DECLARATION

I’m hereby declare that this work is original research work; undertaken under the supervision of **Prof. Humodi A. Saeed** and has not been presented elsewhere for award of a degree of certificate. All sources have been cited and appropriately acknowledged.

Name……..... Date…….

الآية

قال تعالى:

(سَنُرِيهِمْ آيَاتِنَا فِي الْآفَاقِ وَفِي أَنْفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَتَبَيَّنَ لَهُمْ أَنَّهُ الْحَقُّ ۗ أَوَلَمْ يَكْفِ بِرَبِّكَ أَنَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ شَهِيدٌ)

صدق الله العظيم

سورة فصّلت: الآية (53)

DEDICATION

To my parents,

wife,

daughter,

brothers,

sisters

and friends

ACKNOWLEDGEMENTS

First of all thanks to **ALMIGHTY ALLAH** for all benefits and for completion of this study.

I would like to thank my supervisor **Prof. Humodi A. Saeed**, who supported and gave me confidence and his time. I wish him a good health.

Finally, I would like to thank all staff members in the Department of Microbiology, Sudan University of Science and Technology and El Hawata Rural Hospital for their encouragement.

ABSTRACT

The resistance to the antibiotics is a worldwide health problem. β-lactam antibiotics are the most common used antibiotics for several systemic infections. The production β-lactamase enzymes lead to treatment failure and longer hospital stay.

The objective of this study was to detect the Extended Spectrum β-lactamases producer bacteria from clinical isolates in El Hawata Rural Hospital in Al Gadarif State. A total of 120 different clinical specimens were collected. These including 100 urine and 20 wound specimens. The specimens were collected from both males and females, and then cultured on MacConkey agar, Mannitol Salt Agar, Cysteine Lactose Electrolyte Deficient (CLED) agar and Blood agar to isolate the pathogenic bacteria. Identification was done by colonial morphology, Gram's stain and biochemical tests. The isolates were tested for susceptibility to several antibiotics using disc diffusion technique. Double disc confirmatory test was used to detect production of Extended Spectrum β-lactamases. The results revealed that the identified bacteria were as follow; 65(65%) *E. coli*, 15 *K. pneumoniae,* 10(10%) *Ps. aeruginosa,* and 10(10%) *S. aureus;* while 20 samples yielded no growth. The most frequent isolated organisms from the urine specimens were the *E. coli* with (75% = 60/80), *K. pneumoniae* (12.5%

= 10/80), *Ps. aeruginosa* (10% = 8/80), *S. aureus* (2.5% = 2/80). While most common isolate in the wound swabs was the *S. aureus* (40% = 8/20), *E. coli* (25% = 5/20), *K. pneuomniae* (25% = 5/20), and the *Ps. aeruginosa* was (10%= 2/20). The isolates were (100%) sensitive to imipenem, (83%) sensitive to ciprofloxacin, (79%) sensitive to nitrofurantoin and (48%) sensitive to ceftazidime. The isolates showed 41 out of 100 (41%) for ESBL production by the double disc confirmatory test.

It is concluded that high frequency of ESBL production among *E. coli* and *K. pneuomniae* from the different clinical specimens.

المستخلص

تعد المقاومة للمضادات الحيوية هي مشكلة عالمية. مضادات البيتالاكتام الحيوية هي أكثر أنواع المضادات الحيوية استخداما للعديد من الالتهابات الجهازية. انتاج انزيمات البيتالاكتام يؤدي الى فشل العلاج والبقاء فى المستشفى لفترات أطول.

كان الهدف من هذه الدراسة الكشف عن انتاج انزيمات البيتالاكتام واسعة الطيف في العينات السريرية من مستشفى الحواتة الريفي بالقضارف.

جمعت 120 عينة سريرية، نوع العينات كان 100 عينة بول، و 20 مسحة جرح. جمعت هذه العينات من الجنسين ذكور واناث من مختلف الأعمار. استزرعت العينات على أوساط الماكونكي والسيستين لاكتوز قليلة الشوارد و بيئة أملاح المانيتول و بيئة الدم الغذائية لعزل البكيريا الممرضة. ثم التعرف عليها بناء على شكل المستعمرة، وتفاعلها مع صبغة الغرام والتفاعلات البيوكيمائية. اختبرت حساسية المعزولات التي تم الحصول عليها للعديد من المضادات الحيوية باستخدام طريقة انتشار القرص، ثم الكشف عن انتاج انزيمات البيتالاكتام واسعة الطيف باستخدام طريقة القرص المزدوج التأكيدية. تم التعرف على 65 باكتريا من الاشريكية القولونية و 15 باكتريات من الكلبسيلة الرئوية و 10 باكتريا من الزائفة الزنجارية و 10 من المكورات العنقودية الذهبية، بينما لم 20 عينة نمو. أكثر الباكتريات ترددا في عينة البول كانت الاشريكية القولونية (60\80 بنسبة 75%)، ثم الكلبسيلة الرئوية (10\80 بنسبة 12.5%) و الزائفة الزنجارية (8\80 بنسبة 10%) والمكورات العنقودية الذهبية (2\80 = 2.5%). في مسحات الجروح كانت المكورات العنقودية الذهبية الأكثر ترددا (8\20 بنسبة 40%) ثم الاشريكية القولونية (5\20 بنسبة 25%) والكلبسيلة الرئوية (5\20 بنسبة 25%) وكانت الزائفة الزنجارية (2\20 بنسبة 10%). هذه المعزولات كانت حساسة لمضاد الايميبنيم بنسبة (100%)، وبنسبة (83%) لمضاد السبيروفلوكاسسين، وبنسبة (79%) لمضاد

