Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 11, Number 6 (January - February)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Frequency of Pathogenic Genes *fimH* ،*irp2* ،*rmpA*، *allS* and *wcaG* of *Klebsiella pneumoniae* Isolates by Multiplex-PCR Method

Bahman Hormozi[1], Ahmad Rashki[2], Majid Alipour Eskandani[3], Mohsen Najimi[2]

1.Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran
2.Department of Physiopathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran
3.Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran

Downloaded from ijmm.ir at 12:40 +0430 on Monday June 25th 2018

Article Information

Article history:
Received: 2016/10/11
Accepted: 2018/01/11
Available online: 2018/02/19

Article Subject:
Molecular Microbiology

IJMM 2018; 11(6): 178-183

Corresponding author:

Ahmad Rashki
Department of Physiopathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran

Tel: 054-24282250

Email: ah_rashki@usal.es

Abstract

Background and Aims: *Klebsiella pneumoniae* that causes bloodstream and urinary tract infections has several virulence factors encoding genes. Factors like the ability of adherence to the host cell surface, presence of sidrophore receptors and regulation of mucoid phenotype are the common virulence ones involved in the pathogenesis of *K. pneumoniae*. The aim of this study was to determine the frequency of virulence factor encoding genes in *K. pneumoniae* isolates, collected from hospitalized patients by Multiplex PCR.

Materials and Methods: In this descriptive study, the frequency of genes encoding virulence factor *irp2*, *wcaG*, *rmpA*, *rmpA*، *allS* and *fimH* were evaluated in 100 *K. pneumoniae* isolates, collected from patients referred to teaching hospitals of Zahedan city by Multiplex PCR.

Results: Among 100 clinical isolates of *K. pneumoniae*, *allS* gene had the highest frequency, 90%, and *rmpA* had the lowest frequency, 6%. The frequency of genes *fimH*, *irp2*, *wcaG* and *rmpA* were 88%, 87%, 33% and 6% respectively.

Conclusions: The results of this study showed that the *allS*, *irp2* and *fimH* genes were more frequent among *K. pneumoniae* isolated from studied patients in Zahedan city. These findings provide important information on the importance of these virulence factors on pathology of urogenital tract infection, management of *Klebsiella* infection and success of treatment strategies.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, Virulence Factors, PCR

Copyright © 2018 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Hormozi B, Rashki A, Alipoor M, Najimi M. Frequency of Pathogenic Genes fimH ،irp2 ، rmpA ،allS and wcaG of Klebsiella pneumoniae Isolates by Multiplex-PCR Method. Iran J Med Microbiol. 2018; 11 (6) : 178-183

Downloaded from ijmm.ir at 12:40 +0430 on Monday June 25th 2018

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۱ – شماره ۶ – بهمن-اسفند ۱۳۹۶

Journal homepage: www.ijmm.ir

بررسی فراوانی ژن‌های بیماری‌زای *fimH*، *irp2*، *rmpA*، *allS* و *wcaG* در ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* به روش Multiplex-PCR

بهمن هرمزی[۱]، احمد راشکی[۲]، مجید علیپور[۳]، محسن نجیمی[۲]

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۳. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۲۰

پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۱

انتشار آنلاین: ۱۳۹۶/۱۱/۲۹

موضوع:

میکروب شناسی مولکولی

IJMM1396;11(6): 178-183

نویسنده مسئول:

احمد راشکی

گروه پاتوبیولوژی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تلفن: ۰۵۴- ۲۴۲۸۲۲۵۰

پست الکترونیک:

ah_rashki@usal.es

چکیده

زمینه و هدف: *کلبسیلا پنومونیه* که باعث عفونت‌های دستگاه گردش خون و ادرار می‌شود حاوی چندین ژن کدکنندهٔ عوامل بیماری‌زا است. عواملی مثل توانایی اتصال به سطوح، وجود گیرنده‌های سیدروفور، سیستم جذب آهن و تنظیم فنوتیپ مخاطی جزء اساسی‌ترین فاکتورهای دخیل در ایجاد بیماری از سوی *کلبسیلا پنومونیه* هستند. این مطالعه با هدف تعیین میزان حضور ژن‌های کدکنندهٔ این فاکتورهای بیماری‌زا در *کلبسیلا پنومونیهٔ* جداشده از بیماران بستری‌شده با روش Multiplex-PCR انجام شد.

