



## بررسی مولکولی اپرون pgaA, B, C, D مرتبط با تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های اسینتوباکتر

### بومانی مقاوم به کارباپنم در شهر قم

علیرضا شاهوارقی<sup>۱</sup>، راضیه نظری<sup>۱\*</sup>، سید سهیل آقایی<sup>۱</sup>

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۰۱، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۸

#### چکیده

**مقدمه:** اسینتوباکتر بومانی به صورت گسترده‌ای موجب عفونت در بیماران بستری به خصوص در بخش‌های مراقبت ویژه، جراحی و سوختگی می‌گردد. توانایی تشکیل بیوفیلم در اسینتوباکتر بومانی به‌عنوان یکی از فاکتورهای ویرولانس اصلی این باکتری در نظر گرفته می‌شود. بیان اپرون pga در تشکیل آگزوپلی ساکارید نقش مهمی دارد که در اتصال باکتری به سطوح، تشکیل بیوفیلم و مقاومت باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک اهمیت به‌سزایی دارد. این پژوهش با هدف بررسی میزان حضور ژن‌های اپرون pga در جدایه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کارباپنم و توانایی آنها در تشکیل بیوفیلم انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مقاله توصیفی-مقطعی، تعداد ۹۷ جدایه اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کارباپنم جهت بررسی حضور ژن‌های pgaA, B, C, D به روش PCR مورد بررسی قرار گرفت. قدرت تشکیل بیوفیلم در جدایه‌ها به روش میکروتیتربلیت انجام شد و نتایج توسط میکروپلیت ریدر مورد بررسی قرار گرفت. سپس نتایج به دست آمده با نرم‌افزار SPSS و آزمون پیرسون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**نتایج:** ۹۷ جدایه اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کارباپنم، ۷۰ جدایه (۷۲/۱۶ درصد) دارای ژن pgaA، ۵۷ جدایه (۵۸/۷۶ درصد) دارای ژن pgaB، ۱/۰۳ (۱/۰۳ درصد) دارای ژن pgaC، ۵۰ جدایه (۵۱/۵۴ درصد) دارای ژن pgaD بودند. میزان حضور ژن pgaA در میان جدایه‌ها بیش از دیگر ژن‌ها و میزان حضور ژن pgaC کمتر از سایر ژن‌ها بوده است. همچنین ۲۹ جدایه (۲۹/۸۹ درصد) تولیدکننده بیوفیلم قوی، ۳۰ جدایه (۳۰/۹۲ درصد) تولیدکننده بیوفیلم متوسط و ۳۸ جدایه (۳۹/۱۷ درصد) تولیدکننده بیوفیلم ضعیف بودند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که به‌نظر می‌رسد ژن pgaC 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 pga بوده است، در حالی که سایر ژن‌های اپرون در جدایه‌های واجد بیوفیلم قوی و متوسط تقریباً انتشار مشابهی دارند.

**واژه‌های کلیدی:** اسینتوباکتر بومانی، بیوفیلم، اپرون pga.

**نویسنده مسئول:** قم، بلوار پانزده خرداد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی، تلفن: ۰۲۵۳۷۷۸۰۰۰۱، نمابر: ۰۲۵۳۲۸۰۴۰۴۰. **Email:** r.nazari1102002@gmail.com

**ارجاع:** شاهوارقی علیرضا، نظری راضیه، آقایی سیدسهیل. بررسی مولکولی اپرون pgaA, B, C, D مرتبط با تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های

اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کارباپنم در شهر قم. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۹:۱۴۰۳(۱):۶۵-۵۷.



## مقدمه

عفونت بیمارستانی یکی از عوامل مهم مرگ و میر و افزایش زمان بستری در بیمارستان می‌باشد که اغلب توسط عوامل میکروبی مقاوم به آنتی‌بیوتیک ایجاد می‌گردد (۱). در میان عوامل بیماری‌زای فرصت طلب در محیط بیمارستان به‌ویژه بخش مراقبت ویژه، اسیتوباکتر بومانی با ایجاد انواعی از عفونت‌های بیمارستانی مانند پنومونی، باکتری، عفونت مجاری ادراری و مننژیت اهمیت زیادی دارد (۲ و ۳). این باکتری به علت دارا بودن انواعی از عوامل مؤثر در مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها مانند پمپ‌های افلاکس، آنزیم‌های بتالاکتامازی و توانایی تشکیل بیوفیلم قوی، مقاومت‌های بالای آنتی‌بیوتیکی از خود نشان داده و مشکلات متعددی را در بیمارستان ایجاد می‌کند (۴ و ۵). توانایی تشکیل بیوفیلم در اسیتوباکتر بومانی به‌عنوان یکی از فاکتورهای اصلی ویرولانسی باکتری در نظر گرفته می‌شود که علاوه بر توانایی رشد در انواعی از محیط‌های بالینی و شرایط محیطی نامناسب، سبب افزایش مقاومت باکتری به عوامل ضد میکروبی در بیمارستان می‌گردد (۶ و ۷). مطالعات نشان داده است که بیوفیلم ساختاری است که در آن گروهی از میکروارگانیسم‌ها به‌وسیله اگزوپلی ساکارید احاطه شده‌اند که اتصال آنها به سطوح و سلول‌های میزبان را تسهیل می‌کند (۸ و ۹). یکی از مهمترین پلی ساکاریدها که جزء اصلی ماتریکس بیوفیلم اسیتوباکتر بومانی را به خود اختصاص می‌دهد ترکیب پلی بتا ۱-۶-N-استیل گلوکزآمین (PNAG) است (۱۰). این پلیمر عامل اتصال باکتری‌ها به یکدیگر در ساختار بیوفیلم بوده و سبب محافظت آنها در برابر سیستم دفاعی میزبان، آنتی‌بیوتیک‌ها و استرس‌های محیطی می‌گردد (۱۱). در اسیتوباکتر بومانی اپرون چهار ژنی *pgaA*, *B*, *C*, *D* سبب تولید پروتئین‌هایی می‌گردد که در سنتز پلی بتا ۱-۶-N-استیل گلوکزآمین نقش اصلی را بر عهده دارند. مطالعات نشان داده است که حذف اپرون *pga* سبب کاهش چشمگیر توانایی تشکیل بیوفیلم در باکتری می‌گردد (۱۲ و ۱۳). به‌نظر می‌رسد که اپرون *pgaA*, *B*, *C*, *D* در میان جدایه‌های بالینی اسیتوباکتر بومانی که اغلب توان بالا جهت تشکیل بیوفیلم را دارند، انتشار گسترده‌ای داشته باشد (۱۴). هدف از این مطالعه بررسی میزان حضور ژن‌های اپرون *pga* در جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی مقاوم به کاربامپن جدا شده از نمونه‌های بالینی شهر قم و بررسی توانایی آنها در تشکیل بیوفیلم می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

