

## Nitrofurantoin sensitivity in vancomycin resistant enterococcus

Teymounejad O<sup>1</sup>, Mohabati Mobarez A<sup>2\*</sup>, Hosseini Doust R<sup>3</sup>

1- PhD student of Bacteriology, Department of Bacteriology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- Associate professor, Department of Bacteriology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3- Professor, Department of Microbiology, Baghyatollah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received 7 Nov 2009 Accepted 6 Jan 2010

### Abstract

**Background** Vancomycin resistant *enterococcus* (VRE) is the third major cause of nosocomial infections in hospitals after *staphylococcus* and *E. coli*. The aim of this study was to evaluate resistance pattern of VRE to the antibiotics recommended by CLSI.

**Materials and Methods:** In this clinical trial, 833 enterococci, obtained from urine, wound, blood, and stool, were selectively collected from hospitals in Tehran. After verification of the VRE isolates through the use of 30µg vancomycin disc and agar dilution, VREs were isolated, and their inhibiting concentrations were determined. The sensitivity of these enterococci to antibiotics was assessed at CLSI's M100 standard.

**Results:** Of the 833 isolated enterococci, 4% had a high level of resistance to vancomycin, and 38.5% had a low level of resistance to vancomycin. Of the VREs, 8.5%, 85%, 50%, 42%, 94%, 30%, 70%, 24%, 6%, and 97% were resistant to vancomycin, ampicilin, erythromycin, tetracycline, rifampin, chloramphenicol, gentamicin, synercid, linzolid and penicillin, respectively. All these VRE isolates were sensitive to nitrofurantoin.

**Conclusion:** In this study, all VRE isolates were sensitive to nitroforantoin, and this antibiotic, as a drug of choice for urinary tract infections, can also be recommended in the treatment of resistant enterococci.

**Keywords:** Clinical sample, Nitrofurantoin, VRE

\* Corresponding author:

Email: mmmobarez@modares.ac.ir

Address: 14115-111, Department of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

## حساسیت به نیتروفوران‌توئین در انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکومايسين

امید تیمور نژاد<sup>1</sup>، دکتر اشرف محبتي مبارز<sup>2\*</sup>، دکتر رضا حسینی دوست<sup>3</sup>

- 1- دانشجوی دکترای تخصصی باکتری شناسی پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- 2- دانشیار، دکترای تخصصی میکروب شناسی پزشکی، گروه باکتری شناسی پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- 3- استاد، دکترای تخصصی باکتری شناسی پزشکی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...، تهران، ایران

تاریخ دریافت 88/8/16، تاریخ پذیرش 88/10/16

### چکیده

**زمینه و هدف:** انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکومايسين سومین عامل مهم عفونت‌های بیمارستانی بعد از استافیلوکوکسی و اشرشیا کولی می‌باشند. هدف از این مطالعه ارزیابی الگوی مقاومت انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکومايسين نسبت به آنتی بیوتیک‌های پیشنهاد شده توسط انستیتو استاندارد آزمایشگاه‌های بالینی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی 833 انتروکوکسی از بیمارستان‌های منتخب تهران از نمونه‌های ادرار، خون، زخم و سایر نمونه‌ها جمع‌آوری و بعد از تایید ایزوله‌ها، با استفاده از دیسک 30 میکروگرمی ونکومايسين و رقت سازی در آگار با استفاده از پودر ونکومايسين، انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکومايسين جداسازی و حداقل غلظت بازدارنده آنها تعیین شد سپس حساسیت این انتروکوکسی‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های پیشنهاد شده در استاندارد (M 100) انستیتو استاندارد برای درمان انتروکوکسی ارزیابی شد.

**یافته‌ها:** از 833 انتروکوکسی جدا شده به ترتیب 4 و 38/5 درصد دارای مقاومت سطح بالا و مقاومت سطح پایین نسبت به ونکومايسين بودند. 85، 97، 42، 94، 30، 70، 24 و 6 درصد از آنهایی که دارای مقاومت سطح بالا بودند نسبت به آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین، تتراسیکلین، ریفامپین، کلرامفنیکل، جنتامیسین، سینرسید و لینوزولید مقاوم بودند. تمامی این انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکومايسين به نیتروفوران‌توئین حساس بودند.

