

Profil Resistansi Antibiotik dan Hipermukoviskositas *Klebsiella pneumoniae* Isolat Berbagai Spesimen Klinis

Antibiotic Resistance Profile and Hypermucoviscosity of Klebsiella pneumoniae Isolated from Various Clinical Specimens

Aminah Aminah^{1*}, Citra Trisna¹, Dewi Lokida²

¹ Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Banten, Tangerang, Indonesia

² Laboratorium Infeksi, Rumah Sakit Umum Kabupaten Tangerang, Tangerang, Indonesia

* Corresponding author: aminah@poltekkesbanten.ac.id

Abstrak. *Klebsiella pneumoniae* merupakan patogen oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, saluran pernafasan, dan sepsis. Bakteri ini menjadi salah satu spesies ESKAPE yang merupakan patogen nosokomial dan berpotensi virulen dan resistan terhadap antimikroba dan termasuk kedalam daftar spesies prioritas untuk penelitian dan target pengembangan antibiotik baru menurut WHO. Karakteristik hipermukoviskositas menjadi salah satu biomarker yang dapat membedakan *K. pneumoniae* hipervirulen dengan strain klasik. Oleh karena itu penentuan resistansi antibiotik dan hipermukoviskositas *K. pneumoniae* akan dilakukan untuk menentukan patogenisitas bakteri ini secara klinis dan membantu pencapaian terapi antimikroba yang lebih efisien. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakter strain isolat *K. pneumoniae* yang berasal dari berbagai sampel klinis (urin, saluran pernafasan, atau darah) berdasarkan resistansi antimikroba dan sifat hipermukoviskositasnya. Data dikumpulkan dilakukan dengan melakukan *string test* dan uji sensitivitas antibiotik yang diikuti dengan interpretasi hasil. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *K. pneumoniae* isolat darah, jaringan, pus, dan sputum induksi yang positif *string test* memiliki pola resistansi antibiotik yang bervariasi.

Kata kunci: *Klebsiella*, resistansi, antibiotik, hipermukoviskositas, hipervirulen

Abstract. *Klebsiella pneumoniae* is an opportunistic pathogen that can cause urinary tract infections, respiratory tract infections, and sepsis. This bacteria is one of the ESKAPE species which is a nosocomial pathogen and has the potential to be virulent and resistant to antimicrobials and is included in the list of priority species for research and targets for developing new antibiotics according to WHO. The characteristic of hypermucoviscosity is one of the biomarkers that can differentiate hypervirulent *K. pneumoniae* from classic strains. Therefore, determination of antibiotic resistance and hypermucoviscosity of *K. pneumoniae* will be carried out to determine the pathogenicity of this bacterium clinically and help achieve more efficient antimicrobial therapy. This study aims to determine the characteristics of *K. pneumoniae* isolate strains originating from various clinical samples (urine, respiratory tract, or blood) based on their antimicrobial resistance and hypermucoviscosity properties. Data was collected by carrying out string tests and antibiotic sensitivity tests followed by interpretation of the results. The results of this study showed that *K. pneumoniae* isolates from blood, tissue, pus and induced sputum that were positive for the string test had varying antibiotic resistance patterns.

Keywords: *Klebsiella*, resistance, antibiotic, hypermucoviscosity, hypervirulent

Pendahuluan

Klebsiella pneumoniae merupakan patogen oportunistik yang paling sering menyebabkan infeksi saluran kemih meskipun juga ditemukan menyebabkan berbagai infeksi lainnya [1]. *Klebsiella pneumoniae* menjadi uropatogen penting yang tidak menimbulkan angka mortalitas tinggi namun secara ekonomi menjadi beban pelayanan kesehatan karena meningkatkan biaya pengobatan [2]. Selain infeksi saluran kemih, *Klebsiella pneumoniae* juga dapat menyebabkan infeksi saluran pernafasan dan sepsis [3, 4]. Bakteri ini menjadi salah satu spesies ESKAPE yang merupakan patogen nosokomial dan

berpotensi virulen dan resistan terhadap antimikroba [5]. Enam bakteri patogen sangat virulen dan resistan antibiotik yang termasuk kedalam grup ESKAPE adalah *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan spesies *Enterobacter*. Badan kesehatan dunia World Health Organization (WHO) juga memasukkan *K. pneumoniae* sebagai salah satu spesies prioritas untuk penelitian dan target pengembangan antibiotik baru [6].