مواد و روش‌کار: در این مطالعهٔ توصیفی، فراوانی ژن‌های بیماری‌زای *irp2*، *wcaG*، *rmpA*، *allS* و *fimH* در ۱۰۰ ایزولهٔ *کلبسیلا پنومونیهٔ* جمع‌آوری شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی زاهدان با روش Multiplex-PCR در سال ۱۳۹۳بررسی شد.

یافته‌ها: درمجموع از ۱۰۰ ایزولهٔ *کلبسیلا پنومونیهٔ* مطالعه‌شده، ژن *allS* با ۹۰٪ بیشترین فراوانی و ژن *rmpA* با ۶٪ کمترین فراوانی ژنی را داشتند. فراوانی ژنی برای ژن‌های *fimH*، *irp2* و *wcaG* به‌ترتیب ۸۸٪، ۸۷٪ و ۳۳٪ گزارش گردید.

نتیجه‌گیری: *alS*، *irp2*، *fimH* و *wcaG* شایع‌ترین ژن‌های کدکنندهٔ فاکتورهای حدت در ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیهٔ* جدا شده از بیماران تحت مطالعه در زاهدان است. این مسئله می‌تواند اطلاعاتی در رابطه با اهمیت آن‌ها در آسیب‌شناسی عفونت‌ها که منجر به دستیابی به درمان‌های مؤثر می‌شود در اختیار محققین قرار دهد.

کلمات کلیدی: *کلبسیلا پنومونیه*، فاکتورهای بیماری‌زایی، روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

عفونت باکتریایی از علل عمدهٔ بستری بیماران در بیمارستان‌ها و احتمالا بزرگترین علت مرگ‌ومیر در جامعه است (۱). نوزادان و افراد کهنسال از مهمترین گروه‌های سنی مستعد به عفونت‌های باکتریایی هستند (۱). *کلبسیلا پنومونیه* از مهمترین عوامل ایجادکنندهٔ عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان‌ها است (۲). این باکتری اگرچه گاهی بی‌ضرر به‌نظر می‌رسد، اما چندین سویه از آن ژن‌های بیماری‌زا را به‌دست آورده‌اند که به آن‌ها خاصیت بیماری‌زایی می‌بخشد (۳). به‌نظر می‌رسد سویه‌های بیماری‌زای *کلبسیلا پنومونیه* که قابلیت بیماری‌زایی در دستگاه ادراری، دستگاه تنفسی (۴) و خون (۵) را دارند از عامل ذات‌الریه و شوک-های سپتیک تهدیدکنندهٔ زندگی هستند. این سویه‌ها ویژگی‌های ویرولانس مختلفی از خود نشان می‌دهند که در کلونیزاسیون سطوح مخاطی میزبان و مهار دفاع میزبانی نقش دارند (۵، ۶). از مهمترین عوامل بیماری‌زایی این سویه، می‌توان به آنتی‌ژن O، آنتی‌ژن K، فاکتورهای مربوط به سیستم جمع‌کنندهٔ آهن، آدهسین‌ها و سنتز سیتوتوکسین‌ها اشاره کرد (۷). ژن‌های مختلفی فاکتورهای ویریولانس از جمله سیستم جذب آهن (*irp2*، *allS*)، آدهسین‌ها (*fimH*)، کپسول‌ها (*wcaG*) و *rmpA* به‌عنوان

