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

# Identification of an Auto Inducer Synthase Encoding Gene in Biofilm Forming *Acinetobacter baumannii*

**Amira Ismail Ahmed Sultan Al Badrani**

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

**Supervised by**

**Assistant Professor**

**Dr. Khansa Mohammed Younis Al-Taee**

**2022A.D** **1444 A.H**

# Abstract

The purpose of this investigation was to isolate, identify, and evaluate the gene copy number variation of the genes associated with quorum sensing *abaI* gene and antibiotics resistance *adeA* gene , and *blaOXA-51* gene of the clinical *Acinetobacter. baumannii* isolates isolated from Mosul hospitals (AL-salam teaching hospital, Mosul general hospital, AL-jumhurii teaching hospital, Ibin Sina teaching hospital, and Specialized burn center). Pathological samples were collected during period from the first of October to December in 2021.A total of 125 samples were collected from patients admitted different hospitals included wounds swab (16), urine (13), Cerebrospinal Fluid (3), blood (2), sputum (11), throat swab (54), burn swab (26). The isolates were identified by morphologicall and biochemically using the API 20 system, and VITEK-2 system. Only 25 isolates were confirmed as *A.baumannii*. The high percentage of *A.baumannii* appeared in burn patients (40%) and the lowest percentage was in patients with throat swabs and blood (8%). The disc diffusion method for thirteen types of antibiotics were used in this study to determine the antibiotic sensitivity for all *A.baumannii* isolates. Antibiotic susceptibility refers to the *A. baumannii* infection were divided into three categories multi-drug resistance (MDR), extensively drug-resistant (XDR), and non-multi-drug resistance ( non-MDR) , and the percentage 34.61%, 53.84%, and 11.53% respectively. The findings of biofilm production were varying proportions by using microtiter plate method, the highest percentage of biofilm formation was found in burn samples (24%), and the lowest percentage was found in blood samples and throat swabs (4%). All isolates showed quantitatively and qualitatively activity of acyl homoserine lactones (AHL) signals using the biosensor strain *A. tumefaciens* KYC55. The qPCR results demonstrated that the genes of interest were present in all

selected isolates. The gene copy number variation of the antibiotic resistance genes (efflux pumps), *adeA* gene, and the *blaOXA-51* gene were low in the log phase and then elevated in the stationary phase. While the autoinducer Synthase gene, *abaI* was highly expressed in log phase compared to the stationary phase.

# الخلاصة

تمثل الغرض من الدراسة الحالية عزل ، وتشخيص، وتقييم التباين في نسخ الجينات المرتبطة باستشعار النصاب ( *abaI* gene ) ومقاومة المضادات الحيوية ( *adeA* gene و *blaOXA*-51 gene) لعزلات *Acinetobacter. baumannii* السريرية المعزولة من مستشفيات الموصل (مستشفى السلام التعليمي ، مستشفى الموصل العام ، مستشفى الجمهوري التعليمي ، مستشفى ابن سينا التعليمي ، ومركز الحروق التخصصي ) . تم جمع 125 عينة من المرضى الراقدين في المستشفيات شملت مسحات الجروح (16) ، الادرار (13) ، سائل النخاع الشوكي (3 ) ، الدم (2) ، البلغم (11) ، مسحات الحلق (54) ،مسحات الحروق (26). شخصت العزلات مجهريا وكيميائيا باستخدام نظام API 20 ونظام VITEK-2. من مجموع العينات تم تأكيد 25 عزلة فقط على أنها *A.baumannii*. كانت *A.baumannii* باعلى نسبة في مرضى الحروق (40%) وأقل نسبة في عينات المرضى من مسحات الحلق وعينات الدم (8%). استخدمت طريقة انتشار القرص لثلاثة عشر نوعا من المضادات الحيوية في هذه الدراسة لتحديد حساسية المضادات الحيوية لجميع عزلات *A.baumannii* ، وقسمت النتائج الى ثلاث فئات (XDR) extensively drug-resistant , (MDR) multi-drug resistance , non-multi-drug resistance ( non-MDR) وبنسب 34.61 %, 53.84 %,11.53 %على التوالي. كانت نتائج إنتاج الأغشية الحيوية بنسب متفاوتة ، اذ وجدت أعلى نسبة لتكوين الاغشية الحيوية في مسحات الحروق (24%) ، وأقل نسبة وجدت في عينات الدم ومسحات الحلق ( 4 %). بينت جميع العزلات الفعالية الكمية والنوعية في انتاجها لإشارات(AHL) acyl homoserine lactones باستخدام السلالة الكاشفة *Agrobacterium. tumefaciens* KYC55. أظهرت نتائج qPCR وجود الجينات قيد الدراسة في جميع العزلات المختارة ، وان كمية النسخ لجينات المقاومة للمضادات الحيوية (مضخات التدفق) جين *adeA* وجين *blaOXA-51* منخفضًا في الطور اللوغارتمي ثم ارتفع في مرحلة طور الثبات. في حين أن جين المحفز الذاتي autoinducer Synthase gene ( *abaI*) عبر عنه بشكل كبير في الطور اللوغارتمي مقارنة بطور الثبات.

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

# تشخيص الجين المشفر لانزيم Synthase المحفز التلقائي في بكتريا *Acinetobacter baumannii* المكونة للاغشية الحيوية

اميرة اسماعيل احمد سلطان البدراني

رسالة ماجستير

علوم الحياة / احياء مجهرية

بإشراف

الاستاذ المساعد

الدكتورة خنساء محمد يونس الطائي

1444 هـ
2022 م