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

شیداالسادات ذوالنوری*[1]، کامبیز داوری[1]، ساکو میرزایی[2]

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 دریافت: ۹۴/۱۱/۳ تاریخ پذیرش:۹۴/۱۲/۸**

**چکیده:**

***مقدمه:*** امروزه ظهور ارگانیسم‌های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع‌الطیف(ESBL) یکی از معضلات درمانی به شمار می‌روند. بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف از جمله آنزیم‌هایی هستند که عامل ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام محسوب می‌شوند. هدف از این مطالعه تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های SHV و SHV-1 در سویه‌های اشریشیاکلی مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع‌الطیف 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، پیپراسیلین، جنتامایسین، آمیکاسین، ایمیپنم، سیپروفلوکساسین، کاربنی‌سیلین، سفپیم، سفتازیدیم، سفوتاکسیم به ترتیب برابر ۲۹٪، ۵۸/۵٪، ۴/۶۶٪، ۱۰٪، ۲۵/۳۳٪، ۳۴/۶۶٪، ۲۶٪، ۲۲٪، ۲۶٪، ۲۶/۶۶٪ بودند. ۴۳ ایزوله(۲۸/۶۶٪) ESBL مثبت و ازبین 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 وسیع‌الطیف، SHV، SHV-1

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

*Email: Sheidazonoori@gmail.com*

*Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.*

**مقدمه:**

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 بتالاکتام از جمله نسل سوم سفالوسپورین‌ها مانند سفوتاکسیم، سفتازیدیم و سفتریاکسون می‌شوند(۲)، این آنزیم‌ها اغلب در خانواده انتروباکتریاسه مانند اشریشیاکلی، کلبسیلاپنومونیه و باکتری‌های دیگر از جمله استافیلوکوکوس اورئوس، هموفیلوس آنفولانزا و سودوموناس آئروجینوزا یافت می‌شوند(۳). تاکنون بیش از ۲۰۰ نوع بتالاکتاماز وسیع-الطیف 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 کلبسیلاپنومونیه دارای ژن کد کننده بتالاکتامازهای هیدرولیزکننده سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف در سال ۱۹۸۳ در آلمان گزارش شد. ژن-های 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 طبقه بندی 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 ارگانیسم‌های ESBL مثبت در سراسر دنیا گزارش شده اند(۸) هدف از این مطالعه بررسی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی در اشریشیاکلی های عامل عفونت ادراری می‌باشد و با توجه به اهمیتی که تعیین نوع و منشا 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.

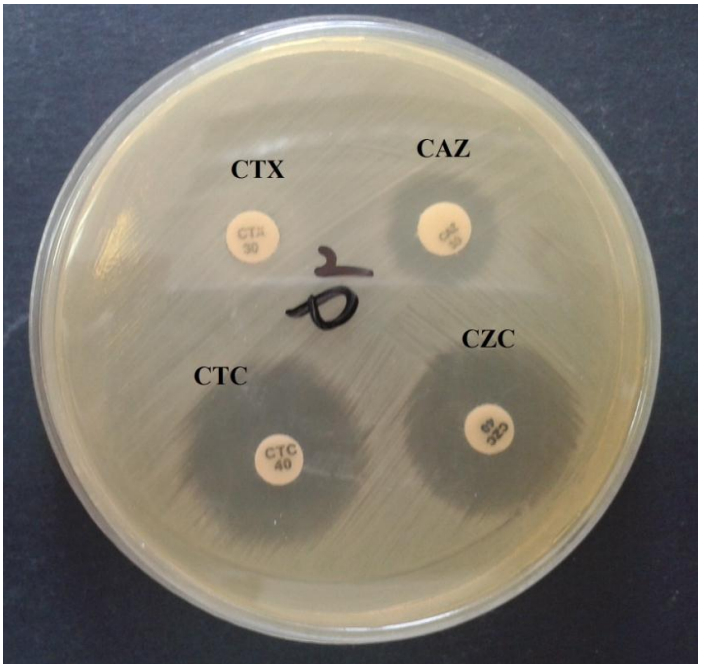
## مواد و روش‌ها

این تحقیق توصیفی- مقطعی برروی 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 مجموعا 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 فریزر 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 شامل آمیکاسین(۳۰µg)، جنتامایسین(۱۰µg)، پیپراسیلین(۱۰۰µg)، سفتازیدیم(۳۰µg)، سفوتاکسیم(۳۰µg)، سیپروفلوکساسین(۵µg)، آمیکاسین(۳۰µg)، کاربنی‌سیلین(۱۰۰µg)، سفپیم(۳۰µg)، سفتریاکسون(۳۰µg)، ایمیپنم(۱۰µg)، 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 سفتازیدیم/کلاولانیک اسید( CAZ 30µg/CA 10µg) و سفوتاکسیم کلاولانیک اسید(CTX 30µg/CA 10µg)، سفتازیدیم و سفوتاکسیم از شرکت Mast بودند. بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C از طریق

افزایش اختلاف قطر هاله عدم رشد به اندازه ۵ میلیمتر یا بیشتر در مقایسه با حالت بدون استفاده از دیسک-های ترکیبی به عنوان مولد این آنزیم در نظرگرفته شدند(شکل ۱).




