

## Evaluation of *Kpn* and *mrkD* Genes among *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated from Patients Admitted to Different Wards of Rouhani and Shahid Beheshti Hospitals of Babol, Iran

Majid Heydarpour<sup>1</sup>, Akram Amini<sup>2</sup>, Amirmorteza Ebrahimzadeh Namvar<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup> Student Research Committee, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

<sup>2</sup> MSc in Microbiology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

\* **Corresponding Author:** Amirmorteza Ebrahimzadeh Namvar, Department of Microbiology, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. Email: amirmorteza.namvar@gmail.com

### Abstract

**Received:** 01.10.2017

**Accepted:** 15.01.2018

#### How to Cite this Article:

Heydarpour M, Amini A, Ebrahimzadeh Namvar A. Evaluation of *Kpn* and *mrkD* Genes among *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated from Patients Admitted to Different Wards of Rouhani and Shahid Beheshti Hospitals of Babol, Iran. *Avicenna J Clin Med.* 2018; 24(4): 330-335. DOI: 10.21859/ajcm.24.4.330.

**Background and Objective:** According to the high incidence of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial infections in different wards of health care units and the emergence of high levels of antibiotic resistance, evaluating the frequency of multi-drug resistant strains and recognizing the virulence factors may help treat the related infections.

**Materials and Methods:** In this descriptive cross-sectional study, by presenting to the laboratories of Rouhani and Shahid Beheshti hospitals of Babol (Iran) during six months, *Klebsiella pneumoniae* strains were isolated from clinical specimens and transferred to the microbiology laboratory of Babol University of Medical Sciences for confirmation. Afterwards, the antibiotic resistance pattern was identified by disc diffusion method for the following antibiotics: amoxicillin, erythromycin, cefotaxime, gentamicin, ciprofloxacin, piperacillin, cefixime, amikacin, and imipenem. Finally, after DNA purification by using a commercial kit, *mrkD* and *Kpn* genes were evaluated by PCR molecular test.

**Results:** Sixty *Klebsiella pneumoniae* strains were isolated from different clinical specimens during six months. By using disc diffusion method, the highest (95.4%) and lowest (0%) resistance rates pertained to amoxicillin and imipenem, respectively. The frequencies of *mrkD* and *Kpn* genes were 71% and 63%, respectively.

**Conclusion:** Due to the high prevalence of antibiotic resistance among *Klebsiella pneumoniae* strains and considering that this is the first report of the mentioned genes in Babol, it is necessary to adopt appropriate therapeutic regimens to reduce antibiotic resistance.

**Keywords:** Antibiotic Resistance, *Klebsiella pneumoniae*, Polymerase Chain Reaction, Virulence Genes

## بررسی فراوانی ژن‌های *Kpn* و *mrkD* در بین سویه‌های کلبسیلا پنومونیه جداسده از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های روحانی و شهید بهشتی شهر بابل

مجید حیدرپور<sup>۱</sup>، اکرم امینی<sup>۲</sup>، امیرمترقی ابراهیم‌زاده نامور<sup>۳\*</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

<sup>۲</sup> کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

<sup>۳</sup> استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

\* نویسنده مسئول: امیرمترقی ابراهیم‌زاده نامور، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران.

