

DETEKSI KEBERADAAN GEN OMPK36 ISOLAT BAKTERI *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE* (ESBL) DI RSUP PROF. DR. I.G.N.G. NGOERAH

I Gusti Ayu Candra Dewi¹, Ni Nengah Dwi Fatmawati², Agus Eka Darwinata³, Komang Januartha Putra Pinatih⁴

¹Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Bali, Indonesia

e-mail: gustiayucandradewi@student.unud.ac.id

²Departemen Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Bali, Indonesia

e-mail: nnd.fatmawati@unud.ac.id

³Departemen Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Bali, Indonesia

e-mail: eka_darwinata@unud.ac.id

⁴Departemen Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Bali, Indonesia

e-mail: januartha_putra@unud.ac.id

ABSTRAK

Infeksi oleh *multidrug resistance organism* (MDRO) merupakan masalah kesehatan secara global. Salah satu contoh MDRO ialah bakteri yang menghasilkan *Extended Spectrum β -Lactamase* (ESBL) salah satunya oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Klebsiella pneumoniae* memiliki beberapa faktor virulensi dan mekanisme resistensi antibiotik. Terdapat faktor virulensi yang juga merupakan mekanisme resistensi yaitu keberadaan protein OmpK36 yang memiliki peran ganda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan gen OmpK36 pada isolat klinis *K. pneumoniae* penghasil ESBL di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah dengan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR) dan menghitung persentase keberadaan gen tersebut. Metode penelitian yang digunakan adalah observasional dengan pendekatan deskriptif *cross sectional* selama periode Maret - September 2022 dengan metode pengambilan sampel *total sampling* dengan menggunakan 77 isolat bakteri *K. pneumoniae* penghasil ESBL periode Desember 2021 – April 2022. Prosedur penelitian terbagi menjadi tahapan kultur dan PCR dengan suhu denaturasi 95⁰C, *annealing* 48⁰ C, dan ekstensi 72-74⁰C yang dilanjutkan dengan tahapan elektroforesis sehingga mendapatkan hasil 74 sampel ditemukan keberadaan gen OmpK36 yaitu 96,10% dan hasil negatif dengan tidak adanya gen OmpK36 bernilai 3 sampel (3,9%). Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa pada isolat klinis *K. pneumoniae* penghasil ESBL di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah periode Desember 2021 – April 2022 terdeteksi gen OmpK36 dan persentase gen OmpK36 pada isolat klinis *K. pneumoniae* penghasil ESBL di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah dengan menggunakan metode PCR ialah 96,10%.

Kata kunci : *K. pneumoniae*., ESBL., gen OmpK36

ABSTRACT

Infection by multidrug resistant organisms (MDRO) is a global health problem. One example of MDRO is a bacterium that produces *Extended Spectrum β -Lactamase* (ESBL), one of which is the bacterium *Klebsiella pneumoniae*. *Klebsiella pneumoniae* has several virulence factors and mechanisms of antibiotic resistance. There is a virulence factor which is also a resistance mechanism, namely the presence of the OmpK36 protein which has a dual role. This study aims to determine the presence of the OmpK36 gene in ESBL-producing *K. pneumoniae* clinical isolates at Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah using the polymerase chain reaction (PCR) method and calculating the percentage of the presence of the gene. The research method used was observational with a cross-sectional descriptive approach during the period March-September 2022 with a total sampling method using 77 isolates of ESBL-producing *K. pneumoniae* bacteria for the period December 2021 – April 2022. The research procedure was divided into culture and PCR stages with temperature denaturation 95⁰ C, *annealing* 48⁰ C, and extension 72-74⁰ C and continued with electrophoresis stages so that the results of 74 samples found the presence of the OmpK36 gene, namely 96,10% and a negative result in the absence of the OmpK36 gene was

worth 3 samples (3,9%). Based on the results of the study, it can be concluded that the clinical isolates of *K. pneumoniae* produce ESBL at Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah Hospital period December 2021 – April 2022 detected the OmpK36 gene and the percentage of the OmpK36 gene in ESBL-producing *K. pneumoniae* clinical isolates at Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah Hospital using the PCR method is 96,10%.

