Ministry of Higher Education and
Scientific Research
University of Mosul
College of Science
Department of Biology

Morphological and Molecular Evaluation of Piperacillin/Tazobactam ,Meropenem and Fenugreek Aqueous Extract Efficacy Against Bacteria Isolated from Nosocomial Infection

AMAL ABDULHADE SAEED HUSAIN

M.Sc. Thesis

In

Biology / Microbiology

Supervised By

Asst. Prof.

Dr. Aws Ibrahim Sulaiman Nadir

1445 A.H **2024 A.D**

Abstract

The main aim of our study was to evaluate the efficacy of piperacillin-tazobactam, meropenem and aqueous extract of fenugreek against bacteria isolated from nosocomial infections.

Three hundred bacterial samples were collected from Ibn Sina Hospital, the specialized burns Center in Al Mosul City, and Al-Salam General Teaching Hospital during the period of September 21, 2023, to January 1, 2024. (100 from a burns,45 from urinary tract infections, 27 from surgical wounds, 23 from respiratory tract infections , and 5 from CSF) and 100 samples from hospital environmental (Door handles, beds, health staff's hands and shoes, room floors and window)

Clinical samples were included 134 females (44%)and 66 males (22%), based on morphological, biochemical and physiological tests that were conducted and obtaining 24 *Acinetobacter baumannii*, 4 *Citrobacter freundii,* and 5 *Enterobacter hormaechei*.

The bacterial diagnosis,were confirmed using the diagnosis using the Vitek2 compact system, and we got 11 strain belonged to *Acinetobacter baumannii*, 4 to *Citrobacter freundii*, and 5 to *Enterobacter hormaechei.*Also the diagnosis was further confirmed using ABIS software, and the result was identical to that of the Biochemical and Vitek2 system diagnosis

Depending on 16S rRNA and after sequencing, we recorded five strains as first time 2 strain *Acinetobacter baumannii* (OR835243.1 AwAm1, OR835244.1 AwAm2), 2 strains *Citrobacter freundii* (OR887653.1AwAm3, OR887654.1AwAm4) and 1 strain *Enterobacter hormaechei* (OR887719.1AwAm5)

The results of the antibiotic sensitivity test was indicated that *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter hormaechei*, and *Citrobacter freundii* exhibited high resistance against Amikacin, Azithromycin, Ceftazidime,

Ceftriaxone, Ciprofloxacin, Gentamicin, Imipenem, Levofloxacin, Meropenem, and piperacillin-tazobactam.

When the results of the minimum inhibitory concentration (MIC) of the two antibiotics were compared, they showed that meropenem has a more effective against the bacteria, with an inhibitory concentration of approximately half the concentration of Piperacillin-Tazobactam.

The HPLC analysis of the aqueous extract of fenugreek showed, that having this plant six peaks, each peak representes an active substance,Fenugreek aqueous extact exhibited an inhibitory effect at a concentration of 1000 µg/ml for strains of *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii* and *Enterobacter hormaechei*.

The synergistic inhibition of fenugreek combined with meropenem for strains of *Acinetobacter baumannii* , *Enterobacter hormaechei* was observed at 500 µg/ml ,and for *Citrobacter freundii* at 250 µg/ml. meanwhile, the synergistic inhibition of fenugreek with Piperacillin-tazobactam of strain of *Acinetobacter baumannii* , *Citrobacter freundii* 500 µg/ml and for *Enterobacter hormaechei* 1000µg/ml.

The MIC values decreased for *Acinetobacter baumannii* from 625 to 500µg/ml, *Citrobacter freundii* from 625 to 250µg/ml, and *Enterobacter hormaechei* 5000 to 500µg/ml. While the Piperacillin-Tazobactam with Fenugreek inhibition for *Acinetobacter baumannii* decreased from 1250 µg/ml to 500µg/ml, and for *Citrobacter freundii* from 1250µg/ml to 500µg/ml, and *Enterobacter hormaechei* from 10,000µg/ml to 1000µg/ml.

The results showed that all bacterial stains contained the bla_{TEM} gene and the bla_{OXA} gene. However, bla_{NDM} was present in only two strains, one belonging to *Citrobacter freundii* and the other to *Enterobacter hormaechei*. The results were negative for the bla_{SHV} and bla_{CTXM} genes.

