

# ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG KHÁNG SINH CỦA ENTEROCOCCUS FAECALIS MANG GEN KHÁNG VANCOMYCIN PHÂN LẬP TỪ NGƯỜI, ĐỘNG VẬT, THỰC PHẨM VÀ NGOẠI CẢNH

Hoàng Thị An Hà<sup>1,2,✉</sup>, Trần Huy Hoàng<sup>3</sup>, Nguyễn Vũ Trung<sup>4</sup>  
Nguyễn Hà Thanh<sup>3</sup>, Phạm Duy Thái<sup>3</sup>, Ngô Thị Hồng Hạnh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y khoa Vinh

<sup>2</sup>Trường Đại học Y Hà Nội

<sup>3</sup>Viện Vệ sinh dịch tễ Trung Ương

<sup>4</sup>Cục KHCN và Đào tạo-Bộ Y tế

*Enterococcus* kháng vancomycin (VRE) là mối đe dọa toàn cầu về kháng kháng sinh không chỉ trong bệnh viện mà ở cả cộng đồng. Sự xuất hiện VRE có thể liên quan đến sử dụng avopacin - một yếu tố kích thích sự tăng trưởng trong chăn nuôi ở động vật. Các VRE có thể lan truyền sang người, thực phẩm, nước thải và xa hơn thông qua các sinh vật trung gian như ruồi. 709 chủng *E. faecalis* đã được phân lập từ người, vật nuôi, ruồi, nước thải trong các trang trại chăn nuôi và từ thực phẩm ở các chợ lân cận. Bằng kỹ thuật PCR xác định các gen liên quan đến tính kháng vancomycin bao gồm van A, van B, van C<sub>1</sub>, van C<sub>2</sub>, van D, van M và van N. Có 24 chủng dương tính với van C (3,4%) trong đó 15 chủng mang gen van C<sub>1</sub>, 9 chủng mang gen van C<sub>2</sub>. Không phát hiện thấy các gen van còn lại trên bất kỳ chủng nào. Sử dụng kỹ thuật MIC thử nghiệm tính nhạy cảm với vancomycin cho thấy, chỉ có 3/709 chủng (chiếm 0,4%) biểu hiện kiểu hình kháng vancomycin với MIC = 32µg/ml (theo CLSI 2020) được phân lập từ phân người và ở ruồi. Tỷ lệ *E. faecalis* kháng vancomycin trong cộng đồng còn thấp, tuy nhiên vẫn là mối đe dọa tiềm ẩn đối với sức khỏe con người.

**Từ khóa:** VRE (*Enterococcus* kháng vancomycin), *E. faecalis*, kháng kháng sinh, vancomycin.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vancomycin được coi là một trong những loại thuốc kháng sinh cuối cùng khi hầu hết các loại thuốc kháng sinh khác đều thất bại trong việc điều trị các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn Gram dương gây ra. *Enterococcus* kháng vancomycin (VRE) là một tác nhân gây nhiễm khuẩn quan trọng ở người và mang các yếu tố có thể lan truyền sự đề kháng. Trong số các enterococci, *E. faecalis* là nguyên nhân hàng đầu của một số bệnh nhiễm trùng ở người, bao gồm nhiễm khuẩn huyết, viêm nội tâm mạc,

nhiễm trùng đường tiết niệu, nhiễm trùng vết thương và viêm màng não.<sup>1</sup> Vấn đề trở nên phức tạp hơn bởi tình trạng kháng kháng sinh liên quan đến sử dụng kháng sinh trong các trang trại chăn nuôi, chẳng hạn như mối liên hệ giữa việc sử dụng avoparcin (một chất thúc đẩy tăng trưởng ở lợn, gia cầm) và sự xuất hiện VRE ở người đã được nhiều nghiên cứu chứng minh.<sup>2-4</sup> Sự lây lan nhanh chóng và sự lựa chọn kháng sinh hạn chế đối với VRE làm cho các chủng này nổi lên như một trong những tác nhân nhiễm trùng bệnh viện quan trọng nhất trên toàn thế giới với tỷ lệ mắc và tử vong ở mức độ cao.<sup>5</sup> Các cơ chế kháng vancomycin ở *Enterococcus* đã được mô tả. Có chín operon chứa các gen van A, B, C, D, E, G, L, M và van

