

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قال الله تعالى

وَلَوْ أَنَّ مَا فِي الْأَرْضِ مِنْ شَجَرَةٍ
أَفْلاَءٌ وَالْبَحْرُ يَمُدُّهُ مِنْ بَعْدِهِ سَبْعَةُ
أَنْبُحِرٍ مَا نَفِذْتُ كَلِمَاتُ اللَّهِ إِنْ لَمْ
يَكُنْ عَزِيزٌ حَكِيمٌ

صدق الله العظيم

سورة لقمان الآية 27

Dedication

To my dear beloved parents,
the candles that glow to shine my way to success

To my darling sisters,
who did never hesitate to help, support and
encourage

To all my wonderful friends,
who helped me and gave me trust to continue

To all of them I dedicate this project
as a sign of
thanks, appreciation, respect and love.

Acknowledgements

First of all thanks for ALLAh for giving me the strength and ability to complete this study. After that I would like to express deep thanks to my supervisor Dr. Abdelbagi Elnagi Mohammed, for his support, supervision, patience and unlimited help till I had finished this study. Special thanks to the staff of Medical Microbiology department, College of Medical Laboratory Science, SUST, namely to Dr. Mogahid M. El Hassan, Mr. Mohammed M. Ahmed and Ms. Asjad M. Mukhtar for their useful advice and care. My thanks extended to the staff of research laboratory for their patience and useful assistance. Great thanks to Hospitals' staff (especially laboratories' staff) for their unlimited help in my study.

Abstract

This study was conducted in Khartoum State during the period from November 2008 to April 2009 to evaluate the *in vitro* activity of relatively newly used anti-microbial agents (piperacillin, azlocillin, imipenem and meropenem) against *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Seventy (70) *P. aeruginosa* clinical isolates were collected from different hospitals in Khartoum State including Khartoum Teaching Hospital, Police Hospital and the National Health Laboratory. The isolates were confirmed by microscopic, cultural and biochemical testing. Their specimens included 30 urine specimens (42.9 %), 26 infected wound swabs (37.1 %) and 14 infected ear swabs (20 %). Fifty (50) of the patients were males (71.4 %), while 20 were females (28.6 %). Patients ages ranging from 1-75 years and 26 of them belonged to the age group 61-75 years (37.1 %). The most effective antibiotics against *P. aeruginosa* was imipenem which was effective against all isolates, followed by meropenem with rate of 97.1 %, piperacillin with efficacy rate of 74.3 % and the least effective one was azlocillin with efficacy rate of 70 %. These results indicated that imipenem was better than meropenem in carbapenems β -lactam antibiotics and piperacillin was better than azlocillin in ureidopenicillins β -lactam antibiotics. Carbapenems β -lactam antibiotics were found significantly ($P=0.01$) more effective than ureidopenicillins β -lactam antibiotics against *P. aeruginosa*, with mean activity of 98.6 % and 72.2 %, respectively. While there was no multi-drug resistant *P. aeruginosa* (MDRPA) isolated in this study, there were 47 (67 %) of the isolates sensitive to all antimicrobials used and 18 (26 %) of them were sensitive only to carbapenem antibiotics.