شکل۱: نمونه‌ای از نتایج آزمایش دیسک ترکیبی روی محیط مولرهینتون آگار

- استخراج DNA و شناسایی ژن های $bla_{SHV}$ و $bla_{SHV-1}$:

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 DNAهای استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت.

واکنش PCR نیز برای ژن $bla_{SHV}$ (۷۹۰ bp)(۹) ، $bla_{SHV-1}$ (۳۰۸ bp) (۱۰) تحت شرایط مندرج در جدول (۲) انجام شد.

مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۵µl تهیه شد و ترکیبات واکنش شامل ۱µl از هرکدام از پرایمرهای رفت و برگشت(۲µl درکل)، ۸/۵µl آب دیونیزه، ۱۲/۵µl مستر میکس و ۲µlDNA 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 ۱/۵٪ با ولتاژ ۱۰۰v به مدت ۴۰ دقیقه و با استفاده از نشانگر ۱۰۰bp تعیین گردید.

**جدول ۱: توالی پرایمرهای استفاده شده**

| نام پرایمر | توالی پرایمر | اندازه قطعه تکثیر شده(bp) | منبع |
|---|---|---|---|
| SHV | F:TTATCTCCCTGTTAGCCACC<br>R:GATTTGCTGATTTCGCTCGG | ۸۰۸ | (۹) |
| SHV-1 | F: CTGGGAAACGGAACTGAAT<br>R:GGGGTATCCCGCAGATAAAT | ۳۰۸ | (۱۰) |

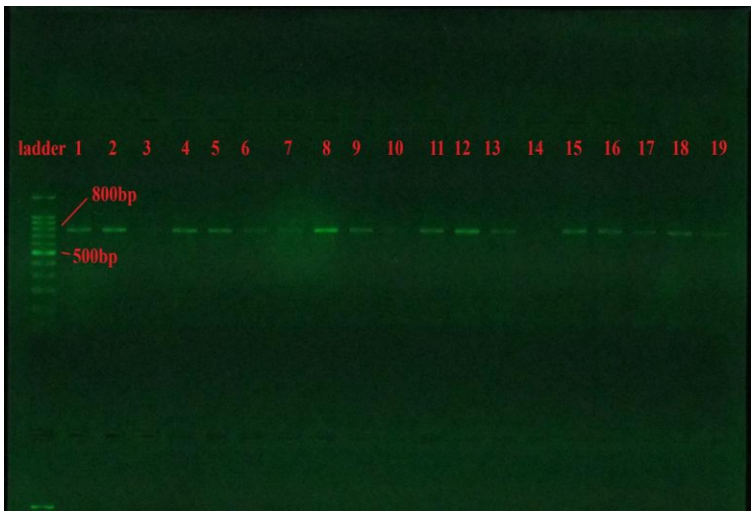
**جدول۲: شرایط انجام آزمایش PCR**

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

## یافته های پژوهش

در مطالعه‌ی حاضر از مجموع ۴۰۶ نمونه ادرار ۱۵۰ سویه جدا شده اشریشیاکلی که ۱۳۷ ایزوله(۹۱/۴٪) از خانم‌ها و ۱۳ ایزوله (۸/۶٪) از آقایان جدا شده بود شناسایی شدند. نمونه ها از افراد بیماری که بین ۱ماه تا ۹۳ سال سن داشتند جداسازی شدند. با آزمایش دیسک دیفیوژن مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون(۲۹٪)، پیپراسیلین(۵۸/۵٪)، جنتامایسین(۴/۶۶٪)، آمیکاسین(۱۰٪)، ایمیپنم(۲۵/۳۳٪)، سیپروفلوکساسین(۳۴/۶۶٪)، کاربنی‌سیلین(۲۶٪)، سفپیم(۲۲٪)، سفتازیدیم(۲۶٪) و سفوتاکسیم(۲۸/۶۶٪) براورد شد، سویه‌هایی که در آزمایش دیسک دیفیوژن قطر هاله‌ی عدم رشد ایجاد شده اطراف دیسک های آنتی بیوتیک سفوتاکسیم و سفتازیدیم 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 جداشده(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 $bla_{SHV}$ (شکل۲) و ۳۲ (۷۴/۴۱٪) نمونه دارای ژن $bla_{SHV-1}$ بودند(شکل۳).