Tác giả liên hệ: Hoàng Thị An Hà

Trường Đại học Y khoa Vinh

Email: anha@vnu.edu.vn

Ngày nhận: 03/12/2021

Ngày được chấp nhận: 21/12/2021

N quy định tính kháng với vancomycin trong đó *van A* là loại phổ biến nhất và thường phân lập được từ các chủng lâm sàng.<sup>6</sup> Tuy nhiên, đáng chú ý các loài *E. gallinarum* và *E. casseliflavus* mang các gen kháng vancomycin tự nhiên như *van C<sub>1</sub>*, *van C<sub>2</sub>*, *van C<sub>3</sub>* có khả năng được lan truyền thông qua plasmid, transposon sang các loài *Enterococcus* khác trong tự nhiên, làm gia tăng tình trạng kháng kháng sinh gây nên mối đe dọa đối với sức khỏe cộng đồng. Các chủng này có khả năng lan rộng qua trung gian như ruồi, thực phẩm, nước thải. Với vai trò là tác nhân gây bệnh thường gặp nhất trong số các *Enterococcus*, *E. faecalis* có mặt trong đường tiêu hóa của người và động vật cùng với các *Enterococcus* khác, do đó có cơ hội thu nhận gen đề kháng vancomycin cũng như các kháng sinh khác khiến cho nhiễm trùng do chúng gây ra trở nên nghiêm trọng hơn. Chính vì vậy, để tìm hiểu tình trạng kháng kháng sinh, đặc biệt là kháng vancomycin của *E. faecalis* hiện hữu trong cộng đồng, nghiên cứu “Đánh giá khả năng kháng kháng sinh của *Enterococcus faecalis* mang gen kháng vancomycin phân lập từ người, động vật, thực phẩm và ngoại cảnh” được tiến hành với 2 mục tiêu:

1. Xác định sự có mặt của các gen liên quan đến kháng vancomycin và mức độ nhạy cảm với vancomycin ở *E. faecalis* phân lập từ người, động vật trang trại, thực phẩm và ngoại cảnh.

2. Xác định mức độ nhạy cảm của *E. faecalis* mang gen kháng vancomycin đối với các loại kháng sinh.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Đối tượng

Tất cả các chủng *E. faecalis* được phân lập từ 140 mẫu phân người khỏe mạnh, 80 mẫu phân lợn, 191 mẫu phân gà, 54 mẫu phân chó, 74 mẫu nước thải và 144 mẫu ruồi của các trang trại chăn nuôi tại xã Yên Nam, Duy Tiên,

Hà Nam và 70 mẫu thực phẩm (thịt) thu thập ở chợ lân cận.

### Thời gian, địa điểm nghiên cứu

Từ tháng 12/2020 – tháng 7/2021 tại Khoa Vi khuẩn, Viện vệ sinh dịch tễ Trung Ương.

### 2. Phương pháp

Mô tả cắt ngang, phân tích phòng thí nghiệm.

Phương pháp chọn mẫu thuận tiện có chủ đích được áp dụng trong nghiên cứu này. Sau khi các chủ trang trại đồng ý tham gia nghiên cứu, nhóm nghiên cứu sẽ phát dụng cụ và hướng dẫn họ tự thu thập mẫu phân với một lượng khoảng 1/3 lọ. Sau đó, các mẫu phân gà, phân lợn, phân chó, ruồi, nước thải của trang trại đó được nghiên cứu viên thu thập bằng dụng cụ vô khuẩn. Các mẫu thịt được thu thập tại các chợ lân cận.

Mẫu được bảo quản và vận chuyển lạnh về phòng thí nghiệm kháng kháng sinh – Viện vệ sinh dịch tễ Trung ương thực hiện cấy trên môi trường chọn lọc Chromagar dành cho enterococci, ủ 37°C/5-10% CO<sub>2</sub>, 24-48h, chọn 1-3 khuẩn lạc màu hồng trong mỗi mẫu nuôi cấy định danh bằng kỹ thuật Malditof. Nếu là *E. faecalis* sẽ được thu thập hết để tăng thêm độ bao phủ cho nghiên cứu.

