بسم الله الرحمن الرحيم

قال تعالي:

﴿وَفَوْقَ كُلِّ ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ﴾

صدق الله العظيم
سورة يوسف-الآية (76)

DEDICATION

To my symbol of the absolute

motherhood, the unparalleled

… human being, my mother

To that who taught to write the

,first letters of the alphabet

… my father

To all my family, friends and

… teachers with best wishes

A red rose with special thanks and love

...To my husband and sun

Asma

ACKNOWLEDGMENT

***T**hanks are indeed to God almighty worth all praise.*

***I** would like to express my sincere, heartfelt gratitude to my supervisor **Dr. Humodi Ahmed Saeed** who supervised this study with constant care and patience . He has meticulously supported this dissertation with his guidance.*

***I** am greatly indebted to Mr. Walid Eldif for his valuable consultation and advice.*

***M**y hearties gratitude are rendered to all staff of the Microbiology Department in Sudan University for Science and Technology for their efficient support.*

***I** am also greatly indebted to the medical laboratory and nursing staff in Khartoum hospitals for their help.*

***I** am most grateful to all my patients, who without their efficient help, this study would not been done.*

Table of contents

Dedication……………………………………………………………. I
…..
Acknowledgment……………………………………………………………. II
Table of contents………………………………………………………… III
List of tables………………………………………………………....... VI
Abstract (English)…………………………………………………….. VII
Abstract (Arabic)………………………………………………………… IX

Chapter One

1. Introduction

1.1. Introduction ……………………………………………………....... 1
1.2. Rationale ……………………………………………………........ 2
1.3. Objectives ………………………………………………….…….. 3
1.3.1. General objective ……………………………………………. 3
1.3.2. Specific objectives ……………………………….………….. 3

Chapter Two

2. Literature Review

2.1. The genus Salmonella ……………………………………………... 4
2.1.1. Historical background ………………………………………… 4
2.1.2. Classification and nomenclature of the genus Salmonella …….. 5
2.2. *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*) …………………………… 6
2.2.1. Definition ……………………………………………………. 6
2.2.2. Habitat ………………………………………………………. 6
2.2.3. Antigenic structures …………………………………………… 7
2.2.4. Extracellular products …... 8
2.2.5. Mode of transmission………………………………………... 9
2.2.6. Pathogenesis ……………..……………………………….. 9
2.2.7. Pathogenicity ……………….……………………………….. 11
2.2.8. Host 12
defences…………………………………………………
2.2.9. Prevalence and epidemiology ……………..…………………… 12
2.2.10. Laboratory diagnosis ………………………………………. 13
2.2.10.1. Specimens……………………………………………… 13
2.2.10.2. Culture ……………………………………………… 13
2.2.10.3. Biochemical characterization ………………………………. 15

2.2.10.4. Serotyping …….. 16
2.2.10.5. Biotyping of Salmonella serovars …….. 16
2.2.10.6. Phage typing of Salmonella serovars…….. 16
2.2.10.7. Molecular characterization of Salmonella strains by using specific pimers …… 17
2.2. 11. Treatment…… …….. 18
2.2.12. Prevention and control ……... 19

Chapter Three

3. Materials and Methods

3.1. Approach …… 20
3.2. Study type and design ……. 20
3.3. Study area ……... 20
3.4. Study population …… 20
3.5. Sampling ……. 20
3.6. Methods and tools …….. 21
3.6.1. Methods of data collection …….. 21
3.6.2. Collection of specimens ……. 21
3.6.3. Cultivation of specimens ……. 21
3.6.4. Examination of the bacterial growth ……..... 21
3.6.5. Purification of the bacterial growth ……. 21
3.6.6. Identification of the isolated bacteria ……..... 22
3.6.6.1. Gram stain …… 22
3.6.6.2. Oxidase test …….. 22
3.6.6.3. Urease test …… 22
3.6.6.4. Analytical profile index (API 20E)……... 23
3.6.6.4.1. Test procedure ……..... 23
3.6.6.4.2. Interpretation ……. 26
3.6.6.5. Serological identification ……. 26
3.6.6.5.1. Serogrouping of Salmonella strains ……. 26
…
3.6.6.5.2. Serotyping of Salmonella strains…… 26
3.6.6.6. Antimicrobial susceptibility test ……... 27
3.6.6.6.1. Preparation of inoculum …… 27
3.6.6.6.2. Disk diffusion technique 28
……
3.6.6.6.3. HiComb (MIC test) 28
……
3.7. Validity ……... 30

3.8. Ethical consideration …….. 30
3.9. Data analysis ……... 30

Chapter Four

4. Results ……... 31

Chapter Five

5. Discussion 40

……..