Keywords : *K. pneumoniae*., ESBL., OmpK36 gene

PENDAHULUAN

Multidrug Resistant Organisms (MDRO) adalah mikroorganisme yang resisten atau kebal terhadap setidaknya satu jenis dalam tiga atau lebih kategori antimikroba.^{1,2} Kejadian MDRO ini merupakan masalah besar yang sudah mendunia atau dapat dikatakan sebagai masalah global, dengan jenis ataupun contoh dari kasus MDRO yang tergolong beragam. Beberapa jenisnya yaitu: *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Vancomycin-Resistant Enterococci* (VRE), *Carbapenem-Resistant Acinetobacter Baumannii*, *Multidrug-Resistant Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacteriaceae* penghasil *Extended Spectrum β -Lactamase* (ESBL) dengan contoh bakteri yang bisa menghasilkan ESBL adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli*, dan *Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae*.³ Efek global yang ditimbulkan dari MDR ini pun dapat bersifat klinis (seperti halnya kematian atau kegagalan perawatan) dan dapat merugikan dari segi ekonomi (banyaknya mengeluarkan biaya perawatan akibat lamanya waktu tinggal atau dirawat).⁴ Salah satu yang menjadi sorotan dari berbagai contoh kasus MDR itu adalah resistensi antibiotik oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* penghasil *Extended Spectrum β -Lactamase* (ESBL) dikarenakan kasusnya tergolong banyak dan sulit untuk dilakukan terapi. Sebaran dari kasus *K. pneumoniae* yang menghasilkan ESBL sudah cukup sering ditemukan baik di dunia, Asia, ataupun cakupan yang lebih kecil. Hasil penelitian dari Nagpur telah melaporkan prevalensi ESBL mencapai angka 25,65%.⁵ Prevalensi atau sebaran *K. pneumoniae* penghasil ESBL menunjukkan angka yang cukup tinggi di beberapa negara, seperti: USA 4,2-44%⁶, Kanada 4,9%⁷, Spanyol 20,8%⁸, dan Taiwan 28,4%.⁹ Prevalensi *K. pneumoniae* penghasil ESBL di salah satu rumah sakit daerah Padang, Sumatera Barat per Juni 2018 hingga Mei 2019 didapatkan prevalensinya sebesar 70,9%.¹⁰ Banyak faktor yang mendasari terjadinya resistensi, salah satunya ialah faktor dari internal bakteri yang dikenal dengan istilah faktor virulensi. Faktor virulensi pada bakteri dapat didefinisikan sebagai molekul yang diekspresikan dan disekresikan oleh bakteri untuk menginfeksi inang, menghindari atau menghambat respon imun dari inang, membantu keluar atau masuk bakteri dari sel inang, dan/ atau memperoleh nutrisi dari inang.¹¹ Faktor virulensi pada *K. pneumoniae* diantaranya : kapsul antigen, faktor adhesi, *outer membrane* protein atau yang disingkat Omp, multiresistensi terhadap serum atau antibiotika, enterotoksin yang menghasilkan lipopolisakarida, atau dapat dalam bentuk *siderophore*.¹² Salah satu faktor virulensi yang menjadi sorotan ialah *outer membrane* protein karena Omp ini merupakan protein penting bagi bakteri gram

negatif dan termasuk faktor virulensi yang berkaitan erat dengan kasus MDR.¹² Pada *outer membrane* memiliki banyak protein mayor dan minor, salah satu yang termasuk dalam grup protein mayor ialah *pore-forming* protein atau yang biasa disebut dengan porin.¹³