Xác định kiểu gen đề kháng vancomycin: *van A*, *van B*, *van C<sub>1</sub>*, *van C<sub>2</sub>*, *van D*, *van N* và *van M* bằng kỹ thuật PCR. Tế bào vi khuẩn từ môi trường BHI được rửa 3 lần trong dung dịch đệm TE, sau đó chiết tách DNA bằng dung dịch TE 1X (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA pH8), ủ 95°C/10 phút, ly tâm 13.000 vòng/phút, hút nước nổi dùng cho PCR.

Các môi cho khuếch đại các gen *van* và chứng dương được cung cấp bởi Trung tâm nghiên cứu kháng kháng sinh, Viện các bệnh truyền nhiễm quốc gia Nhật Bản (Bảng 1). Thành phần của mỗi phản ứng PCR bao gồm: 12.5 µL 2X Go Taq Green Master Mix

(Promega), 0.2  $\mu$ L mỗi ngược và mỗi xuôi mỗi loại (10  $\mu$ M), 1  $\mu$ L ADN khuôn (1-10 ng/ $\mu$ L) và nước Nuclease free vừa đủ 25  $\mu$ L. Phản ứng được thực hiện trên máy luân nhiệt Thermo-cycler (Applied Biosystems, Veriti) theo chương trình: 94°C/2 phút, (94°C/1 phút, 64°C/1 phút, 64°C/1 phút) x 30 chu kỳ, 68°C/7 phút, giữ ở 4°C. Sản phẩm PCR được phát hiện bằng điện di trên agrose 1,5% và nhuộm bằng Red safe.

Xác định kiểu hình kháng vancomycin bằng kỹ thuật pha loãng kháng sinh xác định nồng

độ ức chế tối thiểu (MIC: Minimal inhibitory concentration) trên môi trường đặc. Các chủng mang gen *van* được thử nghiệm thêm mức độ nhạy cảm với các kháng sinh penicillin, ampicillin, tetracyclin, minocyclin, erythromycin, ciprofloxacin, levofloxacin và chloramphenicol bằng kỹ thuật MIC trên thạch Muller-Hinton, kháng aminoglycosid ở mức độ cao (HLAR) trên thạch BHI chứa kháng sinh. Chủng chuẩn *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecalis* ATCC 51299 được sử dụng để kiểm tra chất lượng. Kết quả được biện luận theo CLSI 2020.<sup>7</sup>

**Bảng 1. Trình tự các primer phát hiện các gen kháng vancomycin**

Gen	Prime (5' – 3')	Kích thước (bp)	Tham khảo
van A	GCAAGTCAGGTGAAGATGGA GCTAATACGATCAAGCGGTC	721	8
van B	GATGTGTCGGTAAAATCCGC CCACTTCGCCGACAATCAAA	640	8
van C <sub>1</sub>	GTATCAAGGAAACCTCGCGA CGTAGGATAACCCGACTTCC	836	8
van C <sub>2</sub>	GCAAACGTTGGTACCTGATG GGTGATTTTGGCGCTGATCA	523	8
van D	TGGAATCACAAAATCCGGCG TWCCCGCATTTTTCACAACS	311	8
van M	GGCAGAGATTGCCAACAACA AGGTAAACGAATCTGCCGCT	425	8
van N	CCTCAAATCAGCAGCTAGTG GCTCCTGATAAGTGATACCC	941	8

### 3. Xử lý số liệu

Số liệu được nhập bằng Excel 2016, sau đó được xử lý và phân tích bằng SPSS 20.0.

