

Ventilatörle İlişkili Pnömoni (VİP) Etkeni *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Biyofilm Oluşumu ve Virülans Genlerinin Araştırılması

Biofilm Formation and Virulence Genes in *Acinetobacter baumannii* Isolates Causing Ventilator-Associated Pneumonia

Besim Çam¹ , Elif Sevim² , Lokman Hizmalı³ 

¹Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Hastane Enfeksiyonları Kontrolü Doktora Programı, Kırşehir, Türkiye; ²Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kırşehir, Türkiye; ³Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırşehir, Türkiye

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) etkeni olan çoklu ilaç direnci gösteren *Acinetobacter baumannii* izolatlarında biyofilm oluşumu ile ilişkili fenotipik özelliklerin ve virülans genlerinin varlığının araştırılması amaçlandı.

Yöntemler: 2022–2023 yılları arasında yoğun bakım ünitesinde mekanik ventilasyon uygulanan hastaların trakeal aspirat örneklerinden izole edilen, çoklu ilaç direnci gösteren 23 VİP etkeni *A. baumannii* izolatı dahil edildi. İzolatların biyofilm oluşturma kapasiteleri mikropil kristal viyole yöntemi ile değerlendirildi. Virülans ve biyofilm oluşumu ile ilişkili *bap*, *csuE*, *ompA*, *pgaB*, *csgA*, *abaI*, *adeG*, *traT*, *cpaA*, *cnf-1*, *cnf-2*, *kpsMII*, *epsA*, *ptk*, *fimH*, *pilA*, *basD*, *bauA* ve *omp33-36* genlerinin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle araştırıldı.

Bulgular: Tüm izolatlarda güçlü biyofilm oluşumu tespit edildi; *bap*, *csuE*, *ompA* ve *pgaB* genleri tüm izolatlarda pozitif bulunurken, *fimH*, *csgA*, *adeG*, *traT*, *cpaA*, *cnf-1*, *cnf-2*, *kpsMII*, *pilA*, *bauA* ve *omp33-36* genleri hiçbir izolatta tespit edilmedi. Hücreler arası iletişim (quorum sensing, QS) ile ilişkili *abaI* ve siderofor sisteminden sorumlu *basD* genleri tüm izolatlarda pozitif iken kapsül ile ilişkili *epsA* ve *ptk* genleri sırasıyla %16.6 ve %54.2 oranında pozitif bulundu.

Sonuç: VİP etkeni çoklu ilaç direnci gösteren *A. baumannii* izolatlarında güçlü biyofilm oluşumu ile *bap*, *csuE*, *ompA* ve *pgaB* genlerinin tüm izolatlarda saptanması, biyofilm oluşumu ile virülans arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir. *fimH* ve *csgA* genlerinin saptanmaması, bu genlerin biyofilm oluşumunda belirleyici olmayabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca *abaI*, *basD*, *epsA* ve *ptk* genlerinin varlığı, biyofilm oluşumu ve antibiyotik direnciyle ilişkili olabilecek mekanizmaları desteklemektedir.

Anahtar sözcükler: *Acinetobacter baumannii*, biyofilm, virülans, ventilatörle ilişkili pnömoni

ABSTRACT

Objective: This study aimed to investigate phenotypic biofilm formation and the presence of biofilm-associated and virulence genes in multidrug-resistant (MDR) *Acinetobacter baumannii* isolates causing ventilator-associated pneumonia (VAP).

Methods: Twenty-three MDR *A. baumannii* isolates were collected from tracheal aspirate samples of mechanically ventilated patients in the intensive care unit between 2022 and 2023. Biofilm formation was assessed using the micro-titer plate crystal violet assay. The presence of biofilm-associated and virulence genes (*bap*, *csuE*, *ompA*, *pgaB*, *csgA*, *abaI*, *adeG*, *traT*, *cpaA*, *cnf-1*, *cnf-2*, *kpsMII*, *epsA*, *ptk*, *fimH*, *pilA*, *basD*, *bauA*, and *omp33-36*) was determined by polymerase chain reaction (PCR).

Results: All isolates demonstrated strong biofilm formation. The genes *bap*, *csuE*, *ompA*, and *pgaB* were present in all isolates, while *fimH*, *csgA*, *adeG*, *traT*, *cpaA*, *cnf-1*, *cnf-2*, *kpsMII*, *pilA*, *bauA*, and *omp33-36* were absent in all samples. The quorum-sensing gene *abaI* and the siderophore-related gene *basD* were detected in all isolates. Capsule-associated genes *epsA* and *ptk* were identified in 16.6% and 54.2% of isolates, respectively.

Conclusion: The consistent detection of strong biofilm formation and presence of *bap*, *csuE*, *ompA*, and *pgaB* genes in VAP-associated MDR *A. baumannii* isolates suggests a potential association between biofilm formation and virulence. The absence of *fimH* and *csgA* genes indicates that these genes may not be the determining factors for biofilm formation in these isolates. Furthermore, the presence of *abaI*, *basD*, *epsA*, and *ptk* genes is consistent with a possible involvement in biofilm formation and antibiotic resistance mechanisms.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, biofilm, virulence, ventilator-associated pneumonia

GİRİŞ

Hastane kaynaklı pnömoni, *Acinetobacter baumannii* infeksiyonlarının en önemli klinik tablolarından birini temsil etmektedir. Bu infeksiyonların gelişimine katkıda bulunan risk faktörleri arasında immünoşüpresyon, uzun süreli antibiyotik kullanımı, mekanik ventilasyon ve intravenöz ve üriner kateter kullanımı gibi invazif girişimler yer almaktadır. *Acinetobacter baumannii*'nin doğrudan temas veya kontamine sıvılar yoluyla infeksiyona veya kolonizasyona neden olduğu gösterilmiştir (1).

