Evaluation of antibiotic sensitivity, biofilm formation ability, and IL-1ra gene polymorphism in *Acinetobacter baumannii* isolates from patients with hospital-acquired pneumonia

Maryam Khosravy [1], Farzaneh Hosseini [2*], Mohamad Reza Razavi [3], Ramazan Ali Khavari Nejad[1]

[1] Department of biology, Sience and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Department of biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[3] Director of Molecular Parasitology Lab, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Abstract

Aims and Background: This study aimed to evaluate the antibiotic sensitivity, biofilm formation capacity, and the association of IL-1ra gene polymorphism with pneumonia in *Acinetobacter baumannii* isolates obtained from patients with hospital-acquired pneumonia.
Materials and Methods: Among 100 patients with pneumonia, 30 *A. baumannii* isolates were identified from sputum samples. Blood samples were collected from these 30 patients as well as from 30 healthy individuals to analyze *IL-1ra* gene polymorphism using polymerase chain reaction (PCR) and sequencing. Antibiotic resistance was evaluated using the disk diffusion method and minimum inhibitory concentration (MIC). The expression levels of the biofilm-associated genes *pga*A, bla_{PER-1}, and *bap* were assessed by real-time PCR.
Results: All 30 isolates were resistant to most tested antibiotics and remained susceptible to colistin. The expression of bla_{PER-1} was lower than that of *bap* and *pga*A in *A. baumannii* isolates ($p< 0.001$). A significant difference in the *IL-1ra* genotypic distribution was observed between the patient and healthy groups ($p = 0.049$), while allelic distribution did not differ significantly ($p = 0.181$).
Conclusion: *A. baumannii* strains show high resistance against a wide range of antibiotics. The expression of biofilm formation genes in *A. baumannii* showed that these genes increase pathogenicity through biofilm formation and other effective factors. There was a significant relationship between *IL1-ra* genomic polymorphism and *A. baumannii* pneumonia.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Interleukin 1 receptor antagonist protein, biofilm, pneumonia

*** Corresponding author:**
Farzaneh Hosseini, Department of biology, North Tehran Branch,Islamic Azad University ,Tehran ,Iran,
Email: hosseinimicrobiology@gmail.com

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، توانایی تشکیل بیوفیلم و پلی‌مورفیسم ژن IL-1ra در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران مبتلا به پنومونی اکتسابی بیمارستانی

مریم خسروی[۱]، فرزانه حسینی[۲*]، محمدرضا رضوی[۳]، رمضانعلی خاوری نژاد[۱]

۱- گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳- مدیر آزمایشگاه انگل شناسی مولکولی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: مطالعه حاضر با هدف بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، توانایی تشکیل بیوفیلم و ارتباط پلی‌مورفیسم ژن IL-1ra با پنومونی در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران مبتلا به پنومونی اکتسابی بیمارستانی انجام شد.

مواد و روش‌ها: از ۱۰۰ بیمار مبتلا به پنومونی، ۳۰ ایزوله اسینتوباکتر بومانی از نمونه‌های خلط شناسایی شد. از این ۳۰ بیمار و نیز ۳۰ فرد سالم، نمونه خون برای بررسی پلی‌مورفیسم ژن *IL-1ra* با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و تعیین توالی جمع‌آوری گردید. مقاومت آنتی بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت مهاری (MIC) بررسی شد. بیان ژن‌های بیوفیلم *pga-A*، bla_{PER-1} و *bap* با Real-Time PCR بررسی شد.

یافته‌ها: هر ۳۰ ایزوله در برابر اکثر آنتی‌بیوتیک‌های تست‌شده مقاوم و نسبت به کولیستین حساس بودند. بیان ژن bla_{PER-1} نسبت به ژن‌های *bap* و *pga-A* در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی کمتر بود (p<۰/۰۰۱). الگوی ژنوتیپی *IL-1ra* بین گروه بیمار و سالم تفاوت معنی‌دار نشان داد (p=۰/۰۴۹)، اما توزیع آللی تفاوت نداشت (p=۰/۱۸۱).

نتیجه‌گیری: ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی مقاومت بالایی در برابر طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها نشان دادند. بیان ژن‌های دخیل در تشکیل بیوفیلم در اسینتوباکتر بومانی نشان داد که این ژن‌ها از طریق تشکیل بیوفیلم و سایر عوامل مؤثر، بیماری‌زایی را افزایش می‌دهند. ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم ژنومی *IL 1-ra* و پنومونی اسینتوباکتر بومانی وجود داشت.

واژگان کلیدی: اسینتوباکتر بومانی، پروتئین آنتاگونیست گیرنده اینترلوکین-۱، بیوفیلم، پنومونی

نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

- پست الکترونیکی hosseinimicrobiology@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۸

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

۱-مقدمه

اسینتوباکتر بومانی یک عامل اکتسابی مهم در بیمارستان است که باعث انواع عفونت‌های انسانی می‌شود و با عوارض زیاد و نرخ بالای مرگ و میر همراه است (۱). با توجه به حضور گسترده سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) و سویه‌های با مقاومت دارویی گسترده (XDR)، اسینتوباکتر بومانی به عنوان یکی از هفت پاتوژن برتر تهدید کننده سیستم مراقبت‌های بهداشتی شناخته شده است (۲). مقاومت آنتی بیوتیکی عمدتاً به دلیل انتقال ژن‌های مقاومت از طریق پلاسمیدها و جهش در ژن‌های هدف رخ می‌دهد (۳). اسینتوباکتر بومانی با توانایی قابل توجه در اکتساب مقاومت آنتی بیوتیکی، ممکن است به زودی گزینه‌های موجود برای درمان موثر را با محدودیت روبه رو سازد (۴, ۵). تشکیل بیوفیلم استراتژی موثر دیگری برای باکتری‌ها، به ویژه اسینتوباکتر بومانی، برای زنده ماندن در شرایط مواجهه با آنتی بیوتیک‌ها را فراهم می‌کند (۵, ۶). در دهه‌های اخیر، بیوفیلم‌های باکتریایی به یک مشکل جدی بهداشتی در جهان تبدیل شده‌اند، زیرا بیوفیلم‌ها به روش‌های ریشه‌کنی و عوامل ضد میکروبی مقاوم هستند و منجر به عفونت‌ها و آلودگی‌های پایدار می‌شوند (۷, ۸). بنابراین توجه به توسعه داروها و راهکارهای درمانی جدید برای شناسایی و حذف بیوفیلم‌های باکتریایی به منظور جلوگیری از چسبندگی باکتری‌ها و تشکیل بیوفیلم از اهمیت ویژه ای برخوردار است (۹, ۱۰). سویه‌های اسینتوباکتر بومانی به راحتی روی بافت‌های بدن مانند پوست بیوفیلم تشکیل می دهند. چندین ژن مرتبط با بیوفیلم در اسینتوباکتر بومانی مانند ژن‌های bla_{PER} [1] (۱۱, ۱۲)، (۱۳) *pga-A*[2] و *bap*[3] (۱۴, ۱۵) وجود دارد. خانواده پروتئین Bap، متشکل از پروتئین‌هایی با وزن مولکولی بالا که در سطوح سلول‌های باکتریایی یافت می‌شوند، در چسبندگی بین سلولی نقش دارند. هنگامی که یک جهش در ژن *bap* در اسینتوباکتر بومانی رخ می‌دهد، منجر به کاهش رشد بیوفیلم و کاهش چسبندگی به سلول‌های اپیتلیال برونش انسان و سلول‌های کراتینوسیت نوزاد می‌شود (۱۴, ۱۵). تحقیقات نشان می‌دهد که حضور و فعالیت ژن bla_{PER-1} منجر به افزایش چسبندگی اسینتوباکتر بومانی به سلول‌های اپیتلیال برونش و سطوح پلاستیکی می‌شود. در زمینه تشکیل بیوفیلم در اسینتوباکتر بومانی وجود و عملکرد ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی، مانند ژن bla_{PER-1} نقش به سزایی دارد (۱۱, ۱۶). یکی دیگر از عوامل مهم در تشکیل بیوفیلم، بیان ژن *Poly-β-1*، 6-N-acetyl-D-glucosamine A (*pgaA*) است. این ژن به چسبندگی کمک می‌کند، محافظت در برابر دفاع‌های ایمنی ذاتی را فراهم می‌کند و ویرولانس را افزایش می‌دهد (۱۷). سیتوکین‌ها نقش مهمی در دفاع میزبان در برابر عفونت میکروبی ایفا می کنند. هنگامی که میزبان با اجزای باکتریایی به چالش کشیده می‌شود، سیستم دفاعی آن آبشاری از انتقال سیگنال در بیان سیتوکین‌ها را ایجاد می‌کند (۱۸, ۱۹). نشان داده شده است که بیان سیتوکین‌های پیش التهابی مانند IL-1α، IL-1β و TNF-α تحت تأثیر عفونت‌های میکروبی قرار دارد (۲۰, ۲۱). IL-1 یکی از سایتوکین‌های پیش التهابی است که به التهاب و پاسخ ایمنی کمک می‌کند. هر دو IL-1α و IL-1β به گیرنده IL-1 (IL-1R) در سطح سلول متصل می‌شوند. به این ترتیب، آنها می توانند آبشاری از انتقال سیگنال را برای تأثیرگذاری بر فعال شدن ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها آغاز کنند (۲۲). در مقابل، IL-1-ra (گیرنده آنتاگونیست IL-1) نیز به IL-1R متصل می‌شود، اما IL-1-ra یک مهارکننده رقابتی است که انتقال سیگنال را کاهش می‌دهد (۲۳). نشان داده شده است که پلی مورفیسم VNTR در اینترون ۲ از IL-1-ra با آسیب تنفسی در کودکان مبتلا به پنومونی اکتسابی از جامعه مرتبط است (۲۴). همچنین، توزیع ۸۶ جفت باز VNTR در اینترون ۲ ژن *IL 1-ra* و فراوانی آلل ۱ در پلی مورفیسم IL 1-ra در موارد پنومونی مرتبط با MDRAB به طور قابل توجهی بیشتر بود (۲۵). مطالعه حاضر با هدف ارزیابی بیان ژن‌های بیوفیلم اسینتوباکتر بومانی به‌دست‌آمده از نمونه‌های بیماران مبتلا به پنومونی اکتسابی بیمارستانی انجام شد. سپس ارتباط بین بیان این