### 4. Đạo đức nghiên cứu

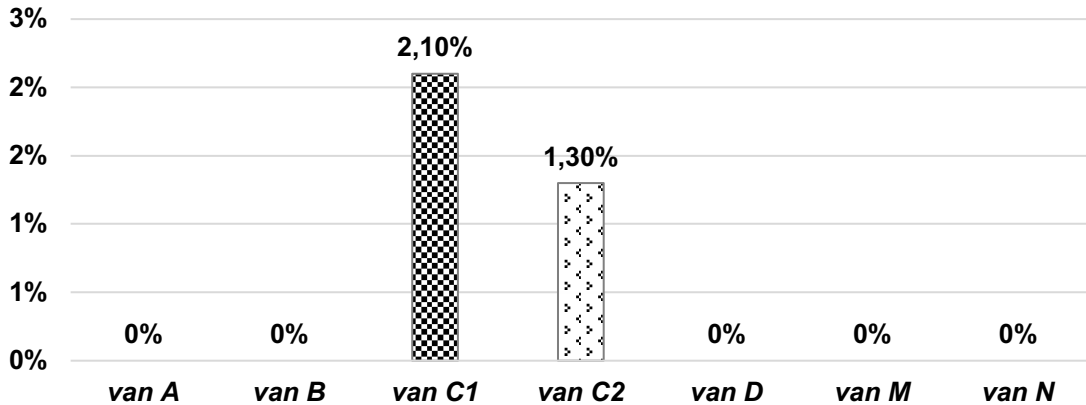
Nghiên cứu này đã được Hội đồng đạo đức trường Đại học Y Hà Nội phê duyệt theo quyết định số NCS05/ĐHYHN-HĐĐĐ ngày 29 tháng 3 năm 2019.

### III. KẾT QUẢ

Nuôi cấy 753 mẫu các loại, *E. faecalis* có mặt trong 55,6% mẫu phân chó, 56,7% mẫu phân gà, 16,3% mẫu phân lợn, 55% ở người, 55,2% mẫu nước thải, 78,1% trên các mẫu ruồi và 76,1% từ thực phẩm chợ. Định danh ngẫu nhiên 1-3 khuẩn lạc nghi ngờ trên mỗi mẫu nuôi cấy thu thập được 709 chủng. Bằng kỹ thuật

PCR xác định kiểu gen kháng vancomycin, cho thấy sự có mặt của *van C*<sub>1</sub> trong 15 chủng và *van C*<sub>2</sub> trong 9 chủng, chiếm tỷ lệ tương ứng là

2,1% và 1,3%. Không tìm thấy sự có mặt của các gen *van A*, *van B*, *van D*, *van M*, *van N* trong bất kỳ chủng nào (Biểu đồ 1).



Biểu đồ 1. Tỷ lệ phát hiện các gen *van* kháng vancomycin

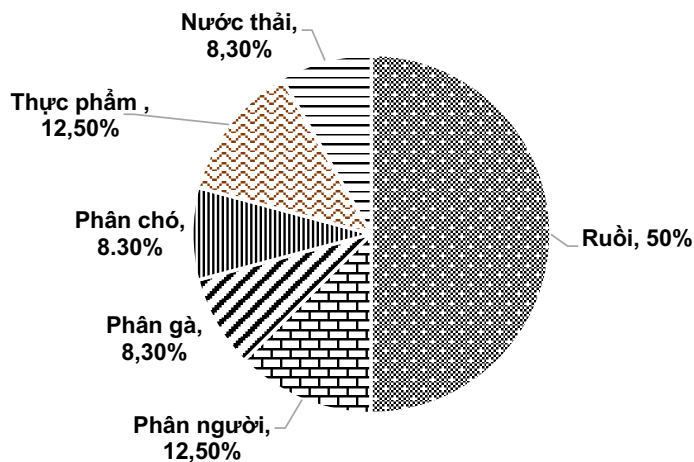
Xác định mức độ nhạy cảm với vancomycin trên tất cả các chủng phân lập được, chỉ có 3 chủng (0,4%) biểu hiện kháng vancomycin (MIC = 32µg/ml), 79 chủng (11,1%) kháng trung

gian (MIC = 8 - 16µg/ml) và 627 chủng (88,4%) nhạy cảm (MIC ≤ 4µg/ml). Giá trị MIC của các chủng được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Giá trị MIC của vancomycin đối với các chủng *E. faecalis*

Giá trị MIC (µg/ml)	0.5 - 1	2 - 4	8	16	32	Tổng
Số chủng (n)	190	437	74	5	3	709
Tỷ lệ %	26,8%	61,6%	10,4%	0,7%	0,4%	100