Downloaded from ijmm.ir at 12:40 +0430 on Monday June 25th 2018

عامل فنوتیپ مخاطی را کد می‌کنند (۸). پروتئین ادهسین فیمبریا (fim)، یک نقش مرکزی را در بیماری‌زایی *کلبسیلا پنومونیه* ازطریق حمله به سلول‌های مخاطی دستگاه تنفسی، دستگاه ادراری - روده‌ای بازی می‌کند، که باعث کلونیزاسیون و تکثیر باکتری در لایهٔ مخاطی سلول‌های میزبان می‌شود. برخی از ژن‌ها همچون *irp2* ، *allS* *wcaG* و *rmpA* که به‌عنوان فاکتور بیماری‌زا- نقش مهمی را در پاتوژنز سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* و ایجاد بیماری به‌عهده دارند (۸). داشتن اطلاعات درخصوص فراوانی فاکتورهای ویرولانس و نحوهٔ توزیع آنها در مناطق جغرافیایی مختلف می‌تواند اطلاعات جامع دربارهٔ میزان توزیع سویه‌های واجد فاکتورهای بیماری‌زا در اختیار اپیدمیولوژیست‌ها قرار دهد. همچنین این داده‌ها، کمک شایانی به مراکز درمانی و بیمارستانی برای اقدام سریع و به‌موقع در اتخاذ تصمیمات صحیح می‌نماید(۹، ۱۰). بنابراین مطالعهٔ حاضر به‌منظور تعیین میزان فراوانی ژن‌های کدکنندهٔ فاکتورهای ویرولانس سیستم جذب آهن (*irp2*، *allS*)، آدهسین‌ها (*fimH*)، کپسول (*wcaG*) و *rmpA* به عنوان عامل فنوتیپ مخاطی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ و شناسایی نمونه‌ها

این مطالعه از نوع مقطعی- توصیفی بوده و جامعه بررسی شده ۱۵۸۰ نمونه کلینیکی (خون، چرک، ادرار و ترشحات دستگاه تنفسی) بیماران بستری‌شده در بیمارستان‌های آموزشی زاهدان در سال ۱۳۹۳ بود. در این بررسی ایزوله های کلبسیلا پنومونیه جداشده با روش های استاندارد میکروب شناسی و آزمایش های بیوشیمیایی رایج ازجمله رنگ‌آمیزی گرم، رشد بر روی محیط مکانکی و EMB، اکسیداز، سیترات، اوره، لیزین، اورنیتین دی کربوکسیلاز، TSI، SIM، MR، VP و مولکولی (استفاده از پرایمرهای اختصاصی)درآزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی زابل مورد شناسایی قرار گرفته و تایید شدند. نمونه های خون در محیط TSB حاوی ماده ضد انعقاد سیترات کشت و به مدت یک هفته در درجه حرارت°C ۳۷ نگهداری شدند.

استخراج DNA ژنومی

ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* در لولهٔ حاوی ۵mL محیط کشت LB (Luria-Bertani broth) به‌مدت ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C کشت داده شدند. سپس نمونه به‌مدت ۱ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. بعد از خارج کردن مایع رویی، ۲ بار با 1mL محلول PBS (1X) (Phosphate Buffer Salin) شستشو داده شد. در این مرحله ۱۰۰mcl آب مقطر استریل به تیوب اضافه و نمونه به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵°C داخل ترمومیکسر (اپندورف، آلمان) قرار گرفت. مجددا به‌مدت ۵ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰rpm سانتریفیوژ و سپس مایع رویی به تیوب جدید منتقل شد. DNA استخراج شده در دمای ۲۰°C– نگهداری شد. وجود DNA در مایع رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر (اپندورف، آلمان) و با بررسی جذب در ۲۶۰nm تحت بررسی قرار گرفت (۱۱).

