Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences

Javanbakhat, et al. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2025;46(6):659-669.
doi: 10.34172/mj.025.33401
https://mj.tbzmed.ac.ir

TUOMS PRESS

Original Article

Resistance to fluoroquinolones among Klebsiella pneumoniae isolates collected from patients referred to the teaching hospitals of Ardabil, Iran in 2020

Parisa Javanbakhat[1], Jafar Mohammadshahi[2], Amir Teimourpour[3], Furugh Babazadeh[1], Peyman Johari[4], Roghayeh Teimourpour[5*]

[1]MSc Student, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
[2]Department of Infectious Disease, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
[3]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education, Tehran, Iran
[4]MD Student, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
[5]Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

ARTICLE INFO

Article History:
Received: 03/Sep/2023
Accepted:29/Jan/2024
ePublished: 17/Nov/2024

Keywords:
- Klebsiella pneumoniae
- Ciprofloxacin
- Minimal inhibitory concentration

Abstract

Background. Klebsiella pneumoniae (KP) is one of the most important causes of hospital-acquired infection and one of the most important causes of ventilator-associated pneumonia. During the present study, we investigated the resistance to fluoroquinolones among *KP* isolates collected from patients referred to hospitals affiliated with Ardabil University of Medical Sciences in 2020.

Methods. In this descriptive, cross-sectional study, the minimum inhibitory concentration (MIC) of ciprofloxacin (CLX) was determined by the agar dilution method, and mutations in the *gyrA* and *parC* genes and the presence of resistance genes, such as *accA*, *qnr*, and *qepA*, were evaluated using the polymerase chain reaction method.

Results. Out of 100 isolates, 43% (n=43) were resistant to CLX. The MIC range of CLX was 0.5 µg/mL to 1024 µg/mL. Isolates with a high MIC of CLX were investigated for mutations in the *gyrA* and *parC* genes. In the investigation of mutations in *gyrA*, a substitution from serine to isoleucine was observed at position 83, while no mutation was found in *parC*. In 10 isolates (10%), the presence of the *aac (6')-Ib-cr* gene was detected, while *qepA* and *qnr* resistance genes were not observed in any of the isolates.

Conclusion. Based on the findings, a high frequency of the *aac (6')-Ib-cr* gene was reported in this study. Since this gene is located on a plasmid, it can be easily transferred between *KP* strains in a hospital setting and leads to the spread of resistance to fluoroquinolones.

Practical Implications. The emergence of bacterial resistant strains is on the rise and has become a serious public health problem worldwide. Infection with these strains leads to complicated diseases with worse outcomes, prolonged hospitalization, increased healthcare costs, an increased need to use second-line drugs with costs, and treatment failures.

How to cite this article: Javanbakhat P, Mohammadshahi J, Teimourpour A, Babazadeh F, Johari P, Teimourpour R. Resistance to fluoroquinolones among Klebsiella pneumoniae isolates collected from patients referred to the teaching hospitals of Ardabil, Iran in 2020. *Med J Tabriz Uni Med Sciences.* 2025;46(6):659-669. doi: 10.34172/mj.025.33401. Persian.

*Corresponding author; Email: r.teymourpour@gmail.com
© 2025 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

Extended Abstract

Background

Klebsiella pneumoniae (KP) is a member of the Enterobacteriaceae family involved in nosocomial infections such as ventilator-associated pneumonia, urinary tract infection, wound *infection, meningitis, bacteremia, and sepsis, mainly in immunocompromised individuals. Diabetes, alcoholism, malignancy, liver disease, and glucocorticoid therapy are the main risk factors for developing infections related to KP. Ciprofloxacin (CLX) is the most widely used fluoroquinolone in the treatment of microbial infections*. In recent years, resistance to this antibiotic has increased due to its high use. Resistance to fluoroquinolones occurs through several mechanisms, the most important of which is mutation in quinolone resistance-determining regions, which is a genetic region containing *gyrA* and *gyrB* genes (coding for DNA gyrases), as well as *parC* and *parE* genes (coding for topoisomerase IV). In addition, plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) has also been identified. The genes related to PMQR are the *qnrA*, *qnrB*, and *qnrS* genes, which encode qnr proteins and are DNA gyrase and topoisomerase enzymes. Another mechanism of resistance to fluoroquinolones is the *acc(6)-Ib-cr* gene, which encodes the aminoglycoside transferase enzyme that acetylates and inactivates the antibiotic. The present work investigated resistance to fluoroquinolones among *KP* isolates recovered from patients admitted to teaching hospitals affiliated with Ardabil University of Medical Sciences.

Methods

In this cross-sectional descriptive study, after obtaining the ethical code and written informed consent from patients, *KP* isolates (n = 100) were isolated from clinical samples, including urine, wound aspirate, tracheal aspirate, body fluids, and blood. Biochemical and molecular methods were employed for the identification of *KP* strains. The inclusion criteria were patients who had a clinically positive culture with respect to *KP*, while the exclusion criteria were people whose clinical culture showed bacteria other than *KP* and patients who had taken antibiotics. Antimicrobial susceptibility against imipenem 10 µg, meropenem 10 µg, CLX 5 µg, amikacin 30 µg, gentamicin 10 µg, ceftazidime 30 µg, cefotaxime 30 µg, cefazolin 30 µg, and cefepime 30 µg (Padtan Teb. Iran) were measured using the disk diffusion method, according to CLSI 2019 guidelines. In this test, *Escherichia coli (E. coli)* ATCC25922 was used as the control. Resistance to at least three classes of antibiotics was defined as multiple drug resistance (MDR). The minimum inhibitory concentration (MIC) of CLX was measured using the agar dilution method, and mutations in the *gyrA* and *parC* genes and the presence of resistance genes, such as *accA*, *qnr*, and *qepA*, were evaluated using the polymerase chain reaction method.