K. pneumoniae penghasil ESBL dapat menyebabkan resistensi pada beberapa antibiotika salah satunya karbapenem. Hal tersebut tidak hanya disebabkan karena produksi dari karbapenem berlebih sehingga pajanan yang terus menerus menyebabkan bakteri menjadi rentan, namun dapat juga dikarenakan hambatan permeabilitas akibat gangguan dari membran protein atau yang biasa disebut *outer membrane* porin (salah satunya OmpK36 yang dimiliki *K. pneumoniae*).¹⁴ Kehilangan bagian dari membran protein luar (OMPs), termasuk kehilangan OmpK36 berkaitan dalam resistensi karbapenem pada *K. pneumoniae*. Kehilangan porin tersebut akan menghalangi permeabilitas sehingga mengakibatkan karbapenem mencapai konsentrasi yang rendah pada ruang periplasma dan aktivitasnya dapat dialih fungsikan oleh enzim dengan aktivitas karbapenemase, sehingga hal ini mengarah kepada kondisi resistensi karbapenem.¹⁵ Mengingat OmpK36 merupakan salah satu faktor virulensi dari *K. pneumoniae* penghasil ESBL yang berkaitan dengan kasus MDR yang nantinya akan menyebabkan masalah kesehatan serta masih sedikitnya penelitian dan upaya deteksi OmpK36 di daerah Bali khususnya di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah sebagai salah satu rumah sakit yang ada di daerah Bali, maka diperlukan upaya untuk deteksi keberadaan porin tersebut. Deteksi porin bermanfaat untuk mengetahui sifat dan seberapa besar pengaruh virulensi *K. pneumoniae* pada inang dan resistensi pada antibiotik. Deteksi menggunakan sampel isolat *K. pneumoniae* penghasil ESBL dari RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah, Denpasar, Bali yang nantinya akan dilakukan deteksi gen OmpK36 dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan penelitian jenis deskriptif *crosssectional* pada sampel klinis berupa isolat *K. pneumoniae* penghasil ESBL yang dilakukan selama empat bulan sejak bulan Mei 2022 hingga September 2022. Tempat pengambilan sampel berupa isolat bakteri *K. pneumoniae* penghasil ESBL untuk penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah dan proses PCR untuk mendeteksi gen OmpK36 dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Biomedik Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar. Sampel pada penelitian ini diambil dari seluruh isolat *K. pneumoniae* penghasil ESBL di Laboratorium

Mikrobiologi RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah, Denpasar periode Desember 2021 – April 2022. Sampel diambil dengan menggunakan metode total *sampling* dari bakteri *K. pneumoniae* penghasil ESBL dengan total sampel yang diperiksa ialah 77 sampel. Penelitian ini melalui dua tahap yaitu tahap kultur dan juga PCR. Bakteri tersebut diidentifikasi sebagai bakteri *K. pneumoniae* penghasil ESBL dari hasil *Vitek 2 compact (biomérieux)* dan ditumbuhkan di media agar darah. Sampel yang telah ditanamkan di agar darah selanjutnya akan dilakukan proses optimasi pada 10 dari 77 sampel yang tersedia untuk menemukan kondisi yang optimal untuk amplifikasi gen OmpK36 dari bakteri *K. pneumoniae* penghasil ESBL dan ditemukan kondisi optimal dalam melakukan *boiling*, PCR, dan elektroforesis sampel. Isolasi DNA dari sampel dilakukan dengan *boiling* menggunakan *heatblock* dengan suhu yang digunakan *boiling* 100⁰C, serta untuk membantu ikatan peptida pada protein dan menghancurkan DNAase maka diperlukan penambahan pemberian proteinase K sebanyak 10 μ L.

Sampel diambil bagian DNANYA saja sebelum di PCR lalu dibuatkan PCR *mix* total 10 μ L terlebih dahulu dengan rumus 1 PCR *mix* ialah 5 μ L *Go Green Taq[®] Mistermax*, masing-masing primer *forward* dan *reverse* sebanyak 0,3 μ L, aquades 3,9 μ L, dan DNA sebanyak 0,5 μ L. Kontrol negatif juga dibuat sebagai pembanding dalam pembacaan hasil nantinya dengan komposisi sama dengan 1 PCR *mix* namun tanpa ditambahkan 0,5 μ L DNA. Selanjutnya dilakukan proses PCR dengan suhu denaturasi 95⁰C, *annealing* dengan rumus {4x(G+C)} + {2x(A+T)} yang akan menemukan rentangan dan yang digunakan sesuai optimasi ialah suhu 48⁰ C, serta suhu ekstensinya ialah 72-74⁰C. Elektroforesis dilakukan setelah PCR guna melihat panjang pita (*band*) yang akan divisualisasi dengan UV. Nilai positif gen OmpK36 akan dihasilkan apabila ditemukan pita pada ampikon 305 bp.