Bakteri-bakteri uropatogenik memiliki karakteristik seperti produksi adhesin, siderofor, dan toksin yang dapat membantunya untuk melakukan kolonisasi pada sel manusia [7, 8]. Molekul-molekul tersebut membantu bakteri menghindari sistem imun dan menyebabkan kegagalan terapi antimikroba, serta dengan mekanisme yang sama juga dapat melekatkan bakteri pada alat-alat kesehatan untuk membentuk biofilm [9]. Karakteristik hipermukoviskositas menjadi salah satu biomarker yang dapat membedakan *K. pneumoniae* hipervirulen dengan strain klasik [10]. Oleh karena itu penentuan resistansi antibiotik dan hipermukoviskositas *K. pneumoniae* dapat dilakukan untuk menentukan patogenisitas bakteri ini secara klinis dan membantu pencapaian terapi antimikroba yang lebih efisien.

Metode

Sampel

Sampel yang digunakan adalah berbagai isolat *K. pneumoniae* yang berasal dari spesimen klinis dari RSUD Kabupaten Tangerang.

String test

String test atau uji dawai dilakukan untuk mengidentifikasi fenotipe hipermukoviskus (HMV). Isolat *K. pneumoniae* ditumbuhkan pada media MCA pada suhu 37°C semalaman. Setelah itu sengkeli digunakan untuk menarik mukus koloni bakteri. Fenotipe HMV positif jika panjang dawai yang terbentuk >5 mm [48].

Uji Sensitivitas antibiotik

Sensitivitas isolat *K. pneumoniae* terhadap antibiotik diuji pada plat agar MH menggunakan cakram Liofilchem® untuk antibiotik gentamicin, erythromycin, tetracycline, chloramphenicol, ciprofloxacin, imipenem, ceftazidime, dan ceftazidime.

Hasil

Sebanyak lima isolat *K. pneumoniae* yang berasal dari berbagai spesimen klinis seperti darah, jaringan, pus, dan sputum induksi yang positif pada uji dawai menunjukkan pola resistansi antibiotik yang bervariasi (Tabel 1).

Tabel 1. Profil Resistansi Antibiotik dan Hipermukoviskositas *Klebsiella pneumoniae* Isolat berbagai Spesimen Klinis

SPESIMEN	ESBL	DIAMETER ZONA HAMBAT (mm)								STRING
		C	CAZ	CIP	CN	E	FOX	TE	IMI	
Darah	-	25	28	29	22	11	28	24	26	+
Jaringan	-	17	26	25	26	0	17	15	29	+
Pus	+	0	0	0	16	0	0	0	26	+
Sputum induksi	-	24	28	28	23	7	25	22	28	+
Sputum induksi	+	26	15	30	23	8	23	23	27	+

Ket: C (chloramphenicol), CAZ (ceftazidime), CIP (ciprofloxacin), CN (gentamicin), E (erythromycin), FOX (ceftazidime), TE (tetracycline), IMI (imipenem)

Diskusi

Klebsiella pneumoniae merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi nosokomial di seluruh dunia [11] dan termasuk dalam daftar target program surveilans AMR yang dilaksanakan oleh WHO selain bakteri penting secara klinis lainnya seperti *Acinetobacter* spp., *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus pneumoniae* [12]. Kromosom *Klebsiella pneumoniae* menyandi berbagai determinan AMR yang dapat menurunkan sensitivitasnya

terhadap beragam antibiotik. Beberapa di antara determinan tersebut telah menular ke bakteri lain, seperti gen resistan fosfomycin *fosA* [13] dan pompa efluks asam nalidixat *OqxAB* [14]. Resistansi juga dapat diperoleh melalui mutasi atau transfer horizontal gen resistan yang menjadi media penularan resistansi dari dan ke mikroorganisme lain oleh *K. pneumoniae*, seperti penularan β -lactamase KPC, OXA dan NDM [15]. Informasi mengenai gen yang berperan dalam pembentukan karakteristik fenotipe resistansi dapat digunakan untuk memprediksi evolusi patogen dan untuk mengidentifikasi transfer gen resistan mana yang akan mempengaruhi lebih banyak jenis bakteri. Berbagai penelitian untuk mengidentifikasi resistom intrinsik bermacam-macam patogen telah dilakukan [16, 17], dan beberapa telah dipublikasikan [16-23]. Resistom intrinsik sebagai kumpulan gen kromosomal yang terlibat dalam resistansi tidak dipengaruhi oleh paparan terhadap antibiotik maupun transfer horizontal gen resistan.