Results

Out of 100 isolates, 49% (n = 49) were MDR strains, and 43% (n = 43) were resistant to CLX. The MIC range of CLX was 0.5 µg/mL to 1024 µg/mL. Isolates with a high MIC of CLX were investigated for mutations in *gyrA* and *parC* genes. In the study of mutations in *GyrA*, a substitution from serine to isoleucine was observed at position 83, while no mutation was found in *ParC*. About 10% of the isolates harbored plasmids containing the *aac (6')-Ib-cr* gene, while *qepA* and *qnr* resistance genes were not found in any of the isolates. The *aac(6')-Ib-cr* gene was submitted in the GenBank with the code OM831130.1.

Conclusion

Antibiotic resistance is an ongoing problem worldwide. Gram-negative bacteria, especially *Enterobacteriaceae* family members, have developed the broadest spectrum of resistance to the most available antibiotics through different mechanisms such as active efflux pumps, decreased permeability,

antibiotic–depredating enzymes, target modification, and antibiotic neutralization. *KP* is one of the most important causes of hospital-acquired infection, especially in the intensive care unit and neonatal intensive care unit, and can cause opportunistic infection in people who have underlying diseases such as diabetes and chronic pulmonary obstruction disease. This bacterium is the second most important cause of urinary tract infection after *E. coli*, and along with *Acinetobacte baumannii*, it develops life-threating pulmonary complications in a person who is on a ventilator. Many strains of *KP* have broad-spectrum beta-lactamases, including extended-spectrum beta-lactamases, AmpC cephalosporinases, and carbapenemases, which are involved in resistance to third-generation cephalosporin and carbapenem antibiotics. Carbapenem-resistant *KP* (CRKP) has emerged as a major threat due to its ability to cause severe and untreatable infections in immunocompetent or immunocompromised individuals. Although the best treatment for managing CRKP infections is not well understood, the use of non-beta-lactam classes of antibiotics such as fluoroquinolones as monotherapy or in combination may be useful. Fluoroquinolones have broad-spectrum activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria and have been widely used since the 1980s. It can be utilized as a choice against CRKP strains. However, currently, resistance to this class of antibiotic has quickly risen due to its misuse and overuse, thereby limiting the available therapeutic options and treatment failure. In the present work, high-level resistance to CLX was observed, limiting treatment options for combating *KP*-mediated infections. *aac (6')-Ib-cr* is a plasmid-mediated resistance gene that was detected in 10% of isolates; therefore, it can be easily transmitted through a horizontal gene transfer mechanism. In this regard, the isolation of patients who are infected with these hypervirulent strains should be critically noted.

جوانبخت و همکاران. *مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز*. بهمن و اسفند ۱۴۰۳؛۴۶(۶):۶۵۹-۶۶۹.
doi:10.34172/mj.025.33401
https://mj.tbzmed.ac.ir

مقاله پژوهشی

مقاومت به فلوروکینولون‌ها در بین ایزوله‌های کلبسیلا *پنومونیه* جدا شده از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اردبیل در سال ۱۳۹۸

پریسا جوانبخت[۱]، جعفر محمدشاهی[۲]، امیر تیمورپور[۳]، فروغ بابازاده[۱]، پیمان جوهری[۴]، رقیه تیمورپور[۵*]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
[۲]گروه بیماریهای عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
[۳]مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی تحقیقات و آموزش، تهران، ایران
[۴]دانشجوی پزشکی عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
[۵]گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:
دریافت:۱۴۰۲/۰۶/۱۲
پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۹
انتشار برخط: ۱۴۰۳/۰۸/۲۷

کلید واژه‌ها:
- کلبسیلا پنومونیه
- سیپروفلوکسازین
- حداقل غظت مهارکنندگی

چکیده

زمینه. کلبسیلا پنومونیه از عوامل مهم عفونت بیمارستانی و یکی از مهمترین عوامل ایجادکننده پنومونی مرتبط با ونتیلاتور می‌باشد. در این مطالعه مقاومت به فلوروکینولون‌ها در بین ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اردبیل در سال ۱۳۹۹ مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار. در این مطالعه مقطعی-توصیفی حداقل غظت مهارکنندگی (MIC) سیپروفلوکسازین با روش آگار دایلوشن مشخص و موتاسیون در ژن‌های gyrA , parC و حضور ژن‌های مقاومت مانند aac (6')-Ib-cr ، qnr و qepA با روشPCR بررسی گردید.

یافته‌ها. از کل ۱۰۰ ایزوله مورد بررسی، ۴۳ درصد (تعداد=۴۳) ایزوله‌ها نسبت به سیپروفلوکسازین مقاوم بودند. رنج MIC سیپروفلوکسازین بین ۰/۵µg/ml تا بالای ۱۰۲۴µg/ml بود. ایزوله‌های با MIC بالای سیپروفلوکسازین از نظر موتاسیون در ژن‌های gyrA و parC مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی موتاسیون در gyrA، تغییر اسیدآمینه از سرین به ایزولوسین در موقعیت ۸۳ مشاهده گردید؛ در حالی‌که هیچ موتاسیونی در ژن parC مشاهده نشد. در ۱۰ ایزوله (۱۰ درصد) ژن مقاومت aac (6')-Ib-cr شناسایی گردید، در حالی‌که در هیچکدام از ایزوله‌ها ژن‌های مقاومتqnr , qepA مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری. در این مطالعه ۴۹ درصد از ایزوله‌ها دارای مقاومت چندگانه بودند. همچنین، فراوانی بالای ژن aac (6')-Ib-cr در میان یافته‌ها مشاهده گردید. از آنجایی‌که این ژن روی پلاسمید قرار دارد، به‌راحتی بین سویه‌های کلبسیلا پنومونیه منتقل شده و منجر به گسترش مقاومت نسبت به فلوروکینولون‌ها می‌شود.

پیامدهای‌عملی. این مطالعه دانش ما را در مورد میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین به عنوان یک گزینه درمانی در میان سویه‌های بومی کلبسیلا پنومونیه افزایش می‌دهد.