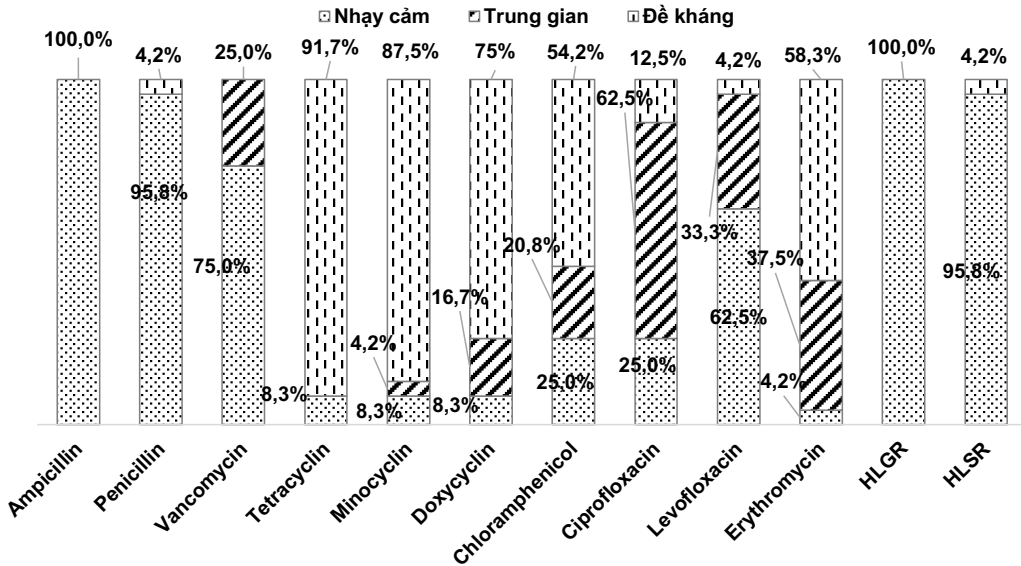
Như vậy, vancomycin còn có tác dụng tốt đối với đa số các chủng *E. faecalis* phân lập ở cộng đồng: 61,6% có MIC từ 2-4µg/ml, 26,8% có MIC dưới 1µg/ml.



Biểu đồ 2. Phân bố các chủng mang gen *van C*

*Van C* được tìm thấy nhiều nhất trên các chủng phân lập từ ruồi, chiếm tới 50%. Sự phân bố *van C* trên các nguồn còn lại không có

sự khác nhau nhiều. Không tìm thấy *E. faecalis* mang gen *van C* từ lợn.



**Biểu đồ 3. Mức độ nhạy cảm với kháng sinh của các chủng *E. faecalis* mang *van C***

Biểu đồ 3 cho thấy, 100% chủng *E. faecalis* nhạy cảm với ampicillin và 95,8% với penicillin. Tỷ lệ đề kháng cao với nhóm tetracyclin (75-91,7%), erythromycin (58,3%). Đáng chú ý, 2 kháng sinh nhóm quinolone (ciprofloxacin và levofloxacin) cũng có sự giảm nhạy cảm đáng kể. 62,5% kháng trung gian với ciprofloxacin,

33,3% với levofloxacin. Không xuất hiện chủng đề kháng cao với gentamicin (HLGR: high level gentamicin resistance) và 1 chủng kháng streptomycin mức độ cao (4,2%). 25% chủng *E. faecalis* mang *van C* kháng trung gian với vancomycin (MIC: 8 - 16µg/ml). Đa số các chủng này là chủng đa kháng kháng sinh.

#### IV. BÀN LUẬN

Tìm hiểu về *E. faecalis* kháng vancomycin từ các bệnh phẩm lâm sàng đã được nhiều nghiên cứu thực hiện, đặc biệt là các nghiên cứu ở nước ngoài. Tuy nhiên, sự có mặt của chúng ở trong cộng đồng cho đến nay chưa được quan tâm đúng mức, đặc biệt tại Việt Nam trong các trang trại chăn nuôi có sử dụng kháng sinh. Vi khuẩn có mặt ở trong phân người, phân động vật hoàn toàn có thể được lan truyền thông qua chuỗi thức ăn, và do đó, luôn tiềm ẩn mối nguy hiểm đối với sức khỏe con người. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ phân lập được *E. faecalis* từ người, động vật, ruồi và nước