جدایه‌ها: تعداد ۹۷ جدایه اسیتوباکتر بومانی مقاوم به کاربامپن در سال ۱۳۹۷ خورشیدی از بیمارستان بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های شهر قم توسط تیمی به راهنمایی دکتر نظری جمع‌آوری و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد در دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم نگهداری شده بودند.

بررسی فنوتیپی تشکیل بیوفیلم در جدایه‌ها به روش میکروتیتر پلیت: به منظور بررسی فنوتیپی تشکیل بیوفیلم، ابتدا جدایه‌ها در محیط BHI برات 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 گرم‌گذاری شد. سپس جهت خارج کردن سلول‌های پلانکتونیک از چاهک‌ها، ابتدا میکروپلیت در ظرف حاوی ساونن تخلیه و چاهک‌ها پنج مرتبه با استفاده از بافر فسفات سالین شستشو داده شد. پس از خشک شدن چاهک‌ها، جهت رنگ‌آمیزی بیوفیلم، ۲۰۰ میکرولیتر رنگ کریستال ویوله ۲ درصد به داخل چاهک‌ها اضافه شد. پس از گذشت ۵ الی ۱۰ دقیقه چاهک‌ها با استفاده از آب مقطر، سه بار شستشو و جهت آزادسازی رنگ موجود در دیواره باکتری‌هایی که مولد بیوفیلم بودند، ۱۶۰ میکرولیتر اسید استیک به هر چاهک اضافه شد. در نهایت میزان رنگ آزاد شده در هر چاهک در طول موج نوری ۶۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر مورد بررسی قرار گرفت. سپس توانایی تولید بیوفیلم بر اساس جذب نوری حاصل از اسپکتروفتومتری با جذب نوری کنترل مقایسه و به‌صورت بیوفیلم‌های قوی، متوسط، ضعیف و منفی گزارش گردید. *Pseudomonas aeruginosa* PA01 به‌عنوان کنترل مثبت در آزمایش‌های بررسی تشکیل بیوفیلم استفاده شد (۱۵).

در این بررسی ابتدا توالی ژن‌های *pgaA*, *B*, *C*, *D* باکتری اسیتوباکتر بومانی از پایگاه اطلاعاتی ژنی NCBI استخراج و سپس براساس آن، با به‌کارگیری نرم‌افزار Gene Runner و سایت‌های NCBI و Primer3Plus بهترین پرایمر جهت تکثیر هر یک از ژن‌ها به‌طور جداگانه طراحی گردید (جدول ۱). جهت استخراج DNA جدایه‌ها از روش جوشاندن استفاده شد (۱۶). DNAهای استخراج شده جهت بررسی کیفی با کمک ژل آگاروز الکتروفورز گردید و جهت بررسی کمی با دستگاه نانودراپ غلظت آنها به‌طور دقیق مورد بررسی قرار گرفت (۱۶).

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Name	Sequence (5' → 3')	PCR Product Size	Ref.
<i>pgaA</i> -For	CAGCAAATGAATCCTTCCGATCCT	605bp	This Study
<i>pgaA</i> -Rev	GCGGGTGTCTTTAGCAATCGGATC		This Study
<i>pgaB</i> -For	GAGGGTATGATCAATATTCTCAAC	400bp	This Study
<i>pgaB</i> -Rev	CCAGCATTAAGTTGAATACCACTT		This Study
<i>pgaC</i> -For	GGTTCGCGTGGGCTTTGGTCTGATGA	518bp	This Study
<i>pgaC</i> -Rev	CACTGGTAAATAAGGTCAGTAACC		This Study
<i>pgaD</i> -For	GACTATGTGTGGGTCGATCATGTT	224bp	This Study
<i>pgaD</i> -Rev	GCGCTGGGAATTTTGAATCTGA		This Study

جدول ۲- نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی مورد استفاده جهت شناسایی جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی

VP	MR	حرکت	SH2	اندول	TSI	سیمون سترات	of بی‌هواری	of هواری	اکسیداز	کاتالاز	تست‌های بیوشیمیایی اسیتوباکتر بومانی
-	-	-	-	-	K/K	+	-	+	-	+	

جدول ۳- بررسی بیوفیلم جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی

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

مشاهده شد (شکل ۱). نتایج حاصل از Blast توالی نوکلئوتیدی خوانده شده مربوط به محصول PCR این ژن در سایت National Center for Biotechnology and Information (NCBI) محصول PCR مربوط به ژن pgaA ۹۸ درصد با توالی ژن در سوئیچ اسیتوباکتر بومانی موجود در سایت NCBI تشابه دارد (شکل ۲). همچنین این ژن در جدایه‌های مولد بیوفیلم قوی بیشترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلم‌های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن pgaA معنادار می‌باشد ( $P < 0.001$ ).

جهت بررسی حضور ژن pgaB در جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی در نتایج حاصل از PCR یک باند ۴۰۰ bp مشاهده شد (شکل ۱). نتایج حاصل از Blast توالی نوکلئوتیدی خوانده شده مربوط به محصول PCR این ژن در سایت National Center for Biotechnology and Information (NCBI) نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن pgaB ۹۹ درصد با توالی ژن در سوئیچ اسیتوباکتر بومانی موجود در سایت NCBI تشابه دارد (شکل ۳). همچنین این ژن در جدایه‌های مولد بیوفیلم قوی بیشترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلم‌های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن pgaB معنادار می‌باشد ( $P < 0.001$ ).

جهت بررسی حضور ژن pgaC در جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی در نتایج حاصل از PCR یک باند ۵۱۸ bp مشاهده شد (شکل ۱). نتایج حاصل از Blast توالی نوکلئوتیدی خوانده شده مربوط به محصول PCR این ژن در سایت National Center for Biotechnology and Information (NCBI) نشان داد که توالی محصول PCR مربوط به ژن pgaC ۹۸ درصد با توالی ژن در سوئیچ اسیتوباکتر بومانی موجود در سایت NCBI تشابه دارد (شکل ۴). همچنین این ژن در جدایه‌های مولد بیوفیلم قوی کمترین حضور را دارد.

جهت بررسی حضور ژن pgaD در جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی در نتایج حاصل از PCR یک باند ۲۲۴ bp مشاهده شد (شکل ۵). همچنین این ژن در جدایه‌های مولد بیوفیلم قوی بیشترین حضور را دارد و اختلاف فراوانی بین بیوفیلم‌های قوی، متوسط و ضعیف در حضور ژن pgaD معنادار می‌باشد ( $P < 0.001$ ).

واکنش PCR برای تکثیر ژن‌های pga A,B,C,D با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱۳/۵ میکرولیتر مسترمیکس، ۱ میکرولیتر پرایمر فوروارد، ۱ میکرولیتر پرایمر ریورس، ۱۰۰ نانوگرم ژنوم اسیتوباکتر بومانی و ۴/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل انجام شد، سپس با استفاده از دستگاه ترموسایکلر با برنامه دمایی شامل دناتوراسیون اولیه ۴ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، دناتوراسیون ۱ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال پرایمر اختصاصی ژن pgaA در دمای ۵۳ درجه سانتی‌گراد، اتصال پرایمر اختصاصی ژن pgaB در دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد، اتصال پرایمر اختصاصی ژن pgaC در دمای ۵۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال پرایمر اختصاصی ژن pgaD در دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، تکثیر به مدت ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۵ سیکل و تکثیر نهایی به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در ادامه جهت بررسی کیفی محصولات حاصل از واکنش PCR، از ژل آگاروز با استفاده از الکتروفورز استفاده شد. در مرحله بعد، محصولات واکنش PCR جهت تعیین توالی به شرکت توپاز ژن ارسال شد. نتایج به دست آمده با نرم‌افزار SPSS و آزمون پیرسون مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت و اختلاف کمتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنادار در نظر گرفته شد.

## نتایج

نتایج تست‌های بیوشیمیایی و افتراقی ۹۷ جدایه اسیتوباکتر بومانی مقاوم به کارباپنم به طور کلی در جدول ۲ ذکر گردیده است. نتایج بررسی قدرت تشکیل بیوفیلم جدایه‌ها نشان داد که به ترتیب ۲۹/۸۹ درصد، ۳۰/۹۲ درصد و ۳۹/۱۷ درصد از جدایه‌ها دارای بیوفیلم قوی، متوسط و ضعیف بوده‌اند (۱۵) (جدول ۳ و ۴).