[1] Beta-lactamase of the Penicillinase group and Extended-spectrum beta-lactamase
[2] Polygamma-glutamic acid synthase A
[3] Biofilm-associated protein

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

ژن‌ها با پلی مورفیسم‌های ژنومی ژن *IL-1ra* مورد بررسی قرار گرفت.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- جمع آوری نمونه و جداسازی ایزوله‌های باکتریایی

در این مطالعه، ۱۰۰ نمونه خلط از بیماران مبتلا به پنومونی و ۳۰ نمونه خون از این بیماران که دارای ایزوله اسینتوباکتر بومانی بودند، همراه با ۳۰ نمونه خون از افراد سالم به عنوان گروه شاهد، طی بازه فروردین تا شهریور ۱۳۹۹ از بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان‌های شهر تهران جمع‌آوری شد.نمونه‌های خون با استفاده از روش استریل و پس از ضدعفونی کردن محل خونگیری جمع‌آوری شدند. برای جلوگیری از انعقاد خون، از ماده ضد انعقاد (EDTA) استفاده شد. از این نمونه‌ها جهت بررسی پلی‌مورفیسم ژنومی اینترلوکین ۱رسپتور انتاگونیست جمع آوری گردید. تمام نمونه‌های جمع‌آوری‌شده به آزمایشگاه منتقل، کشت داده شدند و با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی و PCR برای ژن $bla_{\text{OXA-51}}$ مورد ارزیابی قرار گرفتند. حضور ژن $bla_{\text{OXA-51}}$ با استفاده از پرایمرهای

F: CTAATAATTGATCTACTCAAGTTAC و R: GAATACTCCATTTGAACCARTGG و طبق روش شرح داده شده توسط ابهری و همکاران مورد بررسی قرار گرفت (۲۶).

۲-۲- تست حساسیت ضد میکروبی

حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن در برابر آنتی بیوتیک‌های مختلف از جمله ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، لووفلوکساسین، سفتازیدیم، سفپیم، مروپنم، آمپی سیلین-سولباکتام، پیپراسیلین-تازوباکتام، آمیکاسین، و سفتریاکسون (پادتن طب، تهران، ایران) بر اساس دستورالعمل‌های CLSI 2021 مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه حاضر از سویه سویه مرجع *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 به عنوان سویه استاندارد استفاده شد.

۲-۳- تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) برای کلیستین

برای تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) کلیستین، پودر لیوفیلیزه کلیستین سولفات از شرکت Sigma-Aldrich (Merck, Germany) خریداری و در آب مقطر استریل معلق شد. غلظت نهایی محلول‌های کلیستین (۱۰۲۴µg/mL) آماده و در دمای ۸۰- °C برای آزمایش‌های آتی ذخیره شدند. علاوه بر این، محیط کشت مولر-هینتون براث[4] در لوله‌های جداگانه برای غلظت‌های کاری مختلف کلیستین (از ۰,۲۵ µg/mL تا ۱۲۸) با رقیق‌سازی دو برابری بر اساس دستورالعمل‌های CLSI/EUCAST آماده شد. ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی با MIC ≥۴µg/mL به عنوان مقاوم به کلیستین در نظر گرفته شدند (۲۷). برای هر ایزوله آزمایش‌شده، یک کنترل مثبت و منفی در چاهک‌های اول و دوم پلیت قرار گرفت. به عنوان کنترل مثبت، از نمونه بالینی اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کلیستین (که مقاومت آن از قبل تایید شده است) استفاده شد. برای کنترل منفی از محیط کشت بدون باکتری استفاده شد.

۲-۴- تشکیل بیوفیلم

تشکیل بیوفیلم با استفاده از پلیت میکروتیتر ۹۶ خانه (MTP) طبق پروتکل‌های قبلی (۲۸, ۲۹) ارزیابی شد. قدرت تشکیل بیوفیلم برای هر ایزوله مورد آزمایش با مقایسه میزان جذب رنگ کریستال ویوله با گروه کنترل منفی (محیط کشت فاقد باکتری) و مثبت (محیط کشت حاوی *A. baumannii* 19606) ارزیابی شد. آزمایشات در سه تکرار انجام شد. درنهایت مقادیر زیر برای تعیین میزان تشکیل بیوفیلم استفاده شد، که در آن ODC میانگین جذب چاهک کنترل می‌باشد:

[4] Mueller-Hinton broth

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

قدرت تشکیل بیوفیلم قوی =($4 \times OD\ (c) < OD$)

قدرت تشکیل بیوفیلم متوسط =($2 \times OD\ (c) < OD \leq 4 \times OD\ (c)$)

قدرت تشکیل بیوفیلم ضعیف =($OD\ (c) < OD \leq 2 \times OD\ (c)$)

فاقد قدرت تشکیل بیوفیلم =($OD \leq OD\ (c)$)

۵-۲- بررسی بیان ژن

میزان بیان ژن‌های *pgaA* و *bap* در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی با استفاده از روش Real-time PCR مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، سلول‌های کشت شده در محیط تازه تا رسیدن به کدورت ۰/۰۵ در ۶۰۰ نانومتر رقیق شدند و سپس در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از حذف مایع رویی، رسوب باقی مانده برای استخراج RNA مورد استفاده قرار گرفت. RNA کل از ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی و سویه مرجع *A. baumannii* ATCC 19606 (تهیه شده از یانک میکروبی انستیتو پاستور ایران) با استفاده از RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) براساس دستورالعمل سازنده استخراج شد. غلظت و خلوص RNA با استفاده از اسپکتروفتومتر (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) ارزیابی شد. PCR کمی با استفاده از سایبرگرین یک مرحله ای در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر، با ترکیب هگزامرهای تصادفی و پرایمرهای اولیگو (dT) انجام شد. سطوح بیان ژن‌های bla_{PER-1}، *bap* و *pgaA* در ایزوله‌های باکتریایی و استاندارد با استفاده از دستگاه Real-Time PCR Bio-Rad's CFX 96 (Bio-Rad, USA) مورد بررسی قرار گرفت. کارایی پرایمر برای هر مجموعه پرایمر با استفاده از روش منحنی استاندارد، هدف قرار دادن ژن‌های خاص همراه با ژن 16s rRNA به عنوان یک کنترل داخلی ارزیابی شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه حاضر در جدول ۱ ارائه شده است. جزئیات شرایط واکنش نیز در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده برای ارزیابی بیان ژن‌های bla_{PER-1}، *bap* و *pga* با استفاده از روش Real-time PCR

ژن	توالی (۵'⟵۳')	رفرنس
bap	F: ATGCCTGAGATACAAATTAT R: GTCAATCGTAAAGGTAACG	(۱۵)
$\boldsymbol{bla_{PER-1}}$	F: ATGAATGTCATTATAAAAGC R: AATTTGGGCTTAGGGCAGAA	(۱۵)
pgaA	F:ACCGATAATAAAATACGCCCATCAACTGAC R: GGCCTTTATAAACAGGCCGATTACTCTGCT	(۳۰)
16S rRNA	F: ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT R:TATTACCGCGGCTGCTGGC	(۳۱)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

جدول ۲. شرایط واکنش Real time PCR برای ژن‌های *bap*، bla_{PER-1}، *pgaA* و 16S rRNA

مرحله	زمان	دما (°C)	چرخه
دناتوراسیون اولیه	۱۰ دقیقه	۹۵	
دناتوراسیون	۱۵ ثانیه	۹۵	۴۰
اتصال	۳۰ ثانیه	۵۲	
گسترش	۳۰ ثانیه	۷۲	
گسترش نهایی	۵ دقیقه	۷۲	

ژنوتیپ‌ها، نمونه‌هایی از محصولات PCR برای تعیین توالی به شرکت پیشگام ارسال شد.