**شکل۲: نتایج الکتروفورز محصول PCR ژن SHV برای ۱۸ مورد از نمونه های بالینی. شماره۱: سویه استاندارد اشریشیاکلی ATCC35218 به عنوان کنترل مثبت نمونه‌های ۲ تا ۱۹ سویه های بالینی جدا شده اشریشیاکلی، در میان این ۱۸ نمونه شماره-های ۳، ۱۰ و ۱۴ فاقد ژن مورد نظر هستند .**

## بحث و نتیجه‌گیری

اشریشیاکلی های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL)، یک گروه از پاتوژن های مهم در سراسر جهان محسوب می‌شوند. اشریشیاکلی 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 عفونت ها مقاوم شده‌اند(۱۱). ESBL ها علیه مونوباکتام‌ها و اکسی ایمونو سفالوسپورین‌ها، به استثنای سفامایسین 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 پیپراسیلین (۵۸/۵٪) و سیپروفلوکساسین(۳۴/۶۶٪) و کمترین مقاومت نسبت به جنتامایسین(۴/۶۶٪) و آمیکاسین(۱۰٪) گزارش شد و در نتیجه دو آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و آمیکاسین می‌توانند داروهای موثری در درمان عفونت ادراری ناشی از اشریشیاکلی باشند.

در مطالعه‌ی حاضر ایزوله های اشریشیاکلی، مولد آنزیم های 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 بتالاکتامازها، استفاده از ممانعت کننده های آن ها مانند تازوباکتام، سولباکتام و کلاولانیک اسید است که به صورت کووالانت به سایت فعال بتالاکتامازهای کلاس A متصل می‌شوند(۱۳).

میزان ESBL در سویه های جدا شده از کشورهای مختلف و هم چنین 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 و SHV-1 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 استان های 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٪) سویه ها ESBL مثبت و (۱۷/۰۷٪) دارای ژن SHV بودند(۱۲)، ۱۳۸۹در تهران (۴۴/۳٪) سویه ESBLُ و (۷۰/۶۶٪) حاوی SHV(۱۴)، در سال ۱۳۹۱ در 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 ۱۳۹۴در 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 مطالعه ای 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٪ ایزوله ها ESBL ۷۴/۴۱٪ آن ها دارای ژن SHV-1 بودند که می‌تواند تاییدی بر پراکنش مختلف این ژن‌ها در مناطق مختلف باشد. نوع SHV بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف نسبت به سایر انواع ESBL ها از شیوع بیشتری برخوردار است و به آسانی از نمونه های بالینی قابل جداسازی هستند و دلیل پراکندگی غیر یکسان در مناطق جغرافیایی می‌تواند به دلیل پراکندگی مختلف جمعیت از لحاظ جنسیت و سن افراد مراجعه کننده 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 سویه های اشریشیاکلی مولد ESBL در حال افزایش است و هم چنین فراوانی ژن بتالاکتامازی وسیع‌الطیف SHV و SHV-1 نیز در شهرستان سنندج بسیار بالاست. ESBL ها به عنوان عاملی مهم در عدم موفقیت آنتی بیوتیک درمانی محسوب می‌شوند لذا یافتن راه هایی برای جلوگیری از شیوع بیشتر آن ها ضروری و اجتناب ناپذیر است. با توجه به این امر که سویه های ESBL به فراوانی گسترش پیدا کرده‌اند پیشنهاد می‌شود در آزمایشگاه های تشخیص طبی آزمایش دیسک ترکیبی را برای افتراق سویه های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف 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 extetnded spectrum betalactamase producing gram negative isolates in Sanandaj. Res J Med Sci 2010; 4:243-7.

3.Ashrafian F, Askari E, Kalamatizade E, Ghaboulishahroodi 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. Extendedspectrum 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 Adv2011;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 Ω-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.Haghighatpanah 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, etal. Community Infections Caused by Extended-Spectrum-Lactamase-producing Escherichia coli. Arch Int Med2008; 168:1897-902.

12.Mobasherkarjedi A, Nahai M, Mobin H, Pornur M, Sadeghi J. [Mulecular analyzis of beta extended-spectrun betalactamase gene type SHV in Eschrichia 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 → 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 betalactamas resistance genes SHV/CTX-M/TEM in Eschrichia coli isolated from urinary tract infection in Tehran]. J Lab Sci 2010; 4:22-8. (Persian)

15.Masjedianjazi F, Valahi F, Talebi A, Rastegar lari A. [Mulecular investigation in extended spectrum betalactamase resistance in Eschrichia 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 β-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[1*], Davari K[1], Mirzaie S[2]*

**(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 Eschrichia 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 Eschrichia coli isolates, resistance to ceftriaxone, pipracillin, 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 pravalence 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 Sience,Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran*
*2. Dept of Biochemistry Facultyof Sience, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran*
** Correspondin author Email: Sheidazonoori@gmail.com*