريات او الفايروسات او عوامل أخرى أو قد يكون بسبب اختلاف في حجم وطبيعة العينة السريرية، او قد يكون بسبب تناول المضادات الحيوية من قبل المريض قبل جمع و زراعة العينة .

الكشف المظهري عن مقاومة الـ *E. faecalis* لمضادات الأمينوكلايكوسيدات

تم التحري عن القابلية المظهرية لـ 31 عزلة من المكورات المعوية البرازية المسببة لاخماج المسالك البولية لمقاومة مجموعة مضادات الحيوية الأمينوكلايكوسيدات بما في ذلك الجنتاميسين و الأميكاسين و النيوميسين و الكاناميسين و التوبراميسين و الستربتوميسين بواسطة طريقة الأقراص باور القياسية، لإرشادات CLSI (2022). (الشكل 1).



نشر كيربي وفقاً

الشكل (1): اختبار حساسية بكتريا الـ*E. faecalis* ضد مضادات الحيوية الأمينوكلايكوسيدات.

أظهرت العزلات درجات متفاوتة من المقاومة للأمينوكلايكوسيدات، كشفت النتائج عن سبع مجموعات مختلفة من النمط المظهري المقاوم لمضادات الأمينوكلايكوسيدات، المجموعة الأولى (G1)، أظهرت 14 عزلة 45.1% مقاومة لجميع مضادات الأمينوكلايكوسيدات. المجموعة الثانية (G2)، كانت 5 عزلات 16.1% مقاومة لمضادات الستربتوميسين والتوبراميسين والكاناميسين والنيوميسين و الأميكاسين ولكنها حساسة للجنتاميسين (CN). المجموعة الثالثة (G3) أظهرت 4 عزلات 12.9% مقاومة للجنتاميسين والتوبراميسين والكاناميسين والنيوميسين و الأميكاسين لكنها حساسة لمضاد الستربتوميسين (S). المجموعة الرابعة (G4) أبدت 4 عزلات 12.9% حساسيتها الكاملة لجميع مضادات الأمينوكلايكوسيدات. المجموعة الخامسة (G5) وجدت 2 عزلة 6.4% مقاومة للتوبراميسين والكاناميسين

والنيوميسين و الأميكاسين ولكنها حساسة للجنتاميسين و الستربتوميسين؛ المجموعة السادسة (G6)، أظهرت 1 عزلة 3.2% مقاومة للجنتاميسين والكاناميسين والنيوميسين و الأميكاسين ولكنها حساسة للتوبراميسين و الستربتوميسين؛ المجموعة السابعة (G7)، أظهرت عزلة واحد فقط مقاومة لجميع مضادات الأمينوكلايكوسيدات ماعدا الأميكاسين. وبالتالي، تم اختيار 27 عزلة 87% من بكتريا *E. faecalis* المصنفة على أنها مقاومة لما لا يقل عن اربعة من مضادات الأمينوكلايكوسيدات الحيوية قيد الدراسة.

أظهرت 27 عزلة من عزلة لبكتريا *E. faecalis* مقاومة لأربعة على الأقل من مجموعة مضادات الأمينوكلايكوسيدات المختبرة المتضمنة في هذه الدراسة. يوضح (الشكل (4-9) و الملحق (3) نتائج الحساسية والتي لوحظت على أنها مقاومة وقابلة للتأثر. وكانت معدلات المقاومة الكلية لجميع المضادات في هذه العزلات عالية. أظهرت البكتيريا المعزولة نتائج متباينة لمقاومة الأمينوكلايكوسيدات. أظهرت العزلات مقاومة عالية ضد مضادات الكاناميسين 100% و النيوميسين 100%، تليها المضادين الأميكاسين و التوبراميسين 96.2% لكل منهما، ثم الجنتاميسين 77.7%، وأقل مقاومة كانت ضد الستربتوميسين 74%.

توافقت نتائج دراستنا مع نتائج Diab و جماعته (2019) الذين وجدوا ان نسبة مقاومة بكتريا المكورات المعوية لكل من مضادين الجنتاميسين و الستربتوميسين 78% و 74% على التوالي، و تقارب نتائجنا مع نتائج Khdir و Mustafa (2020) إذ أبدت بكتريا المكورات المعوية مقاومتها للمضادتين الأميكاسين و الجنتاميسين 86.36% و 81.81% على التوالي و كذلك مع نتائج Montalbán-López و جماعته (2020) إذ أبدت بكتريا المكورات المعوية مقاومتها لمضاد الأميكاسين بنسبة 98.3% لكن اختلف في مقاومتها للجنتاميسين و الستربتوميسين 20.7% و 46.6% على التوالي، كما اختلفت مع نتائج Naqid و جماعته (2020) إذ بلغت نسبة مقاومة المضادين الجنتاميسين و التوبراميسين 53.3% و 41.2% على التوالي.

