

## بررسی فراوانی ژن های بتالاکتاماز وسیع الطیف نوع SHV و SHV-1 در سویه های اشریشیاکلی جدا شده از نمونه ادراری بیماران مراجعه کننده به مراکز درمانی شهرستان سنندج

شیدالسادات ذوالنوری<sup>\*</sup>، کامبیز داوری<sup>۱</sup>، ساکو میرزایی<sup>۲</sup>

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، سنندج، ایران  
 ۲. گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، سنندج، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۸

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۳

### چکیده:

**مقدمه:** امروزه ظهور ارگانسیم‌های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBL) یکی از معضلات درمانی به شمار می‌روند. بتالاکتامازهای وسیع الطیف از جمله آنزیم‌هایی هستند که عامل ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام محسوب می‌شوند. هدف از این مطالعه تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن های SHV و SHV-1 در سویه‌های اشریشیاکلی مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف جدا شده از افراد مبتلا به عفونت ادراری در شهرستان سنندج بود.

**مواد و روش‌ها:** تعداد ۱۵۰ ایزوله اشریشیاکلی از بین ۴۰۶ نمونه ادرار از بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه‌ها و بیمارستان‌های شهرستان سنندج جدا گردید. همه‌ی نمونه‌های اشریشیاکلی با روش‌های مرسوم بیوشیمیایی تعیین هویت شدند. تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن انجام شد، از روش دیسک ترکیبی جهت انجام تست تاییدی تولید ESBL استفاده و نتایج با استاندارد CLSI مقایسه شد. در نهایت ایزوله‌های ESBL مثبت توسط آزمایش PCR از نظر وجود و عدم وجود ژن SHV و SHV-1 بررسی شدند.

**یافته‌های پژوهش:** از تعداد ۱۵۰ ایزوله‌ی اشریشیاکلی، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، پپراسیلین، جنتامایسین، آمیکاسین، ایمپینم، سیپروفلوکساسین، کاربنی‌سیلین، سفپیم، سفنازیدیم، سفوتاکسیم به ترتیب برابر ۲۹٪، ۵۸/۵٪، ۴/۶۶٪، ۱۰٪، ۲۵/۳۳٪، ۳۴/۶۶٪، ۲۶٪، ۲۲٪، ۲۶٪ بود. ۴۳ ایزوله (۲۸/۶۶٪) ESBL مثبت و از بین آنها ۳۴ ایزوله (۷۹/۶٪) دارای ژن SHV و ۳۲ ایزوله (۷۴/۴۱٪) دارای ژن SHV-1 بودند.

**بحث و نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج حاصل شده، فراوانی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین سویه‌های مولد ESBL در شهرستان سنندج بالا است و یافتن راه‌هایی برای جلوگیری از شیوع بیشتر این سویه‌ها ضروری است.

**واژه های کلیدی:** اشریشیاکلی، بتالاکتاماز وسیع الطیف، SHV، SHV-1

\* نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، سنندج، ایران

Email: Sheidazonoori@gmail.com

**مقدمه:**

عفونت ادراری می‌باشد و با توجه به اهمیتی که تعیین نوع و منشأ ژنتیکی ژن‌های ایجاد کننده مقاومت دارد، فراوانی ژن SHV و SHV-1 در سویه‌های اشریشیاکلی مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع‌الطیف جدا شده نیز مورد بررسی قرار گرفت.

سویه‌های اشریشیاکلی، پاتوژن‌های فرصت طلبی هستند که عامل برخی عفونت‌ها، از جمله عفونت ادراری، سپتی‌سمی، عفونت دستگاه تنفسی، عفونت زخم و اسهال محسوب می‌شوند(۱). بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs)، آنزیم‌هایی هستند که باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتاماز از جمله نسل سوم سفالوسپورین‌ها مانند سفوتاکسیم، سفنازیدیم و سفتریاکسون می‌شوند(۲)، این آنزیم‌ها اغلب در خانواده انتروباکتریاسه مانند اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و باکتری‌های دیگر از جمله استافیلوکوکوس اورئوس، هموفیلوس آنفولانزا و سودوموناس آئروجینوزا یافت می‌شوند(۳). تاکنون بیش از ۲۰۰ نوع بتالاکتاماز وسیع‌الطیف شناخته شده، اولین آنزیم بتالاکتامازی وسیع‌الطیف TEM است و در سال ۱۹۶۳ شناسایی شد و انواع دیگر این آنزیم‌ها SHV، CTX، PER و VEB هستند که به تدریج پس از TEM معرفی شدند(۴).

