الآية

بسم الله الرحمن الرحيم

وَفَوْقَ كُلِّ ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ ﴿٧٦﴾

سورة يوسف الآية (76)

Dedication

To

My father:

Abdel Gaffar Mohammed

My mother:

Zobida Awad Al Karim

With deep respect and love

Acknowledgment

Firstly I would like to give highly appreciated thanks to ALMIGHTY ALLAH for giving health and support to finish this work. Great full to all staff members of the department of microbiology; College of medical laboratory Science, Sudan University of Science and Technology. My appreciation and thanks were due to my supervisor Prof. Sulieman Mohammed El Sanousi, for his guidance and support throughout this study.

Lastly my thanks extended to all those who help us to perform this work.

Table of contents

الآية ……..…….……... I

Dedication……..……..……..……..... II

Acknowledgment……..…….....III

Table of contents……... IV

Abstract……..…….….....XII

Arbic Abstract……..…….……...XIV

List of table……..……..…….X

List of figure……...…….……...……... XI

Chapter one

1. Introduction…….…...1

Rational ……3

Objective……....3

General objective……...3

Specific objective……....3

Chapter two

Literature review

2.1 Definition of stress …….....4

2.2 Degree of bacterial injury, cellular adaptation, and resuscitation…..……..4

2.3 Cold stress……..…….....4

2.4 Stress-induced cellular modification and injury….....5

2.4.1 Membrane damage …….....5

2.4.2 Protein and enzyme damage……..….....5

2.4.3 Ribosomal and RNA damage…….……..…….….....5

2.4.4 DNA damage …….....5

2.5 Cold shock response……..…….....6

2.6 Determining microbial sensitivities to antimicrobial agent.....6

2.7 Minimum inhibitory concentration (MIC)…….……..……6

2.8 Epsilometer test (E- test)…….....…….…….....7

2.8.1 History...……....7

2.8.2 Principle …….....7

2.9 *Staphylococci*…….....8

2.9.1 Antigenic Structure……...8

2.9.2 Enzymes & Toxins……..…….....8

2.9.3 Pathogenesis……...9

2.9.4 Diagnostic Laboratory Tests…….....9

2.10 *Klebsiella*……...9

2.10.1 Antigenic Structure…….….....9

2.10.2 Pathology…….10

2.10.3 Diagnostic Laboratory Tests…….…….10

2.11 *Shigellae*……...10

2.11.1 Antigenic Structure……..10

2.11.3 Pathogenesis & Pathology……....10

2.11.4 Diagnostic Laboratory Tests……..11

2.11.5 Treatment…….…….11

2.12 Antimicrobial chemotherapy…….....…….11

2.13 Classification of antimicrobial agent……12

2.13.1 Inhibitor of cell wall synthesis…….12

2.13.1.1 Amoxicillin…….12

2.13.1.1.1 Pharmacokinetic…….13

2.13.1.1.2 Medical uses……....13

2.13.1.1.3 Adverse effects……13

2.13.1.1.5 Mechanism of action……...….13

2.13.1.2 Cephalosporin……..13

2.13.1.2.1 History……...……14

2.13.1.2.2 Mechanism of action……...…….14

2.13.1.2.3 Clinical use…….14

2.13.1.2.4 Adverse effects……..14

2.13.1.2.5 Classification…….15

2.13.1.3 Cephalexin……15

2.13.1.3.1 Pharmacokinetic……...15

2.13.1.3.2 Medical uses……..15

2.13.1.3.3 Ceftriaxone……16

2.13.1.3.4 Pharmacokinetic data……..16

2.13.1.3.5 Clinical use……16

2.13.1.3.6 Adverse effect…….…..16

2.13.2 Inhibition of protein synthesis……...17

2.13.2.1 Aminoglycosides…….…..17

2.13.2.2 Chloramphenicol…….……17

2.13.2.3 History……..…….17

2.13.2.4 Pharmacokinetics……..17

2.13.2.5 Spectrum of activity……18

2.13.2.6 Therapeutic uses……...18

2.13.2.7 Adverse effect……18

2.13.3 Inhibition of nucleic acid synthesis……18

2.13.3.1 Ciprofloxacin……19

2.13.3.2 History……19

2.13.3.3 Pharmacokinetics……..19

2.13.3.4 Medical uses……..19

2.13.3.5 Mechanism of action……20

2.13.4 Antimitabolites affecting nucleic acid synthesis……...20

2.13.4.1 Trimethoprime (and co-trimoxazole)……20

2.13.4.2 Pharmacokinetics…….20

2.13.4.3 Uses……...20

2.13.4.4 Side effect…….21

2.13.4.5 Mechanism of action……...21

Chapter three

3. Materials and Methods

3.2 Methods…….…….....22

3.2.1 Organisms …….…….....22

3.2.2 Measuring bacterial growth……..….…….....22

3.2.3 Bacterial counting ……...…….....22

3.2.4 Cold shock…….……...….22