بررسی مولکولی حضور ژن‌های اپرون pga در جدایه‌ها با استفاده از روش PCR نشان داد که ۷۲/۱۶ درصد از جدایه‌ها ژن pgaA ۵۸/۷۶ درصد از جدایه‌ها ژن pgaB ۱/۰۳ درصد از جدایه‌ها ژن pgaC ۵۱/۵۴ درصد از جدایه‌ها ژن pgaD دارند (شکل ۱). جهت بررسی حضور ژن pgaA در جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی در نتایج حاصل از PCR یک باند ۶۰۵ bp

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

select all 100 sequences selected

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
Acetobacter baumannii strain NGCP-3980 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	907	907	90%	0.0	98.27%	4007736	CP000384.1
Acetobacter baumannii strain 33-705 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	905	905	90%	0.0	98.26%	3971950	CP016743.1
Acetobacter baumannii strain 33-584 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	905	905	90%	0.0	98.26%	3972003	CP016738.1
Acetobacter baumannii strain 33-201 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	905	905	90%	0.0	98.26%	3972035	CP016736.1
Acetobacter baumannii strain 33-300 plasmid... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3973223	CP064260.1
Acetobacter baumannii strain 33-036 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3973166	CP016735.1
Acetobacter baumannii strain 33-107 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3972042	CP016734.1
Acetobacter baumannii strain JAR108 chromosome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3994104	CP016733.1
Acetobacter baumannii strain MARS chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	4032275	CP016732.1
Acetobacter baumannii strain HARB11 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3988862	CP016731.1
Acetobacter baumannii strain RAB72 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3944323	CP016730.1
Acetobacter baumannii strain JAD116 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3971630	CP016729.1
Acetobacter baumannii strain JAD272 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3999971	CP016728.1
Acetobacter baumannii strain JAR117 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3993401	CP016727.1
Acetobacter baumannii strain JAR77 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	4033482	CP016726.1
Acetobacter baumannii strain JAD34 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	4020767	CP016725.1
Acetobacter baumannii strain JAR144 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3994773	CP016724.1
Acetobacter baumannii strain MARD7 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3962360	CP016723.1
Acetobacter baumannii strain RAB72 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3997089	CP016722.1
Acetobacter baumannii strain MARS1 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	4077512	CP016721.1
Acetobacter baumannii strain RAB11 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3996168	CP016720.1
Acetobacter baumannii strain RAB14 chromosome... complete genome	Acetobacter baumannii	900	900	90%	0.0	98.26%	3948484	CP016719.1

شکل ۲- نتیجه حاصل از Blast توالی محصول PCR ژن pgaA در سایت NCBI

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
Acetobacter baumannii strain 33-705 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3971950	CP016743.1
Acetobacter baumannii strain 33-584 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3972003	CP016738.1
Acetobacter baumannii strain 33-201 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3972035	CP016736.1
Acetobacter baumannii strain 33-300 plasmid... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3973223	CP064260.1
Acetobacter baumannii strain 33-036 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3973166	CP016735.1
Acetobacter baumannii strain 33-107 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3972042	CP016734.1
Acetobacter baumannii strain JAR108 chromosome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3994104	CP016733.1
Acetobacter baumannii strain MARS chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	4032275	CP016732.1
Acetobacter baumannii strain HARB11 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3988862	CP016731.1
Acetobacter baumannii strain RAB72 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3944323	CP016730.1
Acetobacter baumannii strain JAD116 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3971630	CP016729.1
Acetobacter baumannii strain JAD272 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3999971	CP016728.1
Acetobacter baumannii strain JAR117 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3993401	CP016727.1
Acetobacter baumannii strain JAR77 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	4033482	CP016726.1
Acetobacter baumannii strain JAD34 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	4020767	CP016725.1
Acetobacter baumannii strain JAR144 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3994773	CP016724.1
Acetobacter baumannii strain MARD7 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3962360	CP016723.1
Acetobacter baumannii strain RAB72 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3997089	CP016722.1
Acetobacter baumannii strain MARS1 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	4077512	CP016721.1
Acetobacter baumannii strain RAB11 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3996168	CP016720.1
Acetobacter baumannii strain RAB14 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3948484	CP016719.1
Acetobacter baumannii strain RAB30 chromosome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	4016761	CP016718.1
Acetobacter baumannii strain JAD116 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	4033619	CP016717.1
Acetobacter baumannii strain RAB72 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	4063247	CP016716.1
Acetobacter baumannii strain RAB24 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3977707	CP016715.1
Acetobacter baumannii strain RAB55 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3962212	CP016714.1
Acetobacter baumannii strain RAB20 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3856410	CP016713.1
Acetobacter baumannii strain 36 chromosome... complete genome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	4155182	CP016712.1
Acetobacter baumannii isolate GMCS506 AHT-1565 chromosome	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	3648396	CP012899.1
Acetobacter baumannii strain RAB14 myc-beta 1.6 flacetyl-D-glucosamine synthase (pgaB)	Acetobacter	660	660	46%	0.0	99.72%	809	CP090608.1

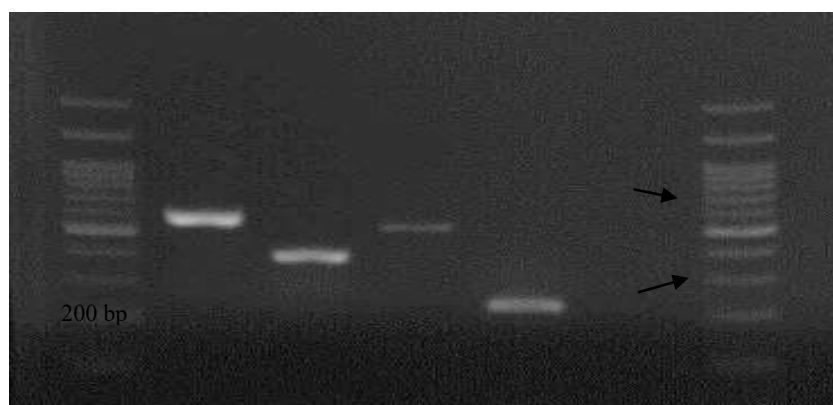
شکل ۳- نتیجه حاصل از Blast توالی محصول PCR ژن pgaB در سایت NCBI