Antibiotik merupakan salah satu penemuan paling penting di abad ke-20 namun resistansi terhadap antibiotik saat ini menjadi ancaman bagi dunia kesehatan. Secara alami, bakteri dapat menghasilkan molekul antimikroba [24] yang berperan sebagai mekanisme pertahanan terhadap senyawa antimikroba yang dihasilkan bakteri kompetitor [25] meskipun beberapa gen resistan baru akan aktif setelah mikroba terpapar antibiotik [26, 27]. Setelah resistansi pertama muncul pada satu mikroorganisme, penyebaran dapat terjadi melalui berbagai cara, baik di dalam satu inang contohnya melalui plasmid, atau antar inang berbeda melalui lingkungan yang terkontaminasi [28-30].

Penyalahgunaan antimikroba telah meningkatkan prevalensi gen resistan pada mikrobiom hewan dan manusia dalam delapan dekade terakhir [31]. Perpindahan gen resistan antimikroba antara bakteri asal hewan dan manusia sangat mungkin terjadi sehingga bakteri resistan pada mikrobiom hewan dapat menjadi reservoir gen resistan antimikroba yang penting secara klinis [32].

Perkembangan pesat resistansi antimikroba pada patogen merupakan ancaman serius bagi dunia kesehatan [33] dan diperkirakan telah menyebabkan kematian lebih dari 700,000 jiwa per tahun [34]. Perkembangan tersebut terjadi akibat masuknya gen resistan antimikroba kedalam patogen melalui unsur genetik yang dapat berpindah seperti integron, transposon, dan plasmid [35].

Persoalan resistansi merupakan masalah klinis meskipun berbagai temuan menunjukkan bahwa lingkungan juga berperan sebagai sumber gen resistan [24, 36-38]. Infeksi oleh patogen yang resistan terhadap berbagai antibiotik merupakan persoalan serius di negara-negara dengan kemampuan ekonomi tinggi dan sedang, di mana kegiatan surveilans telah berjalan dengan baik [33] meskipun negara-negara dengan kemampuan ekonomi rendah menghadapi risiko yang lebih besar [33, 39]. Obat-obatan antimikroba yang memicu munculnya resistansi dapat berasal dari berbagai sumber dengan ketersediaan jumlah dan keragaman yang tinggi [33, 40, 41].

Pneumonia nosokomial atau *hospital-acquired pneumonia* (HAP) terjadi 48 jam setelah pasien mulai dirawat di rumah sakit dan bukan masa inkubasi [42]. Salah satu HAP penting yang terjadi pada 10 – 20 % kasus di unit rawat intensif adalah pneumonia akibat penggunaan ventilator (VAP) setelah 48 sampai 72 jam intubasi trakhea [42, 43]. Patogen yang dapat menyebabkan HAP dan VAP bervariasi antara bakteri aerob batang Gram-negatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp.) atau bakteri kokus Gram-positif (*Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus* spp.), tergantung faktor inang dan mikroflora yang ada fasilitas pelayanan kesehatan terkait [42]. Tanda-tanda HAP dan VAP antara lain batuk, berdahak, peningkatan suhu tubuh, nyeri dada atau dispnea dengan gejala demam, nafas cepat, kelainan suara nafas [44].

Penanganan HAP dan VAP memerlukan kolaborasi lintas-profesi dalam bidang penyakit infeksi, penyakit paru-paru, kegawatdaruratan, anesthesiologis, dokter, perawat, serta apoteker di fasilitas pelayanan kesehatan yang menangani pasien dengan pneumonia nosokomial karena tanpa penanganan yang tepat, morbiditas dan mortalitas akibat HAP dan VAP tergolong tinggi (level 2) [45,46]. Terapi awal untuk HAP dan VAP harus meliputi senyawa aktif terhadap *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan basilus Gram-negatif lainnya yang ditentukan berdasarkan patogen yang umum ditemukan di fasilitas pelayanan kesehatan terkait dan faktor risiko *multi-drug resistance* (MDR) pada pasien [42, 46]. Penentuan terapi yang tepat saat ini menjadi lebih mudah karena telah ada teknik diagnostik molekuler seperti polymerase chain reaction (PCR) multipleks yang dapat mendeteksi

serangkaian patogen saluran pernafasan dan berbagai gen resistan antibiotik sehingga patogen penyebab infeksi dan pola resistansinya dapat ditentukan dengan cepat [47].