Chapter Six

6. Conclusion and recommendation …….. 43
References ……. 45
Appendices …… 54

List of Tables

Table 1. Distribution of the specimens according to the gender (n=350)……. 32
Table 2. Distribution of the specimens according to the age group(n=350)…… 32
Table 3. Distribution of the specimens according to the residence in Khartoum state (n=350)……..…….. 33
Table 4. Distribution of the specimens according to the results of the stool culture (n=350)…… 33
Table 5. Prevalence of *Salmonella enteritidis* according to the gender of the patients (n=350)……..…….. 34
Table 6 Prevalence of *Salmonella enteritidis* according to the age group of the patients (n=350) …… 34
Table 7 Prevalence of *Salmonella enteritidis* according to the residence of the patients (n=350) ……... 34
Table 8. Characteristic of *Salmonella enteritidis* ……..…….. 35
Table 9. Susceptibility of *S. enteritidis* to different antimicrobial agents (n=3) ……. 36
Table 10. Activity of different antimicrobial agents on *S. enteritidis* (n=3) ……. 37
Table 11. Minimum inhibitory concentration of different anti-microbial agents to *S. enteritidis* (n=3)…… 38
Table 12. MIC range, MIC_{50} and MIC_{90} of different antimicrobial agents to *S. enteritidis* (n=3) ……..….. 39

ABSTRACT

This study was carried out in Khartoum state during the period from October 2008 to April 2009 to determine the antibiotic resistance patterns of the clinical isolates of *Salmonella enteritidis.*

A total number of three hundred and fifty patients suffering from symptoms and signs of Salmonellosis were included in this study.

Stool specimen was collected from each patient and cultured on Salanit F broth, then subcultured on Xylose lysine deoxyclolate , Deoxycholate citrate agar, Salmonella Shigella Agar and MacConkey agar for primary isolation of the pathogen. Identification of the isolates was done by colonial morphology, Gram stain and biochemical tests using Analytical Profile index (API 20E) and oxidase test and also serological diagnosis.

The modified Kirby – Bauer disc diffusion method was used to determine the resistance rate of *S. enteritidis* to different types of antibiotics. The minimum inhibitory concentration (MIC) of *S. enteritidis* was determined by HiComb (MIC test).

On this study, 216 (61.7%) of patients were males while 134 (38.3%) were females. The ages of patients ranging from 9 month to 74 years old.

305 (87.1%) of patients revealed no pathogenic organism isolated while 45 (12.8%) were infected by different types of microorganisms. The prevalence rate of *S. enteritidis* among all patients was 3(0.9%).

All the three isolates of *S. enteritidis* were sensitive to a number of the antibiotic tested like Ciprofloxacin and Gentamicin. But all the three isolates of *S. enteritidis* were resistant to Chloramphenicol, PenicillinG, Ceftazidime,

Amoxycillin and Cephalexin. Also,one isolate (33.3%) of *S. enteritidis* isolates were resistant to Tetracycline, Tobromycin and Amikacin.

The range of minimum inhibitory concentration, the MIC_{50} and MIC_{90} for *S. enteritidis* is (3µg/ml for each) to Ceftazidime, (0.5-1µg/ml, 0.5µg/ml and 1µg/ml) to Tetracyclin, (0.10-0.25µg/ml, 0.10µg/ml and 0.25µg/ml) to Gentamicin, (0.001-0.05µg/ml, 0.001µg/ml and 0.05µg/ml) to Nalidixic acid, (1-2µg/ml, 1µg/ml and 2µg/ml) to Amoxycillin, (0.1-1µg/ml, 0.1µg/ml and 1µg/ml) to Tobromycin, (4-8µg/ml, 4µg/ml and 8µg/ml) to Ticarcillin, (0.032-0.064µg/ml, 0.064µg/ml and 0.032µg/ml) to Cephotaxime, (0.05µg/ml for each) to Co-triooxazol and (7.5µg/ml for each) to Nitrofurantoin and Cephalexin.

This study recommended that, patients treatment should be based upon both and up-to-date knowledge of the effective agent and antibiotic sensitivity testing to each specific isolate.