**نتیجه‌گیری:** در این مطالعه تمامی انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکومايسين نسبت به نیتروفوران‌توئین حساس بودند و این آنتی بیوتیک به عنوان یک داروی انتخابی در عفونت‌های ادراری می‌تواند برای درمان انتروکوکسی‌های مقاوم نیز مناسب معرفی گردد.

**واژگان کلیدی:** نمونه کلینیکی، نیتروفوران‌توئین، انتروکوکسی مقاوم به ونکومايسين

\*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه باکتری شناسی. صندوق پستی 111-14115

Email: mmmobarez@modares.ac.ir

## مقدمه

انتروکوکسی ها کوکسی های گرم مثبت، فلورنرمال روده انسان و بعضی از حیوانات هستند که در شرایط خاص توانایی تهاجم و ایجاد بیماری های خطرناکی را دارند. در گذشته این ارگانیسم ها غیر بیماری زا تلقی می شدند ولی بعد از جدا سازی این باکتری از بیماران دارای بیماری زمینه ای و پیدایش سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک های مختلف، اهمیت آنها مورد توجه قرار گرفت (1). در شرایط طبیعی انتروکوکسی ها مشکل آفرین نیستند. این ارگانیسم ها در افراد با مشکل زمینه ای ایجاد بیماری می کنند که درمان آنها به ونکومايسين پاسخ نمی دهد. به علت حضور ژن مقاومت روی یک ترانسپوزون، این ژن قادر است از طریق پلاسمید کونژوگاتیو به باکتری های خطرناکی از قبیل استافیلوکوکسی منتقل شود. عدم توانایی درمان استافیلوکوکسی مقاوم به ونکومايسين یک مسئله بسیار مهم است (1، 2).

عفونت های مجاری ادراری 30 تا 40 درصد از مجموع عفونت های اکتسابی بیمارستانی را تشکیل می دهند و شایع ترین عفونت ایجاد شده ناشی از انتروکوکسی ها هستند. این عفونت ها ناشی از اقامت طولانی و قرار گرفتن سوند در دستگاه ادراری - تناسلی می باشند. این سویه ها در برابر بسیاری از آنتی بیوتیک ها مقاوم هستند (3).

انتروکوکسی ها عامل شایع سیستیت، پروستاتیت و اپیدیدیمیت در افراد مسن می باشند. در این افراد عفونت های دستگاه ادراری فوقانی می تواند منجر به باکتری می گشته و در خانم های جوان، عامل سیستیت مزمن غیر شایع می باشد (4). در بخش ICU انتروکوکسی ها به خصوص انتروکوکسی های مقاوم در برابر وانکومايسين (Vancomycin Resistant Enterococcus -VRE) بیماری زای عمده دستگاه ادراری هستند (5).

بر اساس مطالعات اپیدمیولوژی جنس انتروکوکوس فکالیس مسئول اکثر عفونت های انتروکوکسی می باشد ولی مقاومت به ونکومايسين بیشتر در انتروکوکوس فاسیوم که 10 درصد عفونت ها را سبب می گردد، دیده می شود (6، 7). کسب مقاومت در سطوح بالا به

آمینوگلیکوزیدها، پنی سیلین و ونکومايسين باعث ایجاد مشکلاتی جهت درمان عفونت های ناشی از انتروکوکسی ها به خصوص انتروکوکوس فاسیوم شده است (8).

ژن مقاومت نسبت به گلیکوپپتیدها از انتروکوکوس فکالیس به استافیلوکوکوس اورئوس از طریق کونژوگاسیون منتقل می گردد (1، 2).