TEM-1 و TEM-2 اولین بار از اشریشیاکلی و SHV-1 از کلبسیلا پنومونیه جدا شدند و اولین مطالعه‌ی سویه‌های کلبسیلا پنومونیه دارای ژن کد کننده بتالاکتامازهای هیدرولیزکننده سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف در سال ۱۹۸۳ در آلمان گزارش شد. ژن‌های کد کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف جدید با ایجاد جهش‌های نقطه‌ای در مقایسه با ژن SHV-1 ایجاد شده است(۵). بدلیل اینکه این آنزیم‌ها وابسته به پلاسمید هستند، به سرعت در بین تمام اعضای خانواده انتروباکتریاسه گسترش یافتند(۶). الگوهای متفاوتی برای طبقه‌بندی بتالاکتامازهای وجود دارد از جمله طبقه‌بندی آمبلر که بر اساس خصوصیات مولکولی و طبقه‌بندی بوش-جاکوبی-مدیروس که براساس خصوصیات عملکردی است. ESBL ها از لحاظ مولکولی در کلاس A و از لحاظ عملکردی در گروه ۲ ، و ژن SHV-1 در گروه ۲b قرار گرفته است (۷).

در سال‌های اخیر اپیدمی‌های متعدد عفونت ادراری با ارگانسیم‌های ESBL مثبت در سراسر دنیا گزارش شده اند(۸) هدف از این مطالعه بررسی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی در اشریشیاکلی های عامل

**مواد و روش‌ها**

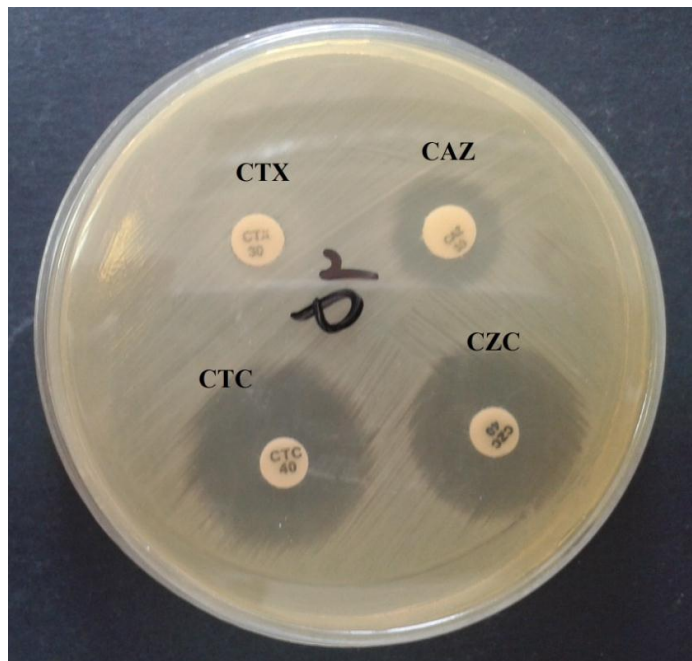
این تحقیق توصیفی- مقطعی بر روی بیماران مشکوک به عفونت ادراری مراجعه کننده به بیمارستان‌ها و آزمایشگاه‌های تشخیصی طبی شهرستان سنندج انجام گرفته است. نمونه‌های مورد مطالعه را باکتری‌های اشریشیاکلی تشکیل می‌داد و مجموعاً ۴۰۶ نمونه ادرار در فاصله زمانی آذر ۹۳ تا اردیبهشت ۹۴ از افراد مراجعه کننده جمع‌آوری شد و ۱۵۰ ایزوله‌ی اشریشیاکلی عامل عفونت ادراری با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی مرسوم نظیر آزمایش متیل‌رد- وژپروسکوئر(MR-VP)، سیمون‌سیترات(CS) و بررسی SH2-اندول-حرکت(SIM)، جدا گردید. پس از تعیین هویت نهایی باکتری‌های اشریشیاکلی بصورت کشت ذخیره در محیط TSB در فریژر و در دمای ۷۰- جهت مراحل بعدی نگهداری شد. سپس آزمایش تعیین حساسیت و مقاومت به روش دیسک دیفیوژن(kirby-baur) صورت گرفت. دیسک‌های مورد استفاده شامل آمیکاسین(۳۰ μg)، جنتامایسین(۱۰ μg)، پپراسیلین(۱۰۰ μg)، سفنازیدیم(۳۰ μg)، سفوتاکسیم(۳۰ μg)، سیپروفلوکساسین(۵ μg)، آمیکاسین(۳۰ μg)، کاربنی‌سیلین(۱۰۰ μg)، سفپیم(۳۰ μg)، سفتریاکسون(۳۰ μg)، ایمپنم(۱۰ μg)، خریداری شده از شرکت Mast بودند.