مقدمه

امروزه یکی از مشکلات مطرح و قابل توجه بهداشت جهانی، افزایش شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی عوامل بیماری‌زا در جمعیت‌های مختلف انسانی می‌باشد که عامل اصلی بروز این مقاومت مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها است. این امر موجب پیدایش و انتشار عوامل بیماری‌زای مقاوم و ژن‌های مقاومت در آنها می‌شود. *کلبسیلا پنومونیه* (*Klebsiella pneumoniae*) یک باسیل گرم منفی روده‌ای از خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد که بخشی از میکروفلور طبیعی بدن انسان را تشکیل می‌دهد. حدود

*نویسنده مسؤول؛ ایمیل: r.teymourpour@gmail.com

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز CC BY 4.0 (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

یک سوم افراد سالم، ناقل روده‌ای این میکروب هستند.[1] شایع‌ترین شرایط ایجاد شده توسط باکتری‌های کلبسیلا در خارج از بیمارستان، پنومونی است که به‌طور معمول به شکل برونکوپنومونی و همچنین برونشیت تظاهر می‌کند. این بیماران تمایل بیشتری به ابتلا به آبسه ریه، آمپیم و چسبندگی پلور دارند. کلبسیلا پنومونیه به عنوان یک پاتوژن فرصت‌طلب به دنبال مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و یکی از مهم‌ترین باکتری‌های دخیل در عفونت‌های بیمارستانی مطرح می‌باشد. امروزه به دلیل مقاومت آنتی‌بیوتیکی به داروهای خط اول، کینولون‌ها و فلوروکینولون‌ها داروهای انتخابی درمان عفونت‌های اداری ناشی از این باکتری را تشکیل می‌دهند.[2] در سال‌های اخیر مقاومت بالایی نسبت به داروها به‌ویژه در ارتباط با حضور ژن‌های وابسته به پلاسمید بروز نموده و درمان عفونت‌های یاد شده را بسیار پیچیده کرده است. سیپروفلوکسازین بیشترین فلوروکینولون مورد استفاده در درمان عفونت‌های میکروبی می‌باشد. در طول چندین سال گذشته، به‌دلیل استفاده زیاد از این آنتی‌بیوتیک مقاومت نسبت به آن افزایش یافته است. مقاومت نسبت به فلورکینولون‌ها از طریق چندین مکانیسم صورت می‌گیرد که مهم‌ترین آن موتاسیون در ناحیه Quinolone Resistance Determining Regions (QRDR) که منطقه ژنتیکی حاوی ژن‌های *gyrA* and *gyrB* genes (کد کننده DNA gyrases) و *parC* and *pare* genes (کد کننده topoisomerase IV) است. علاوه بر این، پلاسمیدهای مرتبط با مقاومت نیز شناسایی شده است Plasmid-Mediated Quinolone Resistance (PMQR). ژن‌های مرتبط با PMQR شامل *qnrA*, *qnrB* and *qnrS* هستند که پروتئین‌های *qnr* proteins را کد می‌کنند. این پروتئین‌ها از آنزیم‌های DNA gyrase و topoisomerase IV در مقابل آنتی‌بیوتیک محافظت می‌کنند. از دیگر مکانیسم‌های مقاومت نسبت به فلورکینولون‌ها ژن *acc(6)-Ib-cr* gene است. این ژن آنزیم transferase aminoglycoside را کد می‌کند که آنتی‌بیوتیک را استیله و غیرفعال می‌نماید. ژن‌های *qepA*, *oqxAB* پمپ‌های ایفلاکس (pump efflux) را کد می‌کنند که در بیرون راندن و خروج آنتی‌بیوتیک از داخل به خارج سلول و ایجاد مقاومت نقش دارد. مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید (PMQR) به دلیل گسترش سریع در بین انتروباکتریاسه‌ها نقش بسیار مهمی در مقاومت به این داروها ایفا می‌نماید.[3,4] پلاسمیدها عناصر ژنتیکی خارج کروموزومی هستند که یکی از عوامل عمده القای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها می‌باشند. به تازگی سه مکانیسم مقاومت وابسته به پلاسمید برای کینولون‌ها توصیف شده است که مهم‌ترین آنها ژن‌های پلاسمیدی qnr A , B , S می‌باشد.[5]

در بین عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان و عفونت‌های طولانی مدت مرتبط با مراقبت‌های بهداشتی، انتروباکتریاسه‌های مقاوم به کینولون و کارباپنم (به‌ویژه کلبسیلا پنومونیه) از عوامل مهم مرگ و میر می‌باشند و به‌طور قابل توجهی مرگ و میر بسیار بالایی (۳۰ تا ۷۰ درصد) را در میان بیماران مبتلا به باکتریمی یا عفونت‌های تنفسی ناشی از *کلبسیلا پنومونیه* تولید کننده کارباپنمازها ایجاد می‌کنند.[6] آگاهی از الگوی حساسیت باکتری‌های مقاوم در یک ناحیه جغرافیایی به مصرف صحیح و معقول آنتی‌بیوتیک‌ها کمک خواهد کرد. امروزه تعداد ارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در حال افزایش است و این مسئله به‌عنوان یکی از بحران‌های موجود در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها مطرح می‌باشد.[7,8] با توجه به استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها در ایران و افزایش خطر مقاومت دارویی، این مطالعه با هدف بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی *کلبسیلا پنومونیه* نسبت به فلورکینولون‌های مورد استفاده برای درمان بیماری، در بیمارستان‌های اردبیل انجام گرفت.