النايتروفرونتين و بنسبة (48%) لمضاد السيفتيزيبديم. هذه المعزولات أظهرت 41 من أصل 100منها (41%) أنها تنتج انزيمات البيتالاكتام واسعة الطيف عن طريقة القرص المزدوج التأكيدية. خلصت الدراسة الى ان هنالك انتشار كبير للباكتيريا المفرزة لانزيمات البيتالاكتام واسعة الطيف في الاشريكية القولونية والكلبسيلة الرئوية في العينات المختلفة.

TABLE OF CONTENTS

Declaration ………………………………………………………………… I

الآية………………………………………………………………………. II

Dedication ……………………………………………………………… III

Acknowledgement……………………………………………………….. IV

Abstract …………………………………………………………………. V

المستخلص……………………………………………………………….. . VI

Table of contents……………………………………………………… VIII

List of tables ………………………………………………………… XII

CHAPTER ONE

INTRODUCTION AND OBJECTIVES

1.1. Introduction…………………………………………………………..1

2.1. Rationale……………………………………………………………2

1.3. Objectives ……………………………………………………….....3

1.3.1. General objective……………………………………………………..3

1.3.2. Specific objectives……………………………………………………3

CHAPTER TWO

LITERATURE REVIEW

2.1. Antibiotic…………………………………………………………………4

2.2. Classification of antibiotics…………………………………………….4

2.2.1. Beta-lactam antibiotics ……………………..……………….….…....4

2.3. Antibiotic resistance …………….……………...……….................5

2.3.1. Resistance to β-lactam antibiotics………………………….….…...5

2.3.2. β –lactamases…………………….………………..……......……7

2.3.2.1. Penicillinase ….……………………………………….…………7

2.3.2.2. TEM β-lactamases …….……………………………...….…..…8

2.3.2.3. SHV β-lactamase…………………….………………..….…...….8

2.3.2.4. CTX-M β-lactamases …..…………………………………..…...…8

2.3.2.5. Extended-Spectrum β-lactamases (ESBLs)…………..…..…..……...…9

2.3.3. Classification of ESBLs……..10

2.3.3.1. Class A β-lactamases ………………………………………......11

2.3.3.3. Class C β-lactamases (Amp)…..……….…………………………12

2.3.3.4. Class D β-lactamases (OXA)…………..12

2.3.3.5. Others…………..……………………...13

2.4. Epidemiology………..…………………………………….……...…13

2.5. Methods for detection of ESBLs ………………..…..…………......16

2.5.1. Screening methods for ESBL detection………...…….……………..17

2.5.2. Phenotypic Confirmatory Tests for ESBLs Production…...……...…17

2.5.3. Commercially available methods for ESBL detection…………...….20

2.5.4. Implications of positive phenotypic confirmatory tests ….………....20

2.5.5. Quality control……………….………………………………………….…..20

CHAPTER THREE

MATERIALS AND METHODS

3.1. Study design………………………………..………………...…..21

3.1.1. Type of study…………………………………………...…………21

3.1.2. Study area…………………………………………………….......21

3.1.3. Study duration.…………………………………………….......21

3.1.4. Sample size.……………………………………………………....21

3.1.5. Ethical consideration ………………………….……..……........21

3.2. Experimental work…….……………….……………….....………......21

3.2.1. Collection of specimens…………….……………….....…….……......21

3.2.2. Culture…………………………..………….…….....……......22

3.2.3. Identification………………………………….…………..….………22

3.2.4. Gram stain…………..……………………………………..….22

3.2.5. Biochemical tests……………….....………………..………...…..23

3.2.6. Oxidase test ……………………..……………...….……….....23

3.2.7. Sugars fermentation, H_2S and gas production …………..…......…23

3.2.8. Indole test………………….....…………………..…..………..24

3.2.9. Urease test………..………………………………...……………...24

3.2.10. Citrate Utilization Test………………………….……………..25

3.2.11. Antimicrobial susceptibility testing……………………….…….25

3.2.12. Double disc confirmatory test………..……………..…………..26

3.3. Data analysis……….……………………………………….…….26

CHAPTER FOUR

RESULTS

4.1. Results…………………………………..…………….…..…..27

CHAPTER FIVE

DISCUSSION

5. 1. Discussion……………………………………….………………31

5.2. Conclusion ………………………………………………………….33

5.3. Recommendations ……..……………………………….……….34

References……………………………………………….……....35

Appendices ……………………………………….…………………..42

LIST OF TABLES

Table1. Distribution of clinical specimens according to the gender ……….28

Table2. Frequency of different clinical specimens…………...….……...….29

Table3. Frequency of different clinical isolates…………………...………..29

Table4. Distribution of bacterial isolates among the clinical specimens...…29

Table5. Susceptibility to the antibiotic discs …….………..…………….29

Table6. Distribution of ESBL production…………………………..……30

Table7. Distribution of ESBL production according to gender……...……..30