واکنش Multiplex-PCR

برای شناسایی وجود ژن‌های کدکنندهٔ فاکتورهای حدت *irp2*، *alS*، *wcaG*، *rmpA* ، در ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* از تکنیک Multiplex-PCR استفاده شد. پرایمرهای استفاده شده درمطالعه در جدول (۱) آمده است. همچنین از ژن *16S-23SrRNA* به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد. واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) انجام گردید. برای انجام فرایند PCR آنزیم Master Mix RED ×۲ (پیشگام، ایران) خریداری شد. در این واکنش ۵۰ ng از DNA الگو، ۲mM MgCl2 ، ۰/۱۱ ٪ Tween ۲۰، ۰/۲۲ mM از هر نوکلئوتید (dNTP)، ۰/۱۱ واحد در میکرولیتر Ampliqon Taq DNA polymerase ۱۰pM از پرایمرهای Forward و Reverse را با یکدیگر مخلوط و حجم نهایی با آب مقطر ۲ بار تقطیر به ۲۵µl رسانده شد. برنامهٔ اجرایی سیکل‌های PCR واجد مراحل زیر بود: واسرشت‌سازی (denaturation) اولیه در ۹۴°C به‌مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل تکثیر شامل واسرشت‌سازی در ۹۴°C به‌مدت ۳۰ ثانیه و اتصال پرایمرها (annealing) به DNA الگو در ۵۹°C به‌مدت ۵۰ ثانیه و طویل شدن رشته الگو (extension) در ۷۲°C به‌مدت ۷۰ ثانیه و طویل شدن نهایی (final extension) به‌مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲°C انجام شد. پس از انجام واکنش۵uL از محصولات واکنش در ژل آگارز ۲٪ به‌مدت ۴۰ دقیقه باولتاژ ۸۰ الکتروفورز شد و قطعات تکثیرشده با استفاده از نشانگر Ladder100 ارزیابی شد. در پایان، نتایج با استفاده از آزمون فیشر تجزیه‌وتحلیل شدند.

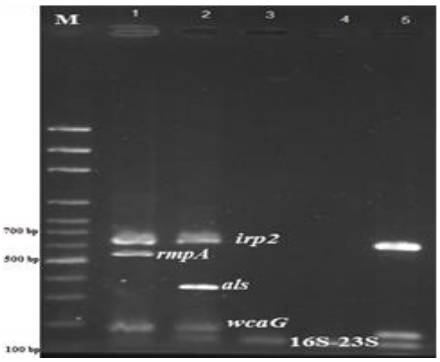
Downloaded from ijmm.ir at 12:40 +0430 on Monday June 25th 2018

جدول۱. پرایمرهای استفاده‌شده در این مطالعه

ژن		توالی پرایمرها (5′-3′)	دما	اندازه
alS	F	TGCGCATGGCTCAAATGGGGAA	59	(357 bp)
	R	TGACTGCCTTGCTCATGCACAG	59	
rmpA	F	ACTGGGCTACCTCTGCTTCA	59	(535pb)
	R	CTTGCATGAGCCATCTTTCA	59	
wcaG	F	GGTTGGGTCAGCAATCGTA	59	(169bp)
	R	ACTATTCCGCCAACTTTTGC	59	
irp2	F	AGCATCGCCTGCTAAAACTGAA	59	(623bp)
	R	CAGACGATGCAGGGCGTTATTA	59	
fimH	F	ATTCCTCACAATCAGCGCACTT	59	(170bp)
	R	ATCAGCAGTACAGCAAACAGGG	59	
16S-23S rRNA	F	ATTTGAAGAGGTTGCAAACGAT	59	(133bp)
	R	TTCACCTAAGTTTTCTTGTGTTC	59	

یافته‌ها

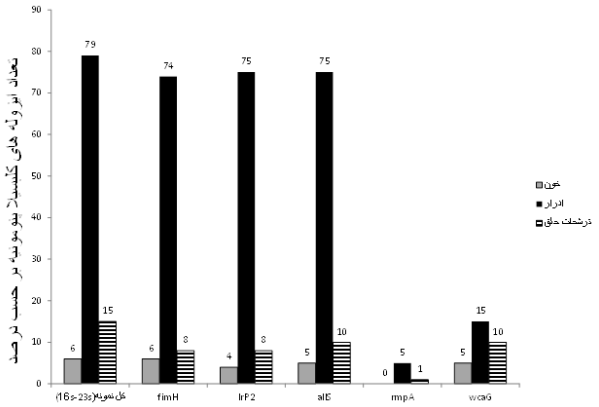
در تجزیه‌وتحلیل واکنش زنجیرهٔ پلیمراز طیف ژن‌های ویرولانس از ۶٪ برای ژن *rmpA* تا ۹۰٪ برای ژن *allS* متغیر بود (نمودار ۱). تمامی ایزوله‌های جداشده حاوی ناحیهٔ فاصله‌انداز رونویسی‌شوندهٔ داخلی (ITS) نشانگر مولکولی 16S-23S rRNA بودند که نشان‌دهندهٔ صحت انجام تست‌های تشخیصی *کلبسیلا پنومونیه* بود (شکل ۱).