ایمیل: amirmorteza.namvar@gmail.com

### چکیده

**سابقه و هدف:** با توجه به شیوع عفونت‌های بیمارستانی ناشی از باکتری کلبسیلا پنومونیه در بخش‌های مختلف مراکز درمانی و همچنین ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، بررسی فراوانی سویه‌های مقاوم به چند دارو و شناخت فاکتورهای بیماری‌زایی این باکتری، کمک شایانی به درمان عفونت‌های ناشی از آن خواهد نمود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه توصیفی- مقطعی طی ۶ ماه با مراجعه به آزمایشگاه بیمارستان‌های روحانی و شهید بهشتی شهر بابل، سویه‌های کلبسیلا پنومونیه از نمونه‌های بالینی ایزوله گردید و به منظور تأیید نهایی به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی بابل ارجاع داده شد. در ادامه، تست مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک‌دیفیوژن برای بررسی میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین، اریترومایسین، سفوتاکسیم، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، پپراسیلین، سفکسیم، آمیکاسین و ایمپنم اجرا گردید. در انتها پس از استخراج DNA به کمک کیت تجاری، ژن‌های *mrkD* و *kpn* با استفاده از روش ملکولی PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** در مطالعه حاضر ۶۰ سویه کلبسیلا پنومونیه طی مدت ۶ ماه از نمونه‌های مختلف بالینی جداسازی گردید. در بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک‌دیفیوژن، مقاومت به آموکسی‌سیلین و ایمپنم با ۹۵/۴ و ۶۳ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین میزان را به خود اختصاص دادند. همچنین درصد فراوانی ژن‌های *mrkD* و *kpn* به ترتیب معادل ۷۱ و ۶۳ درصد به دست آمد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به شیوع بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های کلبسیلا پنومونیه و با توجه به این مطلب که در این مطالعه برای اولین بار درصد فراوانی ژن‌های ویروالانس مذکور در شهرستان بابل مورد ارزیابی قرار گرفت، استفاده از رژیم‌های درمانی مناسب جهت کاهش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی امری ضروری محسوب می‌گردد.

**واژگان کلیدی:** ژن‌های ویروالانس، کلبسیلا پنومونیه، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، واکنش زنجیره پلیمرز

### مقدمه

می‌تواند عامل مننژیت، سپتی‌سمی، اسهال، پنومونی، عفونت ادراری و باکتری می‌به‌ویژه در افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی و الکلیسم باشد [۲]. کلبسیلا در مجرای معده‌ای- روده‌ای، پوست، نازوفارنکس، مثانه و حلق کلونیزه شده و در محیط‌های متنوعی مانند خاک و آب یافت می‌گردد. بیشتر عفونت‌های کلبسیلا مرتبط با گونه‌های کلبسیلا پنومونیه و اکسی توکا می‌باشد [۳]. در دهه‌های اخیر، شیوع سویه‌های مقاوم و حاوی

خانواده انتروباکتریاسه سهم به‌سزایی را در ایجاد عفونت‌های فرصت‌طلب و بیمارستانی برعهده دارد که در این بین می‌توان به *اشریشیا کلی*، کلبسیلا پنومونیه، شیگلا و *سالمونلا* اشاره نمود [۱]. کلبسیلا پنومونیه به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل در ایجاد عفونت‌های فرصت‌طلب شناخته شده است. این باکتری، باسیل گرم منفی، غیرمتحرک، دارای کپسول، تخمیرکننده لاکتوز و بی‌هوازی اختیاری می‌باشد که

اداراری، کشت خون، خلط، زخم و غیره جداسازی گردیدند و با استفاده از تست های استاندارد میکروبی شناسی از قبیل کشت روی محیط مک کانکی آگار (Macconkey agar)، رنگ آمیزی گرم، تست های افتراقی نظیر اندول، سیمون سیرتات، بررسی آنزیم اوره آز، SIM، TSI و MR/VP تأیید شدند. درانتها، سویه ها در محیط BHI برات (Brain Heart Infusion Broth) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره شدند.

#### تست آنتی بیوگرام

تست مقاومت آنتی بیوتیکی به روش کربی بائر و با استفاده از دیسک های آنتی بیوتیکی تهیه شده از شرکت Rosco (دانمارک) شامل: آموکسی سیلین (۳۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، پپیراسیلین (۱۰۰ میکروگرم)، سفکسیم (۵ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم) و ایمی پنم (۱۰ میکروگرم) طبق استانداردهای CLSI صورت گرفت. سپس، میزان فراوانی سویه های دارای مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه مورد بررسی قرار گرفت؛ به نحوی که سویه های دارای مقاومت به بیش از سه رده آنتی بیوتیکی به عنوان سویه های MDR (Multidrug Resistance) در نظر گرفته شدند.

#### استخراج DNA

استخراج DNA با استفاده از کیت شرکت ROCHE براساس پروتکل شرکت سازنده صورت پذیرفت.