✓	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii ATCC 17970 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	4006343	<a href="#">CP053098.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain VB82 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	4210906	<a href="#">CP050285.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain VR2486 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	535	98%	3e-88	98.45%	4137731	<a href="#">CP050402.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain AK7 chromosome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	536	96%	3e-88	98.45%	4250546	<a href="#">CP045341.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain A0943 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	3961713	<a href="#">CP043910.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain WCH46005076 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	536	96%	3e-88	98.45%	3990012	<a href="#">CP027246.2</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii ATCC 17979 substr. Lab-VIT chromosome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.49%	3956141	<a href="#">CP039029.2</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii ATCC 17978 substr. PMR.Hsp chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	3956017	<a href="#">CP039025.2</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii ATCC 17978 substr. PMR.Low chromosome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	3971718	<a href="#">CP039022.2</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain TTY3595011 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	536	96%	3e-88	98.45%	4150187	<a href="#">CP041936.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain F7774 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	4143962	<a href="#">CP040259.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain UP661 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	3880245	<a href="#">CP033215.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain A0946 chromosome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	558	96%	3e-88	98.45%	3954288	<a href="#">CP037872.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain 9102 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	536	98%	3e-88	98.45%	3971623	<a href="#">CP023029.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain A52 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	3954628	<a href="#">CP034092.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii AB307-9294, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	536	96%	3e-88	98.45%	3759495	<a href="#">CP001172.2</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain DA33382 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	536	96%	3e-88	98.45%	3947407	<a href="#">CP030106.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain HCTC13421 genome assembly, chromosome_1</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	536	96%	3e-88	98.45%	4044162	<a href="#">SRR83472.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain AB_0188 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	4040515	<a href="#">CP027530.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain AB_0283 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	535	96%	3e-88	98.45%	4149444	<a href="#">CP027528.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain AR_0252 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	4079507	<a href="#">CP027163.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain AR_0279 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	4090545	<a href="#">CP027179.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain AB5 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	535	96%	3e-88	98.45%	4039997	<a href="#">CP021782.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii AB107, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	535	96%	3e-88	98.45%	4055148	<a href="#">CP061182.2</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain HW043 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	541	96%	3e-88	98.45%	4077713	<a href="#">CP020597.1</a>
✓	<a href="#">Acinetobacter baumannii strain USA33 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Acinetobacter baumannii</a>	339	536	96%	3e-88	98.45%	3930178	<a href="#">CP020595.1</a>

شکل ۴- نتیجه حاصل از Blast توالی محصول PCR ژن pgaC در سایت NCBI

1 2 3 4 5 6 7



شکل ۵- الکتروفورز محصول PCR ژن‌های اپرون pga در اسیتوباکتر بومانی: ستون 1 لدر 100 bp، ستون 2 ژن pgaA، ستون 3 ژن pgaB، ستون 4 ژن pgaC، ستون 5 ژن pgaD، ستون 6 کنترل منفی، ستون 7 لدر 100 bp

جدول ۴- جدایه‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم دارای ژن‌های pga A,B,C,D

بیوفیلم	pga A	pga B	pga C	pga D
قوی	۲۸	۲۷	-	۱۹
متوسط	۲۵	۲۴	-	۱۷
ضعیف	۱۷	۶	۱	۱۴
P.V	P<./...)	P<./...)	-	P<./...)

## بحث

با وجود پیشرفت‌های زیاد در رابطه با کشف آنتی‌بیوتیک‌های جدید، درمان عفونت‌های بیمارستانی یا Nosocomial infection به دلیل مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالای پاتوژن‌های ایجادکننده آنها با مشکلات اساسی روبرو می‌باشد و در پی آن، باکتری‌های پاتوژن فرصت طلب ESKAPE (اتروکوکوس فاسیوم، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه، اسیتوباکتر بومانی، سودوموناس آئروژینوزا، اتروباکتر) با ایجاد عفونت‌های بیمارستانی در افراد با سیستم ایمنی ضعیف بستری شده در بیمارستان، چالش‌های زیادی را در زمینه بهداشت ایجاد می‌نمایند. در میان این سوبه‌های باکتریایی اسیتوباکتر بومانی با مقاومت بالا به آنتی‌بیوتیک‌های موجود از توجه ویژه‌ای برخوردار می‌باشند (۱۷). با نگاه به گزارش سازمان بهداشت جهانی مبنی بر قرار گرفتن اسیتوباکتر بومانی به عنوان یکی از باکتری‌های تهدیدکننده سلامت و بهداشت عمومی، لزوم شناسایی زوایای مختلفی از این باکتری و نحوه مقابله با آن بسیار حایز اهمیت جلوه می‌کند (۱۸). مطالعات مختلف نشان می‌دهند که اغلب جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند و این جدایه‌های مقاوم به چند دارو به سرعت در بین بیماران بستری در بیمارستان در حال گسترش می‌باشند که می‌تواند درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری را با مشکل مواجه کند. یکی از معضلات این باکتری در عفونت‌های بیمارستانی، رشد و تکثیر آن در دستگاه تنفس مصنوعی و وسایل مرتبط با آن و ایجاد بیوفیلم می‌باشد که می‌تواند زمینه‌ساز ایجاد پنومونی در بیماران بستری در بخش مراقبت ویژه بیمارستان‌ها گردد. مطالعه بر روی فاکتورهای مؤثر در تشکیل بیوفیلم می‌تواند پژوهشگران را در جهت ایجاد راهکارهای علمی در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم و حذف آن کمک کند (۱۹).