شکل ۱. نمونه‌ای از Multiplex-PCR بارگذاری شده روی ژل آگارز ۲٪

ژن‌های *16S-23S rRNA* (133bp)، *irp2* (623bp)، *wcaG* (169bp)، *rmpA* (535pb) و *alS* (357bp) در دمای ۵۹° C

از ۲ ژن کدکنندهٔ سیستم جذب آهن مطالعه‌شده، *allS* در مقایسه با *irp2* در تعداد بیشتری از ایزوله‌ها شناسایی شد (۹۰٪ در مقایسه با ۸۷٪) ولی تفاوت قابل ملاحظه‌ای دیده نشد. از میان ۱۰۰ ایزولهٔ *کلبسیلا پنومونیهٔ* مطالعه‌شده، ژن *wcaG* در ۳۰٪ و ژن *rmpA* در ۶٪ مشاهده شد (نمودار ۱). در این مطالعه مشخص شد که در بین ایزوله‌های بررسی‌شده، فراوانی ژن *allS* بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده است و فراوانی ژن‌های آدهسین (*fimH*)، سیستم جذب آهن (*irp2*)، کپسول پلی ساکاریدی (*wcaG*)، فنوتیپ مخاطی A (*rmpA*) به‌ترتیب در رده‌های بعدی قرار داشتند. علاوه بر آن نمودار ۱ نشان داد که ۶۶٪ (۱۰ ایزوله از ۱۵ ایزوله) ایزوله‌های جداشده از ترشحات تنفس، ۱۹٪ (۱۵ ایزوله از ۷۹ ایزوله) ایزوله‌های جداشده از ادرار و ۸۶٪ (۵ ایزوله از ۶ ایزوله) ایزوله‌های جداشده از خون، ژن *wcaG* را داشتند. ژن *rmpA* به‌ترتیب در ۶٪ و ۷٪ ایزوله‌های جداشده از نمونه‌های ادرار و خون دیده شد. ژن *allS* در ۹۵٪ ایزوله‌های ادراری، در ۸۳٪ و ۶۷٪ ایزوله‌های جداشده از نمونه‌های خون و ترشحات تنفسی یافت شد. تمامی ایزوله‌های جداشده از خون حاوی ژن *fimH* بودند.



نمودار ۱. درصد فراوانی ژن‌های بررسی‌شده در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه به تفکیک محل جداسازی

Downloaded from ijmm.ir at 12:40 +0430 on Monday June 25th 2018

بحث

این مطالعه برای اولین بار بر روی ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیهٔ* جداشده از بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی زاهدان براساس شایع‌ترین فاکتورهای ویرولانس انجام گرفت. در این پژوهش مشخص شد که ژن *allS* با ۹۰٪ بیشترین فراوانی و ژن *rmpA* با ۶٪ کمترین فراوانی ژنی را در بین ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* در شهرستان زاهدان داشت. فراوانی ژنی برای ژن‌های *fimH*، *irp2* و *wcaG* به‌ترتیب ۸۸٪، ۸۷٪ و ۳۰٪ مشاهده شد. نتایج این پژوهش با آنچه در سایر کشورها انجام شده به‌جز ژن *rmpA* مطابقت دارد، که ممکن است این ژن‌ها نقش مهمی را در ایجاد بیماری در سویه‌های دربرگیرندهٔ این ژن‌ها ایفا کنند (۱۲-۱۴).

در تحقیقی که در تایوان صورت گرفت، فراوانی ژن *rmpA* به میزان ۴۸٪ گزارش شد (۱۲). در گزارشی دیگر در تایوان، میزان فراوانی ژن *rmpA* در سویه‌های *کلبسیلا پنومونیهٔ* تولیدکنندهٔ ESBL ۷۱٪ و در سویه‌های غیر ESBL فراوانی آن ۴۳٪ بود (۱۳). در مطالعه‌ای که از Kuo-Ming Yeh و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام شد، میزان فراوانی ژن‌های *rmpA* و *magA* به‌ترتیب ۶۵٪ و ۳۴٪ گزارش شد (۱۵). نتایج مطالعهٔ حاضر فراوانی کمتری را برای ژن *rmpA* نسبت به ۳ مطالعهٔ فوق نشان می‌دهد که مهمترین دلیل آن ممکن است تفاوت سروتیپ‌های ایزوله‌های غالب این منطقه باشد. ژن *rmpA* در خوشهٔ ژنی *cps* capsular (polysaccharide synthesis) سروتیپ k1 *کلبسیلا پنومونیه* قرار دارد (۱۶-۱۸)

