# الايـة

بأسم الثالوث القدوس

# {قلب الفهيم يكتسب المعرفة،

# وأذن الحكماء تطلب العلم}

# ام 15:18

# Dedication

To .....

The great beloved & love of my life ... My parent

To .....

Always on my side ... My brothers

To .....

The ever giving candles ... My teachers

To .....

Our supports through our way ... My friends

# Acknowledgment

Firstly thank to God for giving me knowledge, patience and support to complete this work.

I am deeply indebted to my supervisor Dr. Humodi Ahmed Saeed who deserves the credit for this work, my thanks and appreciation to him for his support, advice, enthusiasm and guidance. I would like to thank my parents and all my friends for their encouragement and support during the preparation of this dissertation.

I am grateful to all staff members of the Department of Microbiology, College of Medical Laboratory Science, Sudan University of Science and Technology.

# Abstract

This study was carried out in Khartoum state during the period from November 2008 – March 2009; to determine the frequency and antibiotics resistance of *Klebsiella oxytoca* isolated from patients suffering from community acquired urinary tract infection. Two hundred and ten urine specimens were collected from patients attended Khartoum Teaching Hospital and Fadil Center. The specimens were cultured on MacConkey's agar and Cystine Lactose Electrolyte Deficiency (CLED) agar for primary isolation of pathogen.

The isolates were identified by colonial morphology, Gram's stain, oxidase test, and biochemical tests using API E 20 system. The Kirby-Bauer disc diffusion method was adopted to determine the resistance rate of the isolates to amoxicillin, amoxyclav, nitrofurantoin, nalidixic acid and co-trimoxazole. The result revealed that only 11 (5.2%) isolates of *K. oxytoca* were identified. The resistance rate of *K. oxytoca* was 11(100%) to amoxicillin, 5(45.5%) to amoxyclav and co-trimoxazole each, 2(18.2%) to nitofurantoin, 4(36.4%) to nalidixic acid. E-test was adopted to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) value of amoxyclav, nitrofurantoin and co-trimoxazole against these bacteria. The result indicated that the MIC, $MIC_{50}$, $MIC_{90}$ of amoxyclav were (0.05-10mcg/ml, 0.05mcg/ml, 10mcg/ml) respectively, nitrofurantoin (15-120mcg/ml, 15mcg/ml, 120mcg/ml) respectively and co-trimoxazole (0.5->240mcg/ml, 0.5mcg/ml, >240mcg/ml) respectively. The study concluded that the antimicrobial resistance of *K. oxytoca* to traditionally used antibiotics was slightly high and the frequency of *K. oxytoca* in the community-acquired urinary tract infection was slightly high too.

# الخلاصة


أجريت هذة الدراسة فى ولاية الخرطوم فى الفترة ما بين نوفمبر 2008 وحتى مارس 2009 وذلك لتحديد معدل تردد و مقاومة المضادات الميكروبية بواسطة الكلبسيلة الاوكسيتوكية المعزولة من مرضى بعدوى الجهاز البولى المكتسبة من المجتمع. جمعت 210 عينة بول من مستشفى الخرطوم التعليمى ومركز فضيل. تم تزريع العينات فى وسط اجار ماكونكى و وسط اللاكتور والسستين المنقوص الشوارد للعزل المبدئى للبكتريا. حددت نوع الكلبسيلة الاوكسيتوكة المعزولة بواسطة شكل المستعمرة، صبغة جرام والتفاعلات الكيموحيوية بواسطة اختبار أل ا. بى. آى واختبار إنزيم الاكسدة. تم استخدام طريقة كيربى- باور لتحديد مقاومة الكلبسيلة اوكسيتوكة للنيتروفيرانتوين، الامكسسلين، النالدكسيك أسيد، الاموكسكلاف والكوترايموكساسول. تم عزل كلبسيلة اوكسيتوكة عينة فى 11 (5.2%). أظهرت الدراسة ان مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية كانت كالاتى; الامكسسلين 11(100%)، النيتروفيرانتوين2(18.2%)، النالدكسيك أسيد 4(36.4%)، الاموكسكلاف والكوترايموكساسول 5(45.5%).

تم تحديد اقل تراكيز تثبيط نمو البكتريا للنيتروفيرانتوين، الاموكسكلاف و الكوترايموكساسول.

وجدت الدراسة أن اقل تركيز للمضادات الحيوية يثبط نمو كلبسيلة اوكسيتوكة، واقل تركيز للمضادات الحيوية يثبط نمو 50% من عدد الكلبسيلة اوكسيتوكة واقل تركيز للمضادات الحيوية يثبط نمو 90 % من عدد الكلبسيلة اوكسيتوكة هو(0.05-10 مايكروجرام/ مل ، 0.05 مايكروجرام/ مل، 10 مايكروجرام/ مل) على التوالى للاموكسكلاف ، (15-120 مايكروجرام/ مل، 15 مايكروجرام/ مل، 120 مايكروجرام/ مل) على التوالى للنيتروفيرانتوين، (≤0.5 مايكروجرام/ مل، 0.25 مايكروجرام/ مل، (0.5->240 مايكروجرام/ مل، 0.5 مايكروجرام/ مل، >240 مايكروجرام/ مل) على التوالى للكوترايموكساسول.

