BRIEF REPORT

Investigation of the Correlation between the Presence of Csu Operon Genes and Biofilm Formation in Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Isolates in Qom City

Razieh Mohammadzadeh,
Razieh Nazari

Associate Professor, Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

(Received January 7, 2024; Accepted May 12, 2024)

Abstract

Background and purpose: *Acinetobacter baumannii* is an opportunistic pathogen that causes serious infections in hospitalized patients. It is particularly concerning due to its increasing resistance to antibiotics, making it difficult to treat. This bacterium can survive on hospital surfaces for extended periods due to its high resistance to environmental conditions. It can colonize ventilators, form biofilms, and cause pneumonia. *A. baumannii* with its ability to form biofilm is very important in causing treatment-resistant nosocomial infections. Csu A/BABCDE pilus system, outer membrane proteins, the chrome sensing system, and the pga ABCD operon are virulence factors of *Acinetobacter baumanii*. Biofilm formation by *Acinetobacter baumanii* plays a crucial role in the development of hospital-acquired infections. Expression of the CSU operon, which plays a significant role in pilus assembly, the adhesion of bacteria to surfaces, and biofilm formation, is of great importance. This study aimed to investigate the presence of csu operon genes in carbapenem-resistant clinical isolates of *A. baumannii* and their ability to form biofilms.

Materials and methods: A total of 97 carbapenem-resistant clinical isolates of *A. baumannii* were examined for the presence of csu operon genes (csuA, B, C, D, E, and A/B) using PCR. Isolates were cultured in BHI broth until turbidity reached a McFarland standard of 0.5. 200 µL of each bacterial suspension was transferred into individual wells of a 96-well microtiter plate. The microtiter plate was incubated at 37°C for 24 hours. The biofilm formation assay was conducted using the microtiter plate method. The optical density of the samples was measured at 650 nm using a microplate reader. The biofilm-forming ability of the isolates was compared to that of a negative control (sterile broth) and a positive control (*Pseudomonas aeruginosa* PA01). The results were analyzed using SPSS software and Pearson's chi-squared test.

Results: The results of biochemical and differential tests for 97 carbapenem-resistant *Acinetobacter baumanii* isolates were summarized. Out of 97 carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates, 62 (63.9%) harbored the csuA gene, 51 (52.6%) harbored the csuB gene, 81 (83.5%) harbored the csuC gene, 29 (29.9%) harbored the csuD gene, 57 (58.8%) harbored the csuE gene, and 54 (55.7%) harbored the csuA/B genes. The presence of the csuC gene was higher compared to other genes, while the presence of the csuD gene was lower. Additionally, 29 isolates (29.9%) exhibited strong biofilm production, 30 (30.9%) exhibited moderate biofilm production, and 38 (39.2%) exhibited weak biofilm production.

Conclusion: The results of this study suggest that the csuD gene may play a lesser role in biofilm formation in *A. baumannii*, as its expression was lower in isolates with strong and moderate biofilm formation compared to other csu operon genes, while the expression pattern of other csu genes in isolates with strong and moderate biofilm formation was relatively similar.

Keywords: *Acinetobacter*, biofilm, PCR, csu operon

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (233): 219-224 (Persian).

Corresponding Author: Razieh Nazari - Islamic Azad University, Qom Branch, 15 Khordad Boulevard, Qom, Iran (E-mail: r.nazari1102002@gmail.com).

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و چهارم شماره ۲۳۳ خرداد سال ۱۴۰۳ (۲۲۴-۲۱۹)

بررسی ارتباط حضور ژن های اپرون *csu* موثر در تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربا‌پنم در شهر قم

