Avicenna Journal of Clinical Medicine No 86, Volume 24, Issue 4, Winter 2018, Pages: 330-335

Original Article

: 10.21859/ajcm.24.4.330

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[1], Akram Amini[2], Amirmorteza Ebrahimzadeh Namvar[3,*]

[1] *Student Research Committee,School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran*
[2] *MSc in Microbiology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran*
[3] *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*

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.

Abstract

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: a*moxicillin*, 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

Copyright © 2018 Avicenna Journal of Clinical Medicine

مقاله پژوهشی

doi: 10.21859/ajcm.24.4.330

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

مجید حیدرپور[۱]، اکرم امینی[۲]، امیرمرتضی ابراهیم‌زاده نامور[۳،*]

[۱] دانشجوی کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

[۲] کارشناسی‌ارشد میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

[۳] استادیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

* **نویسنده مسئول:** امیرمرتضی ابراهیم‌زاده نامور، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران.

ایمیل: amirmorteza.namvar@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۷/۰۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۰/۲۵

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

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 به‌منظور تأیید نهایی به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل ارجاع داده شد. درادامه، تست مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک‌دیفیوژن برای بررسی میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین، اریترومایسین، سفوتاکسیم، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، پیپراسیلین، سفکسیم، آمیکاسین و ایمی‌پنم اجرا گردید. درانتها 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 ایمی‌پنم با ۹۵/۴ و صفر درصد به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان را به خود اختصاص دادند. همچنین درصد فراوانی ژن‌های *mrkD* و *kpn* به‌ترتیب معادل ۷۱ و ۶۳ درصد به‌دست 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 اولین‌بار درصد فراوانی ژن‌های ویرولانس مذکور در شهرستان بابل مورد ارزیابی قرار گرفت، استفاده از رژیم‌های درمانی مناسب جهت کاهش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی امری ضروری محسوب می‌گردد.

واژگان کلیدی: ژن‌های ویرولانس، *کلبسیلا پنومونیه*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، واکنش زنجیره پلیمراز

مقدمه

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 می‌تواند عامل مننژیت، سپتی‌سمی، اسهال، پنومونی، عفونت ادراری و باکتریمی به‌ویژه 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

آنزیم‌های بتالاکتاماز در میان عفونت‌های 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 بیماری‌زایی به اثبات رسیده است. در مطالعه حاضر بیان فاکتورهای ویرولانس و ارتباط ژنتیکی بین سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* تولیدکننده آنزیم بتالاکتاماز با دامنه گسترده و سویه‌های فاقد آنزیم ارزیابی شد [۵]. مطالعات اخیر حاکی از آن است که سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* تمایل زیادی به اتصال به سلول‌های اپیتلیال انسانی دارند که این تمایل به‌دلیل وجود ادهزین‌های فیمبریه‌ای به‌ویژه تیپ ۱ و ۳ می‌باشد. ادهزین فیمبریه تیپ ۳ (mrkD: type 3 adhesins) از توانایی اتصال سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* به سلول‌های مختلف انسانی مانند سلول‌های اپیتلیال تنفسی و ادراری برخوردار می‌باشد. پروتئین mrkD یکی از فاکتورهای مهمی است که در اتصال میکروارگانیسم به مولکول‌های کلاژن نقش دارد [۶]. Kpn نیز یکی دیگر از فاکتورهای ویرولانس مهم باکتری به‌عنوان یک فاکتور ادهزینی محسوب می‌شود [۷]. با توجه به پتانسیل بالای *کلبسیلا پنومونیه* در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه در بخش مراقبت‌های ویژه و نیز کسب مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، شناخت سویه‌های مقاوم به چند دارو و فاکتورهای ویرولانس برای درمانی موفقیت‌آمیز امری ضروری تلقی می‌گردد.