روش کار

در این مطالعه مقطعی – توصیفی به‌منظور تعیین حجم نمونه مورد نیاز با در نظر گرفتن سطح معنی‌داری ۰/۵ و دقت (d۰/۱) و شیوع مورد انتظار (p)۰/۶۳۵ بر اساس مطالعات گذشته و طبق فرمول زیر حداقل حجم نمونه مورد انتظار برابر ۹۰ نمونه به دست آمد.[9]

$$n = \frac{p.q.Z^2_{1-\frac{\alpha}{2}}}{d^2} = \frac{0.635 \times 0.36 \times 1.96^2}{0.1^2} \cong 90$$

پس از کسب کد اخلاق (IR.ARUMS.REC.1399.575) و اخذ رضایت، نمونه‌گیری در نهایت ۱۰۰ ایزوله از نمونه‌های بالینی شامل ادرار، آسپیره از زخم‌های عمقی، آسپیره تراکئال، مایعات بدن، تراشه، خون و زخم از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اردبیل در سال ۱۳۹۹ جدا گردید. معیارهای ورود بیمارانی بود که از کشت نمونه‌های بالینی آنها باکتری *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده بود. معیارهای خروج افرادی بودند که نتیجه کشت آنها از نظر *کلبسلا پنومونیه* منفی بود. ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از نمونه‌های بالینی به لحاظ فنوتیپیک (تست‌های اکسیداز، کاتالاز، اوره آز، ایندول، تولید گاز، حرکت، MRVP، استفاده از سیترات لایزین دکربوکسیلاز و تخمیر لاکتوز) (میرمدیا، ایران) و ژنوتیپیک (تکثر ژن srRNA۱۶) تعیین هویت گردید.[10] برای انجام تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی از دستورالعمل (Clinical Laboratory Standards Institute, CLSI 2019) استفاده گردید.[11,12] در این مطالعه، از دیسک‌های ایمی پنم ۱۰µg،

مروپنم ۱۰µg، سیپروفلوکساسین ۵µg، آمیکاسین ۳۰µg، جنتامایسین ۱۰µg، سفتازیدیم ۳۰µg، سفوتاکسیم ۳۰µg، سفازولین ۳۰µg، سفپیم ۳۰µg (پادتن طب، ایران) جهت انجام تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی استفاده گردید. از *اشرشیا کلی* سویه ATCC25922 به‌عنوان کنترل استفاده گردید. بر اساس دستورالعمل CLSI 2019 نتایج به‌صورت حساس، مقاوم و بینابینی گزارش گردید. ایزوله‌های مقاوم به حداقل یک آنتی‌بیوتیک در ۳ کلاس مختلف به عنوان سویه‌های دارای مقاومت چندگانه لحاظ گردید. در این مطالعه **(** Minimum Inhibitory Concentration, **MIC)** سیپروفلوکساسین در همه ۱۰۰ ایزوله به روش رقت آگار (Agar dilution) در محدوده غلظت‌های ۰/۱۲۵-۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر مورد ارزیابی قرار گرفتند.[۱۲] استخراج DNA باکتری‌های مورد بررسی با استفاده از روش جوشاندن و به‌صورت دستی انجام گرفت.[۱۳،۱۴] به‌طور خلاصه، از کشت تازه باکتری (۱۸ ساعته) چندین کلنی برداشته در ۲۰۰ لاندا بافر استخراج حاوی توئین ۲۰ حل کرده و سپس به مدت ۳ ساعت در دمای ۵۵ درجه انکوبه گردید. پس از آن ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه انکوبه شده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰rpm سانتریفیوژ صورت گرفت. مایع رویی حاوی DNA می‌باشد که غلظت آن با نانودارپ اندازه‌گیری گردید (thermo company, NanoDrop 2000). از پرایمرهای جدول ۱ برای شناسایی موتاسیون در ژن‌های gyrA، parC استفاده گردید (پیشگام، ایران) محلول واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی Taq DNA، ۱٫۵ mmol MgCl2، ۱۰ mM dNTP mix، ۱۰µg template DNA(0.5-1 µg)، xPCR buffer، primer(5-10 pmol) ، polymerase(1U) تهیه گردید. در نهایت محصول PCR جهت تأیید توالی یابی (ABI 350,US) به شرکت متابیون (آلمان) ارسال شد و نتایج به‌دست آمده ابتدا با نرم افزار chromas v.2.6.6 (Technelysium Pty Ltd, Australia) و DNAMAN v.7 (Lynnon-BioSoft, USA) مورد آنالیز قرار گرفت و سپس با توالی‌های موجود در بانک ژن (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) Genbank مقایسه گردید. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS v.22 مورد آنالیز قرار گرفتند. برای توصیف اطلاعات از نمودارها و جداول آماری استفاده شده و جهت تحلیل اطلاعات از مدل رگرسیون لجستیک برای بررسی رابطه بین متغیرهای مستقل و وابسته استفاده گردید. سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۵ درصد در نظر گرفته شد.

جدول۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی ژن‌های PMQR و GYRA, PARC

Primer	(۵´→۳´) Primer Sequence	Product Size (bp)	Annealing temperature (°C)	Reference
parC-A-F	ACT GCT TCC GCA TCA ATA C	۹۱۹	۶۰	(۱۳۷)
parC-A-R	CAG AAA ACC GCT CTG TAG CG			
gyrA-A-F	AAA CCT GTT CAC CGT CGT TA	۵۴۱	۶۰	
gyrA-A-R	TAC CGC CTG TAG GGA AGT CA			
aac(6′)Ib-cr-F	TTG CGA TGC TCT ATG AGT GGC TA	۵۰۰	۶۳	
aac(6′)Ib-cr-R	CTC GAA TGC CTG GCG TGT TT			
qnrA-F	GGA TGC CAG TTT CGA GGA	۵۰۰	۵۸	
qnrA-R	TGC CAG GCA CAG ATC TTG			
qepA-F	TGG TCT ACG CCA TGG ACC TCA	۱۱۴۰	۶۳	
qepA-R	TGA ATT CGG ACA CCG TCT CCG			

یافته‌ها

از ۱۰۰ ایزوله مورد بررسی ۵۸ درصد ایزوله‌ها از جنس مؤنث و ۴۲ درصد از مردان جدا گردید. میانگین سنی بیماران ۱/۲۳±۴۵ بود. فراوانی نمونه‌های مورد استفاده جهت ایزولاسیون *کلبسیلا پنومونیه* به تفکیک ادرار ۷۸ درصد، تراشه ۶ درصد، خون ۱۲ درصد،کاتتر ۴ درصد بود. بر اساس نتایج تست دیسک دیفیوژن ۴۹ درصد (تعداد=۴۹)، ایزوله‌ها دارای مقاومت چندگانه بودند. بالاترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم (۶۶ درصد)، سفازولین (۶۶ درصد) و ایمی‌پنم (۶۵ درصد) بود. بیشترین حساسیت نسبت به آمیکاسین و جنتامایسین گزارش گردید جدول ۲. در این مطالعه بعد از تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* به روش دیسک دیفیوژن، میزان MIC آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین در همه

