

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 baumannii*. Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* 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 baumannii* 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).

بررسی ارتباط حضور ژن های اپرون *csu* موثر در تشکیل بیوفیلم در جدایه های/سینتوباکتر بومانی مقاوم به کاربایتم در شهر قم

راضیه محمدزاده

راضیه نظری

چکیده

سابقه و هدف: میکروارگانسیم فرصت طلب/سینتوباکتر بومانی عفونت های جدی و چالش زایی برای بیماران بستری در بیمارستان ایجاد می کند و با مقاومت به آنتی بیوتیک ها، درمانی دشوار و هزینه بری دارد. این باکتری با مقاومت بالا به شرایط محیطی، مدت زیادی بر روی سطوح بیمارستانی زنده می ماند. /سینتوباکتر بومانی با ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی خود، میکروارگانسمی شاخص در ایجاد عفونت های بیمارستانی مقاوم به درمان مطرح شده است که با کلونیزاسیون آن در دستگاه تنفس مصنوعی، ایجاد بیوفیلم و بیماری پنومونی می نماید، پروسه تشکیل بیوفیلم عموماً از طریق اتصال پیل به یک سطح آغاز و سبب تسهیل ورود و اتصال سایر سلول ها به سلول های اولیه می گردد. سیستم پیلی *csu A/ BABCDE*، پروتئین های غشا خارجی، سیستم کروم سنسینگ و اپرون *pga ABCD* فاکتورهای ویروالانس /سینتوباکتر بومانی هستند تشکیل بیوفیلم /سینتوباکتر بومانی، اهمیت به سزایی در ایجاد عفونت های بیمارستانی دارد. بیان اپرون *csu* که در تجمع پیلوس نقش قابل توجهی در اتصال باکتری به سطوح غیر زنده و تشکیل بیوفیلم ایفا می کند. این پژوهش با هدف بررسی میزان حضور ژن های متفاوت اپرون *csu* در جدایه های بالینی/سینتوباکتر بومانی مقاوم به کاربایتم و توانایی آن ها در تشکیل بیوفیلم انجام شد.

مواد و روش ها: در این پژوهش توصیفی- مقطعی، تعداد ۹۷ جدایه بالینی/سینتوباکتر بومانی مقاوم به کاربایتم 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 چاهک های میکروپلیت ۹۶ خانه ای منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد 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 نمونه ها با جذب نوری کنترل مقایسه شد. *Pseudomonas aeruginosa PA01* به عنوان کنترل مثبت در آزمایش های بررسی تشکیل بیوفیلم استفاده شد. نتایج به دست آمده با نرم افزار *SPSS* و آزمون پیرسون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها: نتایج تست های بیوشیمیایی و افتراقی ۹۷ جدایه /سینتوباکتر بومانی مقاوم به کاربایتم به طور 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 جدایه ها 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 جدایه ها بیش از دیگر ژن ها و میزان حضور ژن *csuD* کم تر از سایر ژن ها بوده است.

استنتاج: ژن *csuD* نقش کمتری در تشکیل بیوفیلم در/سینتوباکتر بومانی دارد، زیرا انتشار این ژن در جدایه های واجد بیوفیلم قوی و متوسط کم تر از دیگر ژن های اپرون *csu* بوده است، در حالی که سایر ژن های اپرون در جدایه های واجد بیوفیلم قوی و متوسط تقریباً انتشار مشابهی دارد.

واژه های کلیدی: /سینتوباکتر بومانی، بیوفیلم، *PCR*، عفونت های بیمارستانی، اپرون *csu*

E-mail: r.nazari1102002@gmail.com

مؤلف 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

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

مقدمه

باکتری فرصت طلب /سینتوباکتر 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). /سینتوباکتر 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 (۶-۸). پروسه بیوفیلم عموماً از طریق اتصال پیلی به یک سطح آغاز و سبب تسهیل ورود و اتصال سایر سلول‌ها به سلول‌های اولیه می‌گردد (۹،۱۰). سیستم پیلی csu A/BABCDE، پروتئین‌های غشا خارجی، سیستم کروم سنسینگ و اپرون pga ABCD فاکتورهای ویروالانس /سینتوباکتر بومانی هستند (۱۱،۱۲). 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 /سینتوباکتر بومانی که اغلب توان بالا جهت تشکیل بیوفیلم را دارند، انتشار گسترده‌ای داشته باشد (۱۳-۱۵). این مطالعه میزان حضور ژن‌های اپرون csu در جدایه‌های /سینتوباکتر بومانی مقاوم به کاربایتم و توانایی آن‌ها در تشکیل بیوفیلم را بررسی می‌کند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش توصیفی-مقطعی، ۹۷ جدایه /سینتوباکتر بومانی مقاوم به کاربایتم 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 /پرون A/B, csu A,B,C,D,E

توالی ژن‌های A/B, csu A,B,C,D,E از پایگاه NCBI استخراج و بهترین پرایمر جهت تکثیر هر یک از ژن‌ها، جداگانه طراحی گردید (جدول شماره ۱). جهت استخراج DNA جدایه‌ها از روش جوشاندن استفاده شد (۱۵). DNA‌های 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 AAGTTTGTACGTGCAGCATC	۱۶۵ bp
csuA-For csuA-Rev	TATTGCCTTCTGTCTGTTAATA ACCATAGAGCAAGTTATAAGC	۲۹۳ bp
csuB-For csuB-Rev	TATGCAGCAGATCCTCAG GCCAGACGGTTGTAGGTGTGTGA	۳۶۵ bp
csuD-For csuD-Rev	CCATAACCAACGTGATGATGA TAAGGCGTCACCGATGGCA	۷۰۸ bp
csuC-For csuC-Rev	CCAAGCCCGCTGTAGCTAA ACCAGAACTGTCCACCATATAAT	۵۱۶ bp
csuE-For csuE-Rev	GCTTGGCTTTAGCAACATGAACC ATTGCCATCAGGCCCGCTA	۱۹۵ bp