Tüm dünyada izolasyon sıklığı giderek artan nozokomiyal bir infeksiyon etkeni olan *A. baumannii*'nin tedavi ve kontrolünde ciddi zorluklar yaşanmaktadır. Bu artışta bakterinin çevresel koşullara uyum yeteneği ile antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç rol oynamaktadır. Karbapenem dirençli *A. baumannii*, 2018 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından acilen geliştirilmesi gereken birinci öncelikli kritik patojen olarak kabul edilmiştir (2). Artan çoklu ilaç direnci ve uzun süreli nozokomiyal persistans nedeniyle bu etken hastanede yatan hastalar için ciddi bir tehdit haline gelmiştir (3). Hastane kaynaklı infeksiyonların artan önemi ne rağmen, insan infeksiyonlarının patogenezinde virülans faktörlerinin rolü büyük ölçüde belirsizliğini korumaktadır.

Acinetobacter baumannii ile ilişkili birçok virülans faktörü tanımlanmıştır. Bu faktörler; porinler, lipopolisakkaritler, kapsüler polisakkaritler, fosfolipazlar, protein sekresyon sistemleri, dış membran vezikülleri, demir kazanım mekanizmaları, penisilin bağlayıcı protein 7/8 (PBP7/8), pili ve hareket yeteneği, hemolitik aktivite, biyofilm oluşturma, efluks pompaları ve hücreler arası iletişim (quorum sensing, QS) gibi kritik mekanizmalara etki ederek infeksiyon patogenezinde önemli rol oynamakta ve bakterinin olumsuz koşullarda yaşamını sürdürmesini sağlamaktadır (4).

Acinetobacter baumannii'de seğirme (twitching) hareketi, tip IV pilinin bakteri hücrelerini tekrarlayan ileri-geri çekme hareketleriyle agar yüzeyinde dallanmış yapılar oluşturma şeklinde tanımlanmıştır (5). Suşların tüm genom analizleri, tip IV pili ile ilişkili çok sayıda genin varlığını ortaya koymuştur. Ana fimbrial alt birim *pilA*, *A. baumannii* suşları arasında önemli değişkenlik gösterir ve bu varyasyonların hareket yeteneğindeki farklılıklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (5).

Çoklu ilaç efluks pompaları, geniş substrat özgüllükleri ve yüksek ekspresyon düzeylerinin yanı sıra diğer direnç mekanizmalarıyla sinerjistik etkileri sayesinde çoklu ilaca dirençli suşların ortaya çıkmasında önemli bir rol oynamaktadır. *adeABC*, *adeFGH* ve *adeIJK* genlerinin artan ekspresyonu hem çoklu ilaç direnci hem de virülans ile ilişkilendirilmiştir (6).

Konak yapılarına tutunma, pnömoni gibi infeksiyonların gelişiminde ilk adımı temsil edebilir. *ompA*, *bap* ve *omp33–36* gibi konak hücreye bağlanmaya aracılık eden adhezinleri kodlayan genler, *A. baumannii*'nin temel virülans genleri arasında yer almaktadır. Konak hücre içine girdikten sonra, sideroforların (küçük, demir şelatlayıcı moleküller) sentezi ve taşınmasında rol oynayan *basD* ve *bauA* gibi genler, bakterinin hayatta kalması için gereklidir (7).

R6–5 plazmidine özgü bir dış membran proteinini kodlayan *traT* virülans geninin Gram-negatif bakterilerde serumla öldürmeye karşı dirence aracılık ettiği gösterilmiştir. Bu genin özellikle kan dolaşımı infeksiyonlarından izole edilen suşlarda tespit edildiği bildirilmiştir (8). Patogenezin merkezinde yer alan hücreler arası iletişim sistemi (*abaI/abaR* genleri), bakteri popülasyonları arasında koordineli davranışı mümkün kılarak infeksiyon gelişimini ve konak ortamlarına adaptasyonu kolaylaştırır. Hücreler arası iletişim sisteminin temel bileşenlerinden biri olan *abaI* geni, sinyal molekülü N-asilhomoserin laktonun (N-AHL) sentezinden sorumlu olup bakteriyel davranış ve patojenitenin düzenlenmesinde kritik rol oynamaktadır (9).

Acinetobacter baumannii, fagositozdan korunmada rol oynayan, kompleman sisteminin aktivasyonunu engelleyen ve virülansına katkıda bulunan bir polisakkarit kapsüle sahiptir. Kapsülün ayrıca hücre yüzeyi hidrofobikliğini artırdığı ve tıbbi cihazlara tutunmayı kolaylaştırdığı bilinmektedir. Kapsül polimerizasyonu için *ptk* ve *epsA* genleri gereklidir (10). Grup 2 kapsül genleri arasında sınıflandırılan *kpsMII* geni ise *A. baumannii*'de kapsül oluşumu ve konak hücrelere tutunma ile ilişkilendirilmiştir (10).

Acinetobacter baumannii suşlarının, konak antimikrobiyal savunmasının temel bileşenlerinden biri olan ve aynı zamanda çeşitli Gram-negatif bakterilerdeki virülans faktörleri tarafından hedeflenen koagülasyonla ilişkili proteinlere sahip olduğu bulunmuştur. Bu proteinlerden biri, pıhtılaşma süreçlerini hedef alan ve *A. baumannii* virülansına katkıda bulunan replizin benzeri salgılanan bir metalloendopeptidaz olan *cpaA*'dır (11). Sitotoksik nekrotizan faktör (*cnf*), insan hücreleri üzerinde sitotoksik etkiler gösterebilen bir ekzotoksin olup, *cnf-1*, *cnf-2*, *cnf-3*, *cdt-1*, *cdt-2*, *cdt-3* ve *cdt-4* genlerini içeren bir gen kümesinin parçası olarak tanımlanmıştır (12).

Acinetobacter baumannii'nin cansız olmalarına rağmen kateter, ventilatör gibi cihazların yüzeylerine tutunma ve kolonize olma yeteneği, hastane ortamlarında uzun süre hayatta kalmasını sağlar; bu durum biyofilm oluşumu ve çoklu ilaç direnci ile yakından bağlantılıdır. Biyofilm oluşturma yeteneğine sahip *A. baumannii* izolatları konağın bağışıklık sisteminden kaçabilir ve uzun süre hayatta kalarak klinik ortamlarda bulaşıcılığın artmasına neden olabilir (13). Bu etken için biyofilm oluşturma oranı yaklaşık %80–91 aralığında bildirilirken, diğer türlerde %5–24 arasında değişmektedir (14). Biyofilm oluşumu ile antibiyotik direnci gelişimi arasında pozitif bir korelasyon olduğu farklı çalışmalarda gösterilmiştir (15).