راضیه محمدزاده
راضیه نظری

چکیده

سابقه و هدف: میکروارگانیسم فرصت طلب *اسینتوباکتر بومانی* عفونت‌های جدی و چالش زایی برای بیماران بستری در بیمارستان ایجاد می‌کند و با مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، درمانی دشوار و هزینه بری دارد. این باکتری با مقاومت بالا به شرایط محیطی، مدت زیادی بر روی سطوح بیمارستانی زنده می‌ماند. *اسینتوباکتر بومانی* با ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی خود، میکروارگانیسمی شاخص در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به درمان مطرح شده است که با کلونیزاسیون آن در دستگاه تنفس مصنوعی، ایجاد بیوفیلم و بیماری پنومونی می‌نماید، پروسه تشکیل بیوفیلم عموما از طریق اتصال پیلی به یک سطح آغاز و سبب تسهیل ورود و اتصال سایر سلول‌ها به سلول‌های اولیه می‌گردد. سیستم پیلی csu A/ BABCDE، پروتئین‌های غشا خارجی، سیستم کروم سنسینگ و اپرون pga ABCD فاکتورهای ویرولانس *اسینتوباکتر بومانی* هستند تشکیل بیوفیلم *اسینتوباکتر بومانی*، اهمیت به‌سزایی در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی دارد. بیان اپرون csu که در تجمع پیلوس نقش قابل توجهی در اتصال باکتری به سطوح غیر زنده و تشکیل بیوفیلم ایفا می‌کند. این پژوهش با هدف بررسی میزان حضور ژن‌های متفاوت اپرون csu در جدایه های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربا‌پنم و توانایی آن‌ها در تشکیل بیوفیلم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش توصیفی- مقطعی، تعداد ۹۷ جدایه بالینی *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربا‌پنم جهت بررسی حضور ژن های csu A,B,C,D,E,A/B به روش PCR، در سال ۱۳۹۷ مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا جدایه ها در محیط BHI براث کشت و سوسپانسیون باکتری معادل ۰/۵ مک فارلند آماده شد. در مرحله بعد ۲۰۰ میکرولیتر از هر سوسپانسیون به چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. بررسی تشکیل بیوفیلم به روش میکروتیتر پلیت در طول موج ۶۵۰ نانومتر با میکروپلیت ریدر انجام شد و توانایی تولید بیوفیلم بر اساس جذب نوری نمونه‌ها با جذب نوری کنترل مقایسه شد. *Pseudomonas aeruginosa* PA01 به عنوان کنترل مثبت در آزمایش‌های بررسی تشکیل بیوفیلم استفاده شد. نتایج به‌دست آمده با نرم‌افزار SPSS و آزمون پیرسون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج تست های بیوشیمیایی و افتراقی ۹۷ جدایه *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربا‌پنم به‌طور کلی ذکر گردیده شد. نتایج بررسی قدرت تشکیل بیوفیلم جدایه ها نشان داد که به ترتیب ۲۹/۸۹، ۳۰/۹۲ و ۳۹/۱۷ درصد از جدایه‌ها دارای بیوفیلم قوی، متوسط و ضعیف بوده اند. از ۹۷ جدایه، ۶۲ جدایه (۶۳/۹۱ درصد) دارای ژن *csuA*، ۵۱ جدایه (۵۲/۵۷ درصد) دارای ژن *csuB*، ۸۱ جدایه (۸۳/۵ درصد) دارای ژن *csuC*، ۲۹ جدایه (۲۹/۸۹ درصد) دارای ژن *csuD*، ۵۷ جدایه (۵۸/۷۶ درصد) دارای ژن csuE و ۵۴ جدایه (۵۵/۶۷ درصد) دارای ژن *csuA/B* بودند. میزان حضور ژن *csuC* در میان جدایه‌ها بیش از دیگر ژن‌ها و میزان حضور ژن *csuD* کم تر از سایر ژن ها بوده است.

استنتاج: ژن *csuD* نقش کم‌تری در تشکیل بیوفیلم در *اسینتوباکتر بومانی* دارد، زیرا انتشار این ژن در جدایه‌های واجد بیوفیلم قوی و متوسط کم‌تر از دیگر ژن‌های اپرون csu بوده است، در حالی که سایر ژن‌های اپرون در جدایه‌های واجد بیوفیلم قوی و متوسط تقریبا انتشار مشابهی دارد.

واژه های کلیدی: *اسینتوباکتر بومانی*، بیوفیلم، PCR، عفونت‌های بیمارستانی، اپرون csu

مولف مسئول: راضیه نظری- قم: بلوار پانزده خرداد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، دانشکده علوم پایه دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران E-mail: r.nazari1102002@gmail.com

تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۱۰/۱۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۲/۱۰/۲۳ تاریخ تصویب : ۱۴۰۳/۲/۲۳