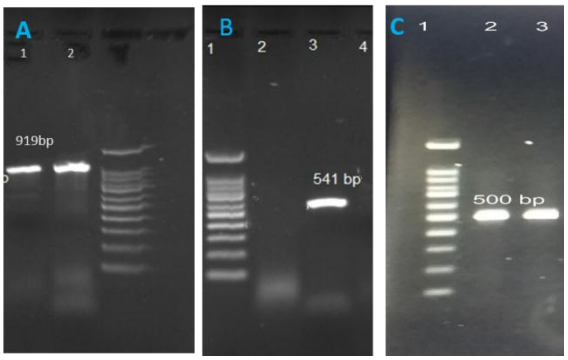
نمونه‌ها به روش رقت آگار در محدوده غلظت‌های ۰/۱۲۵-۱۰۲٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر مورد ارزیابی قرار گرفتند. MIC آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین بین محدوده ۰/۵– ۱۰۲۴< میکروگرم در میکرولیتر بود. بیشتر سویه‌ها در محدوده MIC۰/۵µg/ml> مشاهده شدند (MIC۹۰=۵۱۲µg/ml) (MIC۵۰=۰/۵µg/ml) میزان اندازه‌گیری برای MIC سیپروفلوکساسین بر اساس دستورالعمل‌های CLSI ۲۰۱۹ مورد ارزیابی قرار گرفت (۰/۲۵≤حساس، ۰/۵=حد واسط، ۱≥ مقاوم) (جدول ۳).[۱۲] بر این اساس، ۳۳ درصد ایزوله‌ها (تعداد=۳۳) نسبت به سیپروفلوکسازین مقاوم بودند.[۱۵] ۲۲ درصد ایزوله‌ها MIC بالا (۱۲۸ µg/ml) نسبت به سیپروفلوکسازین داشتند. ژن‌های *gyrA*, *parC* در ۴ ایزوله‌ای که MIC سیپروفلوکسازین در آنها بالای ۱۰۲۴µg/ml بود، مورد بررسی قرار گرفت و پس از جداسازی توالی‌یابی گردید. خوانش توالی‌های به دست آمده توسط نرم‌افزارهای chromas 2.6.6(Technelysium Pty Ltd, Australia) و DNAMAN v.7 (Lynnon-BioSoft, USA) انجام گردید. در ژن *parC* هیچ موتاسیونی مشاهده نگردید، اما در ژن *gyrA* در موقعیت ۸۳ تبدیل سرین به ایزولوسین S83Ile مشاهده شد. توالی خوانش‌شده با ژن *gyrA* از سویه استاندارد *Klebsiella pneumoniae* strain NCTC9667 با کمک نرم‌افزار DNAMAN v.8(Lynnon-BioSoft, USA) مقایسه گردید (شکل ۱A,B–). در هیچ یک از ایزوله‌ها ژن *qepA* و *qnrA* مشاهده نگردید اما حضور ژن *aac(6')-Ib-cr* در ۱۰ درصد ایزوله‌ها قابل مشاهده بود. در بررسیMIC سیپروفلوکسازین در ایزوله‌هایی که از نظر ژن *aac(6')-Ib-cr* مثبت شده بودند مشخص گردید. MIC سیپروفلوکسازین در ۴ ایزوله ۵۱۲ µg/ml، ۴ ایزوله ۱۰۲۴ µg/ml و در ۲ ایزوله بالای ۱۰۲۴ µg/ml بودند. ژن *aac(6')-Ib-cr* با کد OM831130.1 در بانک ژن ثبت گردید (شکل ۱c-).

جدول ۲. میزان مقاومت ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف به روش دیسک دیفیوژن

آنتی‌بیوتیک	تعداد ایزوله‌های مقاوم	درصد
ایمی پنم	۶۵	۶۵درصد
مروپنم	۲۴	۲۴درصد
سیپروفلوکساسین	۴۳	۴۳درصد
آمیکاسین	۳۱	۳۱درصد
جنتامایسین	۳۸	۳۸درصد
سفتازیدیم	۶۱	۶۱درصد
سفوتاکسیم	۶۶	۶۶درصد
سفازولین	۶۶	۶۶درصد
سفپیم	۵۳	۵۳درصد

جدول ۳. محدوده MIC سیپروفلوکساسین

(MIC (µg/ml	(Frequency (N=100	percent
۰,۵	۰	۰
۱	۳	۳
۲	۱	۱
٤	۱	۱
۸	۱	۱
۱٦	۰	۰
۳۲	۱	۱
٦٤	۳	۳
۱۲۸	۱	۱
۲٥٦	٥	٥
٥۱۲	٦	٦
۱۰۲٤	۷	۷
> ۱۰۲٤	٤	٤



شکل ۱. الکتروفورز محصول PCR برای بررسی ژن‌های ***gyrAaac(6')- parC Ib-cr***

A: مربوط به ژن parC، B: مربوط به ژن *gyrA*، C: مربوط به ژن *aac(6')-Ib-cr* می‌باشد. مارکر ۱۰۰bp (ایران، پارس طوس)

بحث

کلبسیلا پنومونیه از عوامل مهم عفونت بیمارستانی بوده و در افراد دارای بیماری‌های زمینه‌ای مانند دیابت، نارسایی کلیوی، سرطان و ناراحتی‌های کبدی و انسداد مزمن ریوی می‌تواند ایجاد عفونت نماید. این باکتری پس از اشرشیا کلی دومین عامل مهم عفونت ادراری و همراه با اسنیتوباکتر از مهم‌ترین عوامل پنومونی مرتبط با ونتیلاتور است. بسیاری از سویه‌های کلبسیلا پنومونیه دارای بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بوده که در ایجاد مقاومت نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم دخیل هستند. ظهور سویه‌های دارای مقاومت چندگانه و سویه‌های دارای ژن NDM که در ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های داخل وریدی کارباپنم دخیل هستند، در بخش‌های مختلف بیمارستان بخصوص بخشICU ، درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری را با مشکل جدی مواجه کرده است. اغلب سویه‌های کلبسیلا پنومونیه نسبت به چندین آنتی‌بیوتیک مقاوم هستند که پلاسمیدهای حاوی ژن‌های مقاومت اصلی‌ترین عامل این نوع مقاومت‌ها می‌باشد.