۶-۲- تجزیه و تحلیل پلی مورفیسم‌های ژنتیکی

استخراج DNA

استخراج DNA بر روی نمونه‌های خون با استفاده از کیت (Qiagen, Hilden, Germany) QIAamp DNA blood kit بر اساس دستورالعمل سازنده انجام شد. به طور خلاصه، به نمونه‌های خون بافر KLB1[5] اضافه گردید و بعد از سانتریفیوژ مایع رویی دور انداخته شد. این مرحله دو بار تکرار شد. مخلوطی از بافر KLB1، بافر KNC و کلروفرم اضافه شد و سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع آوری شد، با بافر KBB تیمار شد و سپس به یک ستون اسپین DNA منتقل شد. پس از سانتریفیوژ، ستون با بافر KWB و DNA با بافر KEB شسته شد. DNA استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

PCR

برای بررسی پلیمورفیسم آنتاگونیست گیرنده اینترلوکین ۱ در DNAهای استخراج شده از خون، ناحیه پلیمورفیک واقع در اینترون ۲ ژن آنتاگونیست گیرنده اینترلوکین ۱ و حاوی ۸۶ جفت باز VNTR با استفاده از جفت پرایمرهای CTC TCC TGG TCT 5' AGC AAC ACT CCT AT 3' و 5' GCA GGT AA 3' و با استفاده از تکنیک PCR تکثیر شد (۲۵) . نوع ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی مورفیسم IL1-ra بر اساس اندازه قطعات PCR مشاهده شده در ژل آگارز ۲٪ مطابق جدول ۳ تعیین شد. پس از انجام PCR و تعیین

[5] Kit Lysis Buffer 1

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

جدول ۳. آلل‌های پلی مورفیسم IL1-Ra

آلل	اندازه (bp)
A1	۴۱۲
A2	۲۴۰
A3	۴۹۸
A4	۳۲۶

الکتروفورز ژل

پس از تکثیر PCR، نمونه‌ها در چاهک‌های ژل آگارز ۲% رنگ آمیزی شده با DNA safe stain بارگذاری شدند. جریان الکتریکی ۹۰ ولت با استفاده از یک مخزن الکتروفورز پر شده با بافر TBE 1X به مدت ۱ ساعت اعمال شد. الکتروفورز برای جداسازی قطعات DNA انجام شد. باندهای حاصل با استفاده از یک سیستم ژلداک برای تجزیه و تحلیل آشکارسازی شدند.

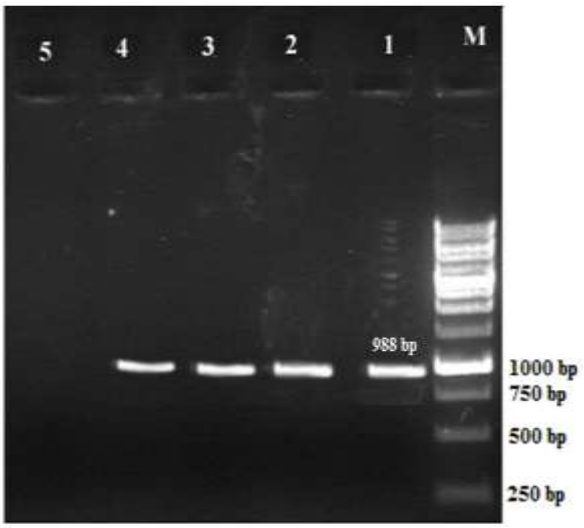
۷-۲- تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق، سطوح بیان نسبی ژن‌های خاص مورد ارزیابی قرار گرفت. از تکنیک $2^{-\Delta\Delta Ct}$ برای تعیین کمیت تغییرات بیان ژن در مقایسه با سویه مرجع *A. baumannii* ATCC 19606 استفاده شد. از آزمون unpaired t-test برای شناسایی هرگونه واریانس قابل توجه بین نمونه‌های بیماران و سویه استاندارد استفاده شد. مقدار P با فاصله اطمینان ۹۵٪ (CI) تعیین گردید. *P*-value کمتر از ۰/۰۵ ($P<0/05$) از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌های پلی مورفیسم با استفاده از آزمون کای دو انجام شد.

۳- نتایج

جمع آوری نمونه و جداسازی باکتری

باکتری‌هایی که ویژگی‌های اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت، اوره آز منفی، آرژنین دی هیدرولاز مثبت، مالونات مثبت، غیر متحرک و فاقد قدرت تخمیر، TSI منفی و فقدان رشد در دمای ۴۲°C، را نشان دادند و همچنین دارای ژن $bla_{\text{OXA-51}}$بودند به عنوان اسینتوباکتر بومانی طبقه بندی شدند (شکل ۱). در این مطالعه ۳۰ نمونه (۳۰ ٪) به عنوان اسینتوباکتر بومانی شناسایی شدند.



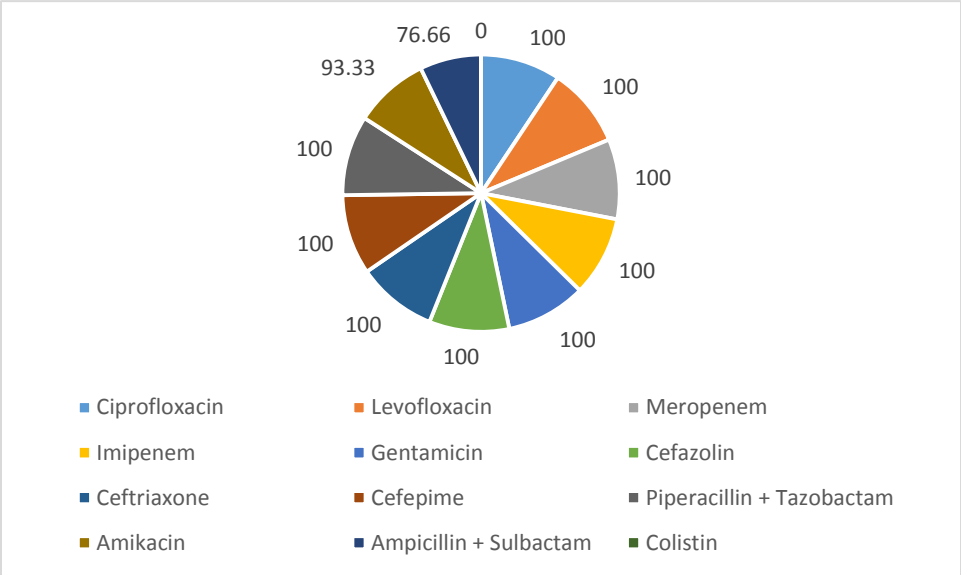
شکل ۱. ژل الکتروفورز محصول PCR ژن *bla*$_{OXA-51}$. M: مارکر 1kb، چاهک شماره ۱: کنترل مثبت (*A. baumannii* 19606)، چاهک شماره ۲ تا ۴: نمونه‌های مثبت برای ژن *bla*$_{OXA-51}$، چاهک شماره ۵: کنترل منفی

تست حساسیت ضد میکروبی

تمام ۳۰ ایزوله باکتریایی (۱۰۰ ٪) جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه در روش دیسک دیفوژن نسبت به پیپراسیلین تازوباکتام، سفپیم، سفتریاکسون، سفتازیدیم، جنتامایسین، ایمی پنم، مروپنم، لووفلوکساسین

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

و سیپروفلوکساسین مقاومت نشان دادند (تعیین شده به عنوان XDR). از این میان، ۲۸ ایزوله (۹۳/۳ ٪) به آمیکاسین نیز مقاوم بودند، در حالی که ۲۳ ایزوله (۷۶/۶ ٪) به آمپی سیلین- سولباکتام مقاومت نشان دادند. تمام ایزوله‌ها به کولیستین حساس بودند (شکل ۲).



