



جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

التحري الجزيئي عن جينات مقاومة المضاد نيتروفورانتوين في
عزلات بكتريا *Escherichia coli* المعزولة من التهابات
المجاري البولية

زينب باقر عباس رشيد

رسالة ماجستير

علوم حياة

بأشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور حسن فيصل حسين

الخلاصة

النيتروفورانتوين هو مضاد حيوي واسع الطيف متاح منذ عام 1953، يستخدم على نطاق واسع لعلاج التهابات المسالك البولية السفلية غير المعقدة لأنه يبقى فعالاً ضد مسببات الأمراض البولية المقاومة للأدوية المتعددة. ومع ذلك، فقد كشفت دراسات المراقبة الدوائية عن انخفاض الحساسية لهذا الدواء وكان الهدف من هذه الدراسة هو التحري الجزيئي عن جينات مقاومة المضاد نيتروفورانتوين (*nfsA* و *nfsB*) في عزلات بكتريا *Escherichia coli* المعزولة من التهابات المجاري البولية. اذ تم جمع 100 عينة سريرية من بول مرضى مصابين بالتهابات المسالك البولية في مستشفيات مدينة الموصل (مستشفى الخنساء التعليمي، مستشفى الحدياء التخصصي، ومستشفى ابن سينا التعليمي للفترة من 2023/8/1 ولغاية 2023/11/1.

تم إجراء التشخيص الاولي للعزلات بزراعتها على أوساط زراعية محددة (اكار الدم، اكار الماكونكي و اكار الايوسين مثلين الأزرق). تم اجراء الفحوصات المجهرية والكيموحيوية والتشخيص بنظام الـ VITIK2 لعزلات البكتريا النامية. ولتأكيد التشخيص تم استخدام تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل polymerase chain reaction للكشف عن الجين *16SrRNA*، تم الحصول على 37 عزلة تعود لبكتريا *E. coli*.

وتم إجراء اختبار حساسية ومقاومة العزلات لعدد من المضادات الحيوية، تم اختيار المضادات على أساس استعمالها في علاج الالتهابات ومنها التهابات المسالك البولية، وأظهرت النتائج بان جميع عزلات الإشريكية القولونية ذات مقاومة لجميع فئات المضادات المستخدمة ان 37 (100%) عزلة كانت مقاومة للمضاد الحيوي Ampicilin و Erythromycin و Cephalothin، 27 (73%) عزلة مقاومة للمضاد الحيوي acid Nalidixic، 21 (56.8%) عزلة مقاومة للمضاد الحيوي Azethromycin، 20 (54%) عزلة مقاومة للمضاد الحيوي Levofloxacin، 19 (51.4%) عزلة مقاومة للمضاد الحيوي Gentamycine، وان اقل نسبة مقاومة كانت للمضاد Nitrofurantoin بلغت 13(35%).

وتم تحديد التركيز الأدنى المثبطة (MIC) Inhibitory Concentration Minimum للمضاد الحيوي نيتروفورانتوين للعزلات الحساسة. تراوحت القيم ما بين (166µg/ml - 33.33µg/ml).

وتم أيضاً استخدام تفاعل البلمرة المتسلسل للتحري عن الجينين *nfsA* و *nfsB* في خمسة عشر عزلة منتخبة، العزلات تم اختيارها كالأتي: خمسة عزلات مقاومة للمضاد نيتروفورانتوين وخمسة عزلات متوسطة الحساسية وخمسة حساسة للنيتروفورانتوين، أظهرت النتائج وجود

الجينين في جميع العزلات المنتخبة . تم مقارنة تسلسلات الخاصة بالعزلات المقاومة والمتوسطة الحساسية مع تسلسلات العزلات الحساسة باستخدام أداة Clustal omega فأظهرت النتائج وجود عدد من الطفرات الانتقالية والاستبدالية في العزلات المقاومة والمتوسطة الحساسية وكذلك طفرات حذف واطافة. ممّ قد أدت هذه الطفرات الى تغيير في الاحماض الامينية المكونة للبروتين ونتاج الانزيم المعيب وبالتالي أظهرت العزلات مقاومة للدواء .

Abstract

Nitrofurantoin is a broad-spectrum antibiotic available since 1953, widely used to treat uncomplicated lower urinary tract infections because it remains effective against multidrug-resistant urinary pathogens. However, pharmacovigilance studies have revealed low sensitivity to this drug. The aim of this study was to molecularly investigate the resistance genes to *nfsA* and *nfsB* in *E.coli* isolates isolated from urinary tract infections. A total of 100 clinical samples were collected from the urine of patients with urinary tract infections in hospitals in Mosul city (Al-Khansa'a Teaching Hospital, Al-Hadbaa Specialized Hospital, and Ibn Sinai Teaching Hospital for the period from 2023/8/1 to 2023/11/1).

Initial diagnosis of the isolates was performed by culturing them on specific culture media (Blood agar, MacConkey agar and Eosin methylene blue agar). Microscopic, chemical and VITIK2 diagnostic tests were then performed on the growing bacterial isolates. To verify the diagnosis, polymerase chain reaction (PCR) was employed to identify the *16S rRNA* gene, resulting in the collection of 37 *E. coli* isolates.

Bacterial isolates were tested for sensitivity and resistance to a number of antibiotics. The antibiotics were selected based on their use in the treatment of infections, including urinary tract infections, and the results showed that all *E. coli* isolates have multi-durg resistance (MDR). 37(100%) resistant isolates were found to be resistant to ampicillin, erythromycin and cephalothin, 27(73%) resistant isolates to nalidixic acid, 21(56.8%) resistant isolates to azithromycin, 20(54%) resistant isolates to levofloxacin, 19(51.4%) resistant isolates to gentamicin and the lowest resistance was to nitrofurantoin 13(35%).

The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined for the antibiotic for the nitrofurantoin-sensitive isolates with values ranging from 33.33 $\mu\text{g/ml}$ to 166 $\mu\text{g/ml}$.

The polymerase chain reaction (PCR) was also used to investigate the *nfsA* and *nfsB* genes in fifteen selected isolates: five nitrofurantoin-resistant, five moderately sensitive, and five nitrofurantoin-sensitive isolates, the results showed the presence of the genes in all selected isolates. The sequences of the resistant and moderately sensitive isolates were compared with the sequences of the sensitive isolates using the Clustal omega tool. The results showed that there were a number of translational and substitution mutations in the resistant and moderately sensitive isolates as well as deletion and addition mutations. These mutations may lead to a change in the amino acid composition of the protein and the production of the defective enzyme and thus the isolates showed resistance to the drug.

University of Mosul
Collage of Education
For Pure Science



**Molecular investigation of nitrofurantoin
resistance genes in *Escherichia coli* isolates
from urinary tract infections**

Zainab Baqir Abbas Rashid

M.Sc. Thesis

Biology

Supervised by

Assist. Prof.

Dr. Hasan Faisal Hussein Kahya

2025A. D.

1446 A. H.