بِسْمِ اللّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قال الله تعالى

مَا يَفْتَحِ اللَّهُ لِلنَّاسِ مِن رَّحْمَةٍ فَلا مُمْسِكَ لَهَا وَمَا يُمْسِكْ فَلا مُرْسِلَ لَهُ مِن بَعْدِهِ وَهُوَ الْعَزِيزُ الْحَكِيمُ

صدق الله العظيم

سورة فاطر الآية 2

Dedication

To my dear father

To my dear mother

To my sisters

brother,

to all those in the medical field

and

To You

Acknowledgment

Firstly I would thank Allah for His help, to complete this work. Secondly I would express my gratitude to my supervisor Dr. Mugahid M. Elhassan for his finite help and giving me much of his time for suggestion and writing of the thesis.

Great thanks to Dr. Humodi A. Saeed the Dean of the College of Medical Laboratory Science for his encouragement the researchers.

I would like also to thank my family for making this work easier.

Deep thanks to my colleagues Bashir Sirag Bashir and Salam Farouq for their help and encouragement to complete this work..

Thanks also to the National Health Center staff, the staff of Research Laboratory in Sudan University of Science and Technology for their support and patience during the practical.

Abstract

The present study aimed to identify and to characterize multi drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* among tuberculous patients in Khartoum state using Lowenstein Jensen Proportion method and polymerase chain reaction technique(PCR).

One hundred and thirty ZN positive sputum specimens were collected from patients with tuberculosis referred to different T.B. centers in Khartoum state (88 specimens from National Health Center, 42 specimens from Abu Anga and El shaab hospitals).

All sputum samples were cultivated on Lj medium .119 (91.5%) samples of AFB-positive showed characteristic growth of *Mycobacterium tuberculosis*,while 5 isolates showed typical growth of MOTTs and 6 speciemens showed no growth.

Different biochemical tests were selected , these include catalase ,nitrate ,TCH and PNB,the results of these tests revealed the following,124(100%)isolates showed negative for catalase at 68 ̊C while 122(93.3%) positive at RT,108(87%) were nitrate positive ,107(86.2%) showed resistance to TCH and 119(95.9%) were sensitive to PNB.

Sixty five isolates were selected randomly and subjected to PCR,the result revealed that fifty six of the isolates showed typical band of 123bp,with sensitivity of 91% comparing with cultur technique.

The result of antibiotics susceptibility testing using proportion conventional method revealed that 30 (23%) of the speciemens were Rifampicin resistant, 35 (26.9%) were Isoniazid resistant and 28 (21.5%) were resistant for both drugs (MDR). In contrast, PCR assay for drug resistance showed that a resistant rate of 20 (15.3%) for Rifampicin, 30 (23%) for Isoniazid and 15 (11.5%) for both drugs (MDR).

In conclusion; the rapid specific PCR for the identification of MDR *M.tuberculosis,* can substitute the hazardous slow conventional methods. However, multiplex and nested PCR will provide accurate reliable results.

الملخص

هدفت هذه الدراسة الى تحديد ووصف المتفطرة الدرنية المقاومة للادوية المتعددة بين مرضى الدرن بولاية الخرطوم باستخدام طريقة لوستين جنسن النسبية وتفاعل البلمرة التسلسلي.
وقد تضمنت هذه الدراسة 130 عينة قشع موجبه للعصويات المقاومه للأ حماض أُخذت من مختلف مراكز الدرن بولاية الخرطوم (88 عينة من المعمل القومي الصحي- الخرطوم و 42 عينة من مستشفيات ابو عنجة والشعب) .
جميع عينات البصاق زرعت في وسط لوستين جنسين،119 عينه اظهرت النمو المميز لمجموعة المتفطرات الدرنيه 5عينات اظهرت نمط نمو مشابه لانواع متفطرات غيرمجموعة المتفطره الدرنيه بينما 6عينات لم تنمو في هذا الوسط.

تم اختيار اختبارات كيموحيويه وهي الكتاليز ،النايتريت،الحساسيه حمض للبرا نايترو بنزويك و حمض الثا يوفين كاربوكسيل وكانت النتائج كالاتي : 122(98.3%) عينه موجبه للكتاليز في درجة حرارة الغرفه وجميعها كانت سالبه في درجة حراره 68م ، 108(87%) عينه كانت موجبه لاختبار النايتريت، 107 (86.2 %)عينه كانت مقاومه لحمض الثا يوفين كاربوكسيل و119(95.9%)عينه اظهرت حساسيه لحمض للبرا نايترو بنزويك 0
تم اختيار 65 عينه عشوائيا لاختبار تقنيى البلمره التسلسلي لتحديد مجموعى المتفطةه الدرنيه فأظهرت نسبة حساسيه 91% مقارنه بتقنية التزريع.
نتيجة اختبار الحساسية للمضادات الحيوية التي تستخدم الطريقة التقليدية ، لوستين جنسن النسبية تبين ان 30 (23%) مقاومة للريفامبيسين ، 35 (26.9%) مقاومة لعقار الايزونيازيد و 28 (21.5%) مقاومة لكل من العقارين. وفي المقابل كان نتائج تفاعل

البلمرة التسلسي لمقاومة المضادات الحيوية ، 20 (15.3%) مقاومة للريفامبيسين ، 30 (23%) مقاومة لعقار الايزونيازيد و 15 (11.5%) مقاومة لكل من العقارين.

وفي الختام يمكن الاستعاضة عن الاساليب التقليديـة البطئيـة الخطـرة بتفاعل البلمرة التسلسلي المحـدد السـريع لتحديـد المتفطـرة الدرنيـة المقاومــة لعقــاقير متعــددة الا انــه اســتخدام تقنيــة تفاعــل البلمــره التسلسلي المتعدد و تقنية تفاعـل البلمـره التسلسـلي العشـي سـوف تعطي نتائج دقيقه و مقنعه.