شکل ۲. مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی

قدرت تشکیل بیوفیلم

یافته‌های حاصل از ارزیابی تشکیل بیوفیلم نشان داد که اکثریت ایزوله‌ها، به‌ویژه ۲۷ ایزوله از ۳۰ (۹۰ ٪)، توانایی تشکیل بیوفیلم را نشان دادند که نشان‌دهنده اهمیت بیوفیلم‌ها در بیماری‌زایی باکتریایی است. از بین این ایزوله‌ها، ۱۵ (۵۰ ٪) ایزوله تشکیل دهنده بیوفیلم قوی، ۸ (۲۶/۶۶ ٪) تشکیل دهنده بیوفیلم متوسط، و ۴ (۱۳/۳۳ ٪) توانایی ضعیف در تشکیل بیوفیلم را نشان دادند. تنها ۳ ایزوله (۱۰ ٪) فاقد قدرت تشکیل بیوفیلم بودند.

بررسی بیان ژن

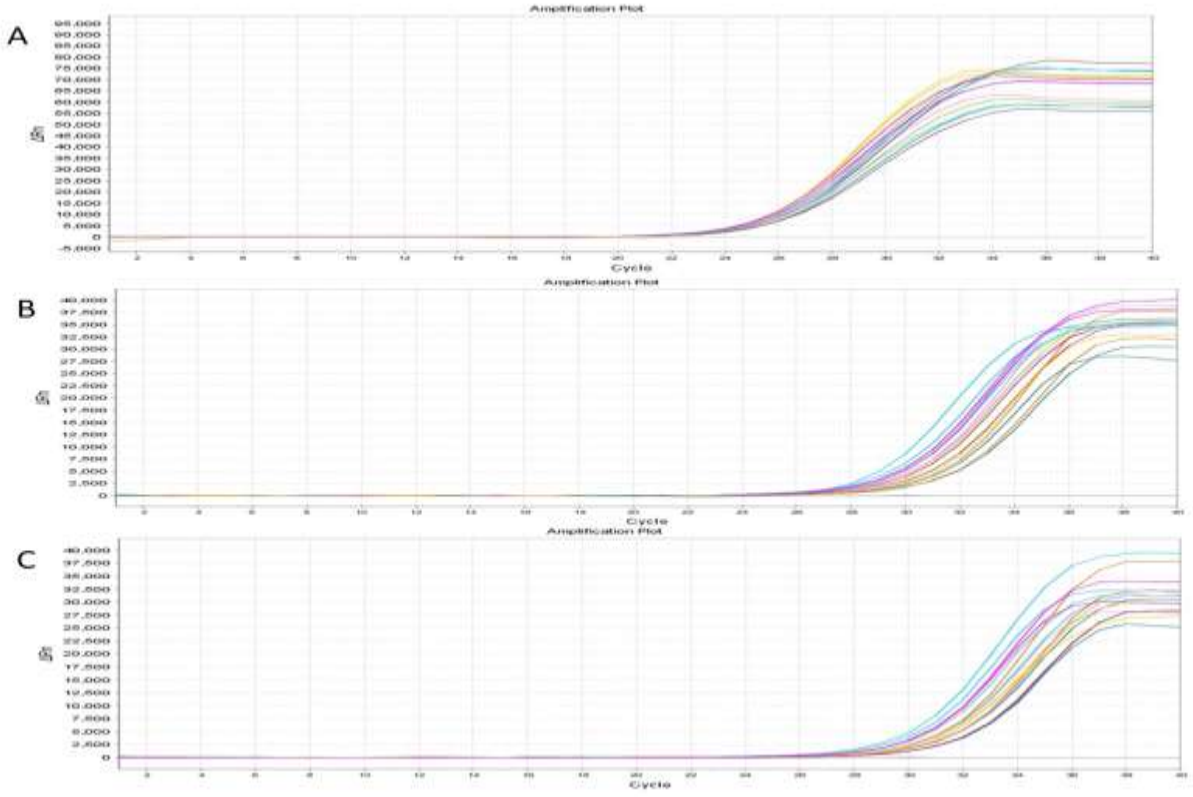
غلظت RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ (Implen, Inc., USA) حدود ۱۰۰-۳۰۰ ng/µL تعیین شد. نسبت جذب نوری طول موج ۲۶۰/۲۸۰ nm و ۲۶۰/۲۳۰ نانومتر هیچ آلودگی RNA استخراج شده را نشان نداد. همانندسازی سه ژن مورد مطالعه در شکل ۳ نشان داده شده است. در این مطالعه از ژن 16s rRNA به عنوان ژن مرجع (کنترل داخلی) استفاده شد. بر اساس منحنی تکثیر (شکل ۳)، مشاهده شد که ژن‌های هدف مقادیر Ct بالاتری را نشان می دهند. نتایج محاسبه شده برای تغییر بیان ژن‌های مختلف در جدول ۴ خلاصه شده است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

جدول ۴. تغییرات بیان ژن‌های هدف

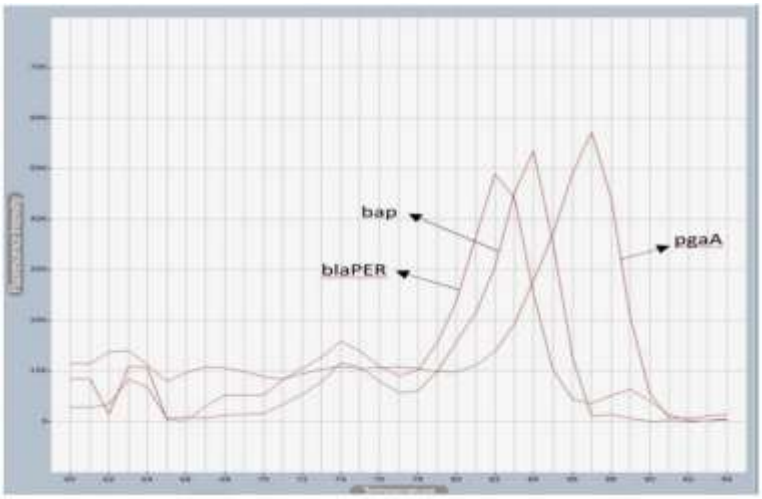
ژن	ΔCT بیمار	ΔCT کنترل	ΔΔCT	Fold Change
bap	۷/۵۲	۸/۴۵	-۰/۹۳	**۱/۸۹۹**
pga-A	۷/۸۴	۸/۸۰	-۰/۹۶۵۶۹۲	**۱/۹۵۳**
bla-PER	۶/۲۸	۶/۸۶	-۰/۵۷۷۲۴۸	**۱/۴۹۲**

منحنی ذوب تک پیک به وضوح نشان می‌دهد که محصول تکثیر ژن هدف اختصاصی و عاری از هر گونه محصول غیر اختصاصی است (شکل ۴). بر اساس آنالیز واریانس و آزمون تعقیبی توکی، بیان نسبی ژن *pga-A* در مقایسه با ژن *bap* در بیماران تفاوت معنی داری نداشت ($P > ۰/۰۵$)، اما بیان نسبی ژن *pga-A* در مقایسه با ژن bla_{PER} در بیماران تفاوت معنی داری داشت ($P<۰/۰۰۱$) (شکل ۵).

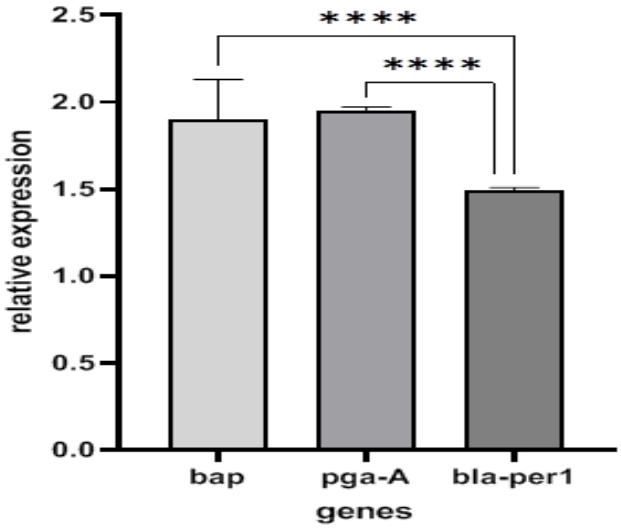


شکل ۳. منحنی تکثیر ژن‌های *bap* (A)، *pga-A* (B) و bla_{PER} (C)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]



شکل ۴. منحنی ذوب ژن‌ها.