- آزمایش تولید آنزیم بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBL):

برای این منظور از تست فنوتیپی تاییدی (Phenotypic Confirmatory Test)(دیسک ترکیبی) استفاده شد. دیسک‌های مورد آزمایش شامل سفنازیدیم/کلولانیک اسید (CA 10 μg/CAZ 30 μg) و سفوتاکسیم کلولانیک اسید(CA 10 μg/CTX 30 μg)، سفنازیدیم و سفوتاکسیم از شرکت Mast بودند. بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C از طریق

های ترکیبی به عنوان مولد این آنزیم در نظر گرفته شدند(شکل ۱).

افزایش اختلاف قطر هاله عدم رشد به اندازه ۵ میلیمتر یا بیشتر در مقایسه با حالت بدون استفاده از دیسک-



شکل ۱: نمونه‌ای از نتایج آزمایش دیسک ترکیبی روی محیط مولر هیتون آگار

مخلوط واکنش در حجم نهایی  $25\mu\text{l}$  تهیه شد و ترکیبات واکنش شامل  $1\mu\text{l}$  از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت ( $2\mu\text{l}$  در کل)،  $1/5\mu\text{l}$  آب دیونیزه،  $12/5\mu\text{l}$  ماستر میکس و  $2\mu\text{l}$  DNA الگوی استخراج شده بود. مشخصات پرایمرهای استفاده شده در جدول (۱) ذکر شده است. و نتیجه آزمایش PCR با تزریق محصول PCR روی ژل آگارز  $1/5\%$  با ولتاژ  $100\text{V}$  به مدت  $40$  دقیقه و با استفاده از نشانگر  $100\text{bp}$  تعیین گردید.

- استخراج DNA و شناسایی ژن های  $\text{bla}_{\text{SHV}}$  و  $\text{bla}_{\text{SHV-1}}$ :  
DNA ایزوله های ESBL با استفاده از پروتکل قرار گرفته در کیت استخراج DNA باکتری‌های گرم منفی خریداری شده از شرکت سیناکلون استخراج شد، و کیفیت DNA های استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت. واکنش PCR نیز برای ژن  $\text{bla}_{\text{SHV}}$  ( $790\text{bp}$ ) (۹)، و  $\text{bla}_{\text{SHV-1}}$  ( $308\text{bp}$ ) (۱۰) تحت شرایط مندرج در جدول (۲) انجام شد.

جدول ۱: توالی پرایمرهای استفاده شده

نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه قطعه تکثیر شده (bp)	منبع
SHV	F:TTATCTCCCTGTTAGCCACC R:GATTTGCTGATTTGCTCGG	۸۰۸	(۹)
SHV-1	F:CTGGGAAACGGAAGTGAAT R:GGGGTATCCCGCAGATAAAT	۳۰۸	(۱۰)

