بسم الله الرحمن الرحيم

قال تعالى:

﴿وَمَا تَوْفِيقِي إِلاَّ بِاللَّهِ عَلَيْهِ تَوَكَّلْتُ وَإِلَيْهِ أُنِيب﴾

**صدق الله العظيم**

**سورة هود الآية 88**

# Dedication

**I dedicate this research To**

**My great father**

**My beloved mother**

**My brothers and sisters**

**My friends and my colleagues**

# Acknowledgment

**Firstly thanks to Allah for giving me Knowledge, patience and support to complete this work.**

**Iam deeply indebted to my supervisor Dr. Humodi Ahmed Saeed who deserves the credit for this work.**

**Thanks are extended to my friends for their encouragement and support during the preparation of this dissertation.**

**Special aknowledge is owed to Ustaz Mohammed Masaad,**

**and Ustaz Asjad M.Mukhtar for their help and friendly attitude.**

**Special thanks to Mr.Montaser Khair Alseed, and Mr.Uonies Taj Aldeen, and Miss.Sohair Ramadan, and Miss.Egbal Ali.**

# Abstract

This study was carried out in Khartoum state during the period from November 2008 to March 2009, to investigate antimicrobial resistance of *C. freundii* isolated from patients suffering from urinary tract infections. Three hundred and eleven urine specimens were collected from patients who attended Khartoum Teaching Hospital, Fedail Center and Gaffer Iben Auff specialized Hospital for Children. The specimens were cultured on blood agar and MaCconkey's agar for primary isolation of pathogen. Identification of the isolates was done by colonial morphology, gram stain and biochemical tests using API 20 E and oxidase test. The modified Kirby-Bauer disc diffusion method was adopted to investigate the resistance rate of *C. freundii*, to some antibiotic. Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) were determine by E. test.

Of the three hundred and eleven urine specimens examined, 11 (3.5 %) *C. freundii* were recovered.

The result revealed that the antimicrobial resistance of *C. freundii* was as follows: amoxicillin and ceftazidime (100% each), nitrofuratoin, chloramphenicol and gentamicin (0 % each), nalidixic acid and amoxyclav (54.5% each), and co-trimoxazole (63.6%).

The result indicated that the MIC, $MIC_{50}$ and $MIC_{90}$ of ceftazidime (>240µg/ml each), gentamicin (0.1-5.0 µg/ml, 5.0 µg/ml and 5.0 µg/ml), amoxyclav (1.0->240 µg/ml, >240 µg/ml and >240 µg/ml ), amoxicillin (30->240 µg/ml, 30 µg/ml and >240 µg/ml), chloramphenicol (1.0 µg/ml each).

The study concluded that the prevalence of *C. freundii* in patients with urinary tract infection is increasing. The Resistance rate of *C. freundii* to commonly used antimicrobial agents is slightly high.

# □□□□□□□

أجريت هذه الدراسة في ولاية الخرطوم في الفترة ما بين نوفمبر 2008 وحتى مارس 2009 وذلك لتقييم مقاومة المضادات الميكروبية بواسطة الليمونية الفرونيدية المعزولة من مرضي الجهاز البولى 311 عينة من البول جمعت من مستشفى الخرطوم التعليمي , مركز فضيل ومستشفي جعفر بن عوف التخصصي للأطفال. وتم العزل الأولى للبكتريا بواسطة تزريع العينات فى أوساط البلود اجار والماكونكى اجار. تم تحديد نوع الليمونية الفرونيدية المعزولة بواسطة شكل المستعمرة وصبغة جرام و التفاعلات الكيموحيوية بواسطة اختبار أل ا.بي.اى و اختبار إنزيم الأكسدة. وتم عزل 11 (3.5%) ليمونية فرونيدية من مجموع 311 عينة بول.

قامت هذه الدراسة بتقييم مقاومة الليمونية الفرونيدية لبعض المضادات الحيوية, وتم تحديد ا قل تراكيز تثبط نمو البكتريا.

خلصت هذه الدراسة إلي إن تقييم مقاومة المضادات الميكروبية بواسطة الليمونية الفرونيدية كالأتي: الامكسسلين والسفتازيديم (100 % لكل) , النيتروفيرانتوين, الكلورمفينكول و الجنتاميسين ( 0%لكل), النالدكسيك أسيد و الاموكسكلاف (54.5% لكل ), و الكوترايموكساسول ( 63.6%).

و خلصت الدراسة أيضا إلى أن ا قل تركيز للمضادات الحيوية يثبط نمو الليمونية الفرونيدية و ا قل تركيز للمضادات الحيوية يثبط نمو 50% من عدد الليمونية الفرونيدية و ا قل تركيز للمضادات الحيوية يثبط نمو 90% من عدد الليمونية الفرونيدية كالأتي ( ›240مايكروجرام/ مل لكل ) للسفتازيديم و (0.1- 5.0مايكروجرام/ مل ,5.0 مايكروجرام/ مل و 5.0 مايكروجرام/ مل ) للجنتاميسين و ( 1 مايكروجرام/ مل لكل ) للكلورمفينكول و (0.1- › 240 مايكروجرام/ مل , ›240 مايكروجرام/ مل و ›240مايكروجرام/مل) للاموكسكلاف و ( 30- ›240 مايكروجرام/ مل ,240 30مايكروجرام/ مل و ›240مايكروجرام/ مل) للامكسسلين.

وتوصلت الدراسة إلى وجود زيادة نسبية في معدل تسبب الليمونية الفرونيدية من مرضي الجهاز البولى. وزيادة معدل مقاومة الليمونية الفرونيدية للمضادات الميكروبية المستخدمة عادة.