در تحقیقی که از سوی El Fertas-Aissani و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام شد، ژن‌های *fimH* و *irp2* به‌ترتیب ۱۰۰٪ و ۸۸٪ گزارش شد که با تحقیق حاضر تقریبا مطابقت دارد (۱۹). در مطالعهٔ حاضر ژن *allS* به‌ترتیب در ۹۵٪، ۸۳٪ و ۶۷٪ ایزوله‌های جداشده از ادرار، ترشحات حلق و خون یافت شد. همچنین در مطالعه‌ای که بر روی ۱۲ ایزولهٔ جداشده از آبسه‌های کبدی انجام گرفت، میزان فراوانی ژن *allS* در تمام نمونه‌ها مشاهده شد که با تحقیق حاضر تقریبا مطابقت دارد (۲۰). درحالی‌که ژن *allS* در هیچ‌کدام از ۲۶ ایزوله‌های جداشده از سوی Lin و همکاران مشاهده نشد (۲۱). Chou و همکاران در سال ۲۰۰۴ عنوان کردند که ژن *allS* بیشتر در ایزوله‌های جداشده از آبسه‌های کبدی دیده می‌شود (۲۲)، درحالی‌که در مطالعهٔ حاضر در ۹۵٪ ایزوله‌های جداشده از ادرار مشاهده شد. وجود ژن‌های کدکنندهٔ فاکتورهای حدت مطالعه‌شده در ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیهٔ* جداشده از منابع مختلف، می‌تواند نشان‌دهندهٔ وجود پتانسیل خطر بالای این پاتوژن در بیماران مبتلا به عفونت‌های بیمارستانی باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش بخشی از پایان‌نامهٔ بهمن هرمزی، دانشجوی کارشناسی ارشد رشتهٔ ژنتیک دانشگاه زابل با کد اخلاق IR-UOZ-93008 است. بدین‌وسیله از حمایت بخش میکروب‌شناسی دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه زابل و دوستانی که ما را در اجرای این تحقیق صمیمانه یاری داده‌اند تقدیر و تشکر می‌کنیم.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Abate G, Koh T-H, Gardner M, Siu LK. Clinical and bacteriological characteristics of Klebsiella pneumoniae causing liver abscess with less frequently observed multi-locus sequences type, ST163, from Singapore and Missouri, US. J Microbiol Immunol Infect. 2012;45(1):31-6.
2. Maki DG, Tambyah PA. Engineering out the risk for infection with urinary catheters. Emerg Infect Diseases. 2001;7(2):342-7.
3. Runcharoen C, Moradigaravand D, Blane B, Paksanont S, Thammachote J, Anun S, et al. Whole genome sequencing reveals high-resolution epidemiological links between clinical and environmental Klebsiella pneumoniae. Genome medicine. 2017;9(1):6.
4. Yan Q, Zhou M, Zou M, Liu W-e. Hypervirulent Klebsiella pneumoniae induced ventilator-associated pneumonia in mechanically ventilated patients in China. Eur J Clin Microbiol Infect Dis . 2016;35(3):387-96.
5. Victor LY, Hansen DS, Ko WC, Sagnimeni A, Klugman KP, Von Gottberg A, et al. Virulence characteristics of Klebsiella and clinical manifestations of K. pneumoniae bloodstream infections. Emerging infectious diseases. 2007;13(7):986.
6. Candan ED, Aksöz N. Klebsiella pneumoniae: characteristics of carbapenem resistance and virulence factors. Acta Biochim Pol. 2015;62(4):867-74.
7. Fang C-T, Chuang Y-P, Shun C-T, Chang S-C, Wang J-T. A novel virulence gene in Klebsiella pneumoniae strains causing primary liver abscess

Downloaded from ijmm.ir at 12:40 +0430 on Monday June 25th 2018

and septic metastatic complications. J Exp Med. 2004;199(5):697-705.