أجريت هذه الدراسة فى ولاية الخرطوم فى الفترة من نوفمبر ٢٠٠٨ وحتى ابريل ٢٠٠٩ لتقييم الفاعلية الخارجية لأنوع جديدة نسبياً من المضادات الحيوية ضد بكتيريا الزائفة الزنجارية المعزولة سريرياً وشملت هذه المضادات (البيراسيلين ، الأزلوسيلين والميرابينيم و الميرابينيم). تم جمع سبعين عزلة سريرية من مستشفى فيات ولاية الخرطوم والتي شملت مستشفى الخرطوم التعليمي، مستشفى الشرطة و المعمل الصحي القومي. تم التأكد من العزلات بالاختبارات المجهريّة و الزراعية و الحيوكيميائية. شملت عينات العزلات ٣٠ عينة بول وتمثل (٩.٤٢%) ٢٦ عينة من مسحات لجروح ملتهبة وتمثل (١.٣٧%) و ١٤ عينة من مسحات للآذان ملتهبة وتمثل (٢٠%). خمسين (٥٠) من المرضى كانوا من الذكور و يمثلون (٧٤.١%) بينما ٢٠ كن من الإناث ويمثلن (٢٨.٦%). أعمار المرضى تراوحت ما بين ١-٧٥ سنة و ٢٦ منهم ينتمون الى الفئة العمرية ٦١-٧٥ سنة وتمثل نسبة (١.٣٧%). أكثر المضادات الحيوية كفاءة ضد بكتيريا الزائفة الزنجارية كان الميرابينيم و الذي أظهر فعالية ضد جميع العزلات و إلية الميرابينيم بمعدل كفاءة يساوي ٩٧.١% ثم البيراسيلين بمعدل كفاءة يساوي ٧٤.٣% و أقل المضادات فعالية كان الأزلوسيلين بمعدل كفاءة يساوي ٧٠%. هذه النتائج أشارت إلى أن الميرابينيم كان أفضل من الميرابينيم في مجموعة المضادات الحيوية الكاربابينيمية ذات حلقة البيتالاكتام والبيراسيلين كان أفضل من الأزلوسيلين في مجموعة المضادات الحيوية البوريدوبينيسلينية ذات حلقة البيتالاكتام. مجموعة المضادات الحيوية الكاربابينيمية ذات حلقة البيتالاكتام وجدت بشكل ملحوظ ($P=0.01$) أكثر فاعلية ضد بكتيريا الزائفة الزنجارية من مجموعة المضادات الحيوية البوريدوبينيسلينية ذات حلقة البيتالاكتام، متوسط فاعلية المجموعتين ٦٨.٩% و ٧٢.٢% على التوالي. بينما لم يتم عزل أي بكتيريا من نوع الزائفة الزنجارية المقاومة للأدوية المتعددة في هذه الدراسة ، كانت هناك ٤٧ (٦٧%) من البكتيريا المعزولة حساسة لجميع المضادات الحيوية المستخدمة و ١٨ (٢٦%) منها كانت حساسة فقط لمجموعة المضادات الحيوية الكاربابينيمية.

Table of Contents

Contents	Page No.
Holy Quran	I
Dedication	II
Acknowledgements.....	III
Abstract (English).....	IV
Abstract (Arabic).....	V
Table of Contents.....	VI
List of Tables.....	X
List of Figures.....	XI
List of Color Plates.....	XII
Chapter One: 1. Introduction	
1.1. Introduction	1
1.2. Objectives.....	3
1.2.1. General objective.....	3
1.2.2. Specific objectives.....	3
Chapter Two: 2. Literature Review	
2.1. Definition.....	4
2.2. Nomenclature.....	4
2.3. General characteristics.....	5
2.4. Antigenic structure.....	6
2.5. Virulence factors and extracellular products.....	6
2.6. Normal habitat.....	7
2.7. Transmission.....	7

2.8.	Pathogenesis.....	8
2.9.	Diseases and clinical manifestations.....	8
2.9.1.	Localized infections.....	8
2.9.2.	Systemic infections.....	9
2.9.3.	Hospital acquired infections (nosocomial infections).....	10
2.10.	Epidemiology.....	10
2.11.	Laboratory diagnosis.....	12
2.11.1.	Specimens.....	12
2.11.2.	Morphology and staining.....	12
2.11.3.	Culture.....	12
2.11.4.	Biochemical reactions.....	13
2.11.5.	Serological tests.....	13
2.12.	Antimicrobial susceptibility testing.....	13
2.13.	Resistance of <i>P. aeruginosa</i> to antimicrobial agents.....	14
2.14.	β -lactam antibacterial agents.....	15
2.14.1.	Ureidopenicillins.....	17
2.14.1.1.	Piperacillin.....	18
2.14.1.1.1.	Susceptibility of <i>P. aeruginosa</i> to piperacillin.....	19
2.14.1.2.	Azlocillin.....	19
2.14.1.2.1.	Susceptibility of <i>P. aeruginosa</i> to azlocillin.....	20
2.14.2.	Carbapenems.....	21
2.14.2.1.	Imipenem.....	22
2.14.2.1.1.	Susceptibility of <i>P. aeruginosa</i> to imipenem.....	23
2.14.2.2.	Meropenem.....	24
2.14.2.2.1.	Susceptibility of <i>P. aeruginosa</i> to meropenem.....	25
Chapter Three: 3. Materials and Methods		
3.1.	Study area.....	26