الخلاصة

كان الهدف الرئيسي من دراستنا هو تقييم فعالية بيبراسلين – تازوباكتام والميروبينيم والمستخلص المائي لنبات الحلبة ضد البكتريا المعزولة من التهابات عدوى المستشفيات

جمعت ثلاثمائة عينة بكتيرية من مستشفيات مدينة الموصل التي شملت مستشفى ابن سينا العام ومستشفى السلام التعليمي العام ومركز الحروق التخصصي في الموصل / العراق خلال الفترة من 21ايلول 2023 الى 1 كانون الثاني 2024 شملت (100عينة من الحروق,45 من التهاب المسالك البولية,27من جروح العمليات,23من التهاب الجهاز التنفسي و5من السائل النخاعي الشوكي) و100 عينة من بيئة المستشفيات (مقابض الابواب,الاسرة,ايدي واحذية الطاقم الصحي,ارضيات الغرف والنوافذ)

شملت العينات السريرية (134 أنثى 44% و 66 ذكر 22%، و100عينة من بيئة المستشفى 33%) اعتماداً على الاختبارات المظهرية والبايوكيميائية والفسلجية التي اجريت تم الحصول على 24 سلالة من *Acinetobacter baumannii*,و4 سلالات من*Citrobacter freundii*,و5 سلالات من *Enterobacter hormaechei*.

تم تأكيد التشخيص البكتيري، بإجراء التشخيص باستخدام نظام Vitek2 المضغوط، وحصلنا على 11 سلالة تنتمي إلى *Acinetobacter baumannii*، و4 إلى *Citrobacter freundii*، و 5 إلى *Enterobacter hormaechei*. تم تأكيد التشخيص أيضًا باستخدام برنامج ABIS، وكانت النتيجة مطابقة لتشخيص Biochemical و نظام Vitek2.

اعتماداً على16s rRNA وبعد ظهور نتائج التشخيص الجزيئي سجلنا خمس سلالات كأول مرة: سلالتين تابعة ل *Acinetobacter baumannii* (AwAm1.OR835243.1، OR835244.1 AwAm2) وسلالتين تابعة ل *Citrobacter freundii* (OR887653.1AwAm3، OR887654.1AwAm4) وسلالة تابعة ل *Enterobacter hormaechei*(OR887719.1AwAm5)

أظهرت نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية أن سلالات *Acinetobacter baumannii* و*Enterobacter hormaechei* و*Citrobacter freundii* أظهرت مقاومة عالية ضد Amikacin, Azithromycin, Ceftazidime, Ceftriaxone, Ciprofloxacin, Gentamicin, Imipenem, Levofloxacin, Meropenem, and piperacillin-tazobactam.

عندما تمت مقارنة نتائج التركيز المثبط الأدنى للمضادين الحيويين تبين أن الميروبينيم له تأثير أكبر على سلالات البكتيريا، إذ بلغ التركيز المثبط الادنى للميروبينيم حوالي نصف تركيز بيبيراسيلين–تازوباكتام.

أظهرت نتائج تقنية HPLC للمستخلص المائي للحلبة وجود هذا النبات على ست قمم كل قمة تمثل مادة فعالة.

وقد اظهرالمستخلص المائي للحلبة تأثيراً مثبطاً عند تركيز 1000 ميكروغرام/مل لسلالات *Acinetobacter baumannii* , *Citrobacter freundii* و *Enterobacter hormaechei*.

كان التثبيط التآزري للحلبة مع الميروبينيم لسلالات *Acinetobacter baumannii* و *Enterobacter hormaechei* 500 مايكروغرام/مل و *Citrobacter freundii* 250 مايكروغرام/مل، في حين أن التثبيط التآزري للحلبة مع Piperacillin-tazobactam لسلالات *Acinetobacter baumannii* و *Citrobacter freundii* كان 500 مايكروغرام/مل و 1000 مايكروغرام\مل ل *Enterobacter hormaechei* .

انخفضت نسبة MIC لسلالات *Acinetobacter baumannii* من 625 إلى 500 مايكروغرام/مل، وبكتيريا *Citrobacter Freundii* من 625 إلى 250 مايكروغرام/مل، وسلالات *Enterobacter hormaechei* من 5000 إلى 500 مايكروغرام/مل. بينما انخفض مستوى البيبراسيللين- تازوباكتام مع تثبيط الحلبة لسلالات *Acinetobacter baumannii* من 1250 مايكروغرام/مل إلى 500 مايكروغرام/مل، ولسلالات *Citrobacter Freundii* من 1250 مايكروغرام/مل إلى 500 مايكروغرام/مل، ولسلالات *Enterobacter hormaechei* من 10000 مايكروغرام/مل إلى 1000 مايكروغرام/مل.

وبعد الكشف عن جينات المقاومة أظهرت النتائج أن جميع السلالات تحتوي على جين blaTEM وجين blaOXA. بينما كان bla NDM موجودًا في سلالتين فقط، إحداهما تنتمي إلى سلالة *Citrobacter freundii* والأخرى إلى *Enterobacter hormaechei*وكانت النتائج سلبية بالنسبة لجينات bla SHV و bla CTXM.

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الموصل

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

التقييم المظهري والجزيئي لكفاءة بيبراسلين/تازوباكتام ,ميروبينيم والمستخلص المائي لنبات الحلبة تجاه البكتريا المعزولة من عدوى المستشفيات

آمال عبد الهادي سعيد حسين

رسالة ماجستير

علوم الحياة / الأحياء المجهرية

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

أوس إبراهيم سليمان نادر

1445هـ 2024 م