سویه‌هایی از این باکتری که توانایی تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف را دارند به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بجز کارباپنم‌ها مقاوم هستند. همچنین، مقاومت نسبت به سایر عوامل ضدمیکروبی مانند آمینوگلیکوزیدها، فلوروکینولون‌ها و تتراسایکلین‌ها نیز گزارش شده است. پیدایش سویه‌های تولید کننده کارباپنماز به‌نام (Carbapenem-Resistant *Klebsiella Pneumoniae*, CRKP) منجر به استفاده از کلستین به‌عنوان آخرین خط دارویی ضد این باکتری شده است. با این وجود، موارد نادری از مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک نیز گزارش شده است. فلوروکینولون‌ها یکی از داروی‌های مورد استفاده بر ضد عفونت‌های ناشی از کلبسیلا پنومونیه می‌باشد.[۱۶-۱۹] در مطالعه حاضر، از کل ایزوله‌های مورد بررسی ۴۹ درصد دارای مقاومت چندگانه بودند، ۴۳ درصد از ایزوله‌ها نسبت به سیپروفلوکسازین مقاوم بودند و حضور ژن مقاومت *aac (6')-Ib-cr* در ۱۰ درصد ایزوله‌ها مشاهده گردید. در ایزوله‌هایی که MIC بالایی نسبت به سیپروفلوکسازین داشتند، موتاسیون در ژن *gyrA* مشاهده گردید، در حالی‌که هیچ موتاسیونی در ژن *parC* یافت نشد. در مطالعه رضوی و همکاران در تهران ۳۵۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه مورد بررسی قرار گرفت که میزان مقاومت به سیپروفلوکسازین ۱/۶ درصد بود. این مقدار بسیار کمتر از مطالعه ما بود. میزان مقاومت نسبت به مروپنم در مطالعه ما ۲۴درصد بود که نزدیک به این مطالعه (۲۸/۸درصد) می‌باشد.[۲۰] در مطالعه قانع و همکاران در بیمارستان میلاد تهران ۱۰۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه مورد بررسی قرار گرفت که میزان مقاومت نسبت به سیپروفلوکسازین ۴۶درصد بود و نزدیک به مطالعه ما می‌باشد. در مورد سیپروفلوکسازین ۱۸/۵۱درصد ایزوله‌ها MIC بالا نسبت به این آنتی‌بیوتیک داشتند (>۳۲ µg/mL)، در حالی‌که در مطالعه حاضر ۲۲ درصد ایزوله‌ها MIC بالای ۱۲۸ µg/mL بود.[۲۱] در مطالعه‌ای که توسط ژا و همکاران در سال ۲۰۲۱ انجام گردید، ژن‌های مقاومت به سیپروفلوکسازین در بین ایزوله‌های مقاوم به کارباپنم ردیابی گردید. در این مطالعه، ۱۴۹ ایزوله از کلبسیلا پنومونیه مقاوم به کارباپنم مورد بررسی قرار گرفت (جمع آوری شده بین سالهای ۲۰۱۵-۲۰۱۸). در این مطالعه میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکسازین ۷۸/۵ درصد بود که بالاتر از میزان مقاومت به سیپروفلوکسازین در مطالعه ما بود. در مطالعه مذکور، همانند مطالعه حاضر موتاسیون از نوع جایگیزینی Ser83Ile در ژن *gyrA* مشاهده گردید. در این مطالعه موتاسیون جایگزینی Ser80 → IIe در ژن *parC* نیز مشاهده گردید؛ در حالی‌که در مطالعه ما در ژن *parC* هیچ موتاسیونی مشاهده نگردید. در این مطالعه ۱۶/۱ درصد از ایزوله‌ها دارای ژن *aac(6')-Ib-cr* بودند که نزدیک مطالعه ما بود(۱۰ درصد).[۲۲] در مطالعه‌ای که توسط گیتا و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام شد، ۱۱۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه مقاوم نسبت به سیپروفلوکسازین، لووفلوکسازین و افلوکسازین شناسایی گردید. ۸۸ درصد ایزوله‌ها MIC بالایی نسبت به سیپروفلوکسازین(≤۲۵۶µg/mL) داشتند که در مطالعه ما ۲۲ درصد ایزوله‌ها MIC بالا(۱۲۸ µg/ml) نسبت به سیپروفلوکسازین داشتند. در این مطالعه ۸۹ درصد ایزوله‌ها ژن *acc (6')-Ib-cr* داشتند، در حالی‌که در مطالعه ما ۱۰درصد ایزوله‌ها حاوی این ژن بودند. در این مطالعه، همسو با مطالعه حاضر ژن‌های *qnrA, qepA* شناسایی نگردید.[۲۳] ژن‌های *qnr* در ایجاد مقاومت سطح پایین نسبت به فلوروکینولون‌ها نقش دارند. در مطالعه‌ای که صلاح و همکاران در سال ۲۰۱۹ انجام دادند، ۶۴ ایزوله کلبسیلا پنومونیه از نظر ژن‌های *qnrS, AB* مورد بررسی قرار گرفت که در ۲/۵۸درصد از ایزوله‌ها ژن *qnrA* شناسایی گردید، در حالی‌که در مطالعه ما *qnrA* مورد شناسایی قرار نگرفت.[۲۴] در مطالعه قوطاسلو و همکاران در تبریز ۲۰۵ ایزوله کلبسیلا پنومونیه و اشرشیا کلی مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه ٦٤/٤ درصد از ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه به سیپروفلوکسازین مقاوم بودند که این میزان بالاتر از یافته‌های حاضر بود. در این مطالعه موتاسیون‌های مختلفی در ژن‌های *gyrA* و *parC* شناسایی گردید و در هیچکدام از ایزوله‌ها موتاسیون ser83 Ile که در مطالعه ما شناسایی گردید، گزارش نشد. در این مطالعه فراوانی ژن *aac(6')-Ib-cr* در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه ۷۰ درصد بود که بسیار بیشتر از مطالعه ما بود. همچنین، در این مطالعه نیز مانند پژوهش حاضر در هیچ‌یک از ایزوله‌های مورد بررسی ژن‌های *qepA* , *qnrA* یافت نشد.[۲۵] در مطالعه جمعه‌زاده و همکاران، ژن‌های مقاومت به سیپروفلوکسازین با واسطه پلاسمید بر روی ۹۲ ایزوله کلبسیلا پنومونیه در جنوب غرب ایران مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه نیز مانند یافته‌های پژوهش حاضر بیشترین ایزولاسیون کلبسیلا پنومونیه از نمونه ادرار بود (٨٤/٨ درصد). از ۹۲ ایزوله مورد بررسی ۲۰ ایزوله نسبت به سیپروفلوکسازین مقاوم بودند (۱۸/۵ درصد). ژن *acc(6')-Ib-cr* در ۸۲/۷ درصد ایزوله‌های مورد بررسی شناسایی گردید که بسیار بیشتر از فراوانی گزارش شده در ایزوله‌های مورد بررسی در منطقه اردبیل بود. ژن *qnrA* در ۱۲/۳ درصد ایزوله‌ها شناسایی گردید که در این مطالعه همانند پژوهش حاضر فراوانی این ژن صفر بود.[۲۶] در مطالعه رنجبر و همکاران در تهران ۱۰۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه مورد بررسی قرار