HASIL

Total sampel dengan jumlah 77 sampel tersebut berasal dari berbagai sumber, diantaranya ialah dari sputum, sputum selang, darah, *exit site*, urin, cairan dari *continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD)*, LCS, dasar luka, cairan pleura, dan skrotum dengan jumlah dan persentase yang dapat dilihat dalam tabel berikut.

Tabel 1. Distribusi Isolat *K. pneumoniae* penghasil ESBL berdasarkan sumber spesimen

Spesimen	Jumlah	Persentase (%)
Sputum	18	23,37
Sputum selang	14	18,18
Darah	12	15,58
<i>Exit site</i>	1	1,30
Urin	20	25,98
Cairan CAPD	1	1,30
LCS	1	1,30
Dasar luka	8	10,39
Cairan pleura	1	1,30
Skrotum	1	1,30
Total	77	100

Dari total 77 sampel, ditemukan 74 sampel bernilai positif dan 3 sampel bernilai negatif yang diperlihatkan lebih rinci dalam tabel berikut.

Tabel 2. Data hasil positif gen OmpK36

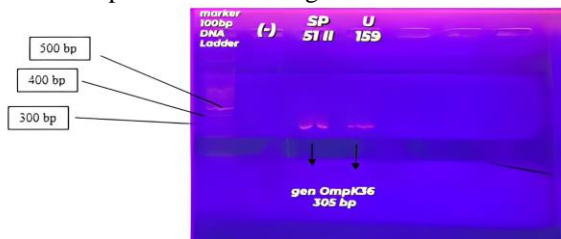
Sampel <i>K. pneumoniae</i> penghasil ESBL	Jumlah	Persentase (%)
Positif Gen	74	96,10
OmpK36	3	3,9
Negatif Gen		
OmpK36		
Total	77	100

Hasil positif yang didapat melalui metode PCR dan dilanjutkan dengan elektroforesis tersebut tersebar menurut sumber dari pengambilan sampel awal, sehingga didapat hasil deteksi keberadaan gen OmpK36 di masing-masing sumber spesimen dalam tabel sebagai berikut.

Tabel 3. Distribusi hasil positif gen OmpK36 berdasarkan sumber spesimen

Spesimen	Positif OmpK36	Gen	Total Sampel
Sputum	17 (22,08%)		18 (23,37%)
Sputum selang	14 (18,18%)		14 (18,18%)
Darah	12 (15,58%)		12 (15,58%)
<i>Exit site</i>	0 (0%)		1 (1,30%)
Urin	19 (24,67%)		20 (25,98%)
Cairan capd	1 (1,30%)		1 (1,30%)
LCS	1 (1,30%)		1 (1,30%)
Dasar luka	8 (10,39%)		8 (10,39%)
Cairan pleura	1 (1,30%)		1 (1,30%)
Skrotum	1 (1,30%)		1 (1,30%)
Total	74 (96,10%)		77 (100%)

Selain data tabel sebaran positif gen OmpK36 berdasarkan sumber, tentunya hasil dapat terlihat melalui visualisasi sinar UV setelah dilakukan elektroforesis, dengan komposisi marker 100 bp DNA Ladder, kontrol negatif, beberapa sampel yang akan dinilai dan deteksi dengan salah satu gambar menunjukkan bahwa sampel sp51II dan u159 bernilai positif dengan gambaran pita / band sejajar dengan band gen OmpK36 yaitu 305bp. Hasil tersebut dapat diamati dalam gambar berikut.



Gambar 1. Hasil elektroforesis sampel yang divisualisasikan dengan sinar UV

Demi memastikan bahwa hasil positif deteksi keberadaan gen OmpK36 dalam *K. pneumoniae* penghasil ESBL dengan primer *forward* serta *reverse* yang telah digunakan tersebut tidak merupakan positif palsu, maka dilakukan sekuensing DNA. Dari hasil sekuensing salah satu DNA sampel maka ditemukan bahwa terdapat kemiripan dengan OmpK36 sebesar 99%.