در این مطالعه به منظور بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم از روش میکروتیتر پلیت استفاده شد. این روش علاوه بر اینکه توانایی تشکیل بیوفیلم جدایه‌ها را تشخیص می‌دهد، می‌تواند میزان تشکیل بیوفیلم را به صورت کمی اندازه‌گیری کند. با استفاده از این روش در مطالعه حاضر، 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) تولیدکننده بیوفیلم متوسط، ۳۸ جدایه (۳۹/۱۷ درصد) تولیدکننده بیوفیلم ضعیف بودند. این نتایج مشابه یافته‌های مطالعه باباپور و همکاران در تهران بر روی جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی بود که ۹۸/۷ درصد جدایه‌ها قادر به تشکیل بیوفیلم گزارش شدند (۲۰). در مطالعه راماکریشنان و همکاران در کشور هند مشخص شد که ۸۱ درصد جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی پتانسیل تشکیل بیوفیلم را داشتند که مشابه نتایج مطالعه حاضر می‌باشد (۲۱). در مطالعه روحی و همکاران در شهر تهران ۵۲/۶ درصد جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی بیوفیلم مثبت گزارش شدند (۲۲).

نتایج بررسی حضور ژن‌های اپرون pga در جدایه‌ها با استفاده از روش PCR در مطالعه حاضر نشان داد که ۷۲/۱۶ درصد از جدایه‌ها ژن pgaA، ۵۸/۷۶ درصد از جدایه‌ها ژن pgaB، ۱/۰۳ درصد از جدایه‌ها ژن pgaC، ۵۱/۵۴ درصد) از جدایه‌ها ژن pgaD دارند. میزان حضور ژن pgaA در میان جدایه‌ها بیش از دیگر ژن‌ها و میزان حضور ژن pgaC کمتر از سایر ژن‌ها بوده است. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که به نظر می‌رسد ژن pgaC نقش کمتری در تشکیل بیوفیلم در اسیتوباکتر بومانی دارد، زیرا انتشار این ژن در جدایه‌های واجد بیوفیلم قوی و متوسط کمتر از دیگر ژن‌های اپرون pga بوده است، در حالی که سایر ژن‌های اپرون در جدایه‌های واجد بیوفیلم قوی و متوسط تقریباً انتشار مشابهی دارد. از سوی دیگر، بررسی اطلاعات به دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که در جدایه‌های واجد بیوفیلم قوی و متوسط بیشترین حضور ژن‌های متعدد اپرون pga وجود دارد. رضا حاتمی در سال ۲۰۱۸ در کرمانشاه به بررسی فراوانی اسیتوباکترهای مقاوم به دارو به روش PCR در غرب ایران پرداخته است. نتایج ایشان نشان داد از ۵۰ جدایه، ۱۸ درصد از جدایه‌ها ژن aba1 و ۵۸ درصد جدایه‌ها دارای ژن pgaD می‌باشند (۲۳). هرچند تمامی ژن‌های مورد بررسی در مطالعه ایشان با پژوهش حاضر مطابقت ندارد اما در مورد بررسی ژن pgaD توسط ایشان و نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر در مورد ژن pgaD (۵۱/۵۴ درصد)، تشابه در یافته‌ها مشاهده می‌شود.

مطالعه چوی و همکاران در سال ۲۰۰۹ به بررسی نقش سازنده لوکوس ژنی pgaA, B, C, D در تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های اسیتوباکتر بومانی می‌پردازد. نتایج ایشان نشان می‌دهد که از ۳۰ جدایه، ۲۸ جدایه (۹۳ درصد) واجد اغلب ژن‌های اپرون pga بودند (۲۴). طبق نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، ۷۵ درصد جدایه‌های مورد مطالعه واجد سه ژن pgaA, B, D بوده‌اند و تنها در خصوص ژن pgaC است که نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقتی را با مطالعه چوی نشان نمی‌دهد.

همچنین مطالعات زیادی در رابطه با ژن‌های مؤثر در بیماری‌زایی این باکتری در ایران انجام نگرفته است که تفسیر نتایج مطالعات انجام گرفته در این زمینه را با محدودیت‌های زیادی مواجه می‌سازد. در نهایت مطالعه حاضر و مطالعات گذشته بیانگر این است که اسیتوباکتر بومانی به لحاظ توان بالا در تشکیل بیوفیلم، همچنان به عنوان یکی از باکتری‌های مهم در بخش‌های مختلف بیمارستان محسوب می‌شود و به نظر می‌رسد که سیاست‌های درمانی و تشخیصی نیازمند بازنگری و تغییر می‌باشند، در غیر این صورت به زودی شاهد شکست درمان در عفونت‌های اسیتوباکتر بومانی خواهیم بود.

