

Perbandingan Tingkat Keganasan Bakteri Berdasarkan Lama Waktu Kematian pada Tikus Model Sepsis yang Diinfeksi *Escherichia coli* ESBL dan *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

Lisa Savitri¹⁾, Alfred Rinaldo Kasimo²⁾, Juan Vega Mahardika³⁾, Yosep Mosse⁴⁾
^{1,2,3,4}Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri
email: lisasavitri@unik-kediri.ac.id

APA Citation: Savitri, L., Kasimo, E.R., Mahardika, J.V., & Mosse, Y. (2021). Perbandingan Tingkat Keganasan Bakteri Berdasarkan Lama Waktu Kematian pada Tikus Model Sepsis yang Diinfeksi *Escherichia coli* ESBL dan *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase. Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi, 14(1), 67-72. doi: 10.25134/quagga.v14i1.5065.

Received: 23-11-2021

Accepted: 24-12-2021

Published: 10-01-2022

Abstrak: Sepsis dapat diperberat oleh peningkatan kuman yang multiresisten terhadap bermacam antibiotik, sehingga sangat diperlukan kombinasi antibiotik dalam penatalaksanaan sepsis. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan tingkat keganasan bakteri berdasarkan lama waktu kematian pada tikus model sepsis yang diinfeksi *Escherichia coli* ESBL dan *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase. Tikus yang telah diadaptasikan diinjeksi pada bagian peritoniumnya dengan perlakuan kontrol normal, diinjeksi *E. coli* ESBL, dan diinjeksi *K. pneumoniae* carbapenemase. Tikus yang telah diinfeksi diamati selama 24 jam untuk diamati lama waktu kematiannya. Hasilnya adalah tikus kelompok kontrol dan tikus kelompok infeksi *E.coli* ESBL semuanya dapat bertahan hidup dalam kurun waktu hingga 24 jam, sedangkan kelompok tikus dengan infeksi *K. pneumoniae* carbapenemase hanya satu yang mampu bertahan hidup lebih dari 24 jam. Selain endotoksik dan gen ESBL yang dimiliki *E.coli* ESBL dan *K. pneumoniae* carbapenemase, peran lain yang berdampak pada kematian hewan coba adalah ketidakstabilan kardiovaskuler dan syok septik yang menyebabkan kematian pada infeksi bakteri. Tingkat kejadian mortalitas pada hewan coba tidak hanya bergantung pada jumlah endotoksin dan adanya gen ESBL pada bakteri, tetapi juga bergantung pada kemampuan tubuh masing-masing hewan coba dalam merespon infeksi oleh bakteri Gram negatif.

Kata kunci: sepsis; tingkat keganasan bakteri; kematian tikus; *Escherichia coli* ESBL; *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

Abstract: Sepsis can be exacerbated by an increase in multi-resistant bacteria to various antibiotics, so a combination of antibiotics is needed in the management of sepsis. This study was conducted to compare the level of bacterial malignancy based on the length of time of death in sepsis model rats infected with *Escherichia coli* ESBL and *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase. The adapted mice were injected into their peritoneum with normal control treatment, injected with *E. coli* ESBL, and injected with *K. pneumoniae* carbapenemase. Infected mice were observed for 24 hours to observe the length of time of death. The result was that the control group mice and the ESBL *E. coli* infection group all survived for up to 24 hours, while only one group of mice with *K. pneumoniae* carbapenemase infection survived more than 24 hours. In addition to the endotoxicity and ESBL genes possessed by *E. coli* ESBL and *K. pneumoniae* carbapenemase, other roles that have an impact on the mortality of experimental animals are cardiovascular instability and septic shock that cause death in bacterial infections. The incidence of mortality in experimental animals does not only depend on the amount of endotoxin and the presence of the ESBL gene in bacteria, but also depends on the body's ability of each experimental animal to respond to infection by Gram-negative bacteria.

Keywords: sepsis; the degree of malignancy of bacteria; rat death; *Escherichia coli* ESBL; *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

PENDAHULUAN

Sepsis bertanggung jawab atas morbiditas, mortalitas, dan pengeluaran perawatan kesehatan tingkat pertama di seluruh dunia. Selama dekade terakhir, konseptualisasi sepsis telah bergeser dari satu berdasarkan respon inflamasi untuk setidaknya satu dijelaskan melalui respon imun disregulasi terhadap infeksi dan gangguan organ berikutnya ([Catherine et al., 2021](#)). Sepsis dan syok septik adalah masalah kesehatan utama, yang berdampak pada ratusan ribu manusia di seluruh dunia setiap 12 bulan dan membunuh antara satu dari tiga dan satu dari enam di antaranya terpengaruh ([Fleischmann et al., 2016](#); [Fleischmann et al., 2020](#); [Rhee et al., 2017](#)). Pada tahun 2017, anggota terbesar kasus sepsis dan kematian terkait sepsis di semua usia adalah penyakit diare (9,2 hingga 15 juta kasus per tahun) dan penurunan infeksi pernapasan (1,8-2,8 juta per tahun ([Rudd et al., 2020](#))).