Klebsiella pneumoniae DNA, ompK36 disrupted by 1bp frameshift insertion, partial sequence, strain: KUN-0800
Sequence ID: [AB933366.1](#) Length: 991 Number of Matches: 1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
488 bits(264)	2e-133	273/277(99%)	2/277(0%)	Plus/Plus

Query	Sequence	Position
Query 1	AGA-CTGTACGGGTAAATTGGACGCTCTGCACTACTTCTCTGACGACAAAGCCTGCAC	59
Sbjct	AGACCTGTACGGTAAATT-GACGCTCTGCACTACTTCTCTGACGACAAAGCCTGCAC	154
Query 60	GGCCAGCAGACCTACATGCGTGTAGGCGTGAAGGCGAAACCCAGATCAACGACAGCTG	119
Sbjct	GGCCAGCAGACCTACATGCGTGTAGGCGTGAAGGCGAAACCCAGATCAACGACAGCTG	214
Query 120	ACCGTTACGGCCAGTGGGAATACAGCTTTCAGGCGAAACCAACCACTGAAGCTCCAGCGAT	179
Sbjct	ACCGTTACGGCCAGTGGGAATACAGCTTTCAGGCGAAACCAACCACTGAAGCTCCAGCGAT	274
Query 180	CAGGCATGACCTGCTCTGGCATTCCAGAGCCTGAATTTGGCGACGGGGCTTTTCGAC	239
Sbjct	CAGGCATGACCTGCTCTGGCATTCCAGAGCCTGAATTTGGCGACGGGGCTTTTCGAC	334
Query 240	TACGGTCGTAACCTACGGCGTAGTATACGACGTAACGCT	276
Sbjct	TACGGTCGTAACCTACGGCGTAGTATACGACGTAACGCT	371

Gambar 2. Hasil sekuensing DNA salah satu sampel *K. pneumoniae* penghasil ESBL

PEMBAHASAN

Penelitian ini mendeteksi keberadaan gen OmpK36 pada bakteri *K. pneumoniae* penghasil ESBL dengan hasil sejumlah 74 (96,10%) sampel bernilai positif yang berarti ditemukan adanya gen OmpK36 dan sejumlah 3 (3,9%) sampel bernilai negatif yang artinya di dalam sampel tidak terdeteksi keberadaan gen OmpK36. Hasil penelitian ini tergolong tinggi dibandingkan penelitian lain yang sebelumnya pernah dilaksanakan seperti penelitian Fangling dkk tahun 2017 di China menunjukkan bahwa ada sebanyak 88,5% atau

23/26 isolat positif memiliki OmpK36 dan isolat tersebut tergolong sangat resisten atau sangat tahan terhadap serum.¹⁶ Dalam suatu penelitian dengan menggunakan metode SDS-PAGE dari isolat tahun 2010 mengungkapkan bahwa 71% (71/100) isolat tidak memiliki porin OmpK35 dan OmpK36, 18% (18/100) isolat tidak memiliki porin OmpK35, dan 9% (9/100) isolat tidak memiliki porin OmpK36. Di tahun 2012 di Taiwan ditemukan sebanyak 36,4% (90/247) tidak memiliki porin OmpK 35 dan OmpK36, sejumlah 55,9% (138/247) isolat tidak memiliki porin OmpK35, sejumlah 2,4% (6/247) isolat tanpa porin OmpK36. Sejumlah 5,3% (13/247) isolat positif atau memiliki porin baik OmpK35 dan OmpK36.¹⁷ Penelitian sebelumnya di beberapa negara mendeteksi tidak hanya sampel yang positif atau negatif OmpK36 di dalam bakteri *K. pneumoniae* tetapi juga mendeteksi kehilangan porin OmpK35 atau OmpK36 serta kejadian kehilangan kedua porin tersebut secara bersamaan. Namun, pada beberapa penelitian tersebut hanya menggunakan bakteri *K. pneumoniae* yang bukan spesifik sampel *K. pneumoniae* penghasil ESBL.