Kajian yang membandingkan pneumonia nosokomial onset dini dan lanjut menunjukkan bahwa umumnya bakteri-bakteri resistan menyebabkan pneumonia onset dini, contohnya *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Klebsiella pneumoniae* yang resistan carbapenem [45]. *Klebsiella pneumoniae* isolat darah, jaringan, pus, dan sputum induksi yang positif *string test* dalam penelitian ini memiliki pola resistansi antibiotik yang bervariasi.

Kesimpulan

Klebsiella pneumoniae isolat darah, jaringan, pus, dan sputum induksi yang positif *string test* dalam penelitian ini memiliki pola resistansi antibiotik yang bervariasi.

Daftar Pustaka

- Martin RM dan Bachman MA. 2018. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 8 DOI: 10.3389/fcimb.2018.00004.
- Rozenkiewicz D, Esteve-Palau E, Arenas-Miras M, Grau S, Duran X, Sorlí L, Montero MM, dan Horcajada JP. 2021. Clinical and Economic Impact of Community-Onset Urinary Tract Infections Caused by ESBL-Producing *Klebsiella pneumoniae* Requiring Hospitalization in Spain: An Observational Cohort Study. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*. 10(5): p. 585 DOI: 10.3390/antibiotics10050585.
- Li S, Yu S, Peng M, Qin J, Xu C, Qian J, He M, dan Zhou P. 2021. Clinical features and development of Sepsis in *Klebsiella pneumoniae* infected liver abscess patients: a retrospective analysis of 135 cases. *BMC Infectious Diseases*. 21(1): p. 597 DOI: 10.1186/s12879-021-06325-y.
- Vieira AT, Rocha VM, Tavares L, Garcia CC, Teixeira MM, Oliveira SC, Cassali GD, Gamba C, Martins FS, dan Nicoli JR. 2016. Control of *Klebsiella pneumoniae* pulmonary infection and immunomodulation by oral treatment with the commensal probiotic *Bifidobacterium longum* 51A. *Microbes and Infection*. 18(3): p. 180-189 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.10.008>.
- Mulani MS, Kamble EE, Kumkar SN, Tawre MS, dan Pardesi KR. 2019. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Frontiers in microbiology*. 10: p. 539-539 DOI: 10.3389/fmicb.2019.00539. Development of New Antibiotics. 2017.
- Holden VI, Breen P, Houle S, Dozois CM, dan Bachman MA. 2016. *Klebsiella pneumoniae* Siderophores Induce Inflammation, Bacterial Dissemination, and HIF-1 α Stabilization during Pneumonia. *mBio*. 7(5): p. e01397-16 DOI: 10.1128/mBio.01397-16.
- Govindarajan DK dan Kandaswamy K. 2022. Virulence factors of uropathogens and their role in host pathogen interactions. *The Cell Surface*. 8: p. 100075 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tcs.2022.100075>.
- Wang G dan Zhao G. 2020. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. 17(17) DOI: 10.3390/ijerph17176278.
- Russo TA, Olson R, dan Fang CT. 2018. Identification of Biomarkers for Differentiation of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from Classical *K. pneumoniae*. 56(9) DOI: 10.1128/jcm.00776-18.
- WHO. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. 2014.
- WHO. Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) Report: Early Implementation 2016-2017. 2018.
- Guo Q, Tomich AD, McElheny CL, Cooper VS, Stoesser N, Wang M, Sluis-Cremer N, dan Doi Y. 2016. Glutathione-S-transferase FosA6 of *Klebsiella pneumoniae* origin conferring fosfomycin resistance in ESBL-producing *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 71(9): p. 2460-2465 DOI: 10.1093/jac/dkw177.
- Yuan J, Xu X, Guo Q, Zhao X, Ye X, Guo Y, dan Wang M. 2012. Prevalence of the *oqxAB* gene complex in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* clinical isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 67(7): p. 1655-1659 DOI: 10.1093/jac/dks086.
- Lee CR, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, dan Lee SH. 2016. Global Dissemination of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. *Front Microbiol*. 7: p. 895 DOI: 10.3389/fmicb.2016.00895.
- Olivares Pacheco J, Bernardini A, Garcia-Leon G, Corona F, Sanchez MB, dan Martinez J. 2013. The intrinsic resistome of bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 4(103) DOI: 10.3389/fmicb.2013.00103.
- Bernardini A, Cuesta T, Tomas A, Bengoechea JA, Martinez JL, dan Sanchez MB. 2019. The intrinsic resistome of *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents*. 53(1): p. 29-33 DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2018.09.012.
- Sinha T, Vich Vila A, Garmaeva S, Jankipersadsing SA, Imhann F, Collij V, Bonder MJ, Jiang X, Gurry T, Alm EJ, D'Amato M, Weersma RK, Scherjon S, Wijmenga C, Fu J, Kurilshikov A, dan Zhernakova A. 2019. Analysis of 1135 gut metagenomes identifies sex-specific resistome profiles. *Gut Microbes*. 10(3): p. 358-366 DOI: 10.1080/19490976.2018.1528822.
- Ruppe E, Ghazlane A, Tap J, Pons N, Alvarez AS, Maziers N, Cuesta T, Hernando-Amado S, Clares I, Martinez JL, Coque TM, Baquero F, Lanza VF, Maiz L, Goulenok T, de Lastours V, Amor N, Fantin B, Wieder I, Andremont A, van Schaik W, Rogers M, Zhang X, Willems RJL, de Brevin AG, Batto JM, Blottiere HM, Leonard P, Lejard V, Letur A,