Biyofilm oluşumuna *A. baumannii*'de çeşitli virülans faktörleri katkıda bulunur. Bunlar arasında dış membran proteini A (*ompA*) ve biyofilme ilişkili protein (*bap*) bulunmaktadır. Pilus montajında rol oynayan *csuA/BABCDE* operonunun yüzeye bağlanma ve biyofilm oluşumu için gerekli olduğu gösterilmiştir. Poli-β-1,6-N-asetilglukozamini kodlayan bir başka operon olan *pgaABC* de biyofilm gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (16). Fimbria ile ilişkili protein *fimH*, bakterinin hücre duvarına tutunmasına yardımcı olarak “yakalama bağı” mekanizmasının oluşumuna katkıda bulunur. *csgA* geni tarafından eksprese edilen *curli* lifleri, hücre dışı matris proteinleri aracılığıyla konak epitel hücrelerine tutunmayı ve invazyonu kolaylaştırır. Bu lifler konak proteinleriyle etkileşime girerek organizmanın dokularına daha derin nüfuz etmeyi kolaylaştırabilecek bağışıklık tepkilerini tetikler (17).

Bu çalışmada, ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) olgularından izole edilen *A. baumannii* suşlarında biyofilm oluşumu ve virülans genlerinin varlığının belirlenmesi amaçlandı.

YÖNTEMLER

Bu çalışmaya, VİP etkeni olarak tanımlanan ve çoklu ilaç direnci gösteren 23 *A. baumannii* izolatı dahil edildi. İzolatlar, 2022–2023 yılları arasında bir eğitim ve araştırma hastanesinin yoğun bakım ünitesinde mekanik ventilasyon uygulanan hastaların trakeal aspirat kültürlerinden elde edildi. Çalışma süresi boyunca toplam 28 *A. baumannii* etkeni tespit edildi ve tamamı gliseröz stoklara ekilerek saklandı. Daha sonra gen tespiti yapmak için izolatlar uygun besiyerlerine tekrar ekildi. Bu aşamada beş izolat tekrar üretilmediği için 23 *A. baumannii* izolatıyla çalışma yürütüldü. İzolatların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi, VITEK® otomatize sistemi (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Fransa) kullanılarak gerçekleştirildi.

Bu çalışmada, *A. baumannii* izolatlarında virülansla ilişkili genlerin ve biyofilme ilişkili fenotipik özelliklerin genotipik ve fenotipik profilleri

araştırıldı. Fenotipik değerlendirmede, izolatların biyofilm oluşturma yetenekleri incelendi. Genotipik değerlendirmede ise patojenite ve biyofilm oluşumundan sorumlu virülans genlerinin varlığı incelendi.

Biyofilm Oluşumunun Araştırılması

İzolatlar kanlı besiyerine pasajlandı ve bir gece inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından %2 glukoz içeren tek koloni 3 ml triptik soy buyyonu (Tryptic Soy Broth, TSB) içerisine ekildi ve 37°C'de çalkalamasız ortamda bir gece inkübe edildi. Gece kültüründen 10 µl alınarak,

her kuyucuğunda %2 glukoz içeren 200 µl TSB bulunan düz tabanlı 96 kuyucuklu pleytlere inoküle edildi. Pleytler çalkalamasız ortamda 48 saat inkübe edildi.

İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvı besiyeri uzaklaştırıldı. Pleytler üç kez steril distile su (dH₂O) ile yıkandı ve oda sıcaklığında kurutuldu. Ardından her kuyucuğa 200 µl %0.2'lik kristal viyole solüsyonu eklendi ve pleytler 45 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda kristal viyole uzaklaştırıldı; pleytler üç kez dH₂O ile yıkanıp kurutuldu. Ardından her kuyucuğa 200 µl %96 etanol ilave edildi. Çözünmüş solüsyondan 100 µl alınarak yeni bir pleyte aktarıldı.

Tablo 1. Virülans Genlerinin Amplifikasyonunda Kullanılan Primerler ve PCR Parametreleri

	Gen	Sekans (5'-3')	bp	Tm (°C)	E.t* (sn)
BiG	<i>bap</i>	F: AAGATTACCAGCAGCTCTAC R: ATGTACCTGCTGCTTTATCTAC	414	56	30
	<i>csuE</i>	F: ATGCATGTTCTCTGGACTGATGTTGAC R: CGACTGTACCGTGACCGTATCTTGATAAG	976	58	60
	<i>pgaB</i>	F: AAGAAAATGCCTGTGCCGACCA R: GCGAGACCTGCAAAGGGCTGAT	490	58	30
	<i>csaA</i>	F: ACTCTGACTTGACTATTACC R: GATGCACTCTGGTCAAC	200	53	30
Adezin	<i>ompA</i>	F: CGCTTCTGCTGGTCTGAAT R: CGTGCACTAGCGTTAGGGTA	531	58	60
	<i>omp33-36</i>	F: ATTAGCCATGACCGTGCTC R: CCACCCCAAACATGGTCGTA	726	58	60
Fimbria	<i>fimH</i>	F: CAATAATGATGTGGTGGTGC R: GCGTAATTGCGGTTAATCC	321	55	30
	<i>pilA</i>	F: GAACTTATGATCGTGGTTGC R: CTTCCAGCGATTTTGGAT	300	53	30
QS Sistemi	<i>abaI</i>	F: AAAGTTACCGCTACAGGG R: CACGATGGGCACGAAA	438	52	45
Efluks Pompası	<i>adeG</i>	F: TTCATCTAGCCAAGCAGAAG R: GTGTAGTGCCACTGGTTACT	468	55	45
Siderofor	<i>bauA</i>	F: TGGAAGGTGAAAATGCACG R: GCCGCATATGCCATCACTG	224	57	30
	<i>basD</i>	F: TGCTGTTCGTTCTTTGGCG R: GTTGAGTTGAGCGCCGATG	517	57	45
DMP	<i>traT</i>	F: GGTGTGGTGCGATGAGCACAG R: CACGGTTCAGCCATCCCTGAG	290	58	30
KiP	<i>cpaA</i>	F: CTGCTTTAGGAAAATGGG R: CGCCTTCAATCATTCTAAG	668	51	60
Kapsül	<i>epsA</i>	F: CAGCTTTAGGTCTTGCGGGA R: TGCTAAACCGAAGTCGCCAA	392	57	30
	<i>kpsMII</i>	F: GCGCATTGCTGATACTGTTG R: TCCAGACGATAAGCATGAGCA	272	58	30
	<i>ptk</i>	F: GGCTGAGCATCCTGCAATGCGT R: ACTTCTGAGAGAAGGGCTGCAA	597	58	45
Ekzotoksin	<i>cnf-1</i>	F: AAGATGGAGTTTCTATGCAAGAG R: TTCAGAGTCTGCCCTCATTATT	498	58	45
	<i>cnf-2</i>	F: AATCTAATTAAGAGAAAC R: CATGCTTTGTATATCTA	543	42	45