جدول ۲: شرایط انجام آزمایش PCR

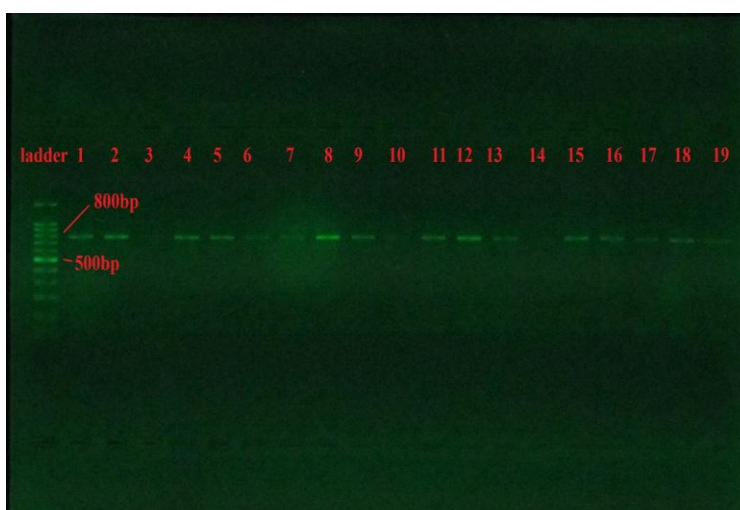
	SHV	SHV-1
Denaturation	۹۴°C/۲min	۹۴°C/۲min
	۹۴°C/۳۰s	۹۴°C/۳۰s
Anealling	۴۶°C/۳۰s	۴۳°C/۳۰s
Extention	۷۲°C/۱min	۷۲°C/۱min
	۷۲°C/۴min	۷۲°C/۴min
cycles	۳۰	۳۰

### یافته های پژوهش

در مطالعه‌ی حاضر از مجموع ۴۰۶ نمونه ادرار ۱۵۰ سویه جدا شده اشريشیاکلی که ۱۳۷ ایزوله (۹۱/۴٪) از خانم‌ها و ۱۳ ایزوله (۸/۶٪) از آقایان جدا شده بود شناسایی شدند. نمونه‌ها از افراد بیماری که بین ۱ ماه تا ۹۳ سال سن داشتند جداسازی شدند. با آزمایش دیسک دیفیوژن مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون (۲۹٪)، پیراسیلین (۵۸/۵٪)، جنتامایسین (۴/۶۶٪)، ایمپینم (۲۵/۳۳٪)، سیپروفلوکساسین (۳۴/۶۶٪)، کاربنی‌سیلین (۲۶٪)، سفپیم (۲۲٪)، سفنازیدیم (۲۶٪) و سفوتاکسیم (۲۸/۶۶٪) برآورد شد، سویه‌هایی که در آزمایش دیسک دیفیوژن قطر هاله‌ی عدم رشد ایجاد

شده اطراف دیسک های آنتی بیوتیک سفوتاکسیم و سفنازیدیم بکار گرفته برای آن ها کمتر از ۲۲mm اندازه گیری شد، به عنوان سویه مقاوم به این آنتی-بیوتیک ها در نظر گرفته شدند برای تولید آنزیم بتالاکتامازی وسیع الطیف از طریق آزمون دیسک ترکیبی مورد ارزیابی قرار گرفتند که از بین آن ها ۴۳ سویه جدا شده (۲۸/۶۶٪) به عنوان مولد این آنزیم در نظر گرفته شدند.

در آزمایش PCR برای بررسی فراوانی ژن SHV و SHV-1 از تعداد ۴۳ ایزوله ESBL مثبت نشان داده شد که ۳۴ (۷۹/۰۶٪) نمونه دارای ژن bla<sub>SHV</sub> (شکل ۲) و ۳۲ (۷۴/۴۱٪) نمونه دارای ژن bla<sub>SHV-1</sub> بودند (شکل ۳).



شکل ۲: نتایج الکتروفورز محصول PCR ژن SHV برای ۱۸ مورد از نمونه های بالینی. شماره ۱: سویه استاندارد اشريشیاکلی ATCC35218 به عنوان کنترل مثبت نمونه‌های ۲ تا ۱۹ سویه های بالینی جدا شده اشريشیاکلی، در میان این ۱۸ نمونه شماره-های ۳، ۱۰ و ۱۴ فاقد ژن مورد نظر هستند .