شکل ۵. نسبت تغییرات بیانی ژن‌های مختلف در افراد مبتلا به پنومونی (*P* <۰/۰۰۱) **.**

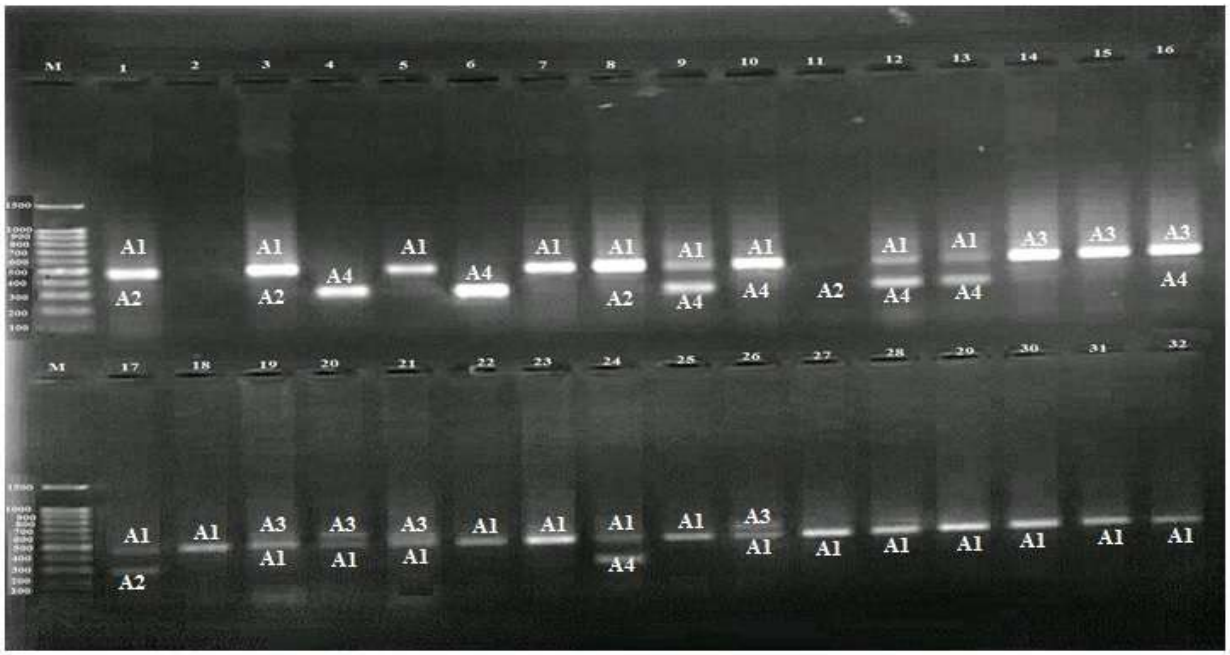
تجزیه و تحلیل پلی مورفیسم‌های ژنتیکی

نتایج الکتروفورز PCR برای ژن آنتاگونیست گیرنده اینترلوکین ۱، الگوهای باند متمایز مربوط به آلل‌های A1، A2، A3 و A4 را به ترتیب با اندازه‌های ۴۱۲ جفت باز، ۲۴۰ جفت باز، ۴۹۸ جفت باز و ۳۲۶ جفت باز نشان داد (شکل‌های ۶ و ۷). فراوانی آللی و ژنوتیپی برای پلی مورفیسم‌های ژنومی آنتاگونیست‌های گیرنده اینترلوکین ۱ در افراد سالم و بیماران در شکل ۸ تعیین شده است. در گروه سالم، فراوانی ژنوتیپی برای A1/A1، A1/A2، A1/A3، A1/A4 و A2/A2 به ترتیب ۳۷/ ۳۴٪، ۱۲/۵٪، ۱۲/۵٪، ۱۵/۶ ٪ و ۳/۱ ٪ بود. در گروه بیمار، فراوانی ژنوتیپی به ترتیب ۵۶/۳۵٪، ۶/۲۵٪، ۰,۰، ۰,۰ و ۲۵ ٪ بود.

برای فراوانی آللی، در گروه سالم، فراوانی A1، A2، A3 و A4 به ترتیب ۷۸/۱۲٪، ۱۵/۶۲٪، ۲۱/۸۷ و ۲۵٪ و در گروه

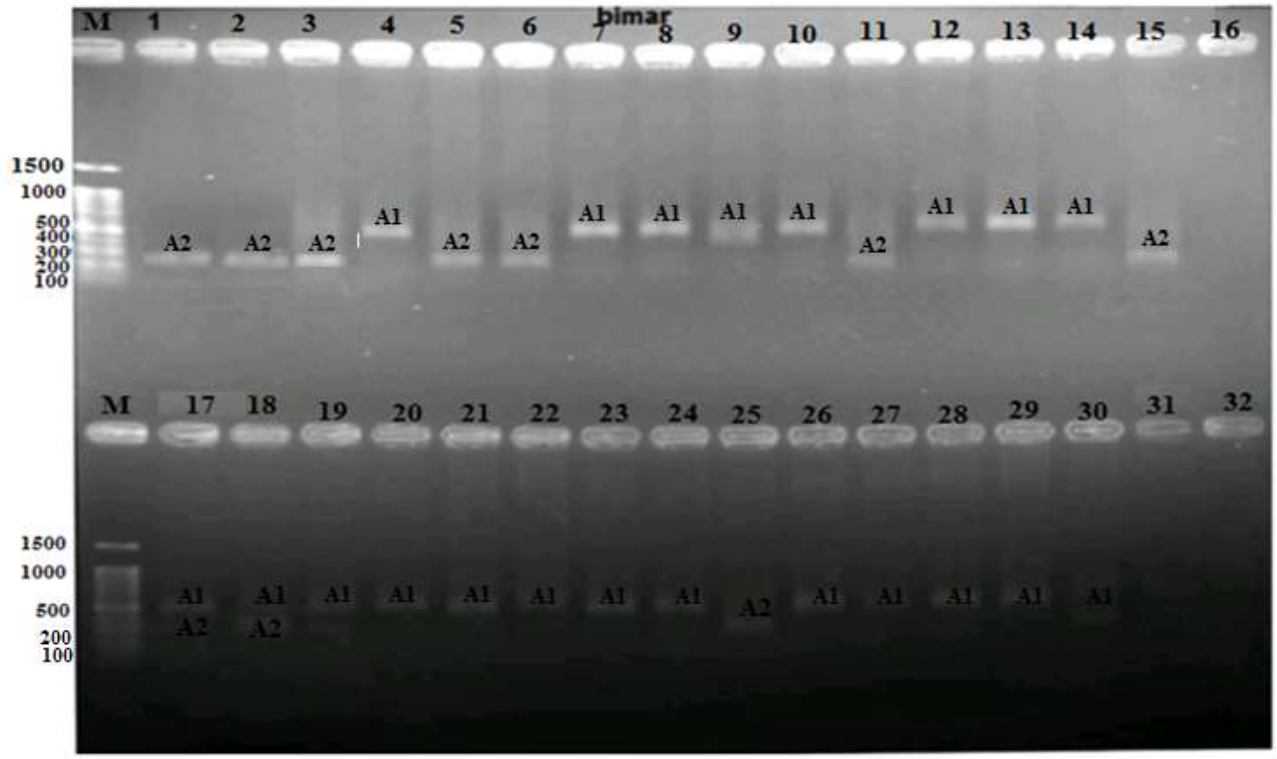
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

بیمار به ترتیب ۶۵/۶٪، ۳۱/۲٪، ۰٪ و ۰٪ بود، که نشان دهنده عدم وجود آلل‌های A3 و A4 است. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون کای اسکوئر تفاوت معنی داری را در توزیع ژنوتیپی بین گروه سالم و بیمار نشان داد (p=۰/۰۴۹). اما توزیع آللی بین دو گروه تفاوت معنی داری نشان نداد (p=۰/۱۸۱). نتایج حاصل از تعیین توالی محصولات PCR گروه‌های سالم و بیمار نیز در شکل ۹ ارائه شده است. این نتایج با استفاده از نرم افزار Chroma و Bioedit تجزیه و تحلیل و ویرایش شدند. سپس توالی به‌دست‌آمده از نتایج توالی‌یابی در بانک ژن "مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی" (NCBI) تراز شد. نتایج تراز در این پایگاه داده نشان داد که ژن هدف به خوبی تکثیر شده است و پرایمرهای مورد استفاده توانستند به درستی توالی تکراری IL 1-ra را در نمونه‌ها تکثیر کنند.