با توجه به بررسی و جستجوهای به‌عمل آمده از سوی نویسندگان در پایگاه‌های اطلاعاتی و سایر منابع استنادی مشاهده شد که تاکنون پژوهشی در این ارتباط در شهر بابل صورت نگرفته است؛ ازاین‌رو، مطالعه حاضر با هدف تعیین فراوانی ژن‌های *Kpn* و *mrkD* در بین سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* جداشده از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های روحانی و شهید بهشتی شهر بابل انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تأیید سویه‌ها

در این مطالعه توصیفی- مقطعی طی یک دوره شش ماهه با مراجعه به آزمایشگاه بیمارستان‌های روحانی و شهید بهشتی، ۶۰ سویه *کلبسیلا پنومونیه* جمع‌آوری گردید و به بخش میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل ارجاع داده شد. قابل ذکر است که سویه‌ها از نمونه‌های بالینی مختلف شامل: نمونه‌های ادراری، کشت خون، خلط، زخم و غیره جداسازی گردیدند و با استفاده از تست‌های استاندارد میکروب‌شناسی از قبیل کشت روی محیط مک کانکی آگار (Macconkey agar)، رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های افتراقی نظیر اندول، سیمون سیترات، بررسی آنزیم اوره‌آز، SIM، TSI و MR/VP تأیید شدند. درانتها، سویه‌ها در محیط BHI براث (Brain Heart Infusion Broth) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

تست آنتی‌بیوگرام

تست مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش کربی بائر و با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تهیه‌شده از شرکت Rosco (دانمارک) شامل: آموکسی‌سیلین (۳۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، پیپراسیلین (۱۰۰ میکروگرم)، سفکسیم (۵ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم) و ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم) طبق استانداردهای CLSI صورت گرفت. سپس، میزان فراوانی سویه‌های دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه مورد بررسی قرار گرفت؛ به‌نحوی که سویه‌های دارای مقاومت به بیش از سه رده آنتی‌بیوتیکی به‌عنوان سویه‌های 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

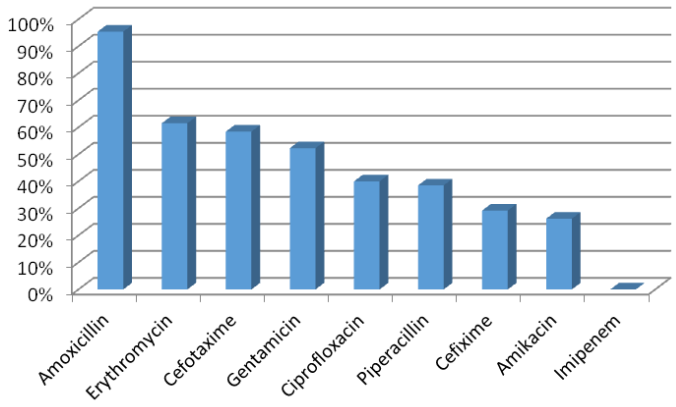
جهت انجام این تست از پرایمرهای اختصاصی بررسی‌شده با نرم‌افزار Blast و برنامه‌های مخصوص استفاده گردید (جدول ۱). حجم نهایی برای هریک از واکنش‌ها ۲۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد. برنامه PCR شامل: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه و ۳۵ سیکل که هریک دارای سه مرحله دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه به مدت ۴۵ ثانیه، آنیلینگ در دمای ۵۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و درنهایت، ۷۲ درجه سانتی‌گراد 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.

جدول ۱: پرایمرهای اختصاصی جهت بررسی ژن‌های *kpn* و *mrkD*

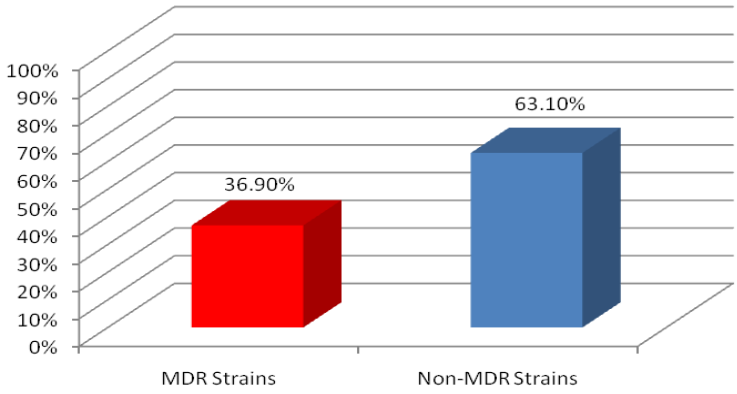
ژن	پرایمر	سایز آمپلیکون (bp)	رفرنس
kpn	GTATGACTCGGGGAAGATTA CAGAAGCAGCCACCACACG	۶۲۶	[۷]
mrkD	TTCTGCACAGCGGTCCC GATACCCGGCGTTTTCGTTAC	۲۴۰	[۷]