BiG: Biyofilm ilişkili genler, **QS:** "Quorum sensing", **DMP:** Dış membran proteini, **KiP:** Koagülasyon ilişkili protein, **F:** "Forward primer", **R:** "Reverse primer", **bp:** Baz çifti, **Tm:** Primer bağlanma sıcaklığı, **E.t:** Uzama süresi.

Örneklerin absorbansı 590 nm dalga boyunda, mikroparka okuyucu spektrofotometre (BioTek ELx800, BioTek Instruments, ABD) ile ölçüldü. Çalışmada, *A. baumannii* ATCC 19606 suşu pozitif kontrol olarak kullanıldı. Deney üç tekrar halinde gerçekleştirildi. Optik dansite sınır değeri (ODc), negatif kontrolün ortalama OD değerine 3 standart sapmanın (SS) eklenmesiyle hesaplandı:

ODc = negatif kontrolün ortalama OD'si + (3 × SS)

Sonuçlar optik dansite değerlerine göre; güçlü biyofilm oluşumu (OD > 4 × ODc), orta düzeyde biyofilm oluşumu (2 × ODc < OD ≤ 4 × ODc), zayıf biyofilm oluşumu (ODc < OD ≤ 2 × ODc) ve biyofilm oluşumu olmayan (OD ≤ ODc) olarak sınıflandırıldı (13).

Virülans Genlerinin

Araştırılması

İzolatlardan total DNA izolasyonu kaynatma yöntemi ile gerçekleştirildi. Elde edilen total DNA örnekleri çalışma boyunca hedeflenen genlerin çoğaltılmasında kullanıldı (18).

İzolatlarda; *bap*, *ompA*, *csuE*, *fimH*, *pgaB*, *csaA*, *abaI*, *adeG*, *pilA*, *bauA*, *omp33-36*, *traT*, *basD*, *cpaA*, *epsA*, *cnf-1*, *cnf-2*, *kpsMII* ve *ptk* virülans genlerinin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle tespit edildi. Genlerin çoğaltılmasında kullanılan primer dizileri Tablo 1'de sunuldu. PCR reaksiyonları toplam 25 µl son hacimde hazırlandı. Her bir reaksiyon için 12.5 µl 2X PCR Master Mix (Ampliqon, Odense M, Danimarka), 10 pmol/µl konsantrasyonda her bir spesifik primer çiftinden 0.5 µl ve kaynatma yöntemiyle izole edilen total DNA'dan 5 µl eklendi; son hacim dH₂O ile 25 µl'ye tamamlandı.

PCR amplifikasyonu şu koşullarda gerçekleştirildi: başlangıç denatürasyonu 95 °C'de 3 dakika; ardından 35 döngü boyunca 95 °C'de 45 saniye denatürasyon, her gen için

belirlenen bağlanma (annealing) sıcaklığında 45 saniye ve 72 °C'de hedef PCR ürününün uzunluğuna göre ayarlanan uzama süresi; son olarak 72 °C'de 5 dakika son uzama basamağı uygulandı (Tablo 1). Ardından amplifiye olan PCR ürünleri etidyum bromür içeren %1'lik agaroz jel elektroforezinde 100 V'da 1 saat süreyle yürütüldü. Jel görüntüleri UV ışığı altında değerlendirildi. Bantların varlığı ve beklenen moleküler ağırlıkları dikkate alınarak incelenen virülans genlerinin izolatlarda bulunup bulunmadığı belirlendi.

BULGULAR

Çalışmaya toplam 23 VİP etkeni *A. baumannii* izolatı dahil edildi. İzolatlar 23 farklı hastadan elde edildi. İzolatların antibiyotik direnç dağılımı değerlendirildiğinde; piperasilin-tazobaktam, imipenem, meropenem, siprofloksasin, gentamisin, levofloksasine karşı direnç oranı %100 olarak saptandı. Trimetoprim-sülfametoksazol ve kolistin karşı direnç oranı ise %65 idi. Tüm izolatlar çoklu ilaç direnci gösteriyordu (Tablo 2).

Yapılan PCR analizleri sonucunda, QS sistemiyle ilişkili *abaI* geni ve siderofor sisteminden sorumlu *basD* geni tüm etkenlerde pozitif bulunurken

adeG, *pilA*, *bauA*, *omp33-36*, *cpaA*, *cnf-1*, *cnf-2*, *kpsMII* ve *traT* genleri etkenlerin hiçbirinde tespit edilmedi. Kapsül ilişkili *epsA* ve *ptk* genleri ise sırasıyla %16.6 ve %54.2 oranında pozitif olarak belirlendi (Şekil 1, Tablo 3).

Fenotipik değerlendirme sonucunda, biyofilm oluşturma özelliği 23 (%100) izolatın tamamında güçlü düzeyde tespit edildi (Tablo 2). Tüm izolatlarda biyofilm oluşumu ile ilişkili *bap*, *ompA*, *csuE* ve *pgaB* genleri pozitif iken *fimH* ve *csgA* genleri tespit edilmedi (Resim 1, Tablo 3).

