بسم الله الرحمن الرحيم

Sudan University of Science and Technology

College of Graduate Studies

Molecular Detection of Extended - spectrum Beta- Lactamase Genes in *Enterobacter aerogenes* Isolated from Clinical Specimens

الكشف الجزيئي عن جينات انزيمات بيتا لاكتام الممتدة الطيف في الامعائية الغازية المعزولة من العينات السريرية

A dissertation submitted in partial fulfillment for the requirements of M.Sc. in Medical Laboratory (Microbiology)

By

Eltayib Siddig Mohammed Saad

Supervisor

Dr. Humodi Ahmed Saeed

2010

بِسْمِ اللّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قال تعالى :

(وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاء وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لَاعِبِينَ)

صدق الله العظيم

(الأنبياء : 16)

Dedication

I dedicate this research to ……

my honourable parents , wife ,

brothers

sisters, and

daughter.

Acknowledgment

First of all, thanks to Almighty Allah for giving me the power to complete this study.

I would like to express my thanks to my supervisor Dr. Humodi Amed Saeed, Dean, College of Medical Laboratory Science, Sudan University of Science and Technology for his advice, enthusiasm, help and endless guide.

My great thanks to Dr. Mogahid Mohammed Elhasan, Dr. Abdalla Osman, Ust. Mohammed Masaad and Ust. Motaz Fatherahman for their help and support.

Thanks are extended to the technical staff of Microbiology Department, College of Medical laboratory Science, Sudan University of Science and Technology for their assistance.

Abstract

Extended-spectrum ß-lactamases (ESBLs) have become widespread throughout the world and are now found in a significant percentage in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains in certain countries. This study was conducted in the Research Laboratory in Sudan University of Science and Technology. The study was carried out during the period from December 2009 to April 2010, to detect TEM, SHV and CTX-M genes in ESBLs-produsing *Enterobacter aerogenes*.

The *E. aerogenes* strains were obtained from the Research Laboratory. All strains were checked for purity by sub-culturing on nutrient agar and examined microscopically. Bacterial DNA was extracted from each isolate using boiling method. Multiplex PCR was adopted to detect these genes. The result revealed presence of *TEM* gene in nine out of eleven exmined strains. It is concluded that, TEM gene is the commonest gene in *E. aerogenes* isolates. Further studies with large number of isolates are required to validate the result of the present study.

المستخلص

تعتبر إنزيمات بيتا لاكتـام واسـعة الطيـف منتشـرة فـي كـل العـالم وتوجـد بنسب وافية في سلالات الإِشْرِيكِيَةُ الـ قولونِيَ ة و الكلِبْسـ يلَةُ الرِئَوِيَ ة في دول معينة. هـذه الدراسـةِ نُفِّـذتْ فـي مختـبرِ البحـوثِ فـي جامعـةِ السـودان للعِلْـوم والتكنولوجيا في الفترةِ مِنْ ديسمبر/ 2009 إلى أبريل/ 2010، للكشف عن الجيناتِ (*TEM* و *SHV* و *CTX-M*) في الإمعائية الغازية المنتجة لإنزيماتَ بيتا لاكتام واسعة الطيفِ.

تم الحصول على سلالات الإمعائية الغازية من مختبر الأبحاث بالجامعة والتأكد من نقوتها بإعادة تزريعها على وسط الأجار المغذي ومن ثم فحصها مجهرياً. تم استخلاص الحمض النووى منقوص الأكسجين للسلالات بإستعمال طريقة الغليان. استخدمت طريقة تفاعل البلمرة المتسلسل المتعدد الإرسال للكِشف هذه الجيناتِ. اظهرتْ النتيجةُ وجود الجين *TEM* في تسع من إحدى عشرة سلالة تم إختبارها. خلصت هذه الدراسة إلى أن الجين *TEM* هو الأكثر شيوعا في سلالات الإِمعائية الغازية، وإن دراسات إضافية بعدد أكبر من السلالات مطلوبة للتأكد من صحة هذه الدراسة.