

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

الرَّحْمٰنُ (١) عَلَّمَ الْقُرْآنَ (٢) خَلَقَ الْإِنْسَانَ (٣) عَلَّمَهُ الْبَيَانَ (٤)

سورة الرحمن الآيات ١ - ٤

# *Dedication*

*To my*

*Beloved parents*

*Who*

*Put*

*Me on the*

*Right track of*

*Knowledge*

*Since I was a child*

# ***Acknowledgment***

*With much of deep gratitude I would to thank and acknowledge my supervisor Prof: Suliman Mohamed El Sanousi for his close supervision and fruitful guidance, valuable advice and continues enthusiasm encouragement all the best for him.*

*I also would like to thank the family of the national blood bank services for the intimacy and complete collaboration during the practical part of my work. I would like to thank friendship hospital staff for their collaboration and co operation*

*Also thanks extended deeply to my classmate Huda for her co operation and close follow up all this work.*

# **LIST OF CONTENTS**

Table contents	Page
1- الأية	I
2-Dedication	II
3- Acknowledgment	III
4- list of contents	IV
5- Abstract	IX
5-Arbic Abstract	XI
6- List of tables	VIII
7- List of figure	IX
8- Table contents	IV
<b>CHAPTER ONE</b>	
<b>1. INTRODUCTION</b>	
Introduction	1
Rational	3
Objective	3
General objective	3
Specific Objective	3
<b>Chapter two</b>	
<b>2. LITERATURE REVIEW</b>	
2.1 Cold Shock	4
2.1.1 Definition	4
2.1.2 cold shock and cell division	4
2.1.3 cold shock and protein synthesis	5
2.1.4 cold shock response	7
2.1.5 general principles of cold-shock response	8
2.2 Minimum Inhibitory Concentration	9
2.3 Epsilometer Test	9
2.3.1 Principle	9
2.3. Targets Microorganisms	10

2.3.1 <i>Escherichia coli</i>	10
2.3.1.1 Virulence factors	11
2.3.1.2 Diseases	11
2.3.1.3 cold shock proteins of <i>Escherichia coli</i>	11
2.3.2 <i>Enterococcus faecalis</i>	13
2.3.3 <i>Salmonella typhi</i>	13
2.4. Anti microbials	14
2.4.1 Classification of anti biotic	14
2.4.2 cell wall Inhibitors	14
2.4.1.1.1 Amoxicillin	14
2.4.1.1.1.1 Pharmacokinetic	15
2.4.1.1.1.2 Mechanism of action	15
2.4.1.1.1.3 Medical uses	15
2.4.1.1.2 Cephalosporin	15
2.4.1.1.3 Cephalexin	16
2.4.1.1.3.1 Mechanism of action	16
2.4.1.1.3.2 Medical uses	16
2.4.1.1.4 Ceftriaxone	16
2.4.1.1.4.1 Pharmacokinetic data	17
2.4.1.1.4.2 Clinical use	17
2.4.1.1.4.3 Adverse effect	17
2.4.1.2 Protein synthesis inhibitors	17
2.4.1.2.1 Chloramphenicol	17
2.4.1.2.1.1 Mechanism of action	18
2.4.1.2.1.2 Medical uses	18
2.4.1.3 Inhibitors of metabolism	18
2.4.1.3.1 Co-trimoxathol	19

2.4.1.3.1.1 Pharmacokinetics	19
2.4.1.3.1.2 Mechanism of action	19
2.4.1.3.1.3 Medical uses	20
2.4.1.4 Nucleic acid function Inhibitors	20
2.4.1.4.1 Quinolones	20
2.4.1.4.1.1 Ciprofloxacin	20
2.4.1.4.1.1.1 Pharmacokinetics	20
2.4.1.4.1.1.2 Mechanism of action	21
2.4.1.4.1.1.3 Medical uses	21
<b>CHAPTER THREE</b> <b>3.MATERIALS AND METHODS</b>	
3.1 Organisms	22
3.2 Identification	22
3.2.1. Microscopic examination	22
3.2.2 biochemical tests	22
3.2.3 Catalase test	22
3.2.4 Urease test	22
3.2.5 Indole test	23
3.2.6 citrate test	23

3.3. Measuring bacterial growth	23
3.4 Bacterial counting	23
3.5 Cold shock	24
3.6 Antimicrobial susceptibility testing	24
3.6.1 Preparation of inoculums	24
3.6.2 Turbidity (opacity) standard	25
3.6.3 Medium preparation	25
3.6.4 Inoculation	25
3.6.5 Antimicrobial HiComb strips application	25
3.6.6 Reading and Interpretation of MIC	25
3.6.7 Quality control	25
<b>CHAPTER FOUR</b>	
<b>4. RESULTS</b>	
4.Result	26
4.1 Results of bacterial counting before cold shock	26
4.2 Results of bacterial counting after cold shock	26
4.3Results of (MIC) before cold shock	26
4.4 Results of (MIC) after cold shock	27
<b>CHAPTER FIVE</b>	
<b>5. DISCUSSION</b>	
5 Discussion	35
<b>CHAPTER SIX</b>	
<b>6. CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS</b>	
6.1 Conclusions	37
6.2 Recommendations	37
<b>CHAPTER SEVEN</b>	
<b>7. REFERENCES</b>	