K. pneumoniae merupakan bakteri gram negatif berbentuk basil yang memiliki sifat khas sebagai patogen oportunistik. *K. pneumoniae* yang oportunistik ini memengaruhi manusia melalui sistem imun yang rendah atau pertahanan tubuh yang sudah dilemahkan sebelumnya oleh infeksi lain.¹⁸ Kolonisasi bakteri *K. pneumoniae* di saluran gastrointestinal biasanya terjadi sebelum perkembangan dari infeksi yang didapat di pelayanan kesehatan dan ditemukan lebih lanjut di dalam saluran kemih, saluran pernapasan, dan darah. Sehingga bakteri ini banyak ditemukan di mulut, kulit, usus, serta di lingkungan rumah sakit seperti terbentuknya biofilm pada alat-alat medis yang digunakan.¹⁹ Hal ini sesuai dengan data yang didapat peneliti terkait sumber dari sampel yang dikumpulkan ialah berasal dari urin, darah, sputum, dan sisa-sisa cairan tubuh pasien yang ada pada alat medis di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah.

Gen OmpK36 merupakan salah satu faktor virulensi dari *K. pneumoniae* penghasil ESBL. Berdasarkan penelitian yang dilakukan terdapat tiga sampel yang bernilai negatif yang menandakan tidak terdeteksinya gen OmpK36 pada bakteri tersebut. Hal ini bisa terjadi dikarenakan selain mengekspresikan porin OmpK 35 dan OmpK36, bakteri ini juga mengekspresikan porin alternatif seperti KpnO dan OmpK26 untuk mengkompensasi tidak adanya keberadaan OmpK35/ OmpK36.²⁰ Kondisi kehilangan dari gen OmpK36, KpnO, dan OmpK26 mengarah ke peningkatan resistensi sefalosporin/ karbapenem dan berdampak mengurangi virulensi dari bakteri, sedangkan kehilangan OmpK35 tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap resistensi antibiotik dan virulensi. Spesifikasi pada kejadian hilangnya OmpK36 berdampak pada permukaan struktur *K. pneumoniae*

yang mengalami perombakan dan dengan demikian mengubah pengikatan fagosit, menyebabkan peningkatan kerentanan/ resistensi terhadap fagositosis dan penurunan dalam virulensi.²¹

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa pada isolat klinis *K. pneumoniae* penghasil ESBL di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah periode Desember 2021 – April 2022 terdeteksi gen OmpK36 dan persentase gen OmpK36 pada isolat klinis *K. pneumoniae* penghasil ESBL di RSUP Prof. Dr. I.G.N.G. Ngoerah dengan menggunakan metode PCR ialah 96,10%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada analis Wahyu Hidayati, S.KM dan Ida Ayu Kade Ratna Sukmadewi, S.Si yang telah memberikan bimbingan teknis selama pelaksanaan penelitian. Ucapan terima kasih kepada dr. Ni Nengah Dwi Fatmawati, S.Ked, Sp.MK(K), Ph.D, dr. Agus Eka Darwinata, S.Ked, Ph.D, dan Dr. dr. Komang Januartha Putra Pinatih, M.Kes atas bimbingan, kritik, dan saran selama proses penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

1. Basak S, Singh P, Rajurkar M. Multidrug Resistant and Extensively Drug Resistant Bacteria: A Study. *J Pathog*. 2016;2016:1–5.
2. Bryant L, Drummond W. Multidrug Resistant Organisms (MDRO). In 2016. ISBN 978-1-906218-59-1.
3. van Duin D, Paterson DL. Multidrug-Resistant Bacteria in the Community: Trends and Lessons Learned. *Infect Dis Clin North Am* [Internet]. 2016;30(2):377–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.004>
4. Friedman ND, Temkin E, Carmeli Y. The negative impact of antibiotic resistance. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2016;22(5):416–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.002>
5. Tankhiwale SS, Jalgaonkar S V, Ahamad S, Hassani U. Evaluation of extended spectrum beta lactamase in urinary isolates. *Indian J Med Res*. 2004 Dec;120(6):553-6.
6. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis*. 2001 May 15;32 Suppl 2:S94-103. doi: 10.1086/320182. PMID: 11320450.
7. Cordero L, Rau R, Taylor D, Ayers LW. Enteric gram-negative bacilli bloodstream infections: 17 years' experience in a neonatal intensive care unit. *Am J Infect Control*. 2004 Jun;32(4):189-95. doi: 10.1016/j.ajic.2003.07.004. PMID: 15175611.
8. Romero ED, Padilla TP, Hernández AH, Grande RP, Vázquez MF, García IG, García-Rodríguez JA,