### بحث و نتیجه گیری

اشريشیاکلی های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL)، یک گروه از پاتوژن های مهم در سراسر

جهان محسوب می‌شوند. اشريشیاکلی مهم ترین عامل عفونت های ادراری اکتسابی از جامعه است، و ایزوله-های تولید کننده ESBL این باکتری در برابر بسیاری

از عوامل ضد میکروبی قابل استفاده برای درمان این دسته عفونت‌ها مقاوم شده‌اند (۱۱). ESBL‌ها علیه مونوباکتام‌ها و اکسی‌ایمونو سفالوسپورین‌ها، به استثنای سفامیسین فعال هستند (۱۲). در این مطالعه اکثر افراد مبتلا به عفونت ادراری زنان بودند که دلیل آن می‌تواند مربوط به آناتومی خاص دستگاه ادراری و کوتاه بودن مجرای ادراری زنان باشد. با بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بیشترین مقاومت نسبت به پپراسیلین (۵/۵۸٪) و سیپروفلوکساسین (۳۴/۶۶٪) و کمترین مقاومت نسبت به جنتامیسین (۴/۶۶٪) و آمیکاسین (۱۰٪) گزارش شد و در نتیجه دو آنتی‌بیوتیک جنتامیسین و آمیکاسین می‌توانند داروهای موثری در درمان عفونت ادراری ناشی از اشریشیاکلی باشند.

در مطالعه‌ی حاضر ایزوله‌های اشریشیاکلی، مولد آنزیم‌های بتالاکتامازی در مقایسه با سایر شهرهای ایران از شیوع کمتری برخوردار است (۲۸/۶۶)، اما به طور کلی شیوع این نوع آنزیم‌ها در اکثر مناطق جغرافیایی در حال افزایش است و یکی از مهمترین دلایل آن می‌تواند مصرف خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی ذکر شود. از جمله روش‌های غلبه بر مقاومت بتالاکتام‌ها، استفاده از ممانعت‌کننده‌های آن‌ها مانند تازوباکتام، سولباکتام و کلولانیک اسید است که به صورت کووالانت به سایت فعال بتالاکتام‌های کلاس A متصل می‌شوند (۱۳).

میزان ESBL در سویه‌های جدا شده از کشورهای مختلف و هم‌چنین در یک کشور از یک بیمارستان با بیمارستان دیگر متفاوت می‌باشد که این مسئله بستگی به سیستم کنترل عفونت و رژیم درمانی دارد (۱۴). فراوانی ژن بتالاکتامازی نوع SHV-1 و SHV در این مطالعه به ترتیب (۷۹/۶٪) و (۷۴/۴۱٪) گزارش گردید و این آمار قابل مقایسه با آمار بدست آمده از سایر شهرها و استان‌های ایران است. در سال ۱۳۸۶ در اصفهان فراوانی اشریشیاکلی مولد ESBL ۵۱٪ و فراوانی ژن SHV در ۱۳ سویه اشریشیاکلی (۶۹/۲٪) (۱۵)، در سال ۱۳۸۷ در تبریز (۹۷/۵۶٪) سویه‌ها ESBL مثبت و (۱۷/۰۷٪) دارای ژن SHV بودند (۱۲)، در ۱۳۸۹ در تهران (۴۴/۳٪) سویه ESBL و (۷۰/۶۶٪) حاوی SHV (۱۴)، در سال ۱۳۹۱