7. References	38
<b>List of tables</b>	
Table1: The result of bacterial count	28
Table2: The result of MIC of antimicrobials	29
<b>List of figures</b>	
Figure 1: The effects of cold shock on <i>E. coli</i> protein synthesis	12
Figure 2: result of <i>Escherichia coli</i> after cold shock at -8 dilution	30
Figure 3: result of <i>Enterococcus faecalis</i> before and after cold shock in -8 dilutions	31
Figure 4: The result of Ciprofloxacin on <i>Escherichia coli</i> before and after cold shock	31
Figure 5: Result of Amoxicillin in <i>Salmonella typhi</i> before and after cold shock	32
Figure 6: Result of Ceftriaxone in <i>Salmonella typhi</i> before and after cold shock	34
Figure 7: The result of Ciprofloxacin on <i>Salmonella typhi</i> before and after cold shock	34
APPENDICES	43

## Abstract

This study was carried out to study the effect of cold shock on certain organisms which routinely isolated from a variety of clinical specimens, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, and *Salmonella typhi* on their growth and evaluation and compression of minimum inhibitory concentration of these organisms with amoxicillin, cephalexin, ceftriaxone, ciprofloxacin, chloramphenicol and co-trimoxazole antibiotics before and after cold shock in -20c for at 1 hour.

This study revealed that clinical assessment showed that *Escherichia coli* before cold shock at -6 dilution gave a result  $1.8 \times 10^8$  CFU/ml, at -7 dilution gave  $0.5 \times 10^9$  CFU/ml, at -8 dilution gave  $0.4 \times 10^{10}$  CFU/ml, and after cold shock the result was  $0.8 \times 10^8$  in -6 dilution and at -7 dilution gave  $0.3 \times 10^9$  CFU/ml and at -8 is  $0.2 \times 10^{10}$  CFU/ml. The result for *Salmonella typhi* before cold shock in -6, -7, -8, and -9 gave uncounted colonies, and at -10 gave  $4.1 \times 10^{12}$  CFU/ml, and after cold shock, at -6 dilution produced  $4.4 \times 10^8$ , at -7 dilution produced  $3.1 \times 10^9$  CFU/ml, and at -8 dilution produce  $1.6 \times 10^{10}$  CFU/ml, and at -9 and -10 dilution gave no growth. *Enterococcus faecalis* before cold shock in -6 tube dilution and -7 dilution the result is uncounted colonies, at -8 dilution it gave  $2.05 \times 10^{11}$  CFU/ml, at -9 produce  $1.68 \times 10^{12}$  and at -10  $7.8 \times 10^{12}$  CFU/ml. After cold shock at -6 uncounted, at -7 gave  $1.63 \times 10^{10}$ , at -8 gave  $1.33 \times 10^{11}$  CFU/ml and at -9 dilution gave  $1.02 \times 10^{12}$  and -10 gave  $3.9 \times 10^{12}$

Result of minimum inhibitory concentration for *Escherichia coli* before cold shock is resistant to amoxicillin, cephalexine and co-trimoxazole, the result with ceftriaxone is 240 mcg, Ciprofloxacin 7.5 mcg, chloramphenicol 1 mcg. After cold shock Amoxicillin, cephalexin, ceftriaxone are resistant, ciprofloxacin 3mcg, chloramphenicol 1mcg. For *Salmonella typhi* before shock Amoxicillin, co-

trimoxazole and ciprofloxacin are resistant, cefalexine 30mcg, ceftriaxone 0.008 mcg, chloramphenicol 0.1 mcg, and co-trimoxazole 0.1 mcg. After cold shock amoxicillin, cephalixin and ciprofloxacin are resistant, ceftriaxone 0.008mcg, chloramphenicol 0.1 mcg and co-trimoxazole 0.05 mcg. For *Enterococcus faecalis* before cold shock with amoxicillin 4 mcg, cefalexine 3 mcg, ceftriaxone 0.01 mcg, ciprofloxacin 10 mcg, chloramphenicol 0.5 mcg, and co-trimoxazole 0.1 mcg. After cold shock amoxicillin 4 mcg, cephalixin 3 mcg, ceftriaxone 0.01 mcg, ciprofloxacin 10 mcg, chloramphenicol 0.5 mcg and co-trimoxazole 0.1 mcg.