#### انجام تست PCR

جهت انجام این تست از پرایمرهای اختصاصی بررسی شده با نرم افزار Blast و برنامه های مخصوص استفاده گردید (جدول ۱). حجم نهایی برای هر یک از واکنش ها ۲۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد. برنامه PCR شامل: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴ دقیقه و ۳۵ سیکل که هر یک دارای سه مرحله دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه به مدت ۴۵ ثانیه، آنیلینگ در دمای ۵۹ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و درنهایت، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد و پس از اتمام واکنش، محصول PCR با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد و دستگاه ترانس لومیناتور مورد بررسی قرار گرفت.

آنزیم های بتالاکتاماز در میان عفونت های بیمارستانی باعث شده است تا انتخاب داروی مناسب برای درمان این باکتری با مشکل مواجه گردد [۴]. در مطالعات اخیر، ارتباط معناداری بین تولید بتالاکتامازهای با دامنه گسترده و بیان فاکتورهای مرتبط با بیماری زایی به اثبات رسیده است. در مطالعه حاضر بیان فاکتورهای ویروالانس و ارتباط ژنتیکی بین سویه های کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده آنزیم بتالاکتاماز با دامنه گسترده و سویه های فاقد آنزیم ارزیابی شد [۵]. مطالعات اخیر حاکی از آن است که سویه های کلبسیلا پنومونیه تمایل زیادی به اتصال به سلول های اپیتلیال انسانی دارند که این تمایل به دلیل وجود ادهزین های فیمبریه ای به ویژه تیپ ۱ و ۳ می باشد. ادهزین فیمبریه تیپ ۳ (*mrkD*: type 3 adhesins) از توانایی اتصال سویه های کلبسیلا پنومونیه به سلول های مختلف انسانی مانند سلول های اپیتلیال تنفسی و اداراری برخوردار می باشد. پروتئین *mrkD* یکی از فاکتورهای مهمی است که در اتصال میکروارگانیسم به مولکول های کلاژن نقش دارد [۶]. *Kpn* نیز یکی دیگر از فاکتورهای ویروالانس مهم باکتری به عنوان یک فاکتور ادهزینی محسوب می شود [۷]. با توجه به پتانسیل بالای کلبسیلا پنومونیه در ایجاد عفونت های بیمارستانی به ویژه در بخش مراقبت های ویژه و نیز کسب مقاومت های آنتی بیوتیکی، شناخت سویه های مقاوم به چند دارو و فاکتورهای ویروالانس برای درمانی موفقیت آمیز امری ضروری تلقی می گردد.

با توجه به بررسی و جستجوهای به عمل آمده از سوی نویسندگان در پایگاه های اطلاعاتی و سایر منابع استنادی مشاهده شد که تاکنون پژوهشی در این ارتباط در شهر بابل صورت نگرفته است؛ از این رو، مطالعه حاضر با هدف تعیین فراوانی ژن های *mrkD* و *Kpn* در بین سویه های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از بیماران بستری در بخش های مختلف بیمارستان های روحانی و شهید بهشتی شهر بابل انجام گرفت.

#### مواد و روش ها

##### جمع آوری و تأیید سویه ها

در این مطالعه توصیفی - مقطعی طی یک دوره شش ماهه با مراجعه به آزمایشگاه بیمارستان های روحانی و شهید بهشتی، ۶۰ سویه کلبسیلا پنومونیه جمع آوری گردید و به بخش میکروبی شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل ارجاع داده شد. قابل ذکر است که سویه ها از نمونه های بالینی مختلف شامل: نمونه های

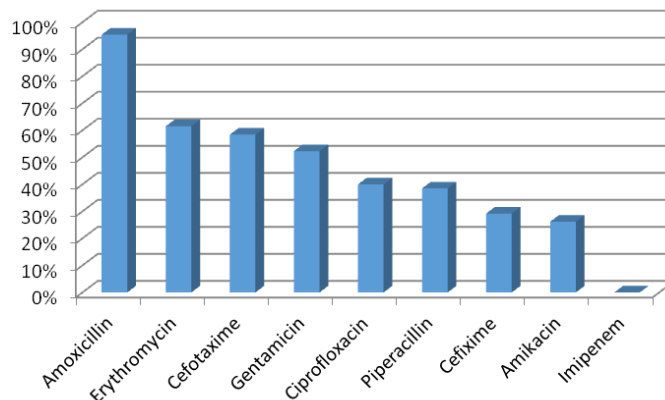
جدول ۱: پرایمرهای اختصاصی جهت بررسی ژن های *mrkD* و *kpn*