در این مطالعه ما به بررسی میزان شیوع مقاومت انتروکوکسی های مقاوم به ونکومايسين (VRE) نسبت به آنتی بیوتیک های پیشنهاد شده توسط انستیتو استاندارد آزمایشگاه های بالینی (Clinical Laboratory of Standards Institute- CLSI) پرداختیم.

## مواد و روش ها

این مطالعه که یک پژوهش تجربی-آزمایشگاهی بر روی 833 انتروکوکسی می باشد که از مهر ماه 1383 لغایت مهرماه 1386 از بیمارستان های لبافی نژاد، شهدای تجریش، شریعتی، بقیه ا...، مرکز طبی کودکان و امیر اعلم جمع آوری شد. نمونه های مشکوک از زخم، خون، ادرار، مدفوع، آبه و سایر نمونه های بیماران بستری و سرپایی تهیه شدند.

برای تایید سویه های انتروکوکسی جدا شده از بیماران از محیط بایل اسکولین آگار و محیط نمک 6/5 درصد استفاده شد. فقط انتروکوکسی قادر است در این محیط ها رشد کند.

برای تعیین گونه انتروکوکسی از توانایی گونه های مختلف در مصرف آرابینوز و سوربیتول در محیط نیمه جامد (OF (Oxidation-Fermentation) و همچنین تولید پیگمان در محیط آگار BHI (Brain Heart Infusion Agar) استفاده شد.

در ابتدا با روش انتشار در دیسک (Disk Diffusion)، مقاومت انتروکوکسی ها نسبت به ونکومايسين بررسی شد، دیسک های 30 میکروگرمی ونکومايسين از شرکت (UK, Mast) تهیه شده بود. در مرحله بعد انتروکوکسی هایی که هاله  $\geq 14$  میلی متر داشتند با آزمایش

بر اساس تست‌های تعیین گونه هر 33 نمونه (100 درصد) انتروکوکسی با مقاومت سطح بالا به ونکومايسين، انتروکوکوس فاسيوم بودند و از 321 انتروکوکسی با مقاومت سطح پايين نسبت به ونکومايسين 125 مورد (39 درصد) انتروکوکوس فاسيوم و 196 مورد (61 درصد) انتروکوکوس فکاليس بودند.

97 درصد، 85 درصد، 50 درصد، 42 درصد، 94 درصد، 30 درصد، 70 درصد، 24 درصد و 6 درصد از انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکومايسين به ترتيب نسبت به پنی سيلين، آمپی سيلين، اريترومايسين، تراسيکلين، ريفامپين، کلرامفنیکل، جنتامایسین، سینرسید و لینزولید مقاوم بودند اما هیچ مقاومتی نسبت به نیتروفوراتوئین مشاهده نشد.

### بحث

انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکومايسين از سال 1986 مطرح شدند. اگرچه اولین بار در بخش کلیه بیمارستانی در لندن به وجود این میکروارگانیسم‌ها پی بردند ولی میزان شیوع آنها در کشورهای اروپایی کمتر از میزان شیوع آنها در کشورهای آمریکایی بود (8،7).

مواردی همچون اقامت طولانی در بیمارستان، استفاده نامناسب از آنتی‌بیوتیک‌هایی چون نسل سوم سفالوسپورنی‌ها و ونکومايسين، استفاده از آووپارسين در غذای حیوانات، پیوند اعضا، مصرف مترونیدازول، اعمال جراحی، دیابت، لوسمی‌ها، ضعف سیستم ایمنی به هر دلیل و نارسایی کلیه به عنوان عوامل مستعد کننده در کلونیزاسیون یا عفونت بیماران با این میکروارگانیسم‌ها مطرح هستند (9).

بیشتر انتروکوکسی‌های مقاوم را انتروکوکوس فاسيوم به خود اختصاص داده است (6) و همان طور که در این بررسی نیز مشاهده می‌شود تمامی انتروکوکسی‌های دارای مقاومت سطح بالا به ونکومايسين انتروکوکوس فاسيوم بود ولی میزان انتروکوکوس فکاليس در سویه‌های با مقاومت سطح پايين به ونکومايسين بالاتر است.