مقدمه

باکتری فرصت طلب *اسینتوباکتر بومانی* عفونت‌های جدی برای بیماران بستری در بیمارستان ایجاد می‌کند و با مقاومت آنتی‌بیوتیکی، درمانی دشوار دارد(۲،۱). این باکتری با مقاومت بالا به شرایط محیطی مدت زیادی بر روی سطوح بیمارستانی زنده می‌ماند(۴،۳). *اسینتوباکتر بومانی* با ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی، میکروارگانیسمی شاخص در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به درمان مطرح شده است(۵). کلونیزاسیون آن در دستگاه تنفس مصنوعی، ایجاد بیوفیلم و بیماری پنومونی می‌نماید(۸-۶). پروسه بیوفیلم عموما از طریق اتصال پیلی به یک سطح آغاز و سبب تسهیل ورود و اتصال سایر سلول‌ها به سلول‌های اولیه می‌گردد(۱۰،۹). سیستم پیلی csu A/BABCDE، پروتئین‌های غشا خارجی، سیستم کروم سنسینگ و اپرون pga ABCD فاکتورهای ویرولانس *اسینتوباکتر بومانی هستند*(۱۲،۱۱). تولید پیلی در ارتباط با اپرون csu A/BABCDE برای مراحل اولیه اتصال باکتری‌ها، تشکیل میکروکلنی و توسعه کامل بیوفیلم ضروری می‌باشد و اپرون csu A/BABCDE در میان جدایه‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* که اغلب توان بالا جهت تشکیل بیوفیلم را دارند، انتشار گسترده‌ای داشته باشد(۱۵-۱۳). این مطالعه میزان حضور ژن‌های اپرون csu در جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربانپنم و توانایی آن‌ها در تشکیل بیوفیلم را بررسی می‌کند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش توصیفی- مقطعی، ۹۷ جدایه *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربانپنم از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر قم در سال ۱۳۹۷، جمع‌آوری و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد در دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم نگهداری شده بود. تهیه نمونه‌های این پژوهش، مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم با کد IR.IAU.QOM.REC.1398.004 قرار گرفت. بررسی تشکیل بیوفیلم به روش میکروتیتر پلیت: این متد در طول موج ۶۵۰ نانومتر با میکروپلیت ریدر انجام شد و توانایی تولید بیوفیلم بر اساس جذب نوری نمونه‌ها با جذب نوری کنترل مقایسه شد. *Pseudomonas aeruginosa PA01* به عنوان کنترل مثبت در آزمایش‌های بررسی تشکیل بیوفیلم استفاده شد(۱۶).

بررسی مولکولی اپرون csu A,B,C,D,E, A/B

توالی ژن‌های csu A,B,C,D,E, A/B از پایگاه NCBI استخراج و بهترین پرایمر جهت تکثیر هر یک از ژن ها، جداگانه طراحی گردید (جدول شماره ۱). جهت استخراج DNA جدایه ها از روش جوشاندن استفاده شد(۱۵). DNA های استخراج شده جهت بررسی کیفی و کمی با کمک ژل آگاروز الکتروفورز و با دستگاه نانودراپ مورد بررسی قرار گرفتند(۱۷).

جدول شماره ۱: پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	توالی (5´-3´)	سایز محصول
csuA/B-For csuA/B-Rev	CAGCAGCAACAGGTGGCAATA AAGGTTTGTACGTGCAGCATC	۱۶۵ bp
csuA-For csuA- Rev	TATTGCCTTCTTGTTCTGTTAATA ACCATAGAGCAAGTTATAAGC	۲۹۳ bp
csuB-For csuB- Rev	TATGCAGCAGATCCTCAG GCCAGACGGTTTGTAGGTGTTGTA	۳۶۵ bp
csuD-For csuD- Rev	CCATAACCAACGTGATGATGA TAAGGCGTCACCGATGGCA	۷۰۸ bp
csuC-For csuC- Rev	CCAAGCCCGCCTGTAGCTAA ACCAGAACTGTCCACACCATAAAT	۵۱۶ bp
csuE-For csuE- Rev	GCTTGGCTTTAGCAAACATGAACC ATTGCCATCAGGCCCGCTA	۱۹۵ bp

واکنش PCR برای تکثیر ژن csu A,B,C,D,E, A/B با استفاده از پرایمر های اختصاصی (جدول شماره ۱) انجام شد. مواد مورد استفاده جهت انجام PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن csu A,B,C,D,E, A/B درون تیوپ PCR مخلوط گردید. سپس تیوب های PCR با استفاده از برنامه دمایی ذکر شده در جدول شماره ۲ جهت تکثیر هر یک از ژن‌ها در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد.