## ملخص الأطروحة

اجريت هذه الدراسة لدراسة تأثير الصدمة الباردة في درجة حرارة 20- درجة مئوية لمدة ساعة على مجموعة مختلفة من البكتريا المعزولة من عينات روتينية مختلفة وكانت هذه المعزولات الإشيريشيا القولونية والسالمونيلا التايفية والمكورات المعوية على معدل نموها وتقييم فعالية مجموعة من المضادات الحيوية بأقل تركيز لمنع نمو البكتريا وكانت هذه المضادات امكيسيلين سيفالكسين سفترياكزون سيبروفلوكساسين كلورامفينيكول و كوتريموكسازول والمقارنة بين فعاليتها على هذه المعزولات قبل وبعد التبريد المفاجئ وكانت نتيجة التخفيف كالاتي الإشيريشيا القولونية بعد التخفيف عند 6- قبل الصدمة الباردة  $1.8 \times 10^8$  CFU/ml وكانت عند التخفيف في 7-  $0.5 \times 10^9$  CFU/ml وعند التخفيف في 8-  $0.4 \times 10^{10}$  CFU/ml وكانت النتيجة بعد التبريد المفاجئ كالاتي عند 6-  $0.8 \times 10^8$  CFU/ml وعند التخفيف 7- كانت كالاتي  $0.3 \times 10^9$  CFU/ml وعند  $0.2 \times 10^{10}$  CFU/ml-8 وكانت نتيجة السالمونيلا التايفية قبل التبريد المفاجئ عند التخفيف 6- و 7- و 8- و 9- كانت غير معدودة واعطت في التخفيف 10- CFU/ml  $4.1 \times 10^{12}$  وكانت النتيجة بعد التبريد المفاجئ كالاتي عند التخفيف 6- اعطت  $4.4 \times 10^8$  CFU/ml وعن التخفيف 7- اعطت  $3.1 \times 10^9$  CFU/ml وعند التخفيف 8- اعطت  $1.6 \times 10^{10}$  CFU/ml وعند التخفيفين 9- و 10- لم يحدث نمو. وكانت نتيجة المكورات المعوية كالاتي عند التخفيف 6- وعند التخفيف 7- اعطت نمو غير معدود وعند 8- اعطت  $2.05 \times 10^{11}$  CFU/ml وعند 9- اعطت  $1.68 \times 10^{12}$  CFU/ml وعند التخفيف 10- اعطت  $7.8 \times 10^{12}$  CFU/ml وكانت النتيجة بعد الصدمة الباردة كالاتي عند التخفيف 6- اعطت نمو غير معدود وكانت عند التخفيف 7-  $1.63 \times 10^{10}$  وكانت عند التخفيف 8- اعطت  $1.33 \times 10^{11}$  وعند التخفيفين 9-  $1.02 \times 10^{12}$  CFU/ml وعند 10-  $3.9 \times 10^{12}$ .

نتيجة المضادات الحيوية بأقل تركيز لمنع نمو البكتريا الإشيريشيا القولونية قبل الصدمة الباردة حيث كانت مقاومة مع الأموكسيسيلين ، و سيفالكسين مقاومة ، و 240 ميكروجرام مع سيفترياكسون، و 7.5 ميكروجرام مع سيبروفلوكساسين، ومع الكلورامفينيكول 1 ميكروجرام، ومقاومة للكوتريموكسازول. بعد التبريد المفاجئ اعطت مقاومة لكل من أموكسيسيلين ، و سيفالكسين ، وسيفترياكسون وكوتريموكسازول، وسيبروفلوكساسين 3 ميكروجرام، ومع الكلورامفينيكول 1 ميكروجرام. نتيجة السالمونيلا التايفية كانت كالاتي قبل التبريد المفاجئ أموكسيسيلين ، و سيفالكسين وسيبروفلوكساسين، وسيفترياكسون 0.008 ميكروجرام، و، ومع الكلورامفينيكول 0.1 ميكروجرام، و 0.1 ميكروجرام مع كوتريموكسازول. بعد التبريد المفاجئ مع الأموكسيسيلين، وسيفالكسين وسيبروفلوكساسين اعطت مقاومة، ومع سيفترياكسون 0.008 ميكروجرام، مع الكلورامفينيكول 0.1 ميكروجرام مع كوتريموكسازول 0.05 ميكروجرام. نتيجة المكورات

القولونية قبل التبريد المفاجئ تأثرت البكتريا لكل من أموكسيسيلين اعطت 4ميكروغرام، ومع سيفالكسين 3ميكروغرام، وسيفترياكسون 0.01ميكروغرام، مع السيبروفلوكسايين 10ميكروغرام، والكلورامفينيكول 0.5ميكروغرام، وكوتريموكسازول 0.1ميكروغرام. وكانت النتيجة بعد التبريد المفاجئ اعطى مقاومة مع 4 ميكروغرام مع أموكسيسيلين، مع سيفالكسين 3ميكروغرام، والسيفترياكسون 0.01 ميكروغرام ، وسيبروفلوكساسين 10ميكروغرام، وكلورامفينيكول 0.5 ميكروغرام، وكوتريموكسازول 0.1ميكروغرام.