رقت سازی در آگار (Agar dilution) که برای بررسی مقاومت استاندارد طلایی است مورد بررسی قرار داده شدند. الگوی مقاومت انتروکوکسی‌هایی که بر اساس رقت سازی در آگار نسبت به ونکومايسين مقاوم بودند نسبت به تمام آنتی‌بیوتیک‌های پیشنهاد شده در پروتکل M100 که توسط انستیتو استاندارد ارایه شده، مورد بررسی قرار گرفته شد که شامل آنتی‌بیوتیک‌های پنی سيلين (10 واحد)، آمپی سيلين (10 میکروگرم)، تیکوپلانتین (30 میکروگرم)، تراسيکلين (30 میکروگرم)، نیتروفوراتوئین (30 میکروگرم)، ريفامپين (5 میکروگرم)، کلرامفنیکل (30 میکروگرم)، کوئینو پرستین - دالفوپرستین (سینرسید) (15 میکروگرم)، لینزولید (30 میکروگرم) و جنتامایسین (120 میکروگرم) بودند.

این آنتی‌بیوتیک‌ها تماما از شرکت Mast تهیه شد و با روش استاندارد انتشار دیسک بر روی تمام سویه‌های مقاوم به ونکومايسين مورد استفاده قرار گرفت.

### یافته‌ها

از میان 833 انتروکوکسی جدا شده از نمونه‌های مختلف 354 (42/5 درصد) انتروکوکسی با روش انتشار در دیسک به ونکومايسين مقاوم بودند اما باروش رقت سازی در آگار فقط 33 (4 درصد) انتروکوکسی مقاومت سطح بالا نسبت به ونکومايسين نشان دادند.

321 (38/5 درصد) انتروکوکسی با روش انتشار دیسک به ونکومايسين مقاوم بودند ولی با روش رقت سازی در آگار مقاوم شناخته نشدند، این دسته از انتروکوکسی‌ها سویه‌هایی با مقاومت سطح پايين (Vancomycin Intermediate Enterococcus- VIE) در نظر گرفته می‌شوند.

از بین 833 نمونه، 551 مورد (66 درصد)، 165 مورد (19/8 درصد)، 107 مورد (12/8 درصد)، 7 مورد (0/8 درصد)، 1 مورد (0/12 درصد)، 1 مورد (0/12 درصد) و 3 مورد (0/36 درصد) به ترتيب از ادرار، خون، زخم، آسیت، تراشه، ترشح مجرا و مدفوع به دست آمده بود.

همان‌طور که در این تحقیق مشاهده می‌شود سطح بسیار بالای مقاومت به گروه پنی‌سیلین‌ها کاملاً مشهود است و سطح مقاومت به ریفامپین و جنتامایسین نیز بالاست.

آنتی‌بیوتیک‌های شایع مورد استفاده برای عفونت‌های ناشی از انتروکوکسی ترکیب دو دارویی آمپی‌سیلین و جنتامایسین می‌باشد (10) و همان‌طور که در این بررسی مشاهده شد انتروکوکسی‌های جدا شده از بیماران 85 درصد نسبت به آمپی‌سیلین و 70 درصد نسبت به جنتامایسین مقاوم بودند البته استفاده دو آنتی‌بیوتیک به‌طور هم‌زمان میزان مقاومت را کاهش خواهد داد ولی باز هم میزان بالایی از مقاومت را نشان می‌دهد.

ونکوما‌سین یک راه کار مناسب برای انتروکوکسی‌های مقاوم به ترکیب آمپی‌سیلین و جنتامایسین بود ولی میزان مقاومت به این آنتی‌بیوتیک نیز در حال افزایش است به طوری که میزان آن در آمریکا به 10 درصد هم می‌رسد که به علت استفاده از گلیکوپپتیدها مثل آووپارسین در غذای دام می‌باشد (11). میزان مقاومت به ونکوما‌سین در این مطالعه نیز مشاهده شد به طوری که 4 درصد از انتروکوکسی‌ها دارای مقاومت سطح بالا و 38/5 درصد دارای مقاومت سطح پایین نسبت به ونکوما‌سین بودند.