3.2.5 Determination of minimum inhibitory concentration of *Staphylococcus aureus, Shigella dysentiea, Klebsiella pneumoniea*, before and after cold shock.....23

3.2.5.1 Preparation of inoculums…….....23

3.2.5.2 Turbidity (opacity) standard……...23

3.2.5.3 Medium preparation……23

3.2.5.4 Inoculation…….23

3.2.5.5 Antimicrobial HiComb strips application……..23

3.2.5.6 Incubation……23

3.2.5.7 Reading and Interpretation of MIC……..24

3.2.5.8 Quality control…….24

Chapter four

4. Result……..……25

Chapter five

5. Discussion…….....34

Conclusions and recommendation……..….....36

Conclusions.....36

Recommendation…….…….…….……...…..36

6. References…….....37

List of tables

Table1: Result of bacterial counting before and after cold shock…..…….....28

Table2: Result if MIC before and after cold shock for organisms…….…….28

List of figures

Figure 1: Result of *Klebsiella pneumoniea* before and after cold shock A- in -6 dilution right before cold shock and left after cold shock. B- in -7 dilution right before cold shock and left after cold shock:…...…….……..….....28

Figure2: The MIC of amoxicillin for Staphylococcus aureus. Left after cold shock, right before cold shock …….…….…….…….…29

Figure 3 The MIC of chloramphinicol for *staphylococcus aureus* left after cold shock right before cold shock …….…...30

Figure 4 The MIC of co trmoxazole for *Staphylococcus aureus* right before cold shock, left after cold shock.…….…….…….31

Figure 5 The MIC of co trimoxazol for klebsiella pneumoniea right before cold shock, left after cold shock ……..……...……..31

Figure 6 The MIC of amoxicillin for *Shigella dysentriea right* before cold shock, left after cold shock…….32

Figure7 The MIC of ciprofloxacin for *Shigella dysentriea*. Left after cold shock, right before cold shock ……..32

Figure 8 The MIC of cefalexin for *Shigella dysentriea* right before cold shock, left after cold shock ……...…..….33

Abstract

This work was carried out to study the effect of cold shock on the growth of *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysentiea* and *Klebsiella pneumoniea* moreover; evaluation of minimum inhibitory concentration of amoxicillin, cephalexin, ceftriaxone, ciprofloxacin, chloramphinicol and co-trimoxazole antibiotics with these organisms before and after cold shock.

Serial dilutions were performed from an overnight nutrient broth for s.*aureus*, *s.dyseteriae* and *k.pneumoniae*. The diluted sample was placed on the center of a solid cooled nutrient agar medium and then spread. After incubation at 37˚c over night the colonies were counted each bacterium represent a colony forming unit (CFU). The colonies were counted according to Mils and Misra (1938) method, this method was done before and after cold shock. The results of counting for s.aureus, s.dysenteriae and k. pneumoniae is decreased after cold shock than before cold shock that indicate the cold shock is affect on bacterial growth.

For MIC plates of Mueller Hinton agar were inoculated will bacterial suspension of shocked and non shocked bacteria different concentrations of MIC test strips HiComb from range A and B of (amoxicillin, ceftriaxon, cephlexine, ciprofloxacin, chloramphinicol and cotrimoxazole) were applicated after 24 h of incubation the MIC was determined from the highest dilution of the antibiotics showing no growth, the results for s.aureus with amoxicillin, ceftriaxon, cephlexine, chloramphinicol and cotrimoxazole before and after cold shock are not different but with ciprofloxacin was different before cold shock 7.5mcg and after 3mcg. Results of s.dysenteriae with amoxicillin, ceftriaxon, ciprofloxacin, chloramphinicol and cotrimoxazole were not different but with cephalexine before

cold shock 30mcg and after cold shock 60mcg it’s become more resistant after cold shock. The MIC before and after cold were not different except in some cases.

