

الكشف الجزيئي لبكتيريا *Mycobacterium tuberculosis* المقاومة للفلوروكولونات والمعزولة من منطقة

جدة بالمملكة العربية السعودية

شفاء أبوبكر علي باحداد

المشرف الرئيسي

دكتورة: اشو علي خان

أستاذ مشارك

المشرف المساعد

دكتورة: عفت عابد الجديبي

أستاذ مشارك

## المستخلص

يعتبر مرض السل من اقدم الأمراض التي تصيب الانسان وقد لوحظت الإصابة به منذ قبل ٥٠٠٠ عام ، و نجد أن نسبة الإصابة بمرض السل في مدينة جدة مرتفعة مقارنة بالمدن الأخرى في المملكة العربية السعودية ، و ذلك لأن مدينة جدة تستقبل الحجاج من جميع بلدان العالم . تهدف هذه الدراسة إلى التحقق من القابلية المظهرية للمضادات الحيوية و إكتشاف علاقة الفلوروكوينولونات بالمقاومة الوراثية في السلالات التي تم عزلها من مدينة جدة .تم عزل ٥٠ عينة من بكتيريا السل من مستشفى الملك عبدالعزيز الجامعي خلال عام ٢٠١٥ . و قد قمت أولاً باختبار قابلية السلالات للمضادات الحيوية باستخدام خمسة مضادات حيوية ريفامبسين ، ايسونازيد ، إسترنتومايسن ، ايثامبتول ، و بارازينايد . ومن ثم الكشف عن المنطقة المتغيرة في جينات البكتيريا *gyrA* and *gyrB* المقاومة للفلوروكوينولونات . و نجد ان جميع سلالات بكتيريا السل كانت حساسة للمضادات الحيوية ريفامبسين و إسترنتومايسن و الإيثامبتول بينما البعض منها كان مقاوما للمضادات الحيوية الايسونازيد والبارازينايد بنسبة تتراوح ما بين ٢-١٤% . وأظهرت المقاومة الوراثية وجود طفرات في الجينين *gyrA* و *gyrB* ، و كانت نسبة الطفرات في الجين *gyrA* بنسبة ٩٦% (٤٨١٥٠) في الشفرة ٩٥ و قد أظهرت تسعة من العزلات طفرات إضافية ستة منها في الشفرة ٩٥ و ٢١ و اثنين في الشفرة ٩٥ و ٢٩ و واحدة في الشفرة ٩٥ و ٩٠. أما في جين *gyrB* فقد وجدنا طفرتين في عزلتين فقط من اصل ٥٠ عزلة في الشفرات ٤٢٠ و ٤٢١ . إن حدوث الطفرات في الجينين *gyrA* and *gyrB* بين العزلات المقاومة للفلوروكوينولونات قد يساعد في تطوير الطريقة الجزيئية السريعة للكشف عن مقاومة الفلوروكوينولونات . وجود الطفرات بين أكثر من خمسين في المائة من المتوسط لعزلات بكتيريا السل الأقل مقاومة للفلوروكوينولونات يمكن اعتبارها مؤشرا لما قبل المقاومة.

**Molecular Detection Of Fluoroquinolone Resistance Among  
Clinical Isolates Of *Mycobacterium tuberculosis* From Jeddah,  
KSA**

**Shifaa Abubaker Ali bahaddad**

**Principal Supervised By**

**Dr. Asho Ali Khan**

Associated professor

**Co-supervised By**

**Dr.Effat Abid Al-Judaibi**

Assistant professor

## ABSTRACT

*Mycobacterium tuberculosis* (MTB) is an old enemy of the human race, with evidence of infection observed as early as 5000 years ago. MTB infection is relatively high in Jeddah as compared to other cities of Saudi Arabia due to high influx of people from across the globe for pilgrimage. This study aimed to investigate the phenotypic drug resistance for the first line antituberculous drugs and to explore mutations in fluoroquinolone (FQ) resistance *gyrA* and *gyrB* genes in *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) isolates from tuberculosis patients from Jeddah, Saudi Arabia during 2015. Firstly, phenotypic drug susceptibility tests (DST) were performed for first line antituberculous drugs for all the MTB isolates. DST for rifampicin (RIF), isoniazid (INH), streptomycin (Strept), ethambutol (Eth), and pyrazinamide (Pyr) were performed. Then the hypervariable regions of *gyrA* and *gyrB* genes were sequenced to identify mutations for Fluoroquinolones (FQs) resistance. Overall, all the MTB isolates were susceptible to Strept, RIF and Eth. Where as resistance to INH and Pyr were 2% and 14% respectively. Genotypic resistance revealed mutations in *gyrA* and *gyrB* genes among 96% (48/50) of FQ resistant isolates. 96% (48/50) of FQ resistant isolates showed mutations at codons 95 (S95T) and three pattern of double mutations in *gyrA* gene; six with E21Q & S95T, and the two with I29S & S95T, and one with A90V & S95T. The mutation in *gyrB* gene was identified in two of 50 clinical isolates in this study. K421R and A420T. For clinical isolates, *gyrB* mutations appear to be of much rarer occurrence. We conclude that occurrence of mutations at only four codons in *gyrA* and two codon in *gyrB* genes among FQ resistant isolates may assist in development of rapid molecular method for FQ resistance detection. Presence of mutations among more than fifty percent of intermediate susceptible FQ MTB isolates could also serve as a predictor for pre-resistant isolates.