3.2.	Study population.....	26
3.3.	Study duration.....	26
3.4.	Sample size.....	26
3.5.	Study design.....	26
3.6.	Data collection.....	26
3.7.	Ethical consideration.....	26
3.8.	Statistical analysis.....	27
3.9.	Methods.....	27
3.9.1.	Collection of specimens.....	27
3.9.2.	Culture of specimens.....	27
3.9.3.	Examination of the growth.....	27
3.10.	Identification of the isolates.....	28
3.10.1.	Gram stain.....	28
3.10.2.	Biochemical tests.....	28
3.10.2.1.	Oxidase test (cytochrome oxidase)	28
3.10.2.1.1.	Principle.....	28
3.10.2.1.2.	Procedure.....	28
3.10.2.2.	Citrate utilization test.....	29
3.10.2.2.1.	Principle.....	29
3.10.2.2.2.	Procedure.....	29
3.10.2.3.	Kligler's iron agar (KIA).....	29
3.10.2.3.1.	Principle.....	29
3.10.2.3.2.	Procedure.....	30
3.10.2.4.	Urease test.....	31
3.10.2.4.1.	Principle.....	31
3.10.2.4.2.	Procedure.....	31

3.10.2.5.	Indole test.....	31
3.10.2.5.1.	Principle.....	31
3.10.2.5.2.	Procedure.....	31
3.10.3.	Production of pigments.....	32
3.10.3.1.	Procedure.....	32
3.11.	Antibiotic susceptibility testing.....	32
3.11.1.	Preparation of inoculum.....	32
3.11.2.	Inoculation of Mueller-Hinton agar.....	33
3.11.3.	Application of antimicrobial discs.....	33
3.11.4.	Reading and interpretation.....	33

Chapter Four: 4. Results

4.1.	Clinical results.....	34
4.2.	Laboratory finding.....	34
4.2.1.	Culture characteristics.....	34
4.2.2.	Cell morphology and Gram stain.....	35
4.2.3.	Biochemical characteristics.....	35
4.2.4.	Pigment production.....	35
4.2.5.	Susceptibility to antimicrobial agents	35
4.2.6.	Quality control.....	36

Chapter Five: 5. Discussion

5.	Discussion.....	42
	Conclusion.....	45
	Recommendations.....	46
	References.....	47
	Appendices.....	53
	Appendix I: Color plates.....	53
	Appendix II: Zone size interpretative chart.....	59

List of Tables

Tables	Page No.
Table 4.1: Susceptibility of <i>P. aeruginosa</i> isolates to carbapenems antimicrobial agents.....	38
Table 4.2: Susceptibility of <i>P. aeruginosa</i> isolates to ureidopenicillins antimicrobial agents.....	38
Table 4.3: Susceptibility of <i>P. aeruginosa</i> isolates to all antimicrobial agents.....	41

List of Figures

Figures	Page No.
Figure 2.1: Chemical structure of piperacillin.....	
.....18	
Figure 2.2: Chemical structure of azlocillin.....	20
Figure 2.3: Chemical structure of imipenem.....	23
Figure 2.4: Chemical structure of meropenem.....	24
Figure 4.1: Types of pigments produced by <i>P. aeruginosa</i> isolates.....	37
Figure 4.2: Percentage of resistance of <i>P. aeruginosa</i> isolates to antimicrobial agents used.....	39
Figure 4.3: Mean of activity of ureidopenicillins and carbapenems antimicrobial agents against <i>P. aeruginosa</i> isolates.....	40

List of Color Plates

Plates	Page No.
Plate 1: Growth of <i>P. aeruginosa</i> on blood agar.....	53
Plate 2: Growth of <i>P. aeruginosa</i> on MacConkey's agar showing yellow non- lactose fermenting colonies.....	53
Plate 3: Gram stain of <i>P. aeruginosa</i> showing Gram negative bacilli.....	54
Plate 4: Positive (left) oxidase test for <i>P. aeruginosa</i>	54
Plate 5: Un-inoculated set of biochemical tests.....	55
Plate 6: Biochemical reactions of <i>P. aeruginosa</i>	55
Plate 7: Pigmentation of <i>P. aeruginosa</i> on nutrient agar.....	56
Plate 8: Susceptibility testing of <i>P. aeruginosa</i> on Mueller-Hinton agar to ureidopenicillins agents (piperacillin and azlocillin).....	57
Plate 9: Susceptibility testing of <i>P. aeruginosa</i> on Mueller-Hinton agar to carbapenems agents (imipenem and meropenem).....	58