ملخص الأطروحة

اجريت هذة الدراسة لدراسة تأثير التبريد المفاجئ في درجة حرارة 20- درجة مؤية لمدة ساعة على مجموعة مختلفة من الباكتريا المعزولة من عينات روتينية مختلفة وكانت هذة المعزولات المكورات العنقودية الذهبية ، الكليبسيلة الرئوية والشغيلا القولونية على معدل نموها وتقييم فعالية مجموعة من المضادات الحيوية بأقل تركيز لمنع نمو الباكتريا وكانت هذة المضدات امكسيسلين سيفالكسين سفترياكزون سيبروفلوكساسين كلورامفينيكول و كوتريموكسازول والمقارنة بين فعاليتها على هذة المعزولات قبل وبعد التبريد المفاجئ وكانت نتيجة التخفيف كالآتي العنقودية الذهبية بعد التخفيف عند -6 قبل الصدمة الباردة $6.30x\ 10^8$ CFU/ml وكانت عند التخفيف في -7 $1.62x10^9$ CFU/ml وكانت النيجة بعد التبريد المفاجأ كالآتي عند -6 $4.26x10^8$ CFU/ml وعند التخفيف -7 كانت كالآتي $9.0x10^8$ CFU/ml وكانت نتيجة الشغيلة قبل التبريد المفاجأ عند التخفيف -6 $4.80x\ 10^8$ CFU/ml وكانت النتيجة عند التخفيف – 7 اعطت CFU/ml $1.90x10^9$ وعند التخفيف -8 اعطت $8.0x10^9$ CFU/ml وكانت النتيجة بعد التبريد المفاجأ كالآتي عند التخفيف -6 اعطت $3.70x\ 10^8$ CFU/ml وعن التخفيف -7 اعطت $1.80x10^9$ CFU/ml وعند التخفيف -8 اعطت $6.0x10^9$ CFU/ml وكانت نتيجة الشغيلة القولونية كالآتي عند التخفيف -6 اعطت CFU/ml $1.690x10^9$ وعند التخفيف -7 اعطت $1.500x10^{10}$ CFU/ml وعند -8 اعطت $1.240x10^{11}$ CFU/ml وعند -9 اعطت $2.00x10^{11}$ CFU/ml وعند التخفيف -10 اعطت $3.0x10^{11}$ CFU/ml وكانت النتيجة بعد الصدمة الباردة كالآتي عند التخفيف -6 اعطت $2.00x10^8$ وكانت عند التخفيف -7 $1.00x10^9$ وكانت عند التخفيف -8 اعطت $7.0x10^9$ وعند التخفيفين -9 و -10 لم يحدث اي نمو.

نتيجة المضادات الحيوية بأقل تركيز لمنع نمو الباكتريا للالمكورات العنقودية الذهبية قبل الصدمة الباردة مع الأموكسيسيلين ، و السيفالكسين ، و سيفترياكسون ، سيبروفلوكساسين، ومع الكلوروامفينيكول وكوتريموكسازول قبل التبريد المفاجئ وبعده متطابقة لم تتغير ماعدا السبروفلوكساسين قبل التبرديد المفاجئ كان 7.5 ميكروجرام وبعد التبريد المفاجئ 3.5 ميكروجرام اصبح اكثر تأثرا بهذا المضاد. نتيجة الشغيلة القولونية مع جميع المضادات الحيوية المخترة سابقا كانت متطابقة قبل وبعد التبرديد المفاجئ ماعدا مع السيفالكسين قبل التبريد المفاجئ كانت 30 ميكرو جرام وبعد الصدمة 60 ميكروجرام اصبحت الباكتريا بعد الصدمة اكثر مقاومة لهذا المضاد. نتيجة الكلبسيلا الرئوية قبل التبريد المفاجأ مع جميع المضادات الحيوية المذكورة سابقا قبل وبعد التبرديد المفاجئ لم تتأثر وكانت نفس النتيجة.

هذا يعني أن التبريد المفاجئ يؤثر على نمو الباكتريا ولكن لايؤثر على حساسية المضادات الحيوية ماعدا في بعض الحالات.