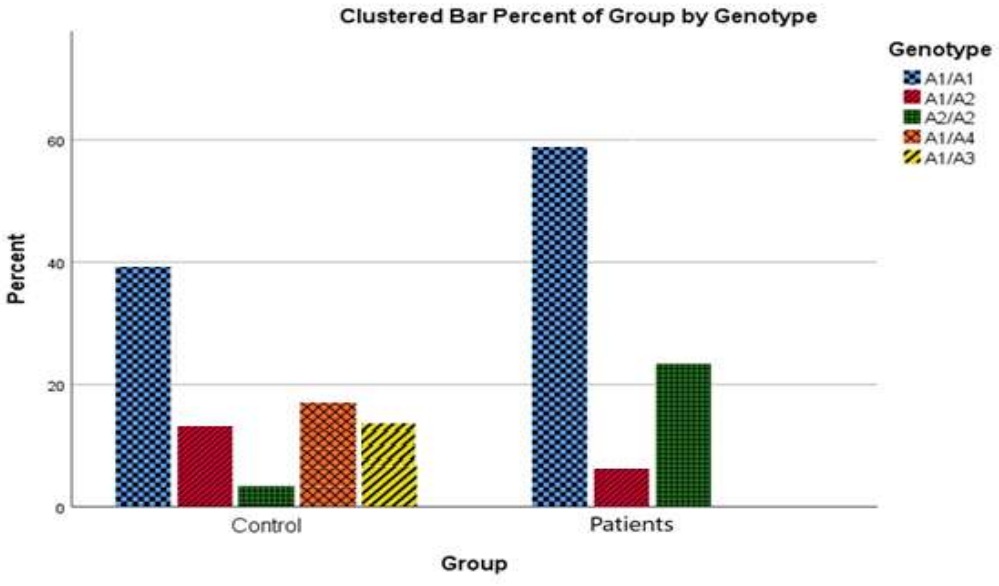


شکل ۶. ژل الکتروفورز PCR از گروه سالم. باندهای اندازه ۴۱۲ ، ۲۴۰ ، ۴۹۸، ۳۲۶ جفت باز به ترتیب نشان دهنده آلل‌های A1، A2، A3 و A4 هستند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

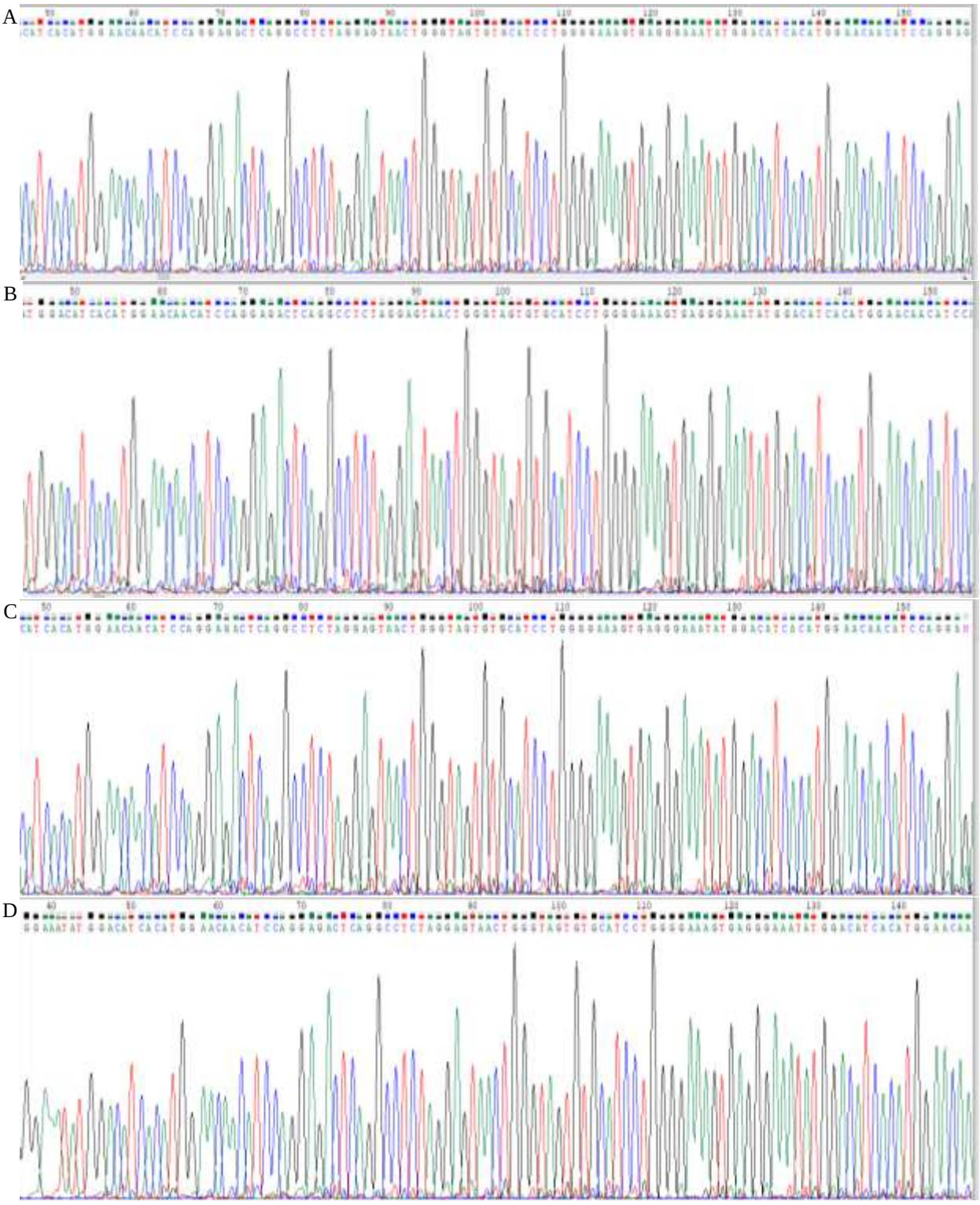


شکل ۷. ژل الکتروفورز PCR از گروه بیمار. باندهای اندازه ۴۱۲ و ۲۴۰ جفت باز به ترتیب نشان دهنده آلل‌های A1 و A2 هستند.



شکل ۸. توزیع فراوانی نسبی توزیع ژنوتیپی هر یک از ژنوتیپ‌های A1/A1، A1/A2، A1/A3، A1/A4 و A2/A2 در گروه‌های سالم و بیماران.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]



شکل ۹. الکتروفروگرام توالی یابی نمونه‌ها، A تا D، به ترتیب نشان دهنده A1، A2، A3 و A4 هستند

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

۴- بحث

اسینتوباکتر بومانی عامل اصلی عفونت‌های مختلف بیمارستانی است که با طیف وسیعی از مقاومت‌های آنتی بیوتیکی همراه است. انتشار سریع و مقاومت گسترده در برابر عوامل ضد میکروبی، اسینتوباکتر بومانی را به یک پاتوژن قدرتمند تبدیل می‌کند (۱). افزایش قابل توجه در فراوانی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی XDR، نیاز به استفاده منطقی تر از آنتی بیوتیک‌های طیف گسترده و همچنین بررسی فوری پروتکل‌های کنترل عفونت برای محدود کردن گسترش این پاتوژن را برجسته می‌کند (۱). مطالعات مختلف نشان داده است که اسینتوباکتر بومانی به اکثر آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام و کینولون‌ها مقاوم است و مقاومت آن به آمینوگلیکوزیدها در حال افزایش است (۱, ۴, ۲۷). فلاح و همکاران میزان مقاومت بالای ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی با ۹۵/۴٪ نسبت به سفتازیدیم، ۹۱/۷ ٪ به مروپنم و ۹۲/۶٪ به سیپروفلوکساسین را گزارش کرد (۳۲). در یک مطالعه توسط ساناتیماپا و همکاران (۲۰۲۱) الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی از نمونه‌های بالینی مختلف در عمان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۶۷٪ از ایزوله‌ها MDR بودند و مقاومت بالایی نسبت به سفتریاکسون (۸۳ ٪) و سفتازیدیم (۷۵ ٪) مشاهده شد، در حالی که مقاومت به کولیستین تنها ۱٪ گزارش شد (۳۳). این مطالعه تا حد زیادی با یافته‌های ما در مورد مقاومت بالای اسینتوباکتر بومانی به آنتی‌بیوتیک‌ها همخوانی دارد، هرچند درصد فراوانی در هر دو مطالعه متفاوت بود، اما هر دو مطالعه بر مقاومت بالای این باکتری تأکید داشتند. در مطالعه Moisoiu و همکاران (۲۰۱۴) نیز مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۲۱۳ ایزوله اسینتوباکتر بومانی مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج مشابهی با مطالعه حاضر نشان داد، به ویژه در مورد مقاومت به کاربنی‌سیلین و کارباپنم‌ها. یافته‌های این مطالعه نیز بر اهمیت استفاده منطقی‌تر از آنتی‌بیوتیک‌ها تأکید داشت (۳۴). به طور کلی، گسترش سریع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی عمدتاً به وجود ژن‌های مقاومت در پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها نسبت داده می‌شود که انتشار آسان صفات مقاومت در نسل‌ها را ممکن می‌سازد (۳۵).

ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی ظرفیت بالایی برای تشکیل بیوفیلم در مقایسه با سویه‌های محیطی نشان می‌دهند که با یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر مطابقت دارد. بردباری و همکاران ارتباط معنی داری بین ایزوله‌های مقاوم به چند دارو (MDR) و توانایی تشکیل بیوفیلم را نشان دادند (۳۶). در حالی‌که گوو و همکاران مشاهده کردند که سویه‌های اسینتوباکتر بومانی تشکیل‌دهنده بیوفیلم مقاومت کمتری نسبت به ایمی پنم و سیپروفلوکساسین نشان دادند (۳۷). گونه‌های اسینتوباکتر بومانی تشکیل‌دهنده بیوفیلم، همان‌طور که مطالعات قبلی نشان داده‌اند (۶, ۳۸)، برای بقا در محیط‌های بیمارستانی تنها به مقاومت آنتی‌بیوتیکی متکی نیستند. این موضوع بر ماهیت چندوجهی بیماری‌زایی آن‌ها تأکید می‌کند، زیرا تشکیل بیوفیلم علاوه بر افزایش تحمل به آنتی‌بیوتیک‌ها، نقش مهمی در فرار از پاسخ ایمنی میزبان نیز ایفا می‌کند. در مطالعه حاضر، بیان ژن *pgaA* در بیماران بیشتر از ژن‌های *bap* و *bla-PER1* بود. در حالی که تفاوت معنی‌داری بین بیان نسبی *pgaA* و *bap* مشاهده نشد، اختلاف قابل توجهی در مقایسه با سطح بیان *bla-PER1* وجود داشت.

Colquhoun و Rather بر تنوع در روش‌های مورد استفاده برای تعیین کمیت تشکیل بیوفیلم و بر پیچیدگی مطالعه این پدیده تأکید کردند (۳۹).

IL-1ra به عنوان یک مهارکننده طبیعی *IL-1*، تنظیم‌کننده کلیدی پاسخ‌های التهابی است و در شدت عفونت‌های مزمن نقش دارد (۴۰). در مطالعه حاضر، بین فراوانی آلل *A1/A1* در پلی‌مورفیسم ژنی *IL-1ra* و وقوع پنومونی ناشی از اسینتوباکتر بومانی ارتباط معنی‌داری مشاهده شد. این یافته نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی در *IL-1ra* ممکن است باعث تغییر در تعادل بین التهاب و ایمنی ذاتی شود و به

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

طور غیرمستقیم بر تشکیل بیوفیلم و تحمل به آنتی‌بیوتیک‌ها تأثیر بگذارد.

تحقیقات قبلی توسط رومرو و همکاران نشان داد که پیش درمانی با IL 1-ra می‌تواند از زایمان زودرس ناشی از IL-1 جلوگیری کند. آنها همچنین بیان کردند که ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم ژنومی IL-1ra و پنومونی اسینتوباکتر بومانی در موش‌های مورد مطالعه وجود دارد، بنابراین بررسی این پلی مورفیسم‌ها می‌تواند مفید باشد (۴۱).

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که پلی‌مورفیسم‌های خاص در *IL-1ra* می‌توانند با شدت پاسخ التهابی در انواع عفونت‌ها، از جمله سل و عفونت‌های ویروسی، ارتباط داشته باشند (۴۲-۴۴). برای مثال، هموزیگوسیتی آلل **IL1RN2*با افزایش مقاومت در برابر ویروس‌های CMV و EBV مرتبط بوده و در تقویت ایمنی میزبان علیه HIV نیز نقش دارد (۴۲-۴۴). در مقابل، همین آلل با افزایش شدت برخی بیماری‌های التهابی، از جمله بیماری عروق کرونر، نیز گزارش شده است (۴۵).

در مطالعه حاضر، شیوع بالای آلل *IL-1ra A1* در بیماران مبتلا به پنومونی ناشی از اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو مشاهده شد. علاوه بر این، سه ناحیه اتصال پروتئینی در محل پلی‌مورفیسم اینترون ۲ ژن *IL-1ra* شناسایی شد که احتمالاً از طریق تنظیم بیان ژن بر شدت بیماری اثر می‌گذارند. چنین تغییراتی می‌توانند فرآیند رونویسی، پایداری mRNA یا سطح و عملکرد پروتئین را تحت تأثیر قرار دهند. بر این اساس، یافته‌های حاضر نشان می‌دهند که تعامل میان ژن‌های مرتبط با تشکیل بیوفیلم و پلی‌مورفیسم *IL-1ra* ممکن است در افزایش تحمل اسینتوباکتر بومانی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و تداوم عفونت نقش مهمی ایفا کند (۲۵).

۵- نتیجه گیری

در این مطالعه، پلی‌مورفیسم ژن *IL-1-ra* در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی مرتبط با پنومونی بیمارستانی بررسی شد. ایزوله‌ها مقاومت قابل توجهی در برابر طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها نشان دادند و بیان ژن‌های مرتبط با تشکیل بیوفیلم در این باکتری افزایش یافته بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که مقاومت دارویی و ظرفیت تشکیل بیوفیلم نقش مهمی در بیماری‌زایی و پایداری اسینتوباکتر بومانی در محیط بیمارستانی دارند. همچنین، نتایج مطالعه ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ژن *IL-1-ra* و بروز پنومونی ناشی از این باکتری نشان داد، که می‌تواند در حساسیت بیماران به این عفونت مؤثر باشد.

۶-ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با رعایت اصول اخلاق پژوهش‌های پزشکی و انسانی انجام شد. تمامی نمونه‌های بالینی با کسب رضایت آگاهانه بیماران جمع‌آوری گردید و اطلاعات شخصی بیماران محرمانه نگه داشته شد. کلیه روش‌های آزمایشی مطابق با استانداردهای بین‌المللی و دستورالعمل‌های داخلی بیمارستان‌ها انجام شد تا سلامت و حقوق بیماران حفظ شود.

۷-تشکر و قدردانی

نویسندگان از کارکنان آزمایشگاه گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران تشکر می کنند.

۸-تعارض منافع

نویسندگان هیچ تضاد منافعی برای اعلام ندارند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

۹-سهم نویسندگان

مریم خسروی: جمع‌آوری داده‌ها، انجام آزمایش‌های میکروبیولوژی و تجزیه و تحلیل نتایج؛ فرزانه حسینی: طراحی مطالعه، نظارت بر انجام آزمایش‌ها، تحلیل داده‌ها و نگارش نسخه اولیه مقاله؛ محمدرضا رضوی: ارائه پشتیبانی فنی آزمایشگاهی، مشاوره تخصصی در زمینه تحلیل مولکولی؛ رمضانعلی خاوری‌نژاد: نظارت بر اجرای آزمایش‌ها و تایید نتایج؛ تمام نویسندگان مقاله را بازبینی و نسخه نهایی آن را تایید کرده‌اند و موافقت خود را با انتشار آن اعلام می‌کنند.