Muñoz Bellido JL. Prevalence of clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. producing multiple extended-spectrum beta-lactamases. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007 Dec;59(4):433-7. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2007.06.007. Epub 2007 Oct 29. PMID: 17913435.

9. Kuo KC, Shen YH, Hwang KP. Clinical implications and risk factors of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection in children: a case-control retrospective study in a medical center in southern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*. 2007 Jun;40(3):248-54. PMID: 17639166.
10. Muztika SA, Nasrul E, Alia E. Prevalensi dan Pola Sensitivitas Antibiotik *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli* Penghasil Extended Spectrum Beta Laktamase di RSUP Dr. M Djamil Padang. *J Kesehat Andalas*. 2020;9(2):189.
11. Sharma AK, Dhasmana N, Dubey N, Kumar N, Gangwal A, Gupta M, et al. Bacterial Virulence Factors: Secreted for Survival. *Indian J Microbiol*. 2017;57(1):1–10.
12. Jasim SA, Abdulrazzaq SA, Hashoosh S Ibrahim, Saleh RO. Virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* isolates from Iraqi patients. *Syst Rev Pharm*. 2020;11(6):916–21.
13. Wexler HM. Outer-membrane pore-forming proteins in gram-negative anaerobic bacteria. *Clin Infect Dis*. 2002 Sep 1;35(Suppl 1):S65-71. doi: 10.1086/341923. PMID: 12173111.
14. El Din AAMN, Harfoush RAH, Okasha HAS, El Sayed Kholeif DA. Study of OmpK35 and OmpK36 Expression in Carbapenem Resistant ESBL Producing Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae*; *Adv Microbiol*. 2016;06(09):662–70.
15. Shin SY, Bae IK, Kim J, Jeong SH, Yong D, Kim JM, et al. Resistance to carbapenems in sequence type 11 *Klebsiella pneumoniae* is related to DHA-1 and loss of OmpK35 and/or OmpK36. *J Med Microbiol*. 2012;61(2):239–45.
16. Du F, Wei D dan, Wan LG, Cao X wei, Zhang W, Liu Y. Evaluation of ompK36 allele groups on clinical characteristics and virulence features of *Klebsiella pneumoniae* from bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect* [Internet]. 2019;52(5):779–87. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2018.08.018>
17. Chiu SK, Wu TL, Chuang YC, Lin JC, Fung CP, Lu PL, et al. National Surveillance Study on Carbapenem Non-Susceptible *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan: The Emergence and Rapid Dissemination of KPC-2 Carbapenemase. *PLoS One*. 2013;8(7):6–12.
18. Li B, Zhao Y, Liu C, Chen Z, Zhou D. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiol*. 2014;9(9):1071–81.

19. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11(4):589–603.
20. Garcia-Sureda L, Doménech-Sánchez A, Barbier M, Juan C, Gascó J, Albertí S. OmpK26, a novel porin associated with carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Oct;55(10):4742-7. doi: 10.1128/AAC.00309-11. Epub 2011 Aug 1. PMID: 21807980; PMCID: PMC3186958.
21. Srinivasan VB, Vaidyanathan V, Mondal A, Venkataramaiah M, Rajamohan G. Functional characterization of a novel Mn²⁺ dependent protein serine/threonine kinase KpnK, produced by *Klebsiella pneumoniae* strain MGH78578. *FEBS Lett.* 2012 Nov 2;586(21):3778-86. doi: 10.1016/j.febslet.2012.09.007. Epub 2012 Sep 23. PMID: 23010593.