İRDELEME

Toplumdan ve özellikle hastanelerden izole edilen Gram-negatif bakterilerde, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının artmasına paralel olarak antibakteriyel ajanlara karşı gelişen direnç, dünya genelinde önemli bir halk sağlığı sorunu hâline gelmiştir. Özellikle çoklu ilaç direnci ve yaygın ilaç direnci (extensively drug resistant, XDR) bulunan *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde yaşanan güçlükler giderek artmaktadır. Bu çalışmada yer alan *A. baumannii* izolatlarının tamamının klinikte yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerin çoğuna dirençli bulunması, literatürde bildirilen verilerle uyumludur (12,14). Buna karşın kolistin direncinin yüksek bulunması literatürden farklılık göstermektedir; bu durum, hastanemizdeki *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde zorluk riski oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Hücreler arası iletişim sisteminde yer alan genlerden biri olan *abaI* geninin, sinyal moleküllü N- AHL sentezini sağlayarak bakteriyel davranışları ve patojeniteyi düzenler. Literatürde yer alan birçok çalışma, *abaI*, *abaR* ve *abaM* genlerini içeren QS sisteminin *A. baumannii* patojenitesi üzerindeki etkisini incelemiş ve büyüme, hareketlilik, virülans, biyofilm oluşumu ve antibiyotik duyarlılığı ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (19). Ayrıca *abaI* delesyonunun virülansı, enerji üretimini, biyofilm oluşumunu ve antibiyotiklere karşı olan direnci azalttığı bildirilmiştir (20). Bu çalışmada da literatürle uyumlu olarak biyofilm oluşturma kapasitesi ve virülans düzeyi yüksek bulunan tüm izolatlarda *abaI* geni pozitif idi.

Çoklu ilaç efluks pompalarının çalışmasından sorumlu "Resistance-Nodulation-Division" (RND) ailesinin üç üyesi olan *adeABC*, *adeFGH* ve *adeIJK*'nin artan ekspresyonu, çoklu ilaç direnci ve virülans ile ilişkilendirilmiştir (6). İnsanlardan izole edilen *A. baumannii* suşlarında *adeF*, *adeG* ve *adeH* efluks pompası genlerinin yüksek prevalansa sahip olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (21). *AdeFGH*'nin aşırı ekspresyonunun, biyofilm oluşumu sırasında AHL'lerin sentezini ve taşınmasını artırdığı; ayrıca *adeFGH* ve *abaI* genlerinin birlikte yukarı regülasyonunun *A. baumannii* tarafından biyofilm gelişimi üzerinde potansiyel bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Tablo 2. *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Antibakteriyel Direnç Dağılımı

	İzolatlar	TPZ	IMI	MER	SXT	CIP	TIG	AK	GN	LEV	COL
1	Ab1										
2	Ab2										
3	Ab3										
4	Ab4										
5	Ab5										
6	Ab6										
7	Ab7										
8	Ab8										
9	Ab9										
10	Ab10										
11	Ab12										
12	Ab13										
13	Ab14										
14	Ab15										
15	Ab16										
16	Ab17										
17	Ab20										
18	Ab22										
19	Ab23										
20	Ab24										
21	Ab25										
22	Ab27										
23	Ab28										

TPZ: Piperasilin-Tazobaktam, GN: Gentamisin, AK: Amikasin, CIP: Siprofloksasin, SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol, IMI: İmipenem, MER: Meropenem, TIG: Tigesiklin, LEV: Levofloksasin, COL: Kolistin **Koyu mavi dolu:** Dirençli, **Mavi dolu:** Duyarlı, **Sarı dolu:** Orta duyarlı.

rilmiştir (21). Buna karşılık bazı çalışmalarda, RND tipi efluks pompası genleri olan *adeB*, *adeG* ve *adeJ*'nin bir veya daha fazlasının ekspresyonu ile biyofilm oluşumu arasında negatif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (22). Negatif korelasyon gözlemi, *Csu* pili'deki azalma ve demir edinimi ve hareketliliğinde rol oynayan genlerin aşağı regülasyonu gibi bakteri membranında efluks pompası aşırı ekspresyonu ile ilişkili değişikliklerin varlığı ile açıklanmıştır (22). Bu çalışmada RND ailesinden *adeG* geni incelenmiş olup izolatların hiçbirinde bu gen tespit edilmedi. Bu bulgu, bazı çalışmalarda bildirilen negatif korelasyonla uyumlu olabilir. Ayrıca tüm izolatlarda güçlü biyofilm oluşumunun saptanması ve pili ile ilişkili *csuE* ve demir edinimi ile ilişkili *basD* genlerinin pozitif bulunması da literatürde bildirilen verilerle uyumludur.

Demir edinimi, *A. baumannii* patogenezinin temel bileşenlerinden biridir; bakterinin hayatta kalmasını sağlar ve konakta enfeksiyona neden olur. *bauA* geni, demir kazanımında rol oynayan bir siderofor olan ferrik asinetobaktinin bağlanması ve hücre içine alınmasından sorumlu proteini kodlamakta ve aynı zamanda biyofilm oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Bu mekanizma, bakterinin konaktan demir emmesini sağlayarak hayatta kalmasını sağlar. *basD* geni ise asinetobaktin biyosentezinde rol oynayan bir enzimi kodlar. Asinetobaktin, demir ediniminde kritik öneme sahip olup *basD* aktivitesi bu sideroforun üretimi için gereklidir. Bu durum, bakterinin virülansını ve antibiyotik direncini artıran bir avantaj sağlamaktadır. Literatürde *bauA* ve *basD* pozitif suşlarda antibiyotik direnci prevalansının, duyarlı izolatlarla kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu bildirilmiştir (23). Çalışmamızda *bauA* geni izolatların hiçbirinde tespit edilemezken, *basD* geni tüm izolatlarda pozitif bulundu. Bu bulgu, etkenin hayatta kalmak için gerekli demir edinimini *basD* geni aracılığı ile yaptığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda, *A. baumannii*'nin sitotoksitesi ile konak hücreye adezyon ve invazyondan sorumlu iki dış membran proteiniyle ilişkili *ompA* ve *omp33-36* genleri incelendi (24); *ompA* geni tüm izolatlarda tespit edilirken *omp33-36* geni izolatların hiçbirinde tespit edilmedi. Bu durum bakterinin konak hücreye adezyon ve invazyon süreçlerinde *ompA* aracılı mekanizmaları kullandığını düşündürmektedir.