در مورد محدودیت‌های این پژوهش می‌توان حجم کوچک نمونه برای تعمیم نتایج به دست آمده به سطح کشوری و جهانی، محدود بودن درک کامل پدیده به دلیل عدم بررسی عوامل دیگر، فقدان بررسی روش‌های

- formation and motility. *J Microbial Pathogenesis* 2021; 155:104922. doi: 10.1016/j.micpath.2021.104922
6. Luo L, Wu L, Xiao Y, Zhao D, Chen Z, Kang M, et al. Enhancing pili assembly and biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 using non-native acyl-homoserin lactones. *J Bmc Microbiology* 2015;15:62. doi: 10.1186/s12866-015-0397-5
  7. Colquhoun J, Rather P. Insights into mechanisms of biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* and implications for uropathogenesis. *J Molecular Bacterial Pathogenesis* 2020;253:1-18. doi: 10.3389/fcimb.2020.00253
  8. Li Z, Ding Z, Liu Y, Liu Y, Jin X, Xie J, et al. Phenotypic and genotypic characteristics of biofilm formation in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Infection and Drug Resistance* 2021;2021:2613-24. doi: 10.2147/IDR.S310081
  9. Azizi O, Shahcheraghi F, Salimzand H, Modarresi F, Shakibaie M, Mansouri SH, et al. Molecular analysis and expression of *bap* gene in biofilm-forming multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Biochemistry & Molecular Biology* 2016;5:62-72. doi: 10.3390/pathogens11091015
  10. Bossé JT, Sinha S, Li M, Odwyer C, Nash J, Rycroft A, et al. Regulation of *pga* operon expression and biofilm formation in *Actinobacillus pleuropneumoniae* by  $\sigma$ E and H-NS. *J Bacteriol* 2010;192:2414-23. doi: 10.1128/JB.01513-09
  11. Mancilla-Rojano J, Castro-Jaimes S, Ochoa S, Bobadilla Del Valle M, Luna-Pineda V, Bustos P, et al. Whole-genome sequences of five *acinetobacter baumannii* strains from a child with leukemia M2. *Front Microbiol* 2019;10:p.132. doi: 10.3389/fmicb.2019.00132
  12. Gening ML, Pier GB, Nifantiev NE. Broadly protective semi-synthetic glycoconjugate vaccine against pathogens capable of producing poly- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-N-acetyl-d-glucosamine exopolysaccharide. *Drug Discov Today Technol* 2020;35-36:13-21. doi: 10.3389/fmicb.2024.1386017
  13. Little DJ, Pfoh R, Le Mauff F, Bamford N, Notte C, Baker P, et al. PgaB orthologues contain a glycoside hydrolase domain that cleaves deacetylated poly- $\beta$  (1, 6)-N-acetylglucosamine and can disrupt bacterial biofilms. *PLoS Pathogens* 2018;14: e1006998. doi: 10.1371/journal.ppat.1006998
  14. Begum S, Hasan F, Hussain Sh, Ali Shah A. Prevalence of multi drug resistant *Acinetobacter baumannii* in the clinical samples from Tertiary Care Hospital in Islamabad, Pakistan. *Pakistan Journal of Medical Sciences* 2013;29:p.1253. doi: 10.12669/pjms.295.3695
  15. Sharma G, Dang SH, Gupta S, Gabrani R. Identification and molecular characterization of bacteria having antimicrobial and antibiofilm activity. *Int J Pharm Pharm Sci* 2016;8:111-114. doi: 10.22159/ijpps.2016v8i10.12338
  16. Pitout JDD, Gregson DB, Poir L, McClure JA, Le P, Church DL. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing Metallo-beta-lactamases in a large centralized laboratory. *J Clin Microbiol* 2005;43:3129-35. doi: 10.1128/JCM.43.7.3129-3135.2005
  17. Monem S, Furmanek Blaszk B, Lupkowska A, Kuczynska Wisnik D, Stojowska Swedrzynska K, Laskowska E. Mechanisms protecting *Acinetobacter baumannii* against multiple stresses triggered by the host immune response, antibiotics and outside-host environment. *J Molecular Sciences* 2020;21:1-30. doi: 10.3390/ijms21155498
  18. Eshtiaghi S, Nazari R, Fasihi Ramandi M. Molecular docking, anti-biofilm & antibacterial activities and therapeutic index of mCM11 peptide on *Acinetobacter baumannii*. *Current Microbiology* 2023;80:191 doi: 10.1007/s00284-023-03217-z
  19. Sarikhani Z, Nazari R, Nateghi-Rostami M. First report of OXA-143- lactamase producing *Acinetobacter baumannii* in Qom, Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2017;20:1282-1286. doi: 10.22038/ijbms.2017.9490
  20. 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 Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2016;6:528-33. doi: 10.1016/j.apjtb.2016.04.006

تشخیصی دیگر را ذکر نمود؛ که در پژوهش‌های آتی، مورد نظر قرار خواهند گرفت.

بررسی داده‌های تحقیق حاضر بیانگر آن است که در جدایه‌های واجد بیوفیلم قوی و متوسط بیشینه حضور ژن‌های متعدد اپرون *pga* وجود دارد. همچنین به نظر می‌رسد ژن *pgaC* نقش کمتری در ایجاد بیوفیلم در اسیتوباکتر بومانی دارد، زیرا انتشار این ژن در جدایه‌های واجد بیوفیلم قوی و متوسط کمتر از دیگر ژن‌های اپرون *pga* بوده است.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از پرسنل محترم آزمایشگاه تحقیقاتی میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم تشکر و قدردانی می‌گردد.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منافی ندارند.

