جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

# التحري عن الممرضات البكتيرية المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية في اخماج جروح العمليات في مدينة الموصل

هديل تحسين جمال جلال الهاشمي

رسالة ماجستير

علوم الحياة / الأحياء المجهرية

بإشراف

الأستاذ الدكتورة أديبة يونس شريف النعمان

1444هـ

2023م

## الخلاصة

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص البكتريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية من أخماج العمليات للمرضى الراقدين في مستشفيات (السلام التعليمي، الموصل العام، الجمهوري التعليمي والزهراوي الاهلي)، تم جمع 100 عينة من مسحات جروح العمليات للفترة من ايلول 2021 ولغاية شباط 2022، وبينت النتائج أن 77 عينة فقط وبنسبة 77% أعطت نتيجة موجبة للنمو البكتيري، وأظهرت 13 عينة منها نمواً لأكثر من نوع واحد من البكتريا وبنسبة 16.9%. بلغ مجموع العزلات الكلي 90 عزلة، 70 (77.78%) عزلة منها سالبة لصبغة كرام و20 (22.22%) عزلة موجبة لصبغة كرام كانت *Escherichia coli* الأكثر عزلاً من البكتريا السالبة لصبغة كرام 25 (27.8%) عزلة تلتها *Pseudomonas aeruginosa* 18 (20%) عزلة و*Proteus mirabilis* 13 (14.5%) عزلة، ثم البكتريا *Acinetobacter baumannii* 5 (5.6%) عزلات و3 (3.3%) عزلات لبكتريا *Proteus vulgaris* وعزلة واحدة (1.1%) للنوع *Klebsiella oxytoca* وكذلك للنوع *Klebsiella pneumoniae* و*Citrobacter koseri* و*Pantoea agglomerans* و*Enterobacter cloacae* و*Citrobacter freundii*. وكان النوع *Staphylococcus aureus* الاكثر عزلاً من العزلات الموجبة 16 عزلة وبنسبة (17.8%) تلاها 4 عزلات وبنسبة (4.4%) لأنواع المكورات العنقودية السالبة لأنتاج انزيم التجلط.

أظهر إختبار الحساسية للمضادات الحيوية لجميع العزلات البكتيرية مقاومة عالية ومتعددة للمضادات وبنسبة 95.6% وأظهرت معظم العزلات مقاومة للمضاد الحيوي oxacillin وrifampcin وبنسبة 96.7% لكليهما وبنسبة 94.4% و92.2% للمضادين cefotaxime وcefepime، على التوالي وكانت أقل مقاومة للـ Amikacin وبنسبة 57.8% و Gentamicin 68.9% فيما أظهرت العزلات حساسية عالية للمضاد الحيوي imipenem وبنسبة 73.3%.

أظهرت نتيجة التحري المظهري عن مضخات التدفق لـ 46 عزلة منتخبة من العزلات ذات المقاومة المتعددة للمضادات أن 15.21% منها كانت موجبة لمضخات التدفق و30.43% كانت وسطية الانتاج، وإن جميع عزلات *Staph. aureus* أعطت نتيجة سالبة لإنتاجها وأظهرت 28.5% من كل من عزلات *E. coli* و*Pseudomonas aeruginosa* نتيجة موجبة فيما أظهرت 42.8% لكل منها نشاط متوسط لإنتاجها في حين لم تنتج من قبل عزلات *Acinetobacter baumannii*، *Enterobacter*، *Citrobacter koseri* و*Klebsiella* spp. أما فيما يخص قدرة هذه العزلات لتكوين الأغشية الحيوية فبينت النتائج أن 18 عزلة (39.1%) أظهرت قدرة جيدة لإنتاجه فيما أن 7 عزلات (15.2%) منها أظهرت قدرة ضعيفة لإنتاجه وبإستخدام وسط أكار أحمر الكونغو.

كما بينت النتائج أن 9 (19.6%) عزلات من مجموع 46 أظهرت القدرة لإنتاج الغشاء الحيوي ولإنتاج مضخات التدفق وأن 9 عزلات (19.6%) كانت موجبة لتكوين الأغشية الحيوية فقط فيما

كانت 12 (26.1%) من العزلات منتجة لمضخات التدفق فقط وإن 16 (34.7%) كانت سالبة لكليهما.

أظهرت نتائج الكشف عن جينات مضخات التدفق من نوع *AcrA*, *AcrB*, *TolC* في عزلتين من بكتريا *E.coli* و *Proteus mirabilis* إزدياد مستوى الجين *AcrA* في البكتريا *E. coli* الأكثر مقاومة وإنخفاضه في العزلة الأقل مقاومة فيما إزدادت نسخ الجين *AcrB* والجين *TolC* في العزلة الأقل مقاومة. فيما أظهرت البكتريا *Proteus mirabilis* الأقل مقاومة للمضادات زيادة قليلة في نسخ جين *AcrA* وزيادة كبيرة في الجين *AcrB* ولم يكن هناك تعبير للجين *TolC*. أما الجين *AcrR* فقد قل بنسبة قليلة في *E. coli* الأقل مقاومة وكان نقصانه بشكل أكبر في البكتريا *Proteus mirabilis* المقاومة. وأظهرت النتائج وجود نسخ من جينات *AdeF* و *AdeG* و *AdeR* و *AdeS* في بكتريا *Acinetobacter baumannii* المقاومة للمضادات الحيوية.

أظهرت عزلات *E. coli*، *Proteus mirabilis* والبكتريا *Acinetobacter baumannii* ذات المقاومة المتعددة للمضادات مقاومة للمستخلصات المائية والكحولية لكل من أوراق نبات التين وبراعم نبات القرنفل فيما أظهرت البكتريا *Acinetobacter baumannii* حساسية للمستخلص المائي لأوراق نبات التين عند التركيز 200ملغرام/سم$^3$. وإن التركيز 25 ملغم/سم$^3$ كان المثبط لها في اوراق نبات التين فقط.