Kapsüler polisakkarit, kompleman aktivitesine ve konak fagositozuna direnç göstererek patojenitede önemli rol oynar. Konak bağışıklık yanıtından kaçış ve serumda çoğalma, kapsül biyosentezinde rol oynayan *ptk* ve *epsA* genleri tarafından kolaylaştırılmaktadır (24). Bu genler, *A. baumannii*'de kapsül polimerizasyonu ve montajı için gereklidir ve bu da organizmanın konak bağışıklık mekanizmalarına direnmesine yardımcı

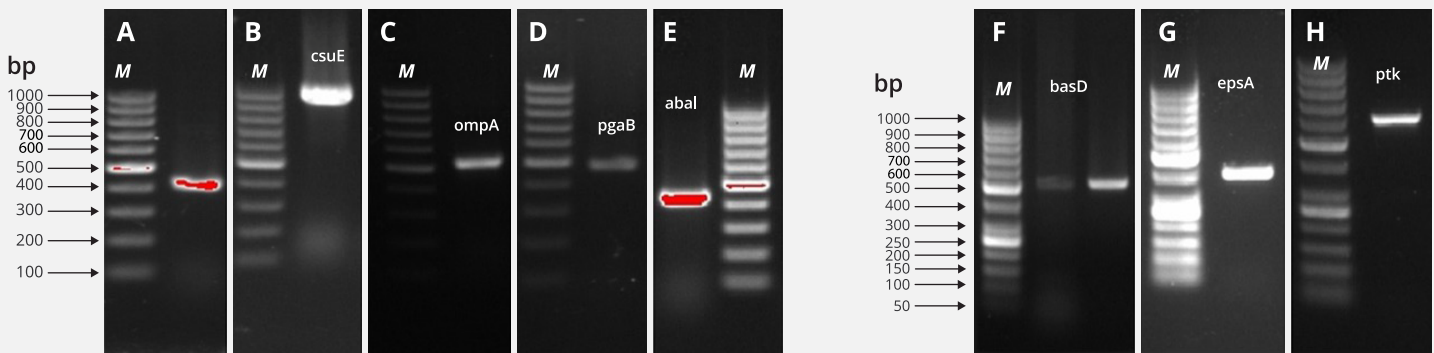
olur. Abdulsadah ve arkadaşlarının çalışmasında, çeşitli kültürlerden izole edilen çoklu ilaç direnci gösteren *A. baumannii* suşlarında *ompA* geni %90 pozitif bulunurken, *epsA* %37, *ptk* %21 oranında bildirilmiştir (25). Benzer şekilde başka bir çalışmada, izolatların tamamında *bap* ve *ompA* genleri bulunurken *epsA* geni %25'inde *ptk* ise %50'sinde pozitif bulunmuştur (26). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu şekilde *epsA* geni izolatların %16.6'sında, *ptk* geni ise %54.2'sinde pozitif. İzolatlarımızda bu genlerin görece düşük sıklıkta bulunmasının, biyofilm oluşumu ile ilişkili *ompA* ve *bap* gibi genlerin yüksek oranlarda saptanmış olmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Acinetobacter baumannii, biyofilm üretimine yönelik yüksek kapasitesiyle tanınmaktadır (13). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak izolatların tamamında güçlü biyofilm oluşumu tespit edildi. Birçok çalışmada, biyofilm oluşumu ile virülans arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir (13, 27). *Acinetobacter baumannii* virülansında önemli rol oynayan *bap*, *csuE*, *ompA*, *fimH*, *pgaB* ve *csgA* gibi birçok genin varlığı, bakterinin biyofilm oluşturma kapasitesini artırmaktadır. Bu genlerin bazıları biyofilm oluşturmaya katkısı da tespit edilmekle birlikte, görülmeye sıklıklarının ve ekspresyon düzeylerinin biyofilm oluşturan izolatlarda daha yüksek olduğu bildirilmiştir (27).

Biyofilm yapısının güçlü olduğu *A. baumannii* izolatlarının incelendiği çalışmalarda *bap* geninin varlığı sıklıkla gösterilmiştir (28). Çalışmamızda da izolatların tamamında *bap* geni tespit edildi. Bu gen ile biyofilm oluşumu arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada; *bap* pozitif *A. baumannii* izolatlarının biyofilm oluşturma kapasitelerinin, *bap* geni taşımayan izolatlarla göre önemli ölçüde farklılık gösterdiği bildirilmiştir (28).

Acinetobacter baumannii'nin biyofilm oluşturmada, *csuA/BABCDE* operon sistemi aracılığıyla üretilen pilusun abiyotik yüzeylere tutunmak için gerekli olduğu gösterilmiş ve bu sistemin *A. baumannii* izolatlarında sıklıkla bulunduğu bildirilmiştir (13,29). Çalışmamızda izolatların tamamında *csuE* geninin varlığı tespit edildi. İzolatların tamamında güçlü biyofilm oluşumunun tespit edilmesi ve *pilA* ile *fimH* genlerinin izolatların hiçbirinde görülmemesi, biyofilm oluşumu ve yüzeye tutunmada *csuE* geninin rolünü destekler niteliktedir.