گرفت. ٥٦ درصد ایزوله‌ها از ادرار جدا گردید که مشابه مطالعه ما بیشتر نمونه‌ها از افراد مبتلا به عفونت ادراری جدا گردید. در این مطالعه میزان مقاومت نسبت به مروپنم ۲۰ درصد بود که نزدیک مطالعه ما بود. ۷ درصد ایزوله‌ها دارای ژن *qnrA* بودند که در مطالعه ما این ژن در هیچ‌یک از ایزوله‌ها شناسایی نشد.[۲۷] در انتها باید متذکر شد که کلبسیلا پنومونیه از باکتری‌های مهم تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف می‌باشد که این آنزیم‌های توانایی بالای در هیدرولیز و غیرفعال کردن سفالوسپورین‌های نسل سوم دارند. با وجود اینکه سفامایسین‌ها و کارباپنم‌ها بر ضد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف ها مؤثر هستند اما تا جایی که ممکن است باید استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها محدود شده و تنها برای عفونت‌های پیچیده و تهدید کننده حیات استفاده شوند تا احتمال بروز مقاومت در آنها کاهش یابد بنابراین فلوروکینولونها گزینه مناسبی برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری می‌باشد که متاسفانه مقاومت به آنها نیز در حال افزایش است.

نتیجه‌گیری

مطالعه مقاومت بالا نسبت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکسازین مشاهده گردید. همچنین در این مطالعه فراوانی بالای ژن *aac (6')-Ib-cr* گزارش گردید. از آنجایی‌که این ژن روی پلاسمید قرار دارد، به‌راحتی بین سویه‌های کلبسیلا پنومونیه منتقل شده و منجر به گسترش مقاومت نسبت به فلوروکینولون‌ها می‌شود. با توجه به مقاومت بالا نسبت به سیپروفلوکسازین انجام تست آنتی‌بیوگرام قبل از تجویز این آنتی‌بیوتیک توصیه می‌شود.

قدردانی

نویسندگان این مطالعه از حمایت‌های دانشگاه علوم پزشکی اردبیل برای انجام این مطالعه تشکر و قدردانی می‌کنند. این مقاله منتج از پایان‌نامه با کد ۹۸۱۰ می‌باشد. هیچ‌کدام از نویسندگان این مطالعه تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت پدیدآوران

رقیه تیمورپور: ایده‌پردازی، طراحی مطالعه و نگارش مقاله؛ جعفر محمدشاهی: ایده‌پردازی، طراحی مطالعه و ویرایش متن مقاله، فروغ بابازاده و امیر تیمورپور جمع‌آوری نمونه‌ها و انجام تست‌های آزمایشگاهی؛ پریسا جوانبخت و پیمان جوهری: انجام تست‌های آزمایشگاهی را بر عهده داشتند. همچنین تمامی نویسندگان نسخه نهایی مقاله را مطالعه و تأیید کرده‌اند.

منابع مالی

هزینه مالی این مطالعه توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تأمین شده است.

دسترس‌پذیری داده‌ها

تمامی داده‌های ایجاد شده در این مطالعه در مقاله حاضر گنجانده شده است.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله منتج از پایان‌نامه با کد اخلاق IR.ARUMS.REC.1399.575 می‌باشد.

تعارض منافع

مؤلفان اعلام می‌کنند که این اثر حاصل یک پژوهش مستقل بوده و هیچ تضاد منافعی با سازمان‌ها و اشخاص دیگر ندارد.