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في ولاية الخرطوم في الفترة من أكتوبر 2008م إلى أبريل 2009م لتحديد مقاومة المضادات الحيوية للمعزولات السريرية من السلمونة ملهبة الأمعاء. أدخل اجمالي ثلاثمائة وخمسون مريض يعانون من أعراض وعلامات داء السلمونلات في هذه الدراسة.

جمعت عينة براز من كل مريض وذرعت في السلنايت إف ثم ذرعت ثانويا في زيلوس لايسين دي أوكسي كوليت، دي أوكسي كوليت ستريت أجار ، سلمونيلة شقيلة أجار والماكونكي أجار وذلك من أجل العزل الأولي للميكروب. تم التعرف على المعزولات بواسطة شكل المستعمرة وصبغة جرام والتفاعلات الكيموحيوية بواسطة إختبار أ.بي.آي.20 إي وإختبار إنزيم الأكسدة وأيضاً التشخيص المصلي.

أستخدمت الطريقة المتطورة لقرص كيربي – بايور المنتشر لتحديد معدل مقاومة السالمونيلة ملهبة الأمعاء لمختلف الأنواع من المضادات الحيوية. ثم تحديد أقل تركيز للمضاد الحيوي يثبط نمو السلمونلة ملهبة الأمعاء بواسطة هاي كمب (إختبار أقل تركيز للمضاد الحيوي يثبط نمو البكتريا).

في هذه الدراسة ، 216 (61.7%) من المرضى كانوا من الرجال بينما 134 (38.3%) من المرضى كانوا من النساء. كانت أعمار المرضى تبدأ من عمر تسعة أشهر إلى عمر 74 سنة.

أظهرت هذه الدراسة أن 305 (87.1%) من المرضى ليس لديهم كائنات حية ممرضة معزولة بينما 45(12.8%) مصابون بمختلف الأنواع من

الكائنات الحية الدقيقة.كان معدل الإصابة بالسلمونلة ملهبة الأمعاء في كل المرضى هو 3 (0.9%).

كل السلمونة ملهبة الأمعاء التي تم عزلها كانت حساسة لعدد من المضادات الحيوية التي تم اختبارها كالسبروفلوكسسين والجنتاميسين. ولكن كل السلمونة ملهبة الإمعاء التي تم عزلها كانت مقاومة للكلورامفنيكول ، البنسلين المائي، السفتازديم، الأموكسيسلين والسيفالكسين. وأيضاً 33.3% من السلمونة ملهبة الأمعاء التي تم عزلها كانت مقاولة للتتراسايكلين، التوبرومايسين والأميكاسين.

كان المدى لأقل تركيز من المضاد الحيوي اللازم لتثبيط نمو بكتريا السلمونة ملهبة الأمعاء ، وأقل تركيز للمضادات الحيوية يثبط نمو 50% من السلمونيلة ملهبة الأمعاء وأقل تركيز للمضادات الحيوية يثبط نمو 90% من السلمونيلة ملهبة الأمعاء كالآتي: (3مايكروجرام/مل لكلٍ) بالنسبة للسفتازديم،(0.1-1 مايكروجرام/مل، 0.5 مايكروجرام/مل و 1 مايكروجرام/مل) للتتراسايكلين،(0.1-0.25 مايكروجرام/مل، 0.10 مايكروجرام/مل و 0.25 مايكروجرام/مل) للجنتمايسين، (0.001-0.05 مايكروجرام/مل، 0.001 مايكروجرام/مل و 0.05 مايكروجرام/مل) للنالدكسيك أسيد، (1-2 مايكروجرام/مل، 1 مايكروجرام/مل و 2 مايكروجرام/مل) للأموكسيسلين،(0.1-1 مايكروجرام/مل، 0.1 مايكروجرام/مل و 1 مايكروجرام/مل) للتوبرومايسين و (4-8 مايكروجرام/مل، 4 مايكروجرام/مل و 8 مايكروجرام/مل) للتيكارسلين،(0.032-0.064 مايكروجرام/مل، 0.064 مايكروجرام/مل و 0.032 مايكروجرام/مل) للسيفوتاكزيم ، (0.05 مايكروجرام/مل لكلٍ) للكو-تريموكزازول و(7.5 مايكروجرام/مل لكلٍ) للنيتروفيرانتوين والسيفالكسين.

أوصت هذه الدراسة بان علاج المرضي لا بد أن يعتمد علي كل من المعرفة المواكبة للعلاج الفعال وإختبار حساسية المضاد الحيوي لكل معزول علي حدة .