Yapılan çalışmalarda *A. baumannii* izolatlarında *ompA* geninin yüksek oranlarda bulunduğu gösterilmiştir (13). Çalışmamızda da izolatların tamamında *ompA* geni tespit edildi; izolatların tamamının çoklu ilaç direnci göstermesi, güçlü biyofilm oluşumu ve yüksek oranda *ompA* geni



Şekil 1. *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Virülans Genlerinin Agaroz Jel Elektroforez Görüntüsü

A: *bap* geni (414 bp), **B:** *csuE* geni (976 bp), **C:** *ompA* geni (531 bp), **D:** *pgaB* geni (490 bp), **E:** *abal* geni (438 bp), **F:** *basD* geni (517 bp), **G:** *epsA* geni (392 bp), **H:** *ptk* geni (597 bp), **M:** DNA merdiveni [F, G ve H panellerinde Thermo Scientific™ GeneRuler 50 bp DNA Merdiveni; A, B, C, D ve E panellerinde Norgen Biotek PCRSizer 100 bp DNA Merdiveni].

Tablo 3. *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Virülans Genlerinin Dağılımı

İzolatlar	Biyofilim	Biyofilim				QS	Eflux	DMP	KİP	Ekzotoksin		Kapsül			Fimbria		Siderofor		Adezin	
		bap	csuE	pgaB	csgA	abaI	adeG	traT	cpaA	cnf-1	cnf-2	kpsMIII	epsA	ptk	fimH	pilA	basD	bauA	ompA	omp33-36
Ab1	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-
Ab2	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-
Ab3	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
Ab4	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
Ab5	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
Ab6	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
Ab7	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
Ab8	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
Ab9	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Ab10	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Ab12	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
Ab13	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
Ab14	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
Ab15	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Ab16	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Ab17	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
Ab20	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Ab22	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
Ab23	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Ab24	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
Ab25	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Ab27	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Ab28	G	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-

DMP: Dış membran proteini, **KİP:** Koagülasyon ilişkili protein, **QS:** "Quorum sensing", **G:** Güçlü biyofilim oluşumu, **+**: Gen pozitifliği, **-**: Gen negatifliği.

varlığı, *ompA*'nin infeksiyon gelişimi ve antibiyotik direnci ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalarda *pgaABCD* gen kümesinin güçlü biyofilm oluşumunda rol oynadığı, etkenlerin direnç potansiyelini artırarak çoklu ilaç direnci gelişimine katkı sağladığı, virülansı artırdığı ve *pgaB* genini taşıyan izolatların daha yüksek öldürücülük gösterdiği bildirilmiştir (30). Çalışmamızda da izolatların hepsinde *pgaB* geni tespit edilmiş olup çoklu ilaç direnci varlığı da düşünüldüğünde bulgularımız literatürle uyumludur.

Sonuç olarak; bu çalışmada VİP etkeni olan ve çoklu ilaç direnci gösteren *A. baumannii* izolatlarında güçlü biyofilm oluşumunun saptanması ve biyofilm oluşumu ile ilişkili *bap*, *csuE*, *ompA* ve *pgaB* genlerinin tüm izolatlarda pozitif bulunması, bu izolatlarda virülans ile biyofilm oluşumu arasında olası bir ilişki bulunduğunu düşündürmektedir. Buna karşılık *fimH* ve *csgA* genlerinin izolatlarda tespit edilmemiş olması, bu izolatlarda biyofilm oluşumunda belirleyici olmayabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca VİP etkeni *A. baumannii* izolatlarında güçlü biyofilm oluşumunun varlığı ile birlikte *abaI*, *basD*, *epsA* ve *ptk* gibi bazı virülans genlerinin varlığı, bu genlerin biyofilm oluşumu ve antibiyotiklere karşı direnç gelişimiyle ilişkili olabileceğini desteklemektedir. Yüksek biyofilm oluşturma kapasitesi ve virülans genlerinin varlığı nedeniyle *A. baumannii* nozokomiyal infeksiyonlarda önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Bu bağlamda özellikle *bap*, *csuE*, *ompA*, *pgaB*, *abaI* ve *basD* genlerinin baskılanmasına, dolayısıyla biyofilm oluşumu ve virülansın engellenmesine yönelik ileri çalışmaların, *A. baumannii* infeksiyonlarıyla mücadelede önemli katkılar sağlayabileceği düşünülmektedir.

Hasta Onamı

Veriler retrospektif olarak değerlendirildiği için hasta onamı alınmamıştır.

Etik Kurul Kararı

Çalışma için Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 06 Aralık 2022 tarih ve 2022/22-190 karar numarasıyla onay alınmıştır.

Danışman Değerlendirmesi

Bağımsız dış danışman

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram – B.Ç., E.S., L.H.; Tasarım – B.Ç., E.S., L.H.; Denetleme – E.S.; Veri Toplama ve/veya İşleme – B.Ç., E.S., L.H.; Analiz ve/veya Yorum – B.Ç., E.S., L.H.; Literatür Taraması – B.Ç., Makale Yazımı – B.Ç., L.H., E.S.; Eleştirel İnceleme – E.S.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek

Yazar finansal destek beyan etmemiştir.

Yapay Zekâ Kullanım Beyanı

Çalışmanın tüm bilimsel içeriği, veri analizi ve sonuçları yazarlara aittir. Araştırmanın tasarımı, veri analizi ve yorumlanmasında yapay zekâ destekli araçlar kullanılmamıştır.