thải hầu như trên 50% (55,6%-78,1%), cao hơn so với nghiên cứu của A. de Jong ở chín quốc gia EU năm 2018 với tỷ lệ trung bình chung là 29,2%.<sup>9</sup> Nghiên cứu của I. Kunl và cộng sự tại Thụy Điển và Tây Ban Nha, *E. faecalis* tìm thấy trên 39% người khỏe mạnh, 7% trên lợn, 52% trên gà và 40% trong nước thải.<sup>10</sup> Đáng chú ý, 2 “trung gian” đóng vai trò truyền bệnh quan trọng là ruồi và thực phẩm cũng chứa *E. faecalis* với tỷ lệ cao (>75%). Điều này cho thấy tiềm ẩn nguy cơ lây nhiễm loại vi khuẩn này rất lớn trong cộng đồng.

Phát hiện các gen liên quan đến kháng

vancomycin, tất cả 709 chủng đều không sở hữu *van A*, *van B*, *van D*, *van M*, *van N*, chỉ có 2,3% mang *van C*<sub>1</sub> và 1,9% chứa *van C*<sub>2</sub>, phù hợp với kết quả kiểu hình kháng vancomycin rất thấp (0,4%) ở các chủng thử nghiệm (MIC = 32µg/ml), 88,4% nhạy cảm với vancomycin có MIC ≤ 4µg/ml. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của T. Martin, 29 chủng *E. faecalis* lấy từ đường tiêu hóa của gà không chứa *van A*, *van B*, 3 chủng chứa *van C*<sub>1</sub>.<sup>11</sup> Sự hiện diện của gen *van C*<sub>1</sub> trong các chủng *E. faecalis* nhạy cảm với vancomycin phân lập từ các mẫu phân lợn được mô tả lần đầu tiên ở Đức. Việc phát hiện các gen *van C* này ở *E. faecalis* là rất đáng chú ý vì chúng được cho là gen kháng vancomycin tự nhiên của *E. gallinarum* (*van C*<sub>1</sub>) và *E. casseliflavus* (*van C*<sub>2</sub>/*C*<sub>3</sub>). Operon *vanC* nằm trên nhiễm sắc thể trong vùng có thể di động, chẳng hạn như transposon và/hoặc plasmid.<sup>11</sup> Do đó *E. faecalis* có thể đã thu nhận các gen *van C* bằng cách chuyển ngang từ *E. gallinarum* và *E. casseliflavus*. Trong một nghiên cứu khác, F. Eric lấy mẫu nước thải, đất và phân động vật các khu chăn nuôi xác định được 26 chủng *E. faecalis* trong đó 10 chủng mang *van A*, 6 chủng mang *van B* và 5 chủng chứa *van C*. Thử nghiệm tính nhạy cảm với kháng sinh cho thấy mức độ đề kháng cao được ghi nhận đối với vancomycin (98%), linezolid (98%), penicillin (94%) và erythromycin (82%) so với ciprofloxacin có hiệu quả trên tất cả các chủng phân lập (đề kháng 0%). Mức độ đề kháng thấp được ghi nhận với chloramphenicol (13%). 64%, 47% và 40% các chủng phân lập đề kháng với tetracycline, amoxicillin và ampicillin.<sup>12</sup> Tại Bồ Đào Nha, phân tích từ phân người khỏe mạnh cho thấy sự hiện diện của VRE (5%) có khả năng kháng cao với streptomycin (52% tổng số VRE), kanamycin (40%), hoặc gentamicin (11%). Hầu hết các chủng phân lập cũng đề kháng với tetracycline, erythromycin, ciprofloxacin, và quinupristin-