پس از افزایش شیوع مقاومت انتروکوکسی‌ها به ونکوما‌سین آنتی‌بیوتیک‌های جدیدی مثل کوئینوپریستین - دالفوپریستین (سینرسید) و لیزولید مورد استفاده قرار گرفتند (12، 13). ترکیب سینرسید یک آنتی‌بیوتیک مناسب برای گرم‌مثبت‌ها است ولی میزان مقاومت در انتروکوکسی‌ها نسبت به این آنتی‌بیوتیک نیز کم نمی‌باشد. در این تحقیق نیز 24 درصد انتروکوکسی‌ها نسبت به سینرسید مقاوم بودند. لیزولید یک داروی موثر برای عفونت‌های گرم‌مثبت و به ویژه انتروکوکسی می‌باشد و میزان مقاومت هنوز در مناطق مختلف دنیا پایین است و در برخی کشورها در حد گزارش مورد وجود دارد (14). میزان مقاومت لیزولید در این مطالعه 6 درصد به دست آمد.

نکته جالب این است که هیچ یک از انتروکوکسی‌های دارای مقاومت سطح بالا نسبت به ونکوما‌سین به نیتروفوران‌توئین مقاوم نبودند و این آنتی‌بیوتیک کاملاً بر علیه انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکوما‌سین موثر بود.

نیتروفوران‌توئین یک آنتی‌بیوتیک انتخابی در عفونت‌های ادراری است زیرا به خوبی در مثانه و مجاری ادرار تجمع می‌یابد و انتروکوکسی نیز سومین عامل عفونت‌های ادراری پس از اشیرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد. عفونت‌های ادراری مهم‌ترین عفونت‌های ایجاد شده توسط انتروکوکسی‌ها می‌باشند (15) به طوری که در این بررسی هم ملاحظه شد 66 درصد انتروکوکسی‌ها از عفونت‌های ادراری به دست آمده بود.

نیتروفوران‌توئین یک آنتی‌بیوتیک باکتریواستاتیک و باکتریوسید برای بسیاری از ارگانیزم‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی می‌باشد و بیشترین اثر خود را در pH برابر 5/5 یا پایین‌تر می‌گذارد. این دارو آنتی‌بیوتیک ارزان‌قیمتی است که به صورت خوراکی برای ماه‌ها می‌توان از آن برای سرکوب عفونت‌های ادراری مزمن استفاده کرد (16). الگوی حساسیت انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکوما‌سین نسبت به نیتروفوران‌توئین همان‌طور که در این مطالعه نشان داده شد بسیار امیدبخش می‌باشد. علی‌رغم عوارضی مثل بی‌اشتهایی، تهوع و استفراغ، مزایایی از قبیل ارزان‌بودن و عدم مشاهده بروز مقاومت در میان انتروکوکسی‌های با مقاومت بالا به ونکوما‌سین این دارو را یک کاندید مناسب برای درمان عفونت ادراری ناشی از این نوع انتروکوکسی‌ها قرار داده است.

مکانیسم دقیق اثر این آنتی‌بیوتیک کاملاً مشخص نیست و اثرات متفاوتی از تداخل در متابولیسم تا مهار پروتئین‌سازی را برای آن ذکر می‌کنند، با این حال نیتروفوران‌توئین دارای چندین جایگاه گیرنده مختلف بر روی ریبوزوم است که نقش آن در مهار پروتئین‌سازی را بیش از پیش روشن می‌نماید (17).

the 21st century. Cellular and molecular life sciences. 2003;60(12):2622-36.