توصلت الدراسة الى زيادة نسبية فى مقاومة الكلبسيلة اوكسيتوكة للمضادات الحيوية الشائعة الاستعمال، و فى معدل تسبب الكلبسيلة الاوكسيتوكية لعدوى الجهاز البولى المكتسبة من المجتمع.

# Table of Contents


| No | Contents | Page |
|---|---|---|
| | الاية | I |
| | Dedication | II |
| | Acknowledgment | III |
| | Abstract (English) | IV |
| | Abstract (Arabic) | V |
| | Table of Contents | VI |
| | List of tables | VIII |
| | List of figures | IX |
| | **Chapter One: Introduction** | |
| 1. | Introduction | 1 |
| 2. | Rationale | 2 |
| 3. | Research questions | 3 |
| 4. | Objectives | 3 |
| 4.1. | General objective | 3 |
| 4.2. | Specific objectives | 3 |
| | **Chapter Two: Literature Review** | |
| 2.1. | The genus *Klebsiella* | 4 |
| 2.1.1. | History | 4 |
| 2.1.2. | Classification | 5 |
| 2.2. | *Klebsiella oxytoca* | 6 |
| 2.2.1. | Definition | 6 |
| 2.2.2. | Normal habitat | 6 |
| 2.2.3. | Antigenic structures | 7 |
| 2.2.4. | Virulence Factors | 8 |
| 2.2.5. | Transmission | 10 |
| 2.2.6. | Pathogenicity and Diseases | 10 |
| 2.2.7. | Laboratory diagnosis | 11 |
| 2.2.8. | Treatment and prevention | 14 |
| | **Chapter Three: Materials and Methods** | |
| 3.1. | Study design | 19 |
| 3.1.1. | Type of study | 19 |
| 3.1.2. | Study area | 19 |
| 3.1.3. | Target population | 19 |

| | | |
|---|---|---|
| 3.1.4. | Data collection | 19 |
| 3.2. | Collection of specimens | 19 |
| 3.3. | Cultivation of specimens | 19 |
| 3.3.1. | Culture media | 19 |
| 3.3.2. | Procedure of inoculation of urine samples | 20 |
| 3.4. | Examination of bacterial growth | 20 |
| 3.4.1. | Interpretation of culture growth | 20 |
| 3.5. | Purification of bacterial growth | 20 |
| 3.6. | Identification of *K. oxytoca* | 21 |
| 3.6.1. | Primary identification | 21 |
| 3.6.1.1. | Colonial morphology | 21 |
| 3.6.1.2. | Gram's stain | 21 |
| 3.6.2. | Confirmatory identification | 21 |
| 3.6.2.1. | Oxidase test | 21 |
| 3.6.2.2. | API 20E (Analytical Profile Index) | 22 |
| 3.6.2.2.1. | Procedure | 22 |
| 3.6.2.2.2. | Interpretation | 22 |
| 3.7. | Antimicrobial susceptibility test | 23 |
| 3.7.1. | Procedure | 23 |
| 3.7.2. | Interpretation | 23 |
| 3.8. | Minimum Inhibitory Concentration test | 24 |
| 3.8.1. | Procedure | 24 |
| 3.8.2. | Interpretation | 24 |
| | **Chapter four: Results** | |
| 4.1. | Clinical specimens | 25 |
| 4.2. | Criteria of isolation and preservation of *K. oxytoca* | 25 |
| 4.3. | Criteria of identification of *K. oxytoca* | 25 |
| 4.4. | Criteria of susceptibility and detection of the MIC level of *K. oxytoca* | 26 |
| | **Chapter five: Discussion, Conclusion and Recommendations** | |
| 5.1. | Discussion | 37 |
| 5.2. | Conclusion | 39 |
| 5.3. | Recommendations | 39 |
| | References | 41 |
| | Appendices | 51 |

# List of Tables

**Table 1.** Distribution of patients according to gender……27

**Table 2.** Distribution of patients according to age group……...…27

**Table 3.** Distribution of specimens according to significant and insignificant growth…….28

**Table 4.** Prevalence of *K. oxytoca* according to gender…….....28

**Table 5.** Colony characteristics of *K. oxytoca*…….……...29
.

**Table 6.** Identification of *K. oxytoca* by API 20 E test……..…30

**Table 7.** susceptibility of *K. oxytoca* to the antimicrobial agents…..……31

**Table 8.** Antimicrobial resistance profile to *K. oxytoca*…….……..32

**Table 9.** Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the antimicrobial agents……..……...…..33

**Table 10.** MIC range of antimicrobial agents to *K. oxytoca*...…….....34

**Table 11.** MICS range, $MIC_{50}$ and $MIC_{90}$ of antimicrobial agents to *K. oxytoca*…….…..….34

# List of Figures

**Figure 1.** Biochemical activity of *K. oxytoca* on API E 20 system……35

**Figure 2.** MICs of *K. oxytoca* to antibiotics……...35

**Figure 3.** *K. oxytoca* positive Indole test……...….36