dalfopristin. Các gen đề kháng vancomycin bao gồm *van A* (nằm trên hai loại Tn1546), *van C*<sub>1</sub>. Các chủng *E. faecalis* và *E. faecium* kháng gentamicin ở mức độ cao có liên quan đến các chủng từ gia cầm đã được mô tả từ trước dựa trên phân tích PFGE.<sup>13</sup> Trái ngược với kết quả trên, các chủng mang gen kháng vancomycin trong nghiên cứu này chỉ có *van C*, được phân lập từ nhiều "ổ chứa" đa dạng trong đó chủ yếu từ ruồi. Tất cả các chủng mang *van C* đều nhạy cảm hoặc trung gian với vancomycin, không xuất hiện chủng đề kháng. Như vậy, 3 chủng kháng vancomycin phát hiện trong nghiên cứu này như đã đề cập ở trên có thể đề kháng nhờ cơ chế khác hoặc các gen *van* khác mà chưa được phát hiện, cần có nghiên cứu sâu hơn như giải trình tự toàn bộ gen để làm sáng tỏ. Giá trị MIC của 24 chủng mang *van C* dao động từ 1-8µg/ml trong đó 25% chủng có MIC=8µg/ml (trung gian), 75% có MIC từ 1-4µg/ml (nhạy cảm). Mức độ hiệu hiện kiểu hình đề kháng này liên quan đến sự cân bằng đạt được giữa tổng hợp peptidoglycan bình thường và không bình thường. Sự hiện diện của một lượng khác nhau của D-Ala-D-Ala so với D-Ala-D-Ser có thể giải thích cho các mức độ kháng vancomycin khác nhau được quan sát thấy trong số các chủng VRE mang *vanC*. Có nghĩa là, MIC thấp hơn có thể được giải thích là do sự hiện diện của lượng DAla-D-Ala (cơ chất bình thường) lớn hơn, cho phép vancomycin ức chế sự tổng hợp thành tế bào, và MIC cao hơn có thể được giải thích là do tỷ lệ D-Ala – D-Ser cao hơn. Sự đề kháng có thể là cảm ứng hoặc do mức độ hoạt động của gen. Kiểm tra tính nhạy cảm với một số kháng sinh thường gặp, β-lactam là lựa chọn tốt do tính nhạy cảm cao, tỷ lệ kháng aminoglycosid mức độ cao cũng rất thấp, 0% với gentamicin và 4% với streptomycin. Đáng chú ý, tỷ lệ *E. faecalis* còn nhạy cảm với ciprofloxacin không cao, chỉ 25% nhưng levofloxacin nhìn chung còn có tác dụng. Một số nghiên cứu khác cũng đã



báo cáo khả năng kháng thuốc của enterococci cao đối với ciprofloxacin và chloramphenicol ở các trang trại chăn nuôi. Nhóm tetracyclin và macrolid có tỷ lệ đề kháng cao nhất, đồng thuận với nhiều nghiên cứu khác.<sup>14,15</sup> Nhìn chung, so với các nghiên cứu trên *E. faecalis* phân lập từ lâm sàng với tỷ lệ kháng vancomycin và các kháng sinh quan trọng khác với mức độ cao<sup>4</sup> thì tỷ lệ *E. faecalis* kháng vancomycin trong cộng đồng vẫn còn thấp. Tuy nhiên, điều đáng lo ngại là sự phân bố các chủng mang gen kháng vancomycin phân bố rất rộng rãi từ nhiều nguồn khác nhau, do đó sẽ nâng cao cơ hội thu nhận và lan truyền gen đề kháng.

## V. KẾT LUẬN

Gen liên quan đến khả năng kháng vancomycin trong các chủng *E. faecalis* phân lập từ người, động vật, nước thải, thực phẩm... ở cộng đồng là *van C*, quy định tính đề kháng thấp với vancomycin, khác với các chủng phân lập từ lâm sàng thường chứa *van A*, *van B* giúp vi khuẩn đề kháng cao hơn. *E. faecalis* mang *van C* còn nhạy cảm tốt với các kháng sinh quan trọng trên lâm sàng như ampicillin, penicillin, levofloxacin... Sự hiện diện của *van C* (nằm trên nhiễm sắc thể *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*) trong các chủng *E. faecalis* là bằng chứng của sự lan truyền gen đề kháng vancomycin.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Elizabeth M. Selleck DVT, Michael S. Gilmore. Pathogenicity of *Enterococci*. *Microbiol Spectr*. 2019;7(4).
2. Hilde Kruse BKJ, et al. The Use of Avoparcin as a Growth Promoter and the Occurrence of Vancomycin-Resistant *Enterococcus* Species in Norwegian Poultry and Swine Production. *Microbial Drug Resistance*. 2009;5(2):135-139.
3. Bager F MM, Christensen J, Aarestrup

FM. Avoparcin used as a growth promoter is associated with the occurrence of Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. *Preventive Veterinary Medicine*. 1999;31(2):95-11.