ژن	پرایمر	سایز آمپلیکون (bp)	رفرنس
<i>kpn</i>	GTATGACTCGGGGAAGATTA CAGAAGCAGCCACCACACG	۶۲۶	[۷]
<i>mrkD</i>	TTCTGCACAGCGGTCCC GATACCCGGCGTTTCGTTAC	۲۴۰	[۷]

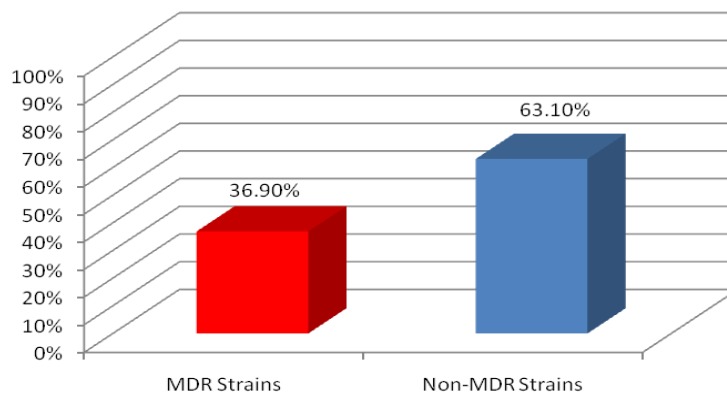
## یافته‌ها

از مجموع نمونه‌های جمع‌آوری شده از بخش‌های مختلف بیمارستان‌ها، ۶۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه شناسایی گردید که از این میان ۶۶ درصد مربوط به بیمارستان روحانی و ۳۴ درصد مربوط به بیمارستان شهید بهشتی بود. در بین نمونه‌های مورد بررسی نمونه ادرار ۳۴ درصد، خون ۱۷ درصد، خلط ۱۷ درصد، زخم ۱۵/۵ درصد و سایر نمونه‌ها ۱۴/۵ درصد را به خود اختصاص دادند. همچنین از بین نمونه‌های جمع‌آوری شده، ۳۷ درصد مربوط به زنان و ۶۳ درصد متعلق به مردان بود. از سوی دیگر براساس الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، میزان مقاومت به

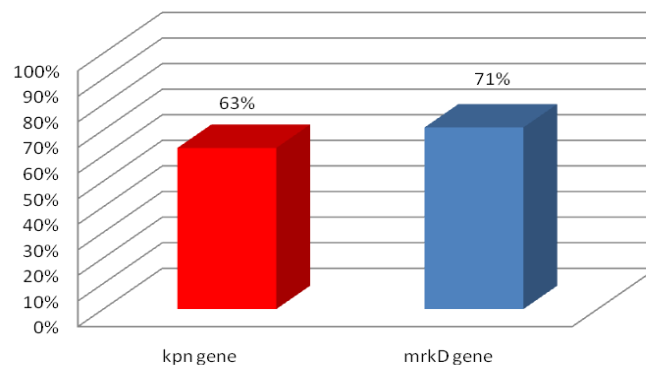
آموکسی‌سیلین (۹۵/۴ درصد)، اریترومایسین (۶۲ درصد)، سفوتاکسیم (۵۸/۴ درصد)، جنتامایسین (۵۲/۳ درصد)، سیپروفلوکساسین (۴۰ درصد)، پپراسیلین (۳۸/۸ درصد)، سفکسیم (۲۹/۲ درصد)، آمیکاسین (۲۶/۲ درصد) و ایمپنم (۰ درصد) گزارش گردید (شکل ۱). شایان ذکر است که در بین سویه‌های مورد مطالعه، فراوانی سویه‌های MDR معادل ۳۶/۹ درصد به دست آمد (شکل ۲). افزون‌براین در بررسی فراوانی ژن‌های مورد بررسی، ۳۸ مورد (۶۳ درصد) دارای ژن *kpn* و ۴۳ مورد (۷۱ درصد) دارای ژن *mrkD* بودند (شکل ۳).