8. Murray B. Vancomycin-resistant enterococcal infections. N Engl J Med. 2000 Mar;342(10):710-21.

9. Byers K, Anglim A, Anneski C, Germanson T, Gold H, Durbin L, et al. A hospital epidemic of vancomycin-resistant Enterococcus: risk factors and control. Infect Control Hosp Epidemiol. 2001 Mar;22(3):140-7.

10. Wilson W, Karchmer A, Dajani A, Taubert K, Bayer A, Kaye D, et al. Antibiotic treatment of adults with infective endocarditis due to streptococci, enterococci, staphylococci, and HACEK microorganisms. American Heart Association. JAMA. 1995 Dec;274(21):1706-13.

11. Leclercq R, Courvalin P. Resistance to glycopeptides in enterococci. Clin Infect Dis. 1997 Apr;24(4):545-54; quiz 55-6.

12. Vannuffel P, Di Giambattista M, Cocito C. Chemical probing of virginiamycin M-promoted conformational change of the peptidyl-transferase domain. Nucleic acids research. 1994;22(21):4449.

13. Gonzales R, Schreckenberger P, Graham M, Kelkar S, DenBesten K, Quinn J. Infections due to vancomycin-resistant Enterococcus faecium resistant to linezolid. Lancet. 2001 Apr;357(9263):1179.

14. Yasliani S, Mohabati Mobarez A, Hosseini Doust R, Satari M, Teymornejad O. Linezolid vancomycin resistant Enterococcus isolated from clinical samples in Tehran hospitals. Indian J Med Sci. 2009 Jul;63(7):297-302.

15. Zhanel G, Hoban D, Karlowsky J. Nitrofurantoin is active against vancomycin-resistant enterococci. Antimicrob Agents Chemother. 2001 Jan;45(1):324-6.

16. Butt T, Leghari M, Mahmood A. In-vitro activity of nitrofurantoin in enterococcus urinary tract infection. J Pak Med Assoc. 2004 Sep; 54(9):466-9.

17. Bockstael K, Van Aerschot A. Antimicrobial resistance in bacteria. Central European Journal of Medicine. 2009;4(2):141-55.

## نتیجه گیری

یافته‌های این پژوهش حاکی از این است که نیتروفوراتوئین می‌تواند آخرین راه کار درمان انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکومايسين جدا شده از نمونه‌های بالینی به خصوص عفونت‌های ادراری باشد.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از دانشگاه تربیت مدرس به دلیل حمایت مالی از پروژه و از کارشناسان بخش میکروبی‌شناسی در بیمارستان‌های شهدای تجریش، امیراعلم، شریعتی، لبافی نژاد، بقیه‌ا... و مرکز طبی اطفال که در جمع‌آوری انتروکوکسی‌ها نهایت همکاری را داشتند تشکر می‌نمایم.

## منابع

- Hayden M. Insights into the epidemiology and control of infection with vancomycin-resistant enterococci. Clin Infect Dis. 2000 Oct; 31(4): 1058-65.
- Vilela M, Souza S, Palazzo I, Ferreira J, Morais MJ, Darini A, et al. Identification and molecular characterization of Van A-type vancomycin-resistant Enterococcus faecalis in Northeast of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006 Nov;101(7):715-9.
- Terpenning M, Bradley S, Wan J, Chenoweth C, Jorgensen K, Kauffman C. Colonization and infection with antibiotic-resistant bacteria in a long-term care facility. J Am Geriatr Soc. 1994 Oct; 42(10):1062-9.
- Graninger W, Ragette R. Nosocomial bacteremia due to Enterococcus faecalis without endocarditis. Clin Infect Dis. 1992 Jul;15(1):49-57.
- Fridkin S, Gaynes R. Antimicrobial resistance in intensive care units. Clin Chest Med. 1999 Jun;20(2):303-16, viii.
- Harbarth S, Cosgrove S, Carmeli Y. Effects of antibiotics on nosocomial epidemiology of vancomycin-resistant enterococci. Antimicrob Agents Chemother. 2002 Jun;46(6):1619-28.
- Tendolkar P, Baghdayan A, Shankar N. Pathogenic enterococci: new developments in