جدول شماره ۲: برنامه انجام PCR ژن های csu A,B,C,D,E, A/B

ژن / مرحله	csuA دما (°C)	csuB دما (°C)	csuC دما (°C)	csuD دما (°C)	csuE دما (°C)	csuA/B دما (°C)	زمان (دقیقه)
دناتوراسیون اولیه	۹۵	۹۵	۹۵	۹۵	۹۵	۹۵	۵
دناتوراسیون	۹۴	۹۴	۹۴	۹۴	۹۴	۹۴	۱
اتصال	۵۴	۵۲	۵۲	۵۰	۵۰	۵/۶۲	۱
گسترش	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۱
گسترش نهایی	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۵

پس از بررسی کیفی محصولات، با ژل آگاروز و الکتروفورز، محصولات واکنش PCR جهت تعیین توالی به شرکت توپازژن ارسال شد. نتایج به‌دست آمده با نرم‌افزار SPSS و آزمون پیرسون مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت (P<۰/۰۵).

یافته‌ها و بحث

نتایج بررسی قدرت تشکیل بیوفیلم جدایه‌ها در جدول شماره ۳ نشان داده شد.

جدول شماره ۳: بررسی بیوفیلم جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی*

قدرت تولید بیوفیلم	عدد جذب	درصد نمونه
قوی	4×OD (control) < OD	۲۹/۸۹
متوسط	2×OD(control) < OD ≤ 4×OD(control)	۳۰/۹۲
ضعیف	OD(control) < OD ≤ 2×OD(control)	۳۹/۱۷
عدم تشکیل	OD ≤ OD(control)	

براساس یافته‌ها، ۶۳/۹۱ درصد از جدایه‌ها ژن csuA، ۵۲/۵۷ درصد از جدایه‌ها ژن csuB، ۸۳/۵ درصد از جدایه‌ها ژن csuC، ۲۹/۸۹ درصد از جدایه‌ها ژن csuD، ۵۸/۷۶ درصد از جدایه‌ها ژن csuE و ۵۵/۶۷ درصد از جدایه‌ها ژن csuA/B دارند. از طرف دیگر در نتایج حاصل از PCR جهت بررسی حضور ژن csuA در جدایه‌ها یک باند bp ۲۹۳ مشاهده شد. توالی نوکلئوتیدی خوانده شده مربوط به محصول PCR این ژن در سایت NCBI تحت آنالیز Blast قرار گرفت. نتایج نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن csuA، ۹۹ درصد با توالی ژن در سویه *اسینتوباکتربومانی* موجود در سایت NCBI تشابه دارد. هم‌چنین این ژن در جدایه‌های مولد بیوفیلم قوی بیش‌ترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلم‌های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن CsuA معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۰۰۱) (جدول شماره ۴).

نتایج حاصل از PCR جهت بررسی حضور ژن csuB در جدایه‌ها، یک باند bp ۳۶۵ مشاهده شد. نتایج Blast نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن csuB، ۹۹ درصد با توالی ژن در سویه‌ی اسینتوباکتربومانی موجود در سایت NCBI تشابه دارد. هم‌چنین این ژن در جدایه‌های مولد بیوفیلم قوی بیش‌ترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلم‌های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن CsuB معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۰۰۱) (جدول شماره ۴). نتایج حاصل ازPCR جهت بررسی حضور ژن csuC در جدایه‌های *اسینتوباکتربومانی* یک باند bp ۵۱۶ مشاهده شد. نتایج Blast نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن csuC، ۱۰۰ درصد با توالی ژن در سویه *اسینتوباکتربومانی* موجود در سایت NCBI تشابه دارد. اختلاف فراوانی بین بیوفیلم‌های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن CsuC معنی‌دار می‌باشد(P<۰/۰۰۰۱) (جدول شماره ۴). نتایج حاصل از PCR جهت بررسی حضور ژن csuD در جدایه‌های *اسینتوباکتربومانی* یک باند bp ۷۰۸ مشاهده شد. نتایج Blast نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن csuD، ۹۲ درصد با توالی ژن در سویه *اسینتوباکتربومانی* موجود در سایت NCBI تشابه دارد. هم‌چنین این ژن در جدایه های مولد بیوفیلم قوی بیش‌ترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلم‌های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن CsuD معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۰۰۱) (جدول شماره ۴). نتایج حاصل از PCR جهت بررسی حضور ژن csuE در جدایه‌های *اسینتوباکتربومانی* یک باند bp ۱۹۵مشاهده شد. نتایج Blast حاصل از Blast نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن csuE، ۹۹ درصد با توالی ژن در سویه‌ی *اسینتوباکتربومانی* موجود در سایت NCBI تشابه دارد. هم‌چنین این ژن در جدایه‌های مولد بیوفیلم قوی بیش‌ترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلم‌های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن CsuE معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۰۰۱) (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۴: جدایه‌های تشکیل دهنده بیوفیلم دارای ژن‌های Csu A,B,C,D,E,AB