الكشف الجزيئي عن جينات مقاومة مضادات الأمينوكلايكوسيدات

انتخبت 21 عزلة من بكتريا المكورات المعوية البرازية التي أبدت مقاومة عالية لمجموعة مضادات الأمينوكلايكوسيدات عند اجراء فحص الحساسية الدوائية لها، بالإضافة الى قدرتها على انتاج الاغشية الحيوية، من خلال هذا تم التحري جزيئياً باستعمال تقنية الـPCR عن الجين *aac(6')-Ie–aph(2")-Ia* والجين *aph(2")Ic* والجين *aph(2")Id* المسؤولة عن مقاومة بكتريا المكورات المعوية البرازية لمجموعة مضادات الأمينوكلايكوسيدات فكانت النتائج تشر الى امتلاك 17 عزلة بنسبة 80.95% من بكتريا الـ*E. faecalis* لجين *aac(6')-Ie–aph(2")-Ia* من خلال ما انتجته من حزم وراثية بحجم 348 زوج قاعدي عند مقارنة الحزم الوراثية المتضاعفة مع الدليل الحجمي في المسار (M)، الشكل (4-13 A)، جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما توصل اليه Jannati و جماعته (2020) إذ وجدوا بكتريا الـ *E. faecalis* تمتلك جين بنسبة 8 (72.7%)، في اختلفت دراسة Peyvasti و جماعته (2022) الذين وجدوا جين في 91 عزلة من بكتريا المكورات المعوية البرازية بنسبة 46.70%.

كما اشارت نتائج الترحيل الكهربائي لجين *aph(2")-Ic* امتلاك 16 عزلة من بكتريا المكورات المعوية البرازية بنسبة 76.19% بوزن جزيئي بلغ 448 زوج قاعدي عند مقارنة الحزم الوراثية المتضاعفة مع الدليل الحجمي في المسار (M)، كما أظهرت النتائج الجزيئية أن 13 عزلة بنسبة 61.9% من بكتريا المكورات المعوية البرازية تمتلك جين *aph(2")-Id* من خلال ما انتجته من حزم وراثية بحجم 423 زوج قاعدي عند مقارنة الحزم الوراثية المتضاعفة مع الدليل الحجمي في المسار (M).

تحليل شجر العلاقات التطورية الوراثية لجينات مقاومة مضادات الأمينوكلايكوسيدات

تم اجراء تحليل الشجرة الوراثية لجينات المقاومة وهي جين *aac (6 ') - Ie-aph (2 ') – Ia* و جين *aph (2') - Ic* و*aph (2") – Id* باستعمال برنامج MUEGA 6 بعد ادخال التسلسل التتابعي لكل جين في البرنامج و اجراء عملية الاصطفاف للقواعد النيتروجينية لكل جين للعزلات بكتريا المكورات المعوية البرازية قيد الدراسة مع التسلسلات التتابعية للعزل العالمية المودعة في بنك الجينات العالمي (NCBI-GenBank)، (الشكل 14-4)، ثم بعد ذلك تم انشاء شجرة العلاقات التطورية باستعمال طريقة