واکنش PCR برای تکثیر ژن A/B, csu A,B,C,D,E

با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول شماره ۱) انجام شد. مواد مورد استفاده جهت انجام PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن A/B, csu A,B,C,D,E درون تیوپ PCR مخلوط گردید. سپس تیوپ‌های 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 A/B, C, D, E, csu

مرحله	ژن	csuA دما (°C)	csuB دما (°C)	csuC دما (°C)	csuD دما (°C)	csuE دما (°C)	csuA/B دما (°C) (دقیقه)	زمان
دناوراسون اولیه	۹۵	۹۵	۹۵	۹۵	۹۵	۹۵	۹۵	۵
دناوراسون	۹۴	۹۴	۹۴	۹۴	۹۴	۹۴	۹۴	۱
اتصال	۵۴	۵۲	۵۲	۵۲	۵۰	۵۰	۵۰/۶۲	۱
گسترش	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۱
گسترش نهایی	۷۲	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 به دست آمده با نرم افزار SPSS و آزمون پیرسون مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت ($P < 0.05$).

یافته ها و بحث

نتایج بررسی قدرت تشکیل بیوفیلیم جدایه ها در جدول شماره ۳ نشان داده شد.

جدول شماره ۳: بررسی بیوفیلیم جدایه های اسیتوباکتر بومانی

قدرت تولید بیوفیلیم	عدد جذب	درصد نمونه
قوی	$4 \times OD (control) < OD$	۲۹/۸۹
متوسط	$2 \times OD(control) < OD \leq 4 \times OD(control)$	۳۰/۹۲
ضعیف	$OD(control) < OD \leq 2 \times OD(control)$	۳۹/۱۷
عدم تشکیل	$OD \leq OD(control)$	

بر اساس یافته ها، ۶۳/۹۱ درصد از جدایه ها ژن csuA، ۵۲/۵۷ درصد از جدایه ها ژن csuB، ۸۳/۵ درصد از جدایه ها ژن csuC، ۲۹/۸۹ درصد از جدایه ها ژن csuD، ۵۸/۷۶ درصد از جدایه ها ژن csuE و ۵۵/۶۷ درصد از جدایه ها ژن csuA/B دارند. از طرف دیگر در نتایج حاصل از PCR جهت بررسی حضور ژن csuA در جدایه ها یک باند ۲۹۳ bp 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 اسیتوباکتر بومانی موجود در سایت NCBI تشابه دارد. همچنین این ژن در جدایه های مولد بیوفیلیم قوی بیشترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلیم های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن csuA معنی دار می باشد ($P < 0.0001$) (جدول شماره ۴).

نتایج حاصل از PCR جهت بررسی حضور ژن csuB در جدایه ها، یک باند ۳۶۵ bp مشاهده شد. نتایج Blast نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن csuB، ۹۹ درصد با توالی ژن در سویه اسیتوباکتر بومانی موجود در سایت NCBI تشابه دارد. همچنین این ژن در جدایه های مولد بیوفیلیم قوی بیشترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلیم های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن csuB معنی دار می باشد ($P < 0.0001$) (جدول شماره ۴). نتایج حاصل از PCR جهت بررسی حضور ژن csuC در جدایه های اسیتوباکتر بومانی یک باند ۵۱۶ bp مشاهده شد. نتایج Blast نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن csuC، ۱۰۰ درصد با توالی ژن در سویه اسیتوباکتر بومانی موجود در سایت NCBI تشابه دارد. اختلاف فراوانی بین بیوفیلیم های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن csuC معنی دار می باشد ($P < 0.0001$) (جدول شماره ۴). نتایج حاصل از PCR جهت بررسی حضور ژن csuD در جدایه های اسیتوباکتر بومانی یک باند ۷۰۸ bp مشاهده شد. نتایج Blast نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن csuD، ۹۲ درصد با توالی ژن در سویه اسیتوباکتر بومانی موجود در سایت NCBI تشابه دارد. همچنین این ژن در جدایه های مولد بیوفیلیم قوی بیشترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلیم های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن csuD معنی دار می باشد ($P < 0.0001$) (جدول شماره ۴). نتایج حاصل از PCR جهت بررسی حضور ژن csuE در جدایه های اسیتوباکتر بومانی یک باند ۱۹۵ bp مشاهده شد. نتایج Blast حاصل از Blast نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن csuE، ۹۹ درصد با توالی ژن در سویه اسیتوباکتر بومانی موجود در سایت NCBI تشابه دارد. همچنین این ژن در جدایه های مولد بیوفیلیم قوی بیشترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلیم های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن csuE معنی دار می باشد ($P < 0.0001$) (جدول شماره ۴).

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 A/B, C, D, E, A/B csu 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 جدایه‌ها 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 *Acinetobacter baumannii* دارد، در حالی که سایر ژن‌های اپرون در جدایه‌های واجد بیوفیلم قوی و متوسط تقریباً انتشار مشابهی دارند.

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 *Acinetobacter baumannii* یک باند ۱۶۵ bp مشاهده شد. نتایج Blast نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن csuA/B، ۱۰۰ درصد با توالی ژن در سویی *Acinetobacter baumannii* 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

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 hospitalized patients 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, Poiri 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).