بیوفیلم	Csu A	Csu B	Csu C	Csu D	Csu E	Csu AB
قوی	۲۴	۲۱	۲۴	۱۲	۲۳	۲۲
متوسط	۲۱	۱۳	۲۱	۱۰	۲۰	۱۵
ضعیف	۱۷	۱۷	۳۶	۷	۱۴	۱۷
	P<۰/۰۰۰۱	P<۰/۰۰۰۱	P<۰/۰۰۰۱	P<۰/۰۰۰۱	P<۰/۰۰۰۱	P<۰/۰۰۰۱

نتایج حاصل از PCR جهت بررسی حضور ژن CsuA/B در جدایه‌های *اسینتوباکتربومانی* یک باند bp ۱۶۵ مشاهده شد. نتایج Blast نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن CsuA/B، ۱۰۰ درصد با توالی ژن در سویه‌ی *اسینتوباکتربومانی* موجود در سایت NCBI تشابه دارد. هم‌چنین این ژن در جدایه‌های مولد بیوفیلم قوی بیش‌ترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلم‌های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن CsuA/B معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۰۰۱)(جدول شماره ۴).

با روش میکروتیتر، مشخص شد که ۱۰۰ درصد جدایه‌ها قادر به تشکیل بیوفیلم بودند که ۲۹ جدایه (۲۹/۸۹ درصد) تولیدکننده بیوفیلم قوی، ۳۰ جدایه (۳۰/۹۲ درصد) متوسط، ۳۸ جدایه (۳۹/۱۷ درصد) ضعیف بودند. این نتایج مشابه یافته‌های مطالعه باباپور و همکاران بود که ۹۸/۷ درصد جدایه‌ها قادر به تشکیل بیوفیلم گزارش شدند(۱۸).

در مطالعه Ramakrishnan و همکاران ۸۱ درصد جدایه‌ها پتانسیل تشکیل بیوفیلم را داشتند که مشابه نتایج مطالعه حاضر می‌باشد(۱۹). در مطالعه روحی و همکاران ۵۲/۶ درصد جدایه‌ها بیوفیلم مثبت گزارش شدند(۲۰). نتایج بررسی حضور ژن‌های csu A,B,C,D,E, A/B نشان داد که میزان حضور *csuA* برابر با ۶۳/۹۱ درصد، *csuB* برابر با ۵۲/۵۷ درصد، *csuC* برابر با ۸۳/۵ درصد، *csuD* برابر با ۲۹/۸۹ درصد، *csuE* برابر با ۵۸/۷۶ درصد و در نهایت csuA/B برابر با ۵۵/۶۷ درصد می‌باشد. همچنین میزان حضور ژن *csuC* در میان جدایه ها بیش از دیگر ژن‌ها و میزان حضور ژن *csuD* کم‌تر از سایر ژن‌های اپرون csu بوده است. میزان حضور ژن *csuC* در میان جدایه‌های مولد بیوفیلم بیش‌تر و ژن csuD کم‌تر از سایر ژن‌ها بوده است و به نظر می‌رسد ژن *csuD* نقش کم‌تری در تشکیل بیوفیلم در *اسینتوباکتر بومانی* دارد، در حالی که سایر ژن‌های اپرون در جدایه‌های واجد بیوفیلم قوی و متوسط تقریبا انتشار مشابهی دارند.