تهران (۹۳/۶۹٪) سویه مولد ESBL و (۷۰/۶٪) حامل SHV (۱۶)، در سال ۱۳۹۱ در اهواز (۳۰/۵٪) مولد ESBL و (۱۵٪) حاوی ژن SHV (۱۷)، در سال ۱۳۹۴ در تهران نمونه‌های اشریشیاکلی بررسی شد که هیچکدام دارای ژن SHV نبودند (۱۸). آمار زیادی در رابطه با شیوع ژن SHV-1 در اشریشیاکلی در ایران گزارش نگردیده، اما فراوانی این ژن در ۱۳۹۴ در اردبیل در ۳۷/۵٪ سویه‌های اشریشیاکلی ESBL مثبت (۱۸/۷٪) حاوی ژن SHV-1 بودند (۱۹)، در سال ۱۳۹۱ طی مطالعه‌ای که در اهواز انجام گرفته است ۴۶/۱۵٪ نمونه‌ها دارای ژن SHV-1 گزارش شدند (۲۰) واضح است آمار بدست آمده از مطالعات مختلف هم خوانی ندارند، با توجه به نتایج حاصل شده در بررسی حاضر ۲۶/۶۶٪ ایزوله‌های ESBL آن‌ها دارای ژن SHV-1 بودند که می‌تواند تاییدی بر پراکنش مختلف این ژن‌ها در مناطق مختلف باشد. نوع SHV بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف نسبت به سایر انواع ESBL‌ها از شیوع بیشتری برخوردار است و به آسانی از نمونه‌های بالینی قابل جداسازی هستند و دلیل پراکندگی غیر یکسان در مناطق جغرافیایی می‌تواند به دلیل پراکندگی مختلف جمعیت از لحاظ جنسیت و سن افراد مراجعه‌کننده به مراکز درمانی در مقطع زمانی مورد بررسی و منبع آلودگی و روش‌های کنترل این منابع آلودگی و داروهای تجویزی در برابر عفونت و سطح بهداشت در مناطق مختلف جغرافیایی باشد. نتایج حاصل شده از این بررسی نشان می‌دهد، شیوع سویه‌های اشریشیاکلی مولد ESBL در حال افزایش است و هم‌چنین فراوانی ژن بتالاکتامازی وسیع‌الطیف SHV و SHV-1 نیز در شهرستان سنندج بسیار بالاست. ESBL‌ها به عنوان عاملی مهم در عدم موفقیت آنتی‌بیوتیک درمانی محسوب می‌شوند لذا یافتن راه‌هایی برای جلوگیری از شیوع بیشتر آن‌ها ضروری و اجتناب‌ناپذیر است. با توجه به این امر که سویه‌های ESBL به فراوانی گسترش پیدا کرده‌اند پیشنهاد می‌شود در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی آزمایش دیسک‌ترکیبی را برای افتراق سویه‌های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و کمک به تجویز داروی مناسب بکار گرفته شود.

## References

1. ALsubol I, Youssef N. Prevalence of CTX-M, TEM and SHV betalactamases in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from Aleppo University hospitals Aleppo Syria. *Arch Clin Infect Dis* 2015; 10:211-9.
2. Ramazanzade R, Farhadifar F, Mansuri M. Etiology and antibiotic resistance patterns of community acquired extended spectrum betalactamase producing gram negative isolates in Sanandaj. *Res J Med Sci* 2010; 4:243-7.
3. Ashrafian F, Askari E, Kalamatizade E, Ghaboulshahroodi M, Naderinasab M. The frequency of extended spectrum beta lactamase in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* a report from Mashhad Iran. *J Med Bacteriol* 2013; 2:12-9.
4. Malloy AM, Campos JM. Extended spectrum betalactamases a brief clinical update. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30:1092-3.
5. Chong Y. Extended-spectrum betalactamase producing bacteria an emerging clinical concern. *Res Technol Adv* 2011; 22:141-6.
6. Kurokawa H, Shibata N, Doi Y, Shibayama K, Kamachi N, Yagi T, et al. A new TEM-derived extended-spectrum betalactamase with an R164C substitution at the  $\Omega$ -loop confers ceftazidime resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 47:2981-3.
7. Sarah M, Bonomo D, Bonomo R. Three decades of b-lactamase inhibitors. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23:160-201.
8. Haghghatpanah M, Amirmozafari N, Faezi M, Shenagar M. [The study of antibiotic resistance and detection of extended spectrum betalactamase in clinical isolates of ESBL producing *Escherichia coli* in Rasht]. *J Ilam Uni Med Sci* 2014; 22:180-9. (Persian)
9. Sharma J, Sharma M, Ray P. Detection of TEM and SHV genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in a tertiary care hospital from India. *Indian J Med Res* 2010; 132:332-6.
10. Khosravi A, Hoveizavy H, Mehdinejad M. Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* encoding genes for Ctx-M-1, Tem-1 and Shv-1 extended-spectrum beta lactamases enzymes in clinical specimens. *Jundishapur J Microbiol* 2012; 6:123-8.
11. Rodriguez J, Joan C, Joze M, Cisneros M, Grill F, Oliver A, et al. Community Infections Caused by Extended-Spectrum-Lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Int Med* 2008; 168:1897-902.
12. Mobasherkarjedi A, Nahai M, Mobin H, Pornur M, Sadeghi J. [Molecular analysis of beta extended-spectrum betalactamase gene type SHV in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in clinical samples collected from 4 medical centre in Tabriz city]. *Iran Med Microbiol J* 2008; 2:9-17. (Persian)
13. Paganrodriguez D, Zhou X, Simmons R, Bethel CR, Hujer AM, Helfand MS et al. Tazobactam inactivation of SHV-1 and the inhibitor-resistant ser130  $\rightarrow$  Gly SHV-1 betalactamase. *J Biol Chem* 2004; 279: 19494-501.
14. Yazdi M, Nazemi A, Nargesi M, Khatami nejad M, Sharifi S, Kuchaksaraie M. [Prevalence of betalactamase resistance genes SHV/CTX-M/TEM in *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection in Tehran]. *J Lab Sci* 2010; 4:22-8. (Persian)
15. Masjedjanjazi F, Valahi F, Talebi A, Rastegar lari A. [Molecular investigation in extended spectrum betalactamase resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*]. *Iran Med Microbiol J* 2007; 1:27-34. (Persian)
16. Yazdi M, Nazemi, Mirinargasi, Jafarpour, Sharifi SH. Genotypic versus phenotypic methods to detect extended-spectrum beta-lactamases in uropathogenic *Escherichia coli*. *Ann Biolo Res* 2012; 3:2454-8.
17. Moosavian M, Deiham B. Distribution of TEM, SHV and CTX-M genes among ESBL-producing Enterobacteriaceae isolates in Iran. *Afr J Microbiol Res* 2012; 6:5433-9
18. Miraalami Gh, Parviz M, Khalajzadeh S. Evaluation of antibiotic resistance in extended-spectrum betalactamase genes in the *E. coli* isolates of urinary infections. *J Babol Uni Med* 2015; 17:19-26.