### حمایت مالی

این مقاله از رساله کارشناسی ارشد نویسنده اول در گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم استخراج شده است.

### ملاحظات اخلاقی

این تحقیق با اصول اخلاقی معاهده هلسینکی و منشور اخلاق پژوهش معاونت پژوهش و فن‌آوری دانشگاه آزاد اسلامی انجام شد. تهیه سوبه‌های اسیتوباکتر بومانی و نمونه‌های این پژوهش مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم با کد اخلاق IR.IAU.QOM.REC.1398.004 است.

### مشارکت نویسندگان

تمامی اعضای نویسندگان در پژوهش و آماده‌سازی این مقاله مشارکت داشته‌اند.

### کد اخلاق

کد اخلاق IR.IAU.QOM.REC.1398.004

### References

1. Pompilio A, Scribano D, Sarshar M, Bonaventura GD, Palamara AT, Ambrosi C. Gram-negative bacteria holding together in a biofilm: The *Acinetobacter baumannii* way. *J Microorganisms* 2021;9:1353. doi: 10.3390/microorganisms9071353
2. 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;28:559-567. doi: 10.22062/jkmu.2021.91827
3. Saleh Nia Samak A, Nojoomi F. Phenotypic study of extended-spectrum beta lactamase (esbl) producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in patients referred to a military hospital in guilan province. *J Iranian Journal of Biology* 2020;32:578-90. doi: 10.4314/ejhs.v31i2.4
4. Mea HJ, Wong EH. An overview of *Acinetobacter baumannii* pathogenesis: Motility, adherence and biofilm formation. *J Science Direct* 2021;247:126722. doi: 10.1016/j.micres.2021.126722
5. Al-Shamiri MM, Zhang S, Mi P, Liu Y, Xun M, Yang E, et al. Phenotypic and genotypic characteristics of *Acinetobacter baumannii* enrolled in the relationship among antibiotic resistance, biofilm

21. 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;29:276-80.
22. 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. *Iranian Journal of Medical Microbiology* 2020;14:566-583. doi: [10.30699/ijmm.14.6.566](https://doi.org/10.30699/ijmm.14.6.566)
23. Hatami R. The frequency of multidrug resistance and extensively drug resistant *Acinetobacter baumannii* in west of Iran. *J Clin Microbiol Infect Dis* 2018;1:4-8. doi: [10.5455/jrmds.20186216](https://doi.org/10.5455/jrmds.20186216)
24. Choi A, Slamti L, Avci F, Pier G, Maira-Litrán T. The pgaABCD locus of *Acinetobacter baumannii* encodes the production of poly-β-1-6-N-acetylglucosamine, which is critical for biofilm formation. *J Bacteriol* 2009;191:5953-63. doi: [10.1128/jb.00647-09](https://doi.org/10.1128/jb.00647-09)







## Molecular Investigation of pgaA, pgaB, pgaC, and pgaD Genes Associated with Biofilm Formation in Carbapenem-Resistant Acinetobacter Baumannii Isolates in Qom City

Alireza Shahvaroghi (M.Sc.)<sup>1</sup>, Razieh Nazari (Ph.D.)<sup>1\*</sup>, Seyed Soheil Aghaei (Ph.D.)<sup>1</sup>

1- Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

Received: 23 September 2023, Accepted: 7 May 2024

### Abstract:

**Introduction:** *Acinetobacter baumannii* is a common cause of infection in hospitalized patients, particularly in intensive care, surgical, and burn units. The ability to form biofilms is considered one of the major virulence factors of this bacterium. The expression of pga genes plays a crucial role in exopolysaccharide synthesis, bacterial adhesion, biofilm formation, and antibiotic resistance. This study aims to investigate the presence of pga genes in carbapenem-resistant *A. baumannii* clinical isolates and their ability to form biofilms.

**Methods:** This descriptive cross-sectional study examined 97 carbapenem-resistant *A. baumannii* strains for the presence of pgaA, pgaB, pgaC, and pgaD genes using PCR. The biofilm-forming capacity of the strains was assessed using the microtiter plate method, and the results were analyzed using SPSS software and Pearson's correlation test.

**Results:** Among the 97 carbapenem-resistant *A. baumannii* strains, 72.16% carried the pgaA gene, 58.76% carried the pgaB gene, 1.03% carried the pgaC gene, and 51.54% carried the pgaD gene. The presence of the pgaA gene was more prevalent compared to other genes, while the pgaC gene showed lower prevalence. Additionally, 29 strains (29.89%) exhibited strong biofilm formation, 30 strains (30.92%) exhibited moderate biofilm formation, and 38 strains (39.17%) exhibited weak biofilm formation.

**Conclusion:** The results suggest that the pgaC gene may play a lesser role in biofilm formation in *A. baumannii* since its expression was lower in strong and moderate biofilm-forming strains compared to other pga genes. The other pga genes showed a relatively similar distribution among strong and moderate biofilm-forming strains.

**Keywords:** Acinetobacter baumannii, Biofilm, Pga genes.

Conflict of Interest: No

\*Corresponding author: R. Nazari, Email: r.nazari1102002@gmail.com

**Citation:** Shahvaroghi A, Nazari R, Aghaei SS. Molecular investigation of pgaA, pgaB, pgaC, and pgaD genes associated with biofilm formation in carbapenem-resistant acinetobacter baumannii isolates in Qom city. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2024;19(1):57-65.