# Table of Contents


| | | |
|---|---|---|
| الآية | | I |
| | Dedication | II |
| | Acknowledgment | III |
| | Abstract (English) | IV |
| | Abstract (Arabic) | V |
| | Table of Contents | VI |
| | List of tables | IX |
| | List of color plates | X |
| | List of Figures | XI |
| **1. Chapter One: Introduction** | | **1** |
| 1. | Introduction | 1 |
| 2. | Rationale | 2 |
| 3. | Research questions | 2 |
| 4. | Objectives | 2 |
| 4.1. | General Objective | 2 |
| 4.2. | Specific objectives | 2 |
| **2. Chapter Two: Literature Review** | | **3** |
| 2.1. | The genus *Citrobacter* | 3 |
| 2.1.1 | History | 3 |
| 2.1.2. | Classification | 3 |
| 2.2. | *Citrobacter freundii* | 4 |
| 2.2.1. | Definition | 4 |
| 2.2.2. | Habitat | 4 |
| 2.2.3. | Antigenic structures | 4 |
| 2.2.4. | Extracellular products | 5 |
| 2.2.5. | Properties | 5 |
| 2.2.6. | Mode of transmission | 5 |
| 2.2.7. | Pathogenesis and pathogenicity | 6 |
| 2.2.8. | Host defense | 6 |
| 2.2.9. | Epidemiology | 6 |
| 2.2.10. | Laboratory diagnosis | 7 |
| 2.2.11. | Culture of *Citrobacter freundii* | 7 |
| 2.1.12. | Serological testing | 7 |
| 2.2.13. | Treatment | 8 |
| 2.2.14. | Prevention | 8 |
| **3. Chapter Three: Materials and Methods** | | **9** |
| 3.1. | Study design | 9 |
| 3.1.1. | Type of study | 9 |

| | | |
|---|---|---|
| 3.1.2. | Study area | 9 |
| 3.1.3. | Target population | 9 |
| 3.1.4. | Data collection | 9 |
| 3.2. | Collection of specimens | 9 |
| 3.3. | Inoculation of specimens | 9 |
| 3.3.1. | Culture media | 9 |
| 3.3.2. | Procedure of Inoculation of Urine Samples | 10 |
| 3.4. | Examination of bacterial growth | 10 |
| 3.4.1. | Interpretation of culture growth | 10 |
| 3.5. | Purification of culture growth | 10 |
| 3.6. | Identification of the isolated bacteria | 10 |
| 3.6.1. | Identification of *C. freundii* | 10 |
| 3.6.1.1. | Primary identification | 10 |
| 3.6.1.1.1. | Colonial morphology | 11 |
| 3.6.1.1.2. | Gram's stain | 11 |
| 3.6.1.2. | Confirmatory identification | 11 |
| 3.6.1.2.1. | Oxidase test | 11 |
| 3.6.1.2.2. | API 20 E | 11 |
| 3.6.1.2.2.1. | Procedure | 11 |
| 3.6.1.2.2.2. | Interpretation | 12 |
| 3.7. | Antimicrobial susceptibility test | 12 |
| 3.7.1. | Procedure | 12 |
| 3.7.2 | Interpretation of the zone size | 13 |
| 3.7.3. | MIC test | 14 |
| 3.7.3.1. | Procedure | 14 |
| 3.7.3.2. | Result and interpretation | 14 |
| **4. Chapter Four: Results** | | 16-20 |
| **5.Chapter five:Discussion,Conclusion and Recommendations** | | 26 |
| 5.1. | Discussion | 26 |
| 5.2. | Conclusion | 28 |
| 5.3. | Recommendations | 29 |
| | **References** | 30-33 |
| | **Appendices** | 34-40 |

# List of Tables

**Table 1.** Distribution of specimens according to gender **17**

**Table 2 .** Distribution of specimens according to age group **17**

**Table 3 .** Distribution of specimens according to residence in Sudan **17**

**Table 4.** Distribution of specimens according to significant and insignificant growth **18**

**Table 5 .** Prevalence of *C. freundii* according to gender **18**

**Table 6.** Colonies characteristic of *C. freundii* **18**

**Table 7.** Biochemical tests on API 20 E **19**

**Table 8.** Susceptibility of *C. freundii* to antimicrobial agents **19**

**Table 9.** Antimicrobial resistance profile of *C. freundii* **20**

**Table 10.** Minimum Inhibitory Concentration of antimicrobial agents **20**

**Table 11.** MIC range**,** $MIC_{50}$ and $MIC_{90}$ of antimicrobial agents to *C. freundii* **20**

# List of Color Plates

**Plate 1 .** Growth of *C. freundii* on MacConkey's agar **21**

**Plate2.** Growth of *C.freundii* on Blood agar **21**

**Plate 3**. Biochemical reaction of *C. freundii* using API 20 E
**22**

**Plate 4**. Susceptibility test of *C. freundii* on Mueller-Hinton agar **22**

**Plate5**. MIC test of gentamicin and chloramphnicol against *C. freundii* by
E. test. **23**

**Plate 6.** MIC test of amoxicillin and ceftazidim against *C. freundii* By
E. test.
**23**

# List of Figures


**Figure 1.** Distribution of specimen and isolate according to gender **24**

**Figure 2.** Distribution of specimen and isolate according to age group **24**

**Figure 3.** Prevalence of *C. freundii* according to gender **25**

**Figure 4.** Percentage of antimicrobial resistance of *C. freundii* **25**