شکل ۱: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه‌های بالینی



شکل ۲: درصد فراوانی سویه‌های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به چند دارو



شکل ۳: درصد فراوانی ژن‌های *kpn* و *mrkD* در بین سویه‌های مورد مطالعه

*kpn* معادل ۶۰ درصد گزارش شد [۱۰]. از سوی دیگر، در مطالعه‌ای مشابه که توسط کاندان و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام شد، میزان ژن های *mrkD* و *kpn* در بین ۴۲ سویه ارزیابی گردید. ذکر این نکته ضرورت دارد که ژن های فوق از نمونه های بالینی رکتال سواب، ادرار، تراکتال و زخم جدا شده بودند [۷]. آمار به دست آمده حاکی از آن بود که شیوع ژن های ادھزینی، منحصر به نمونه های بالینی خاصی نمی باشد و در نمونه های مختلف با درصد های متفاوت قابل ردیابی است. باید عنوان نمود که در مطالعه حاضر نیز این موضوع کاملاً مشهود بوده و مشابه با مطالعات انجام شده می باشد.

### نتیجه گیری

با توجه به شیوع بالای ژن های ادھزینی در بین سویه های کلبسیلا پنومونیه و نیز افزایش میزان مقاومت های آنتی بیوتیکی، نگرانی در مورد درمان سویه های مقاوم دوچندان شده است. نتایج حاصل از بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در مطالعه حاضر بیانگر این موضوع بود که مقاومت به آموکسی سیلین و اریترومایسین نسبت به دیگر آنتی بیوتیک های مورد بررسی، افزایش قابل توجهی داشته است؛ در صورتی که آنتی بیوتیک های سفکسیم، آمیکاسین و ایمپنم همچنان به عنوان آنتی بیوتیک های مؤثر و منتخب در بین سویه های مورد بررسی ما مطرح می باشند. با این وجود در آنالیز صورت گرفته، میزان فراوانی سویه های MDR معادل ۳۶/۹ درصد گزارش گردید که خود می تواند زنگ خطری برای ظهور این سویه ها محسوب شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح دانشجویی با شماره ۴۰۲۰ (کد MUBABOL.HRI.REC.1395.106) می باشد که با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل به انجام رسیده است؛ از این رو، نویسندگان بر خود لازم می دانند که از آن معاونت محترم و نیز کارکنان بخش های مختلف بیمارستان های آیت الله روحانی، شهید بهشتی و آزمایشگاه میکروبی شناسی دانشگاه که صمیمانه در انجام این مطالعه همکاری نمودند، تشکر و قدردانی نمایند. شایان ذکر است که تضاد منافی در این مطالعه گزارش نگردیده است.

کلبسیلا پنومونیه یکی از عوامل مهم و شایع عفونت های بیمارستانی محسوب می شود؛ از این رو، انتخاب داروی مناسب برای درمان این باکتری با توجه به شیوع بالای سویه های مقاوم به چند دارو، با مشکل مواجه گردیده است [۱]. تاکنون فاکتورهای ویروانس متعددی در کلبسیلا پنومونیه شناسایی شده اند که مشهورترین آن کپسول با فعالیت ضدفاگوسیتوزی می باشد. از سوی دیگر، نقش ادھزین های فیمبریایی جهت تشکیل بیوفیلم نیز به اثبات رسیده است که از این میان می توان به ژن *mrkD* یا (Mannose-specific adhesin subunit of type 3 fimbriae) و ژن *kpn* (FimH-like adhesin) اشاره نمود [۷]. در مطالعات انجام گرفته، نقش فیمبریه تیپ ۳ در تشکیل بیوفیلم و تجمع باکتریایی در شرایط *in vitro* روشن و مشخص شده است؛ به طوری که نقش پروتئین حاصل از بیان ژن *mrkD* در اتصال به ماتریکس های خارج سلولی از قبیل مولکول های کلاژن و سطوح پلاستیکی از مهم ترین این موارد محسوب می شوند؛ از این رو، اهمیت وجود این ژن در تجمع باکتریایی در انتوباسیون اندوتراکتال می تواند موجب نگرانی گردد. در این ارتباط در مطالعه صورت گرفته توسط جاگو در سال ۲۰۰۳، نقش تشکیل بیوفیلم ناشی از عملکرد ژن *mrkD* در بین نمونه های اپیتلیال برونش انسان مشخص گردید؛ بدین صورت که دو نقش اولیه برای عملکرد ژن مذکور در نظر گرفته شد: مرحله اتصال اولیه به سلول های میزبان و رشد و تکثیر روی لوله های اندوتراکتال [۸]. در این راستا، مطالعه ملو و همکاران (۲۰۱۴) در ارتباط با ۴۴ سویه کلبسیلا پنومونیه و ۱۵ سویه دارای ژن *mrkD* از نمونه های بالینی رکتال سواب، تراکتال و ادرار ایزوله گردید [۶]. همچنین، در مطالعه کامپین و همکاران (۲۰۱۴) که در جهت بررسی ژن *mrkD* و برخی از ژن های ویروانس دیگر در مورد نمونه های بالینی جدا شده از آبسه های کبدی و ریوی انجام شد، مشاهده گردید که تمامی سویه های کلبسیلا پنومونیه دارای ژن مذکور بودند [۹]. در ارتباط با مطالعات انجام شده در کشور ایران نیز می توان به مطالعه رنجبر و همکاران (۲۰۱۶) اشاره نمود که در آن میزان فراوانی ژن مذکور معادل ۹۵ درصد گزارش گردید [۱۰]. همان طور که ذکر شد، ژن های ادھزینی دیگر مانند *kpn* نیز نقش مهمی را در اتصال باکتری ایفا می کنند. در مطالعه حاضر در ارتباط با ژن های فوق، میزان فراوانی ژن های *mrkD* و *kpn* به ترتیب ۷۱ و ۶۳ درصد به دست آمد. علاوه بر این در مطالعه رنجبر و همکاران، میزان فراوانی ژن