یافته‌ها

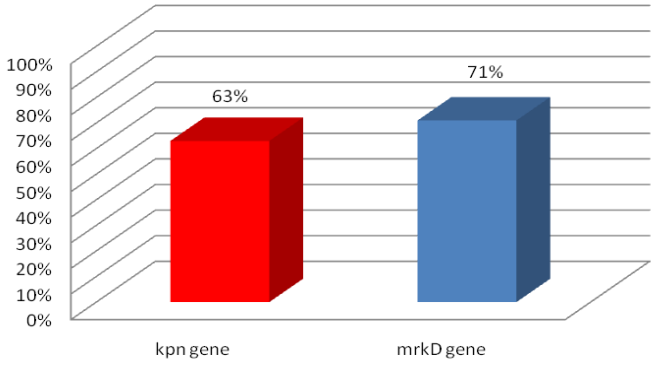
از مجموع نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از بخش‌های مختلف بیمارستان‌ها، ۶۰ ایزوله *کلبسیلا پنومونیه* شناسایی گردید که از این میان ۶۶ درصد مربوط به بیمارستان روحانی و ۳۴ درصد مربوط به بیمارستان شهید بهشتی بود. در بین نمونه‌های مورد بررسی نمونه ادرار ۳۴ درصد، خون ۱۷ درصد، خلط ۱۷ درصد، زخم ۱۵/۵ درصد و سایر نمونه‌ها ۱۴/۵ درصد را به خود اختصاص دادند. همچنین از بین نمونه‌های جمع‌آوری‌شده، 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)، پیپراسیلین (۳۸/۸ درصد)، سفکسیم (۲۹/۲ درصد)، آمیکاسین (۲۶/۲ درصد) و ایمی‌پنم (۰ درصد) گزارش گردید (شکل ۱). شایان ذکر است که در بین سویه‌های مورد مطالعه، فراوانی سویه‌های MDR معادل ۳۶/۹ درصد به‌دست 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* جداشده 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