۱۰-منابع

1. Sabzi S, Habibi M, Badmasti F, Shahbazi S, Karam MRA, Farokhi M. Polydopamine-based nano adjuvant as a promising vaccine carrier induces significant immune responses against Acinetobacter baumannii-associated pneumonia. International Journal of Pharmaceutics. 2024;654:123961.
2. Vázquez-López R, Solano-Gálvez SG, Juárez Vignon-Whaley JJ, Abello Vaamonde JA, Padró Alonzo LA, Rivera Reséndiz A, et al. Acinetobacter baumannii resistance: a real challenge for clinicians. Antibiotics. 2020;9(4):205.
3. Lorestani RC, Akya A, Elahi A, Hamzavi Y. Gene cassettes of class I integron-associated with antimicrobial resistance in isolates of Citrobacter spp. with multidrug resistance. Iran J Microbiol. 2018 Feb;10(1):22-29.
4. Sabzi S, Badmasti F, Noori Goodarzi N, Habibi M, Shahbazi S, Asadi Karam MR, et al. In silico Evaluation, Cloning, and Expression of Omp22 as a Promising Vaccine Candidate against Acinetobacter baumannii. Vaccine Research. 2023;10(1):11-7.
5. Rahimzadeh M, Shahbazi S, Sabzi S, Habibi M, Asadi Karam MR. Antibiotic resistance and genetic diversity among Pseudomonas aeruginosa isolated from urinary tract infections in Iran. Future Microbiology. 2023;18(16):1171-83.
6. Gedefie A, Demsis W, Ashagrie M, Kassa Y, Tesfaye M, Tilahun M, et al. Acinetobacter baumannii biofilm formation and its role in disease pathogenesis: a review. Infection and drug resistance. 2021:3711-9.
7. Mea HJ, Yong PVC, Wong EH. An overview of Acinetobacter baumannii pathogenesis: Motility, adherence and biofilm formation. Microbiological research. 2021;247:126722.
8. Shivaee A, Mohammadzadeh R, Shahbazi S, Pardakhtchi E, Ohadi E, Kalani BS. Time-variable expression levels of mazF, atlE, sdrH, and bap genes during biofilm formation in Staphylococcus epidermidis. Acta microbiologica et immunologica Hungarica. 2019;66(4):499-508.
9. Shivaee A, Meskini M, Shahbazi S, Zargar M. Prevalence of flmA, flmH, mrkA, ecpA, and mrkD virulence genes affecting biofilm formation in clinical isolates of K. pneumonia. Feyz Medical Sciences Journal. 2019;23(2):168-76.
10. Vrancianu CO, Gheorghe I, Czobor IB, Chifiriuc MC. Antibiotic resistance profiles, molecular mechanisms and innovative treatment strategies of Acinetobacter baumannii. Microorganisms. 2020;8(6):935.
11. Sechi1ABCDEFG LA, Karadenizli2BC A, Deriu1BC A, Zanetti1FG S, Kolayli F, Balikci E, et al. PER-1 type beta-lactamase production in Acinetobacter baumannii is related to cell adhesion. Med Sci Monit. 2004;10(6):184.
12. Izano EA, Sadovskaya I, Vinogradov E, Mulks MH, Velliyagounder K, Ragunath C, et al. Poly-N-acetylglucosamine mediates biofilm formation and antibiotic resistance in Actinobacillus pleuropneumoniae. Microbial pathogenesis. 2007;43(1):1-9.
13. Rheama EE, Ibrahim SA. Detection of PgaABCD proteins in biofilm producing Acinetobacter baumannii isolates. Al-Mustansiriyah Journal of Science. 2022;33(5):78-87.
14. Loehfelm TW, Luke NR, Campagnari AA. Identification and characterization of an Acinetobacter baumannii biofilm-associated protein. Journal of bacteriology. 2008;190(3):1036-44.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

15. Azizi O, Shahcheraghi F, Salimizand H, Modarresi F, Shakibaie MR, Mansouri S, et al. Molecular analysis and expression of bap gene in biofilm-forming multi-drug-resistant Acinetobacter baumannii. Reports of biochemistry & molecular biology. 2016;5(1):62.
16. Yang C-H, Su P-W, Moi S-H, Chuang L-Y. Biofilm formation in Acinetobacter Baumannii: genotype-phenotype correlation. Molecules. 2019;24(10):1849.
17. Choi AH, Slamti L, Avci FY, Pier GB, 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. Journal of bacteriology. 2009;191(19):5953-63.
18. Shahbazi S, Habibi M, Badmasti F, Sabzi S, Farokhi M, Karam MRA. Design and fabrication of a vaccine candidate based on rOmpA from Klebsiella pneumoniae encapsulated in silk fibroin-sodium alginate nanoparticles against pneumonia infection. International Immunopharmacology. 2023;125:111171.
19. Mogensen TH. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. Clinical microbiology reviews. 2009;22(2):240-73.
20. Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, Corneau A, Boussier J, Smith N, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. Science. 2020;369(6504):718-24.
21. Goodarzi NN, Fereshteh S, Sabzi S, Shahbazi S, Badmasti F. Construction of a chimeric FliC including epitopes of OmpA and OmpK36 as a multi-epitope vaccine against Klebsiella pneumonia. Health Biothechnology and Biopharma. 2021;5:44-60.
22. Ito Y, Kaneko N, Iwasaki T, Morikawa S, Kaneko K, Masumoto J. IL-1 as a target in inflammation. Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders). 2015;15(3):206-11.
23. Arend WP. The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. Cytokine & growth factor reviews. 2002;13(4-5):323-40.
24. Patwari PP, O'Cain P, Goodman DM, Smith M, Krushkal J, Liu C, et al. Interleukin-1 receptor antagonist intron 2 variable number of tandem repeats polymorphism and respiratory failure in children with community-acquired pneumonia. Pediatric Critical Care Medicine. 2008;9(6):553-9.
25. Hsu M-J, Lu Y-C, Hsu Y-C, Liu W-S, Wu W-T. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in patients with multidrug-resistant Acinetobacter baumannii-associated pneumonia. Annals of thoracic medicine. 2012;7(2):74-7.
26. Piran A, Shahcheraghi F, Solgi H, Rohani M, Badmasti F. A reliable combination method to identification and typing of epidemic and endemic clones among clinical isolates of Acinetobacter baumannii. Infection, Genetics and Evolution. 2017;54:501-7.
27. Shahbazi S, Shivaee A, Nasiri M, Mirshekar M, Sabzi S, Sariani OK. Zinc oxide nanoparticles impact the expression of the genes involved in toxin–antitoxin systems in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Journal of Basic Microbiology. 2023;63(9):1007-15.
28. Coffey BM, Anderson GG. Biofilm formation in the 96-well microtiter plate. Pseudomonas methods and protocols. 2014:631-41.
29. Müsken M, Di Fiore S, Römling U, Häussler S. A 96-well-plate–based optical method for the quantitative and qualitative evaluation of Pseudomonas aeruginosa biofilm formation and its application to susceptibility testing. Nature protocols. 2010;5(8):1460-9.
30. Rai RC. Host inflammatory responses to intracellular invaders: Review study. Life sciences. 2020;240:117084.
31. Lazarevic V, Gaïa N, Girard M, Schrenzel J. Decontamination of 16S rRNA gene amplicon sequence datasets based on bacterial load assessment by qPCR. BMC microbiology. 2016;16:1-8.
32. Fallah F, Noori M, Hashemi A, Goudarzi H, Karimi A, Erfanimanesh S, et al. Prevalence of blaNDM, blaPER, blaVEB, blaIMP, and blaVIM genes among Acinetobacter baumannii isolated from two hospitals of Tehran, Iran. Scientifica. 2014;2014(1):245162.
33. Sannathimmappa MB, Nambiar V, Aravindakshan R. Antibiotic resistance pattern of Acinetobacter baumannii Strains: a retrospective study from Oman. Saudi Journal of Medicine & Medical Sciences. 2021;9(3):254.
34. Moisoiu A, Ionită M, Sârbu L, Stoica C, Grigoriu L. Antibiotic resistance of Acinetobacter baumannii strains isolated from clinical specimens in the" Marius Nasta" Pneumology Institute, Bucharest. Pneumologia (Bucharest, Romania). 2014;63(2):109-11.
35. Chakravarty B. Genetic mechanisms of antibiotic resistance and virulence in Acinetobacter baumannii: background, challenges and future prospects. Molecular biology reports. 2020;47(5):4037-46.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]

36. Bardbari AM, Arabestani MR, Karami M, Keramat F, Alikhani MY, Bagheri KP. Correlation between ability of biofilm formation with their responsible genes and MDR patterns in clinical and environmental Acinetobacter baumannii isolates. Microbial pathogenesis. 2017;108:122-8.
37. Guo H, Xiang J. Influences of abaR gene on biofilm formation of Acinetobacter baumannii. Zhonghua Shao Shang za zhi= Zhonghua Shaoshang Zazhi= Chinese Journal of Burns. 2017;33(4):200-5.
38. 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. Frontiers in microbiology. 2016;7:483.
39. Colquhoun JM, Rather PN. Insights into mechanisms of biofilm formation in Acinetobacter baumannii and implications for uropathogenesis. Frontiers in cellular and infection microbiology. 2020;10:253.
40. Gouda W, Mageed L, Abd El Dayem SM, Ashour E, Afify M. Evaluation of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in type 1 diabetes mellitus. Bulletin of the National Research Centre. 2018;42:1-6.
41. Romero R, Tartakovsky B. The natural interleukin-1 receptor antagonist prevents interleukin-l-induced preterm delivery in mice. American journal of obstetrics and gynecology. 1992;167(4):1041-5.
42. Witkin SS, Linhares IM, Gerber S, Caetano ME, Segurado AC. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and circulating levels of human immunodeficiency virus type 1 RNA in Brazilian women. Journal of virology. 2001;75(13):6242-4.
43. Helminen MH, Merja. Resistance to human cytomegalovirus infection may be influenced by genetic polymorphisms of the tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1 receptor antagonist genes. Scandinavian journal of infectious diseases. 1998;30(5):447-9.
44. Hurme, Helminen. Polymorphism of the IL-1 gene complex in Epstein–Barr virus seronegative and seropositive adult blood donors. Scandinavian Journal of Immunology. 1998;48(3):219-22.
45. Francis SE, Camp NJ, Dewberry RM, Gunn J, Syrris P, Carter ND, et al. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and coronary artery disease. Circulation. 1999;99(7):861-6.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-10]