19. Farid S, Peeridogaheh H, Ghiami Rad M. [Prevalence of SHV-1 Type extended- spectrum  $\beta$ -lactamases in Enterobacteriaceae isolated from urinary samples in Ardabil Iran]. J Ardabil Uni Med Sci 2015; 15: 311- 19. (Persian)
20. Khosravi AD, Hoveizavi H, Mehdinejad M. Prevalence of Klebsiella pneumonia encoding genes for CTX-M-1, TEM-1 AND SHV-1 extended-spectrum beta lactmases enzymes in clinical specimens. Jundishapur J Microbiol 2013; 6:765-85.

## The Prevalence of SHV and SHV-1 Type of Extended-Spectrum-Betalactamase Genes in Escherichia coli Strains Isolated from Urine Samples of Patients Referring to Health Centers of Sanandaj

Zonouri S<sup>1\*</sup>, Davari K<sup>1</sup>, Mirzaie S<sup>2</sup>

(Received: January 23, 2016 Accepted: February 27, 2016)

### Abstract

**Introduction:** Today, emergence of extended spectrum betalactamase(ESBL) producing organisms are one of the health problems. Extended spectrum betalactamases are enzymes which cause the resistance to betalactam antibiotics. The aim of this study was to determine the antibiotic resistance pattern and prevalence of SHV and SHV-1 genes in ESBL – producing Escherichia coli isolated from urinary tract infection in Sanandaj.

**Materials & methods:** 150 isolated Escherichia coli from 406 urinary samples from patients referring to health center of Sanandaj were collected. All Escherichia coli samples were identified by conventional biochemical tests. Antibiotic susceptibility testing was performed by disk diffusion method. Combined disk was also utilized as a confirmatory test, and results were compared with CLSI standards. The ESBL positive isolates were investigated by PCR for detecting SHV and SHV-1 genes.

**Findings:** From total of 150 Escherichia coli isolates, resistance to ceftriaxone, piperacillin, gentamycin, amikacin, imipenem, ciprofloxacin, carbenicillin, cefepime, ceftazidime and cefotaxime were 29%, 58.5%, 4.66%, 10%, 33.25%, 34.66%, 26%, 22%, 26% and 28.66% respectively. 43 isolates were ESBL positive and among them 34 isolates (79.6%) contained SHV and 32 isolates (74.41%) had SHV-1 gene.

**Discussion & conclusions:** According to the results, the prevalence of antibiotic resistant strains and also ESBL producing strains in Sanandaj is high and finding ways to prevent the spread of these stains is important.

**Keywords:** Escherichia coli, Extended Spectrum Beta Lactamase, SHV, SHV-1

1. Dept of Microbiology, Faculty of Science, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

2. Dept of Biochemistry Faculty of Science, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

\* Correspondin author Email: Sheidazonoori@gmail.com