- Levenez F, Weiszer K, Haimet F, Dore J, Kennedy SP, dan Ehrlich SD. 2019. Prediction of the intestinal resistome by a three-dimensional structure-based method. *Nat Microbiol.* 4(1): p. 112-123 DOI: 10.1038/s41564-018-0292-6.
20. Galetti R, Andrade LN, Varani AM, dan Darini ALC. 2019. SPM-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* ST277 carries a chromosomal pack of acquired resistance genes: An example of high-10.1016/j.jgar.2018.12.009.
21. Dias E, Oliveira M, Manageiro V, Vasconcelos V, dan Canica M. 2019. Deciphering the role of cyanobacteria in water resistome: Hypothesis justifying the antibiotic resistance (phenotype and genotype) in *Planktothrix* genus. *Sci Total Environ.* 652: p. 447-454 DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.167.
22. Agero Y, Bjerre K, Brockmann E, Johansen E, Nielsen B, Siezen R, Stuer-Lauridsen B, Wels M, dan Zeidan AA. 2019. Putative antibiotic resistance genes present in extant *Bacillus licheniformis* and *Bacillus paralicheniformis* strains are probably intrinsic and part of the ancient resistome. *PLoS One.* 14(1): p. e0210363 DOI: 10.1371/journal.pone.0210363.
23. Olaitan AO, Morand S, dan Rolain JM. 2014. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol.* 5(643).
24. Allen HK, Donato J, Wang HH, Cloud-Hansen KA, Davies J, dan Handelsman J. 2010. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nat Rev Microbiol.* 8 DOI: 10.1038/nrmicro2312.
25. Aminov R. 2009. The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Environ Microbiol.* 11 DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.01972.x.
26. Gillings MR. 2013. Evolutionary consequences of antibiotic use for the resistome, mobilome and microbial pangenome. *Front Microbiol.* 4 DOI: 10.3389/fmicb.2013.00004.
27. Bengtsson-Palme J, Kristiansson E, dan Larsson DGJ. 2018. Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 42 DOI: 10.1093/femsre/fux053.
28. Silbergeld EK, Graham J, dan Price LB. 2008. Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health. *Annu Rev Public Health.* 29: p. 151-69 DOI: 10.1146/annurev.publhealth.29.020907.090904.
29. Hao H, Sander P, Iqbal Z, Wang Y, Cheng G, dan Yuan Z. 2016. The Risk of Some Veterinary Antimicrobial Agents on Public Health Associated with Antimicrobial Resistance and their Molecular Basis. *Frontiers in microbiology.* 7: p. 1626-1626 DOI: 10.3389/fmicb.2016.01626.
30. Conlan S, Park M, Deming C, Thomas PJ, Young AC, Coleman H, Sison C, Weingarten RA, Lau AF, Dekker JP, Palmore TN, Frank KM, dan Segre JA. 2016. Plasmid Dynamics in KPC-Positive *Klebsiella pneumoniae* during Long-Term Patient Colonization. *MBio.* 7(3) DOI: 10.1128/mBio.00742-16.
31. Laxminarayan R. 2014. Antibiotic effectiveness: balancing conservation against innovation. *Science.* 345(6202): p. 1299-301 DOI: 10.1126/science.1254163.
32. de Been M, Lanza VF, de Toro M, Scharringa J, Dohmen W, Du Y, Hu J, Lei Y, Li N, Tooming- Klunderud A, Heederik DJ, Fluit AC, Bonten MJ, Willems RJ, de la Cruz F, dan van Schaik W. 2014. Dissemination of cephalosporin resistance genes between *Escherichia coli* strains from farm animals and humans by specific plasmid lineages. *PLoS Genet.* 10(12): p. e1004776 DOI: 10.1371/journal.pgen.1004776.
