

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



**Phenotypic and molecular inhibition of antibiotics  
and antiseptic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*  
isolated from burn infections in Mosul city**

**Abdullah Marwan Shakir Mahmood Al-Jammas**

**M.Sc. / Thesis**  
**Biology / Microbiology**

**Supervised By**  
**Prof. Dr. Muhsin Ayoub Essa Ahmed AL-Ogaiddy**

**2024 A.D.**

**1445 A.H.**

## Abstract

Antibiotics and biocides resistance *Pseudomonas aeruginosa* was emerged as a deadliest pathogenic agent globally, responsible for the majority of morbidity and mortality in burn patients. The current study aimed to reveal the role of *P. aeruginosa* in burn infections and investigate its resistance to antibiotics and biocides and the possibility of finding therapeutic alternatives against the resistant isolates, for this purpose 120 samples were collected from burn infection patients in Mosul Specialized Center for Burns and Plastic Surgery, at a period from September/ 2023 to January/ 2024.

Isolation and diagnosis results showed that twenty *P. aeruginosa* isolates (16.7%) had been obtained using cultural, some biochemical tests and Vitek 2 system, and confirmed the identification by specific *16 S rRNA* gene detection. Two isolates were further identified by sequencing the amplified *16S rRNA* gene, and It was recorded for the first time in the gene bank NCBI at the accession numbers PP514624, PP524758.

The isolates were subjected to antibiotics sensitivity test on Muller Hinton Agar (MHA) against 12 various antibiotics, and 12 of different biocides. The results showed that all the isolates (100%) were multi-drug resistance, as they revealed the highest levels of resistance against eight antibiotics (Aztronam, Pipracillin, Cefepime, Ceftazidium, Ceftriaxone, Amikacin, Tobramycin, and Rifampin) at a percentage of (100%), (95%) of the isolates were resistant to Meropenem, Levofloxacin and Ciprofloxacin, and 17 (85%) were resistant to Imipenem. The results of resistance to biocides revealed the highest levels of resistance against seven biocides at percentage of (100%), while the isolates did not show any resistance toward Surgical soap.

Phenotypic and molecular detection of some antibiotic and biocides resistance mechanisms in *P. aeruginosa* isolates were investigated, the results shown that all 20 isolates produce beta-lactamase enzyme determined by

iodometric method and all isolates (100%) carried *ampC* gene. production of Metallo-beta-lactamases MBLs is of particular concern among carbapenem-resistant *P. aeruginosa* isolates, 17 (85%) were imipenem-resistant, among them, 11 (64.7%) isolates appeared positive for the IMP-EDTA Combined Disc test. The *VIM* gene is detected positively in seven (41.17%) isolates. Not a single isolate (0%) carried the *IMP* gene. No one of the imipenem-sensitive isolates harbored the *IMP* or *VIM* genes. EtBrCw method was used to identifies overexpressed efflux systems. The results shown all isolates (100%) have efflux activity, our genotypic results shown 19 (95%) of isolates have *mexB* and *mexY* genes, while the *qacE Δ1* gene was observed in all isolates (100%) and none of the isolates (0%) harboured the *qacE* gene.

The results of antimicrobial activity of 5 organic acids, 5 ethanolic plant extracts, 16 plant oils and natural substances, revealed that acetic acid and lactic acid have effective antimicrobial activity at a concentration 1.2% and 0.73% respectively, while citric acid, ascorbic acid and sorbic acid revealed antimicrobial activity against one isolate at concentration 0.24%. acetic acid and lactic acid have high effective antimicrobial activity against *P. aeruginosa* isolates, and the combinations of acetic acid / biocides (1:3 v/v) proved significantly effective and it was able for rendering the ineffective biocides to effective state. The results of ethanolic plant extracts revealed that three plant extracts were potentially effective in inhibiting microbial growth with variable potency, *R. coriaria* L, *P. granatum* and *S. aromaticum* at concentration 9.6, 12, 12 mg/ml respectively, and the three extracts revealed clear synergistic effect with antibiotics, and rendering the most resistant bacteria to sensitive state. The plant oils, Aloe vera gel and honey did not show significant efficacy against *P. aeruginosa* isolates.

## الخلاصة

بكتيريا *P. aeruginosa* المقاومة للمضادات الحيوية و المطهرات قد ظهرت كعامل ممرض مميت على نطاق عالمي، مسؤولة عن معظم الإصابات والوفيات في مرضى الحروق. هدفت الدراسة الحالية إلى اظهار دور بكتيريا *P. aeruginosa* في عدوى الحروق ودراسة مقاومتها للمضادات الحيوية والمطهرات وإمكانية العثور على بدائل علاجية ضد العزلات المقاومة. لهذا الغرض، تم جمع 120 عينة من مرضى الحروق في مركز الموصل التخصصي للحروق والجراحة التجميلية، خلال الفترة من سبتمبر 2023 إلى يناير 2024.