References

1. Ray CG, Ryan KJ, editors. Sherris medical microbiology. New York, NY, USA: McGraw-Hill Education/Medical; 2010.
2. El-Solh AA, Pietrantoni C, Bhat A, Aquilina AT, Okada M, Grover V, et al. Microbiology of severe aspiration pneumonia in institutionalized elderly. American journal of respiratory and critical care medicine. 2003;167(12):1650-4. doi: 10.1164/rccm.200212-1543oc
3. Rodríguez-Martínez JM, Cano ME, Velasco C, Martínez-Martínez L, Pascual A. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. Journal of Infection and Chemotherapy. 2011;17:149-82. doi: 10.1007/s10156-010-0120-2
4. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. The Lancet infectious diseases. 2006;6(10):629-40. doi: 10.1016/s1473-3099(06)70599-0
5. Cattoir V, Poirel L, Rotimi V, Soussy CJ, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in ESBL-producing enterobacterial isolates. Journal of antimicrobial chemotherapy. 2007;60(2):394-7. doi: 10.1093/jac/dkm204

6. DeLeo FR, Chen L, Porcella SF, Martens CA, Kobayashi SD, Porter AR, et al. Molecular dissection of the evolution of carbapenem-resistant multilocus sequence type 258 Klebsiella pneumoniae. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014;111(13):4988-93. doi: 10.1073/pnas.1321364111
7. Snitkin ES, Zelazny AM, Thomas PJ, Stock F, NISC Comparative Sequencing Program, Henderson DK, et al. Tracking a hospital outbreak of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae with whole-genome sequencing. Science translational medicine. 2012;4(148):148ra116. doi: 10.1126/scitranslmed.3004129
8. 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. doi: 10.1016/j.patbio.2012.10.004
9. Mohamadbigi M, Akbarmehr J, Jafari B. Evaluation of The Frequency of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in Clinical Isolates of Escherichia Coli And Klebsiella Spp. In Tehran. 2016.
10. Aminul P, Anwar S, Molla MM, Miah MR. Evaluation of antibiotic resistance patterns in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae in Bangladesh. Biosafety and Health. 2021;3(6):301-6. doi: 10.1016/j.bsheal.2021.11.001
11. Humphries R, Bobenchik AM, Hindler JA, Schuetz AN. Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100. Journal of clinical microbiology. 2021;59(12):10-128. doi: 10.1128/jcm.00213-21
12. Institute CaLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. In: Institute CaLS, editor. 31st ed. Wayne, PA2021.
13. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual: Cold spring harbor laboratory press; 1989. No.Ed. 2 pp.xxxviii+1546 pp.
14. Ashouri P, Mohammadshahi J, Nikbin VS, Peeridogaheh H, Mohammadi-Ghalehbin B, Refahi S, et al. Antimicrobial Resistance, Integron Carriage, and Fluoroquinolone Resistance Genes in Acinetobacte baumannii Isolates. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2022;17(5):e120590. doi: 10.5812/archcid-120590
15. Weinstein MP, Lewis JS. The clinical and laboratory standards institute subcommittee on antimicrobial susceptibility testing: background, organization, functions, and processes. Journal of clinical microbiology. 2020;58(3):20-128. doi: 10.1128/jcm.01864-19
16. Limbago BM, Rasheed JK, Anderson KF, Zhu W, Kitchel B, Watz N, et al. IMP-producing carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in the United States. Journal of clinical microbiology. 2011;49(12):4239-45. doi: 10.1128/jcm.05297-11
17. Nathisuwan S, Burgess DS, Lewis JS. Extended-spectrum β-lactamases: epidemiology, detection, and treatment. Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy. 2001;21(8):920-8. doi: 10.1592/phco.21.11.920.34529
18. Hudson CM, Bent ZW, Meagher RJ, Williams KP. Resistance determinants and mobile genetic elements of an NDM-1-encoding Klebsiella pneumoniae strain. PloS one. 2014;9(6):e99209. doi: 10.1371/journal.pone.0099209
19. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (U.S.). Division of Healthcare Quality Promotion. Facility Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE). In: prevention cfdca, editor. 2015.
20. Dalir A, Razavi S, Talebi M, Masjedian Jazi F, Zahedi Bialvaei A, Mirshekar M, et al. Antibiotic Susceptibility Pattern and Distribution of Virulence Factors Among Klebsiella pneumoniae Isolated from Healthy Volunteers. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2021;15(6):676-83. [Persian]. doi: 10.30699/ijmm.15.6.676
21. Ghane M, Babaeekhou L, Asgharifard M. Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes and Molecular Typing of Klebsiella pneumoniae Isolates from Blood Cultures in Milad Hospital, Tehran, Iran, Within 2018-2019. Jundishapur Journal of Microbiology. 2022;15(7):e124054. doi: 10.5812/jjm-124054
22. Zhan Q, Xu Y, Wang B, Yu J, Shen X, Liu L, et al. Distribution of fluoroquinolone resistance determinants in Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae clinical isolates associated with bloodstream infections in China. BMC microbiology. 2021;21(1):1-8. doi: 10.1186/s12866-021-02238-7
23. Geetha PV, Aishwarya KV, Mariappan S, Sekar U. Fluoroquinolone resistance in clinical isolates of Klebsiella pneumonia e. Journal of laboratory physicians. 2020;12(02):121-5. doi: 10.1055/s-0040-1716478
24. Salah FD, Soubeiga ST, Ouattara AK, Sadji AY, Metuor-Dabire A, Obiri-Yeboah D, et al. Distribution of quinolone resistance gene (qnr) in ESBL-producing Escherichia coli and Klebsiella spp. in Lomé, Togo. Antimicrobial Resistance & Infection Control. 2019;8:1-8. doi: 10.1186/s13756-019-0552-0
25. Azargun R, Barhaghi MH, Kafil HS, Oskouee MA, Sadeghi V, Memar MY, et al. Frequency of DNA gyrase and topoisomerase IV mutations and plasmid-mediated quinolone resistance genes among

Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated from urinary tract infections in Azerbaijan, Iran. Journal of Global Antimicrobial Resistance. 2019;17:39-43. doi: 10.1016/j.jgar.2018.11.003
26. Jomehzadeh N, Ahmadi K, Bahmanshiri MA. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance genes among clinical isolates of Klebsiella pneumoniae in southwest Iran. Journal of clinical laboratory analysis. 2022;36(7):e24342. doi: 10.1002/jcla.24342
27. Arabzadeh B, Ahmadi Z, Ranjbar R. Molecular Characterization of Antibiotic Resistance and Genetic Diversity of Klebsiella pneumoniae Strains. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology. 2022;2022:Article ID 2156726, 7 pages. doi: 10.1155/2022/2156726