بحث

کلبسیلا پنومونیه یکی از عوامل مهم و شایع عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود؛ ازاین‌رو، انتخاب داروی مناسب برای درمان این باکتری با توجه به شیوع بالای سویه‌های مقاوم به چند دارو، با مشکل مواجه گردیده است [۱]. تاکنون فاکتورهای ویرولانس متعددی در *کلبسیلا پنومونیه* شناسایی شده‌اند که مشهورترین آن کپسول با فعالیت ضدفاگوسیتوزی می‌باشد. از سوی دیگر، نقش ادهزین‌های فیمبریایی جهت تشکیل بیوفیلم نیز به اثبات رسیده است که از این میان می‌توان به ژن *mrkD* یا (Mannose-specific adhesin subunit of type 3 fimbriae) و ژن *kpn* (FimH-like adhesion) اشاره نمود [۷]. در مطالعات انجام‌گرفته، نقش فیمبریه تیپ ۳ در تشکیل بیوفیلم و تجمع باکتریایی در شرایط *in vitro* روشن و مشخص شده است؛ به‌طوری که نقش پروتئین حاصل از بیان ژن *mrkD* در اتصال به ماتریکس‌های خارج سلولی از قبیل مولکول‌های کلاژن و سطوح پلاستیکی از مهم‌ترین این موارد محسوب می‌شوند؛ ازاین‌رو، اهمیت وجود این ژن در تجمع باکتریایی در انتوباسیون اندوتراکئال می‌تواند موجب نگرانی گردد. در این ارتباط در مطالعه صورت‌گرفته توسط جاگنو در سال ۲۰۰۳، نقش تشکیل بیوفیلم ناشی از عملکرد ژن *mrkD* در بین نمونه‌های اپیتلیال برونش انسان مشخص گردید؛ بدین‌صورت که دو نقش اولیه برای عملکرد ژن مذکور در نظر گرفته شد: مرحله اتصال اولیه به سلول‌های میزبان و رشد و تکثیر روی لوله‌های اندوتراکئال [۸]. در این راستا، مطالعه ملو و همکاران (۲۰۱۴) در ارتباط با ۴۴ سویه *کلبسیلا پنومونیه* و ۱۵ سویه دارای ژن *mrkD* از نمونه‌های بالینی رکتال سواب، تراکئال و ادرار ایزوله گردید [۶]. همچنین، در مطالعه کامپین و همکاران (۲۰۱۴) که در جهت بررسی ژن *mrkD* و برخی از ژن‌های ویرولانس دیگر در مورد نمونه‌های بالینی جداشده از آبسه‌های کبدی و ریوی انجام شد، مشاهده گردید که تمامی سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* دارای ژن مذکور بودند [۹]. در ارتباط با مطالعات انجام‌شده در کشور ایران نیز می‌توان به مطالعه رنجبر و همکاران (۲۰۱۶) اشاره نمود که در آن میزان فراوانی ژن مذکور معادل ۹۵ درصد گزارش گردید [۱۰]. همان‌طور که ذکر شد، ژن‌های ادهزینی دیگر مانند *kpn* نیز نقش مهمی را در اتصال باکتری ایفا می‌کنند. در مطالعه حاضر در ارتباط با ژن‌های فوق، میزان فراوانی ژن‌های *mrkD* و *kpn* به‌ترتیب ۷۱ و ۶۳ درصد به‌دست آمد. علاوه‌براین در مطالعه رنجبر و همکاران، میزان فراوانی ژن *kpn* معادل ۶۰ درصد گزارش شد [۱۰]. از سوی دیگر، در مطالعه‌ای مشابه که توسط کاندان و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام شد، میزان ژن‌های *mrkD* و *kpn* در بین ۴۲ سویه ارزیابی گردید. ذکر این نکته ضرورت دارد که ژن‌های فوق از نمونه‌های بالینی رکتال سواب، ادرار، تراکئال و زخم جدا شده بودند [۷]. آمار به‌دست آمده حاکی از آن بود که شیوع ژن‌های ادهزینی، منحصر به نمونه‌های بالینی خاصی نمی‌باشد و در نمونه‌های مختلف با درصدهای متفاوت قابل ردیابی است. باید عنوان نمود که در مطالعه حاضر نیز این موضوع کاملاً مشهود بوده و مشابه با مطالعات انجام‌شده می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به شیوع بالای ژن‌های ادهزینی در بین سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* و نیز افزایش میزان مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، نگرانی در مورد درمان سویه‌های مقاوم دوچندان شده است. نتایج حاصل از بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مطالعه حاضر بیانگر این موضوع بود که مقاومت به آموکسی‌سیلین و اریترومایسین نسبت به دیگر آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی، افزایش قابل توجهی داشته است؛ درصورتی که آنتی‌بیوتیک‌های سفکسیم، آمیکاسین و ایمی‌پنم همچنان به‌عنوان آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر و منتخب در بین سویه‌های مورد بررسی ما مطرح می‌باشند. با این وجود در آنالیز صورت‌گرفته، میزان فراوانی سویه‌های MDR معادل ۳۶/۹ درصد گزارش گردید که خود می‌تواند زنگ خطری برای ظهور این سویه‌ها محسوب شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح دانشجویی با شماره ۴۰۲۰ (کد MUBABOL.HRI.REC.1395.106) می‌باشد که با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل به انجام رسیده است؛ ازاین‌رو، نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از آن معاونت محترم و نیز کارکنان بخش‌های مختلف بیمارستان‌های آیت‌الله روحانی، شهید بهشتی و آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه که صمیمانه در انجام این مطالعه همکاری نمودند، تشکر و قدردانی نمایند. شایان ذکر است که تضاد منافعی در این مطالعه گزارش نگردیده است.

REFERENCES

1. 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
2. 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
3. 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
4. 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. Gharrah 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 an virulenc 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, Audo 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