A Molecular Study Of Sulphonamides Resistance Among *Escherichia coli* Isolated From Urine

A Thesis
Presented to
Faculty of Pharmacy, Alexandria University
In Partial fulfillment of the
Requirements for the degree

Of

Master of Pharmaceutical Sciences

In

PHARMACEUTICAL MICROBIOLOGY

By

Marwa Ahmed Atef Abdel Aziz Yakout

B. Pharm. Sci. 2005
Faculty of Pharmacy, Alexandria University

...U.A. Library
...brary C
Pharmacy
G-115
543

Faculty of Pharmacy
Alexandria University
2011

الملخص العربي

دراسة جزيئية لمقاومة عترات الايشريشيا كولاى المعزولة من البول للسلفوناميد

إن التهابات المسالك البولية من أكثر أنواع العدوى شيوعا كما أنها من أكثر الأنواع المصاحبة لزيادة المقاومة لمضادات الميكروبات وتعتبر الإشيريشيا كولاي (UPEC) من أهم أسباب التهابات المجارى البولية فى كل من المجتمع وفى المستشفيات.

بالرغم من التباين فى نسب الإصابة بهذا النوع من البكتريا كسبب لالتهاب المجارى البولية ،فقد وجد أن هناك زيادة مستمرة فى مقاومة الإشيريشيا كولاي لعقار السلفوناميد.

إن المقاومة البكتريا لعقار السلفوناميد عادة ما يكون مصاحباً لمقاومة أنواع أخرى من المضادات الحيوية مما يوحى بالنقل الأفقى للجينات المسئولة عن هذه المقاومة لذلك فإن وضع استراتجية للحد من انتشار مقاومة الإشيريشيا كولاى للعديد من المضادات تكون ذو أهمية قصوى.

إن مقاومة البكتريا لعقار السلفوناميد تنتج اما من خلال طفرة جينية (*folp*) أو عن طريق اكتساب لجين بديل *dhps* (*Sul; Sul1, Sul2, Sul3*) والأخيرة هى الآلية الأكثر انتشاراً لمقاومة البكتريا لعقار السلفوناميد.

إن فهم الآلية الجزيئية لهذه الجينات يمكن أن يشارك فى خلق استراتيجيات جديدة وإجراءات وقائية للحد من انتشار هذا النوع من المقاومة بين الإشيريشيا كولاى المسببة لالتهابات المجارى البولية.

وقد أجريت هذه الدراسة على ٧٤ عترة من الإشيريشيا كولاى المسببة لالتهابات المجارى البولية وتم التعرف عليها باستخدام الطرق البيوكيميائية التقليدية، وقد تم اختبار حساسيتهم للمضادات الحيوية بواسطة طريقة الانتشار الغشائى فى الاجار.

وقد وجد أن هناك:

- ٥٠ عترة مقاومة لعقار السلفا. وقد تم تحديد (MIC) لهذه العترات وكانت النتيجة كالآتى ٢٥٦ ميكروجرام/ مل في ٣ عترات، ٥١٢ ميكروجرام/مل فى ٤ عترات، و١٠٢٤ ميكروجرام/ مل فى ٢٢ عترة، و٢٠٤٨ ميكروجرام/ مل فى ٢١ عترة.
- ٩٦% (٤٨/ ٥٠) من العترات المقاومة للسلفا كانت مقاومة لأنواع عديدة من المضادات الحيوية أعلاها الأمبيسيللين والتتراسيكيلين (٩٠%) من ناحية ومن الناحية الأخرى لم تكن هناك عترات مقاومة لعقار (Imipenem).
- تم البحث فى الأساس الجينى لمقاومة هذه العترات لعقار السلفا وذلك بالكشف عن جينات (*Int 1 وSul*) فيها وكان معدلها كالآتى، ٣٠% (١٥ عترة)،و ٣٢% (١٦ عترة)، و٢% (عترة واحدة)، و٤% (٢ عترة) كانوا إيجابيين لجينات (*Int, Sul3, Sul2, Sul1*) على التوالى. وكانا جينى (*Sul1*) و(*Sul2*) معاً فى ٨ عترات (١٦%)، بينما وجد (*Sul3*) فى عترة واحدة مع جينى (*Sul1*) و(*Sul2*) . بالنسبة لاقتران جينى (*Int 1 وSul*) وجد أنهما تواجدا معا فى عترتين فقط من بين الـ ١٥ عترة التى تحمل جين *Sul1*.

بناءاً على هذه النتائج يمكن استخلاص الآتى:

- مقاومة الإشيريشيا كولاي للسلفوناميد في تزايد مستمر وسريع في مصر.
- ترتبط في كثير من الأحيان مقاومة السلفوناميد مع مقاومة لمضادات حيوية إضافية مثل أمبيسلين والتتراسيكلين مما يوحى بالنقل الأفقى للجينات.
- يعتبر (Imipinem) هو المضاد الحيوى الأكثر فاعلية ضد عزلات الإشيريشيا كولاي المسببة لالتهابات المجارى البولية، ولذلك ينبغي الحرص فى استخدامه لتجنب ظهور المقاومة.
- الطرق الظاهرية بسيطة وكافية ويمكنها بسهولة الكشف عن مقاومة البكتريا لعقار السلفوناميد كما أن الطرق الجزيئية أكدت صحة نتائج الطرق الظاهرية.

- إن طريقة (Multiplex PCR) هى طريقة حساسة وسريعة واقتصادية للكشف عن أكثر من جين مسئول عن مقاومة البكتريا لعقار السلفوناميد فى نفس الوقت.
- بالنسبة للعترات المقاومة للسلفوناميد الإيجابية بالطرق الظاهرية والسالبة بالطرق الجزيئية يمكن أن تكون ناتجة عن طفرات جينية أو جينات خفية أو أن تصميم البادئات لا تتناسب مع العترات المعزولة من مصر، لذا من المقترح عمل تتابع للDNA للمحتوى النووى للعترات المصرية.
- إن وجود جين (*Sul1*) وعدم اقترانه بجين (*int1*) يمكن أن يعكس وجود جين (*Sul1*) فى أماكن جينية أخرى أو يمكن أن يرجع إلى تغيير فى التتابع الجينى لجين (*int1*).