وأظهر المستخلص المائي لأوراق نبات التين تأثيراً تآزرياً ضد البكتريا *Acinetobacter baumannii* مع المضادات oxacillin و ceftazidime و amoxiclav و imipenem و Rifampcin و vancomycin و gentamicin و cefotaxime و Trimethoprim و ciprofloxacin و amikacin و cefepime وعند التركيز 100 ملغم/سم$^3$ وبأقطار تثبيط مختلفة.

وأظهرت الدراسة إنخفاضاً كبيراً في عدد نسخ الجين *AdeF* وبدرجة أقل *AdeS* في بكتريا *Acinetobacter baumannii* المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق نبات التين عن نظيرتها غير المعاملة، بينما أظهر الجين *AdeG* زيادة كبيرة في نسخ الجين وبدرجة أقل *AdeR*.

## Summary

The study includes the isolation and identification of multidrug resistant bacteria isolated from surgical wound infection of patients in (Al-Salam, Al-Jumhori hospital, Mosul General and Al- Zahrawi private hospital) 100 samples wound infection swabs were collected during september 2021 to February 2022. The results showed that 77 (77%) sample gave positive result for bacterial growth and 13 (16.88%) growth for more than one species of bacteria, total isolates were 90. 70 isolate(77.78%) were gram negative, and 20 (22.22%) were gram positive. *Escherichia coli* was the most prevalent isolate among gram negative bacteria 25 (27.8%) isolates, followed *Pseudomonas aeruginosa* 18 (20%) and *Proteus mirabilis* 13 (14.5%) then *Acinetobacter baumannii* 5 (5.6%) and 3 (3.3%) isolate of *Proteus vulgaris* and one (1.1%) isolate of each *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter koseri*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii*. From the gram species *Staphylococcus aureus* was the most prevalent isolate species of gram positive bacteria with 17.8% followed by 4 (4.4%) isolates belonging to coagulase negative *Staphylococci*.

The antibiotic susceptibility test results for all isolates showed high and multidrug resistance at a rate of 95.6%. Most isolates showed resistance to both oxacillin and rifampcin at 96.7% and 94.4% and 92.2% for cefotaxime and cefepime, respectively and the lowest resistance was to amikacin 57.8%. While the isolates showed high sensitivity to imipenem 73.3%.

Phenotypic detection of efflux pump for 46 selected multidrug resistant isolates showed that 15.21% were positive for efflux pump, 30.43% were intermediate, all *Staphylococcus aureus* isolates showed negative result for the test, 28.5% of both *E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates showed positive result and 42.8% of them showed intermediate results, these pumps were not produced by *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter*, *Citrobacter koseri* and *Klebsiella* spp. about the ability of these isolates for biofilm formation the results showed that 18 (39.1%) showed good activity for its formation, 7 (15.2%) were intermediate using congo red agar.

The results also showed that 9 (19.6%) isolates from total 46 of the total isolates with multiple resistance, produce biofilm and were positive for efflux pumps. 9(19.6%) were positive for biofilm only while 12 (26.1%) of the isolates were only positive for efflux pumps and 16 (34.7%) were negative for both.

The molecular detection of *acrA, acrB, acrR* and *TolC* genes in two strain of *E. coli* and *Proteus mirabilis,* the results showed that the level of *acrA* was high in the more resistant *E. coli*, while less resistant strain produced them at low level, and there is an increase in gene copies of *acrB* and *TolC* genes in the less resistant isolate. While *Proteus mirabilis* showed as small increase in the copy number of the *AcrA* gene and a significant increase in the *AcrB* gene and there was no expression of *TolC* gene. The *AcrR* gene was slightly reduced in *E. coli* and was further decreased in *Proteus mirabilis*. The resistant *Acinetobacter baumannii* contained copies of the *AdeF*, *AdeG*, *AdeR*, and *AdeS* genes.

*E. coli*, *Proteus mirabilis* and *Acinetobacter baumannii* isolates with multidrug resistant have shown resistance to aqueous and alcohol extracts for both fig leaves and clove plant buds while *Acinetobacter baumannii* have shown sensitivity to aqueous extract for fig leaves at 200mg/ml concentration. The results showed that the MIC for fig leaves extract was 25 mg/ml on *Acinetobacter baumannii*.

The acqueous extract of fig leaves show synergistic effect with antibiotics under study against *Acinetobacter baumannii* including oxacillin, ceftazidime, amoxiclav, imipenem, Rifampcin, vancomycin, gentamicin, cefotaxime, Trimethoprim ciprofloxacin, amikacin and cefepime at 100 mg/ml with different inhibition zones.

The study revealed that the *AdeF* gene's copy quantity had significantly decreased and to a lesser extent *AdeS* in *Acinetobacter baumannii* treated with aqueous extract of fig leaf than it’s non-treated counterpart, while the *AdeG* gene showed a significant increase in copy number of the gene and, to a lesser extent, *AdeR*.

**The Republic of Iraq**
**Ministry of Higher Education and**
**Scientific Research**
**Mosul University / College of Science**
**Department of biology**

# Investigation of Multidrug Resistance Pathogenic Bacteria in Surgical Wound Infections in Mosul city

**Hadeel Tahseen Jamal Jalal Al-Hashimi**

M.Sc. Thesis

**Biology /Microbiology**

Supervised By

**Prof. Dr. Adiba Younis Sharif Al-Numan**

**1444 A.H.** **2023 A.D.**