أظهرت نتائج العزل والتشخيص أنه تم الحصول على عشرين عزلة من (*P. aeruginosa* (16.7%) باستخدام الاختبارات الزرعية وبعض الاختبارات الكيموحيوية ونظام جهاز الفايك Vitek 2 وتم تأكيد التشخيص باستخدام الكشف المحدد لجين *16S rRNA*. تم التشخيص الإضافي لعزلتين بواسطة تسلسلات القواعد النيتروجينية لجين *16S rRNA* المضخم وتم تسجيلهما لأول مرة في بنك الجينات العالمي NCBI بأرقام الوصول الآتية PP514624, PP524758.

تم إخضاع العزلات لاختبارات الحساسية للمضادات الحيوية على مولر هينتون أكار (MHA) ضد 12 مضاد حيوي مختلف و 12 مبيد حيوي مختلف. أظهرت النتائج أن جميع العزلات (100%) اظهرت مقاومة متعددة للأدوية ، حيث أظهرت أعلى مستويات المقاومة ضد ثمانية مضادات حيوية (Aztronam, Pipracillin, Cefepime, Ceftazidium, Ceftriaxone, Amikacin, Tobramycin, and Rifampin) بنسبة مئوية بلغت (100%)، (95%) من العزلات كانت مقاومة ل meropenem, levofloxacin and ciprofloxacin ، و 17(85%) من العزلات كانت مقاومة ل imipenem .

أظهرت نتائج المقاومة للمبيدات الحيوية أعلى مستويات المقاومة ضد سبعة مبيدات حيوية بنسبة (100%)، بينما لم تظهر العزلات أي مقاومة تجاه الصابون الجراحي.

تمت دراسة التحري المظهري والجزيئي لبعض آليات مقاومة المضادات الحيوية والمبيدات الحيوية في عزلات *P.aeruginosa*، أظهرت النتائج أن جميع العزلات 20 تنتج إنزيم بيتا- لاكتاماز المحدد بطريقة اليودوميتر وجميع العزلات (100%) كانت تحمل جين *ampC*. يعد إنتاج انزيمات Metallo- beta- lactamase MβL مصدر مهم بشكل خاص ضمن عزلات *P. aeruginosa* المقاومة للكاربابينيم ،

17(85%) كانت مقاومة ل imipenem ومن بينها 11 (64.7%) عزلة ظهرت إيجابية لاختبار القرص المشترك IMP-EDTA. تم اكتشاف جين *VIM* بشكل إيجابي في سبع عزلات (41.17%). لم تكن هناك عزلة واحدة (0%) تحمل جين *IMP*. لم تحتوي أي من العزلات الحساسة ل imipenem على جينات *IMP* أو *VIM*. تم استخدام طريقة *EtBrCw* لتحديد أنظمة التدفق المفرط التعبير. أظهرت النتائج أن جميع العزلات (100%) لها نشاط تدفق، وأظهرت نتائج النمط الوراثي أن 19 (95%) من العزلات تمتلك جينات *mexB* و *mexY*، بينما لوحظ جين *qacE Δ1* في جميع العزلات (100%) ولم يلاحظ أي من العزلات (0%) يؤدي الجين *qacE*.

أظهرت نتائج النشاط المضاد للميكروبات ل 5 أحماض عضوية و 5 مستخلصات نباتية إيثانولية و 16 زيت نباتي والمواد الطبيعية، أظهرت أن حمض الأسيتيك وحامض اللاكتيك لهما نشاط مضاد للميكروبات فعال بتركيز 1.2% و 0.73% على التوالي، بينما أظهر حامض الستريك وحامض الأسكوربيك وحامض السوربيك فعالية مضادة للميكروبات ضد عزلة واحدة بتركيز 0.24%. يمتلك حامض الخليك وحامض اللاكتيك نشاطاً مضاداً للميكروبات عالي الفعالية ضد عزلات *P. aeruginosa*، وقد أثبتت توليفات حامض الخليك / المبيدات الحيوية (3:1 حجم / حجم) فعاليتها بشكل كبير وكانت قادرة على إعادة المبيدات الحيوية غير الفعالة إلى الحالة الفعالة. أظهرت نتائج المستخلصات النباتية الإيثانولية أن ثلاثة مستخلصات نباتية لها فعالية محتملة في تثبيط النمو الميكروبي بفاعلية متفاوتة، وهي *R. coriaria L* , *P. granatum* and *S. Aromaticum* بتركيز 9.6,12,12 ملغم/مل على التوالي، وأظهرت المستخلصات الثلاثة تأثير تآزري واضح مع المضادات الحيوية، وجعلت البكتيريا الأكثر مقاومة للمضادات تتحول للحالة الحساسة. لم تظهر الزيوت النباتية وجل الصبار والعسل فعالية كبيرة ضد عزلات *P. aeruginosa*



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الموصل / كلية العلوم

قسم علوم الحياة

التثبيط المظهري والجزئي لمقاومة المضادات الحيوية والمطهرات في

بكتيريا الزوائف الزنجارية المعزولة من اصابات الحروق في مدينة

الموصل

عبدالله مروان شاكر محمود الجماس

رسالة ماجستير

علوم الحياة / احياء مجهرية

إشراف

الاستاذ الدكتور

محسن ايوب عيسى احمد العكدي

2024 م

1445 هـ