(UPGMA)، أظهرت النتائج هناك تقارباً وراثياً عالياً لكل الجينات المقاومة قيد الدراسة مع عزل العالمية من بكتريا المكورات المعوية البرازية الامريكية والصينية و اليابانية و السويدية و البرازيلية، و يرجع انتشار هذه الجينات المقاومة لمضادات الحيوية الأمينوكلايكوسيدات بين العزلات المحلية و العالمية و هذا قد يعود لعدة أسباب اهما، انتشار استعمال العشوائي للمضادات الحيوية بدون وصفة طبيب و استعمال المنظفات و المطهرات بكميات كبيرة في الحياة اليومية و استعمال المبيدات الحشرية في الحقول، والتخلص غير المنظم من المخلفات الكيميائية في المصانع والتي لم يتم تخفيفها إلى تراكيز غير سام للكائنات قبل تخلص منها في البيئة، و هذا يؤدي الى حدوث طفرات وراثية في جينات المقاومة للكائنات وخاصة البكتريا المقاومة (Ni *et al.*, 2020). و هذا التقارب الحاصل قد يكون نتيجة وجود بسبب ارتفاع معدل التبادل التجاري و الاقتصادي ما بين العراق و هذه البلدان او نتيجة عودة العراقيين المغتربين بهذه البلدان الى العراق، هناك عوامل اخرى ممكن ان تساهم في نقل الجينات التي تحملها البكتريا بين الدول وتصبح متقاربة كما توصلت اليه هذه الدراسة من خلال الشجرة الوراثية و وجدت الدراسة الحالية لتقارب الجينات المحلية مع جينات العزلات العالمية، من تلك العوامل هو السفر المواطنين، إذ تعد أمريكا و السويد والصين من الدول التي يرتادها العراقيون بشكل واسع للسياحة و التجارة و الدراسة والعلاج، مما يؤدي الى انتقال الجينات المقلومة بعد اصابة حامليها ببكتريا مقاومة للمضادات الحياتية او تنقل بشكل ميكانيكي الى داخل العراق، و هذا يؤدي الى انتقال جينات المقاومة من بكتريا حاملة لها الى بكتريا غير مقاومة بواسطة البلازميدات او العناصر المتنقلة، و بهذا تصبح البكتريا تمتلك مقاومة متعددة للمضادات الحيوية (Ferreira *et al.*, 2019).

المصادر References

García-Solache, M., & Rice, L. B. (2019). The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. *Clinical microbiology reviews*, *32*(2), 10-1128.

Beganovic, M., Luther, M. K., Rice, L. B., Arias, C. A., Rybak, M. J., & LaPlante, K. L. (2018). A review of combination antimicrobial therapy for *Enterococcus faecalis* bloodstream infections and infective endocarditis. *Clinical Infectious Diseases*, *67*(2), 303-309.

Teixeira, N., Varahan, S., Gorman, M. J., Palmer, K. L., Zaidman-Remy, A., Yokohata, R., ... & de Fátima Silva Lopes, M. (2013). Drosophila host model reveals new *Enterococcus faecalis* quorum-sensing associated virulence factors. *Public Library of Science one*, *8*(5), e64740.

Sahib, A. A., & Xigheer, M. H. (2019). Study to determination minimum inhibitory concentration (MIC) values of different antibiotics against the common isolates of *Enterococcus* that isolated from pregnant women urine by agar dilution method. *Journal University of Kerbala*, *17*(1).

Diab, M., Salem, D., El-Shenawy, A., El-Far, A., Abdelghany, A., Awad, A. R., ... & Shemis, M. (2019). Detection of high level aminoglycoside resistance genes among clinical isolates of *Enterococcus* species. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, *20*(1), 1-6.

Montalbán-López, M., Cebrián, R., Galera, R., Mingorance, L., Martín-Platero, A. M., Valdivia, E., ... & Maqueda, M. (2020). Synergy of

the Bacteriocin AS-48 and antibiotics against uropathogenic Enterococci. *Antibiotics*, *9*(9), 567.

Naqid, I. A., Hussein, N. R., Balatay, A., Saeed, K. A., & Ahmed, H. A. (2020). Antibiotic susceptibility patterns of uropathogens isolated from female patients with urinary tract infection in Duhok province, Iraq. *Jundishapur Journal of Health Sciences*, *12*(3).

Jannati, E., Amirmozaffari, N., Saadatmand, S., & Arzanlou, M. (2020). Faecal carriage of high-level aminoglycoside-resistant and ampicillin-resistant *Enterococcus* species in healthy Iranian children. *Journal of global antimicrobial resistance*, *20*, 135-144.

Peyvasti, V. S., Mobarez, A. M., Shahcheraghi, F., Khoramabadi, N., Rahmati, N. R., & Doust, R. H. (2020). High-level aminoglycoside resistance and distribution of aminoglycoside resistance genes among *Enterococcus* spp. clinical isolates in Tehran, Iran. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *20*, 318-323.

Ni, R. T., Onishi, M., Mizusawa, M., Kitagawa, R., Kishino, T., Matsubara, F., ... & Ogawa, W. (2020). The role of RND-type efflux pumps in multidrug-resistant mutants of *Klebsiella pneumoniae*. *Scientific reports*, *10*(1), 1-10.

Ferreira, S., Luis, A., Oleastro, M., Pereira, L., & Domingues, F. C. (2019). A meta-analytic perspective on Arcobacter spp. antibiotic resistance. *Journal of global antimicrobial resistance*, *16*, 130-139.