## REFERENCES

- Xu L, Sun X, Ma X. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2017;16(1):18. PMID: 28356109 DOI: 10.1186/s12941-017-0191-3
- Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11(4):589-603. PMID: 9767057
- Zamani A, Yousefi Mashouf R, Ebrahimzadeh Namvar A, Alikhani MY. Detection of magA Gene in *Klebsiella* spp. Isolated from Clinical Samples Detection of magA. *Iran J Basic Med Sci*. 2013;16(2):173-6. PMID: 24298386
- Gupta A, Ampofo K, Rubenstein D, Saiman L. Extended spectrum beta lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: a review of the literature. *J Perinatol*.

- 2003;**23**(6):439-43. [PMID: 13679928](#) [DOI: 10.1038/sj.jp.7210973](#)
5. Gharrar MM, Mostafa El-Mahdy A, Barwa RF. Association between virulence factors and extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* compared to nonproducing isolates. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2017;**2017**:7279830. [PMID: 28684959](#) [DOI: 10.1155/2017/7279830](#)
  6. de Cássia Andrade Melo R, de Barros EM, Loureiro NG, de Melo HR, Maciel MA, Souza Lopes AC. Presence of fimH, mrkD, and irp2 virulence genes in KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Recife-PE, Brazil. *Curr Microbiol.* 2014;**69**(6):824-31. [PMID: 25085544](#) [DOI: 10.1007/s00284-014-0662-0](#)
  7. Candan ED, Aksöz N. *Klebsiella pneumoniae*: characteristics of carbapenem resistance and virulence factors. *Acta Biochim Pol.* 2015;**62**(4):867-74. [PMID: 26637376](#) [DOI: 10.18388/abp.2015\\_1148](#)
  8. Jagnow J, Clegg S. *Klebsiella pneumoniae* MrkD-mediated biofilm formation on extracellular matrix- and collagen coated surfaces. *Microbiology.* 2003;**149**(Pt 9):2397-405. [PMID: 12949165](#) [DOI: 10.1099/mic.0.26434-0](#)
  9. Compain F, Babosan A, Brisse S, Genel N, Ailloud J, Ailloud F, et al. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and k1/k2 capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae*. *J Clin Microbiol.* 2014;**52**(12):4377-80. [PMID: 25275000](#) [DOI: 10.1128/JCM.02316-14](#)
  10. Ranjbar R, Memariani H, Sorouri R, Memariani M. Distribution of virulence genes and genotyping of CTX-M-15 producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients with community-acquired urinary tract infection (CA-UTI). *Microb Pathog.* 2016;**100**:244-9. [PMID: 27725280](#) [DOI: 10.1016/j.micpath.2016.10.002](#)