8. Melo RdCA, de Barros EMR, Loureiro NG, de Melo HRL, Maciel MAV, Lopes ACS. 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.

9. Brisse S, Fevre C, Passet V, Issenhuth-Jeanjean S, Tournebize R, Diancourt L, et al. Virulent clones of Klebsiella pneumoniae: identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. PloS one. 2009;4(3):e4982.

10. Seibert G, Hörner R, Meneghetti BH, Righi RA, Forno NLFD, Salla A. Nosocomial infections by Klebsiella pneumoniae carbapenemase producing enterobacteria in a teaching hospital. Einstein (São Paulo). 2014;12(3):282-6.

11. Tarchouna M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadida J. Distribution of uropathogenic virulence genes in Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection. Int J Infect Dis. 2013;17(6):e450-e3.

12. Yu W-L, Ko W-C, Cheng K-C, Lee H-C, Ke D-S, Lee C-C, et al. Association between rmpA and magA genes and clinical syndromes caused by Klebsiella pneumoniae in Taiwan. Clin Infect Dis. 2006;42(10):1351-8.

13. Afrough P, Pourmand MR, Zeinalinia N, Yousefi M, Abdossamadi Z, Bagherzadeh Yazdchi S. Molecular typing of clinical and nasal carriage isolates of staphylococcus aureus by spa gene patterns. J Mazandaran Univ Med Sci. 2012;22(94):28-34.

14. Yu W-L, Lee M-F, Tang H-J, Chang M-C, Chuang Y-C. Low prevalence of rmpA and high tendency of rmpA mutation correspond to low virulence of extended spectrum β-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae isolates. Virulence. 2015;6(2):162-72.

15. Yeh K-M, Kurup A, Siu L, Koh Y, Fung C-P, Lin J-C, et al. Capsular serotype K1 or K2, rather than magA and rmpA, is a major virulence determinant for Klebsiella pneumoniae liver abscess in Singapore and Taiwan. J Clin Microbiol. 2007;45(2):466-71.

16. Chuang Y-P, Fang C-T, Lai S-Y, Chang S-C, Wang J-T. Genetic determinants of capsular serotype K1 of Klebsiella pneumoniae causing primary pyogenic liver abscess. Int J Infect Dis. 2006;193(5):645-54.

17. Struve C, Bojer M, Nielsen EM, Hansen DS, Krogfelt KA. Investigation of the putative virulence gene magA in a worldwide collection of 495 Klebsiella isolates: magA is restricted to the gene cluster of Klebsiella pneumoniae capsule serotype K1. J Med Microbiol. 2005;54(11):1111-3.

18. Yeh K-M, Chang F-Y, Fung C-P, Lin J-C, Siu L. magA is not a specific virulence gene for Klebsiella pneumoniae strains causing liver abscess but is part of the capsular polysaccharide gene cluster of K. pneumoniae serotype K1. J Med Microbiol. 2006;55(6):803-4.

19. El Fertas-Aissani R, Messai Y, Alouache S, Bakour R. Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of Klebsiella pneumoniae strains isolated from different clinical specimens. Pathologie Biologie. 2013;61(5):209-16.

20. Decre D, Verdet C, Emirian A, et al. Emerging severe and fatal infections due to Klebsiella pneumoniae in two university hospitals in France. *J Clin Microbiol*. 2011 Aug;49(8):3012-3014.

21. Lin J-C, Koh TH, Lee N, Fung C-P, Chang F-Y, Tsai Y-K, et al. Genotypes and virulence in serotype K2 Klebsiella pneumoniae from liver abscess and non-infectious carriers in Hong Kong, Singapore and Taiwan. Gut Pathogens. 2014;6(1):21.

22. Chou H-C, Lee C-Z, Ma L-C, Fang C-T, Chang S-C, Wang J-T. Isolation of a chromosomal region of Klebsiella pneumoniae associated with allantoin metabolism and liver infection. Infection and immunity. 2004;72(7):3783-92.