References

1. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Nat Rev Microbiol 2007; 5(12): 939-951.
2. Falagas ME, Karveli EA, Kelesidis I, Kelesidis T. Community-acquired Acinetobacter infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2007; 26(12): 857-868.
3. Eshtiaghi S, Nazari R, Fasihi Ramandi M. Molecular docking, anti-biofilm & antibacterial activities and therapeutic index of mCM11 peptide on Acinetobacter baumannii. Curr Microbiol 2023; 80(6): 191.
4. Sarikhani Z, Nazari R, Nateghi-Rostami M. First report of OXA-143-lactamase producing Acinetobacter baumannii in Qom, Iran. Iran J Basic Med Sci 2017; 20(11): 1282-1286 (Persian).
5. Karami F, Nazari R, Adeli H .Detection of Genes Encoding Metallo-beta-lactamases in Carbapenem Resistant Acinetobacter baumannii. Journal of Kerman University of Medical Sciences 2021; 28(6): 559-567 (Persian).
6. Falagas ME, Bliziotis IA, Siempos II. Attributable mortality of Acinetobacter baumannii infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. Crit Care 2006; 10(2): R48.
7. Vahidi-Emami H, Nazari R, Soleimani M. Investigation of prevalence of extended spectrum

beta lactamase PER gene in Acinetobacter baumannii isolated from hospitalizedpatients in Qom province (Iran). Qom Univ Med Sci J 2018; 11(12): 68-75 (Persian).

8. King LB, Swiatlo E, Swiatlo A, McDaniel LS. Serum resistance and biofilm formation in clinical isolates of Acinetobacter baumannii. FEMS Immunol Med Microbiol 2009; 55(3): 414-421.
9. Tomaras AP, Dorsey CW, Edelmann RE, Actis LA. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by Acinetobacter baumannii: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. Microbiology 2003; 149(12): 3473-3484.
10. Luo Lm, Wu LJ, Xiao YL, Zhao D, Chen ZX, Kang M, et al. Enhancing pili assembly and biofilm formation in Acinetobacter baumannii ATCC19606 using non-native acyl-homoserine lactones. BMC Microbiol 2015; 15(1): 62.
11. Gaddy JA, Actis LA. Regulation of Acinetobacter baumannii biofilm formation. Future Microbiol 2009;4(3): 273-278.
12. Tomaras AP, Flagler MJ, Dorsey CW, Gaddy JA, Actis LA. Characterization of a two-component regulatory system from Acinetobacter baumannii that controls biofilm formation and cellular morphology. Microbiology 2008; 154(11): 3398-3409.
13. McQueary CN, Actis LA. Actis, Acinetobacter baumannii biofilms: variations among strains and correlations with other cell properties. J Microbiol 2011; 49(2): 243-250.
14. Chen CL, Dudek A, Liang YH, Janapatla RP, Lee HY, Hsu L, et al. D-mannose-sensitive pilus of Acinetobacter baumannii is linked to biofilm formation and adherence onto respiratory tract epithelial cells. J Microbiol Immunol Infect 2022; 55(1): 69-79.
15. Begum S, Hasan F, Hussain S, Ali Shah A. Prevalence of multi drug resistant Acinetobacter baumannii in the clinical samples from Tertiary Care Hospital in Islamabad, Pakistan. Pak J Med Sci 2013; 29(5): 1253-1258.
16. Heidari H, Hadadi M, Ebrahim-Saraie HS, Mirzaei A, Taji A, Hosseini SR, Motamedifar M. Characterization of virulence factors, antimicrobial resistance patterns and biofilm formation of Pseudomonas aeruginosa and staphylococcus spp strains isolated from corneal infection. J Fr Ophtalmol 2018; 41(9): 823-829.
17. Pitout JDD, Gregson DB, Poirl L, McClure JA, Le P, Church DL. Detection of Pseudomonas aeruginosa producing Metallo-beta-lactamases in a large centralized laboratory. J Clin Microbiol 2005; 43(7): 3129-135.
18. Babapour E, Haddadi A, Mirnejad R, Angaji SA, Amirmozafari N. Biofilm formation in clinical isolates of nosocomial Acinetobacter baumannii and its relationship with multidrug-resistance. Asian Pac J Trop Biomed 2016; 6(6): 528-533.
19. Ramakrishnan M, Putli BS, Babu M. Study on biofilm formation in burn wound infection in a pediatric hospital in Chennai, India. Ann Burns Fire Disasters 2016; 29(4): 276-280.
20. Rouhi V, Safarkar R, Habibi S. Phenotypic investigation of biofilm formation and determination of presence of bap and bla OXA-51 genes in Acinetobacter baumannii from clinical specimens in Tehran. Iran J Med Microbiol 2020; 14(6): 566-583 (Persian).