4. Baptiste MOAaKE. Vancomycin-Resistant Enterococci: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Perspectives of Human and Animal Health. *Microbial Drug Resistance*. 2018;24(5):590-606.

5. Britt NS, Potter EM, McKinnell JA, Patel N, Battersby SE, Steed ME. Secular Trends in Nosocomial Vancomycin-Resistant Enterococcal Bloodstream Infections Among United States Veterans Affairs Hospitals, Fiscal Years 2004 through 2014. *Infect Control Hosp Epidemiol*. Sep 2017;38(9):1114-1116.

6. Protonotariou E DE, Pournaras S, et al. Trends in antimicrobial resistance of clinical isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in Greece between 2002 and 2007. *J Hosp Infect*. 2007;75:225-227.

7. CLSI. *M100 - Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Vol 30th Edition 2020.

8. Takahiro Nomuraa YH, Jun Kurushimaa et al. New colony multiplex PCR assays for the detection and discrimination of vancomycin-resistant enterococcal species. *Journal of Microbiological Methods*. 2018;145:69-72.

9. A. de Jong SS, F. E. Garch et al. . Antimicrobial susceptibility of enterococci recovered from healthy cattle, pigs and chickens in nine EU countries (EASSA Study) to critically important antibiotics. *Veterinary Microbiology*. 2018;216(168-175).

10. Inger Kuřhna Alea. Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment – a European study. *International Journal of Food Microbiology*. 2003;88:133 – 145.

11. Tiane Martin de Moura APVC. Detection of vanC1 gene transcription in vancomycin-susceptible *Enterococcus faecalis* Mem. Inst. Oswaldo Cruz 2019;108(4).

12. Frank Eric Tatsing Foka CNA. Detection of Virulence Genes in Multidrug Resistant Enterococci Isolated from Feedlots Dairy and Beef Cattle: Implications for Human Health and Food Safety. *BioMed Research International*. 2019;2019.

13. C.Novais, T.N. Coque et al. Antimicrobial resistance among faecal enterococci from

healthy individuals in Portugal. *Clinical Microbiology Infection*. 2006;12(11):1131-1134.

14. Tanih GN. Genotypic and Phenotypic characterization of enterococci from cow dung and environmental water sources in three selected dairy farms in Amathole District, . *University of Fort Hare, South Africa*. 2016.

15. N. Ünal ŞA, and M. Yildirim. Antibiotic resistance profile of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolated from broiler cloacal samples. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 2017;41(2):199-203.

## Summary

### ASSESSMENT OF THE ANTBIOTIC RESITANCE OF ENTEROCOCCUS FAECALIS HARBOR VANCOMYCIN RESISTANT GENES IN HUMANS, ANIMALS, FOOD AND ENVIRONMENT

Vancomycin-resistant enterococcus is a worldwide threat not only in hospitals, but also in communities. The occurrence of VRE may be related to the use of avopacin - a growth factor in animals. VRE can spreads to people, food, wastewater and further through intermediate vectors such as flies. 709 strains of *E. faecalis* had been isolated from humans, domestic animals, flies, and wastewater from livestock farms and from food in neighboring markets. By PCR, the genes related to vancomycin resistance were identified, including van A, van B, van C1, van C2, van D, van M and van N. There were 24 strains positive for van C (3.4%), of which 15 strains carry the van C1 gene, 9 strains carry the van C2 gene. All other van gene was not detected. Using MIC technique to test for vancomycin susceptibility, only 3/709 strains (accounting for 0.4%) exhibiting vancomycin-resistant phenotype with MIC = 32µg/ml (according to CLSI 2020) are derived from human feces and flies. Vancomycin resistant *E. faecalis* rate in the community is low, but it is still a potential threat to human health.

**Keywords:** VRE (Vancomycin resistant enterococci), *E. faecalis*, antibiotic resistance, vancomycin.