KAYNAKLAR

- French GL. Antimicrobial resistance in hospital flora and nosocomial infections. In: Mayhall CG, editor. Hospital epidemiology and infection control. 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 1999. p. 1243–64.
- Shlaes DM, Bradford PA. Antibiotics-from there to where?: How the antibiotic miracle is threatened by resistance and a broken market and what we can do about it. Pathog Immun. 2018;3(1):19–43. [CrossRef]
- Freire MP, de Oliveira Garcia D, Garcia CP, Campagnari Bueno MF, Camargo CH, Kono Magri ASG, et al. Bloodstream infection caused by extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in cancer patients: high mortality associated with delayed treatment rather than with the degree of neutropenia. Clin Microbiol Infect. 2016;22(4):352–8. [CrossRef]
- Skariyachan S, Taskeen N, Ganta M, Venkata Krishna B. Recent perspectives on the virulent factors and treatment options for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Crit Rev Microbiol. 2019;45(3):315–33. [CrossRef]
- Harding CM, Tracy EN, Carruthers MD, Rather PN, Actis LA, Munson RS Jr. *Acinetobacter baumannii* strain M2 produces type IV pili which play a role in natural transformation and twitching motility but not surface-associated motility. mBio. 2013;4(4):e00360–13. [CrossRef]
- Eze EC, Chenia HY, El Zowalaty ME. *Acinetobacter baumannii* biofilms: effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene regulation, and future antimicrobial treatments. Infect Drug Resist. 2018;11:2277–99. [CrossRef]
- Liu C, Chang Y, Xu Y, Luo Y, Wu L, Mei Z, et al. Distribution of virulence-associated genes and antimicrobial susceptibility in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. Oncotarget. 2018;9(31):21663–73. [CrossRef]
- Montenegro MA, Bitter-Suermann D, Timmis JK, Agüero ME, Cabello FC, Sanyal SC, et al. traT gene sequences, serum resistance and pathogenicity-related factors in clinical isolates of *Escherichia coli* and other Gram-negative bacteria. J Gen Microbiol. 1985;131(6):1511–21. [CrossRef]
- Zhao X, Yu Z, Ding T. Quorum-sensing regulation of antimicrobial resistance in bacteria. Microorganisms. 2020;8(3):425. [CrossRef]
- Russo TA, Luke NR, Beanan JM, Olson R, Sauberman SL, MacDonald U, et al. The K1 capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* strain 307-0294 is a major virulence factor. Infect Immun. 2010;78(9):3993–4000. [CrossRef]
- Tilley D, Law R, Warren S, Samis JA, Kumar A. CpaA a novel protease from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates deregulates blood coagulation. FEMS Microbiol Lett. 2014;356(1):53–61. [CrossRef]
- Zer Y, Akboru M, Sağlam M, Manay AB. [Investigation of virulence genes of nosocomial *Acinetobacter baumannii* isolates]. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):32–9. Turkish. [CrossRef]
- Gürpınar Ö, Ergin A, Zarakolu P, Köseoglu E. [Biofilm production and presence of virulence genes in invasive and non-invasive *Acinetobacter baumannii* isolates]. Flora. 2021;26(4):720–6. Turkish. [CrossRef]
- Sung JY. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of biofilm-forming *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Daejeon, Korea. Korean J Clin Lab Sci. 2018;50(2):100–9. [CrossRef]
- Qi L, Li H, Zhang C, Liang B, Li J, Wang L, et al. Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-specific resistance in *Acinetobacter baumannii*. Front Microbiol. 2016;7:483. [CrossRef]
- Wright MS, Jacobs MR, Bonomo RA, Adams MD. Transcriptome remodeling of *Acinetobacter baumannii* during infection and treatment. mBio. 2017;8(2):e02193–16. [CrossRef]
- Wu L, Wu L, Wang T, Zou Z, Jiang X, Yin Q, et al. Use of magnetic nanoparticles for the detection of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Nanosci Nanotechnol Lett. 2018;10(8):1165–71. [CrossRef]
- Ausubel FM, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl K, editors. Current protocols in molecular biology. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons; 1995.
- Xiong L, Yi F, Yu Q, Huang X, Ao K, Wang Y, et al. Transcriptomic analysis reveals the regulatory role of quorum sensing in the *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 via RNA-seq. BMC Microbiol. 2022;22(1):198. [CrossRef]
- Tang J, Chen Y, Wang X, Ding Y, Sun X, Ni Z. Contribution of the AbaI/AbaR quorum sensing system to resistance and virulence of *Acinetobacter baumannii* clinical strains. Infect Drug Resist. 2020;13:4273–81. [CrossRef]
- He X, Lu F, Yuan F, Jiang D, Zhao P, Zhu J, et al. Biofilm formation caused by clinical *Acinetobacter baumannii* isolates is associated with overexpression of the AdeFGH efflux pump. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(8):4817–25. [CrossRef]
- Abd El-Rahman OA, Rasslan F, Hassan SS, Ashour HM, Wasfi R. The RND efflux pump gene expression in the biofilm formation of *Acinetobacter baumannii*. Antibiotics (Basel). 2023;12(2):419. [CrossRef]

23. Li J, Yu T, Luo Y, Peng JY, Li YJ, Tao XY, et al. Characterization of carbapenem-resistant hypervirulent *Acinetobacter baumannii* strains isolated from hospitalized patients in the mid-south region of China. *BMC Microbiol.* 2020;20(1):281. [[CrossRef](#)]
24. Mendes SG, Combo SI, Allain T, Domingues S, Buret AG, Da Silva GJ. Co-regulation of biofilm formation and antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: from mechanisms to therapeutic strategies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2023;42(12):1405–23. [[CrossRef](#)]
25. Abdulsadah BG, Hadi ZJ. First identification of phospholipase C (PlcH) gene in multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical specimens in Iraq. *Med Sci J Adv Res.* 2024;5(3).
26. Fiji E, Anandharaj B, Jijo GV. Molecular determination of virulence factor genes of *Acinetobacter baumannii* isolates from clinical specimens. *Int J Life Sci Pharma Res.* 2022;12(3):L150–8. [[CrossRef](#)]
27. Smitran A, Lukovic B, Bozic L, Jelic D, Jovicevic M, Kabic J, et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: biofilm-associated genes, biofilm-eradication potential of disinfectants, and biofilm-inhibitory effects of selenium nanoparticles. *Microorganisms.* 2023;11(1):171. [[CrossRef](#)]
28. Fallah A, Rezaee MA, Hasani A, Barhaghi MHS, Kafil HS. Frequency of *bap* and *cpaA* virulence genes in drug resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and their role in biofilm formation. *Iran J Basic Med Sci.* 2017;20(8):849–55. [[CrossRef](#)]
29. Zeighami H, Valadkhani F, Shapouri R, Samadi E, Haghi F. Virulence characteristics of multidrug resistant biofilm forming *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):629. [[CrossRef](#)]
30. Reheama EE, Ibrahim SA. Prevalence of *pgaABCD* locus in biofilm formation *Acinetobacter baumannii*. *Rev Res Med Microbiol.* 2024;35(3):151–9.