33. WHO, Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. 2014.
34. O'Neill J, Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the future health and wealth of nations. 2014. <https://wellcomecollection.org/works/rdpck35v>
35. van Hoek AH, Mevius D, Guerra B, Mullany P, Roberts AP, dan Aarts HJ. 2011. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Front Microbiol.* 2: p. 203 DOI: 10.3389/fmicb.2011.00203. ancient. *Nature.* 477 DOI: 10.1038/nature10388.
37. Forsberg KJ, Reyes A, Wang B, Selleck EM, Sommer MOA, dan Dantas G. 2012. The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens. *Science.* 337 DOI: 10.1126/science.1220761.
38. Finley RL, Collignon P, Larsson DGJ, McEwen SA, Li X-Z, dan Gaze WH. 2013. The scourge of antibiotic resistance: the important role of the environment. *Clin Infect Dis.* 57 DOI: 10.1093/cid/cit355.
39. Allegranzi B, Bagheri Nejad S, Combescure C, Graafmans W, Attar H, Donaldson L, dan Pittet D. 2011. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 377(9761): p. 228-41 DOI: 10.1016/s0140-6736(10)61458-4.
40. Marti E, Variatza E, dan Balcazar JL. 2014. The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. *Trends Microbiol.* 22(1): p. 36-41 DOI: 10.1016/j.tim.2013.11.001.
41. Agga GE, Arthur TM, Durso LM, Harhay DM, dan Schmidt JW. 2015. Antimicrobial-Resistant Bacterial Populations and Antimicrobial Resistance Genes Obtained from Environments Impacted by Livestock and Municipal Waste. *PloS one.* 10(7): p. e0132586-e0132586 DOI: 10.1371/journal.pone.0132586.
42. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, Napolitano LM, O'Grady NP, Bartlett JG, Carratala J, El Solh AA, Ewig S, Fey PD, File TM, Jr., Restrepo MI, Roberts JA, Waterer GW, Cruse P, Knight SL, dan Brozek JL. 2016. Executive Summary: Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.* 63(5): p. 575-82 DOI: 10.1093/cid/ciw504.
43. Kumar ST, Yassin A, Bhowmick T, dan Dixit D. 2017. Recommendations From the 2016 Guidelines for the Management of Adults With Hospital-Acquired or Ventilator-Associated Pneumonia. *P & T : a peer-reviewed journal for formulary management.* 42(12): p. 767-772.
44. Fagon JY. 2003. Hospital-acquired pneumonia: diagnostic strategies: lessons from clinical trials. *Infect Dis Clin North Am.* 17(4): p. 717-26.
45. Karakuzu Z, Iscimen R, Akalin H, Kelebek Girgin N, Kahveci F, dan Sinirtas M. 2018. Prognostic Risk Factors in Ventilator-Associated Pneumonia. *Med Sci Monit.* 24: p. 1321-1328 DOI: 10.12659/msm.905919.
46. Luyt CE, Chastre J, dan Fagon JY. 2004. Value of the clinical pulmonary infection score for the identification and management of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 30(5): p. 844-52 DOI: 10.1007/s00134-003-2125-0.

47. Burrack-Lange SC, Personne Y, Huber M, Winkler E, Weile J, Knabbe C, Gorig J, dan Rohde H. 2018. Multicenter assessment of the rapid Unyvero Blood Culture molecular assay. *J Med Microbiol.* 67(9): p. 1294-1301 DOI: 10.1099/jmm.0.000804.
48. Ballen V, Gabasa Y, Ratia C, Ortega R, Tejero M, dan Soto S. 2021. Antibiotic Resistance and Virulence Profiles of *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated From Different Clinical Sources. *Front Cell Infect Microbiol.* 11: p. 738223 DOI: 10.3389/fcimb.2021.738223.