Sepsis merupakan masalah klinis yang penting meskipun telah terjadi kemajuan terapi. Sepsis dapat diperberat oleh peningkatan kuman yang multiresisten terhadap bermacam antibiotik, sehingga sangat diperlukan kombinasi antibiotik dalam penatalaksanaan sepsis. Spesies Enterobacteriaceae patogen pada manusia memiliki jumlah strain resisten antibiotik yang banyak dan telah terdeteksi di seluruh dunia. Resistensi antibiotik yang paling banyak ditemui pada Enterobacteriaceae adalah beta-laktam, fluoroquinolones, aminoglikosida, dan baru-baru ini resistensi terhadap polymyxins juga telah ditemukan. Resistensi beta-laktam adalah resistensi yang disebabkan oleh bakteri yang memiliki beta-laktamase, sehingga mampu menghidrolisis antibiotik beta-laktam. Beta-laktamase yang paling penting adalah sefalosporinase, misalnya *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBLs) dan carbapenemases, misalnya *Metallo-Beta-Laktamases* (MBLs), *Klebsiella pneumoniae carbapenemases* (KPCs), dan enzim oxacillinase Oxa-48 ([Kocsis and Szabo, 2013](#)). Berdasarkan penelitian yang dilakukan di RSUP Dr. Kariadi Semarang, diketahui bahwa dari 141 pasien sepsis dengan infeksi oleh bakteri penghasil ESBL diantaranya 57,4% terinfeksi *Escherichia coli*, 21,35% terinfeksi *Enterobacter* sp, dan 21,3% terinfeksi *Klebsiella* sp ([Pajariu et al., 2010](#)). *Plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase* (ESBL), AmpC, dan carbapenemase yang

menghasilkan Enterobacteriaceae, khususnya *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*, dengan kemampuan rute transmisi zoonosis, adalah salah satu ancaman terbaik bagi kebugaran global ([Kurittu et al., 2021](#)). Resistensi karbapenem dimediasi dengan bantuan pembuatan karbapenemase; -laktamase dengan kapasitas hidrolitik yang fleksibel atau dengan cara campuran gangguan ekspresi porin membran luar ([Hamzan et al., 2015](#)). *E. coli* yang terbukti melawan beta-laktam disebut *E. coli* ESBL, sedangkan *K. pneumoniae* yang kebal terhadap karbapenem disebut *K. pneumoniae* Carbapenemase. Sama halnya dengan memiliki enzim yang membuat mereka kebal terhadap antibiotik tertentu, *E. coli* ESBL dan *K. pneumoniae* Carbapenemase memiliki endotoksin dalam bentuk lipopolisakarida (LPS).

Bakteri Gram-negatif menunjukkan resistensi obat yang lebih besar daripada organisme mikro Gram-positif karena karakteristik struktural tertentu dan menyebabkan morbiditas dan mortalitas ukuran penuh di seluruh dunia. Struktur fungsi tersebut adalah organel lipopolisakarida (LPS) pada membran luar (OM) dinding sel yang penting untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup mikro organisme. LPS adalah komponen dinding seluler utama yang dibentuk melalui kompleks multiprotein transenvelope berkomitmen yang menjaga lapisan peptidoglikan yang mendasarinya dan memainkan peran kunci dalam interaksi inang-patogen dengan sistem kekebalan bawaan ([Pasala et al., 2021](#)).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan [Savitri et al. \(2018\)](#) bahwa terjadi peningkatan caspase 3 di hati dan limpa pada tikus model sepsis, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui perbandingan tingkat keganasan bakteri berdasarkan lama waktu kematian pada tikus model sepsis yang diinfeksi *Escherichia coli* ESBL dan *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase.

METODOLOGI PENELITIAN

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar berumur sekitar delapan sampai dua belas minggu dengan berat badan 150-200 gram yang berasal dari unit hewan coba laboratorium ilmu biokimia Fakultas Kedokteran Universitas

Airlangga, Jalan Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya. Jumlah sampel tikus pada penelitian ini adalah 12 ekor tikus dengan 3 macam perlakuan.

E. coli ESBL yang dimaksud dalam penelitian ini adalah isolat klinis (*wild type*) *E. coli* ESBL yang diinjeksikan secara intraperitoneal pada tikus dengan dosis 1×10^5 CFU/ml yang didapatkan dari laboratorium mikrobiologi RSUD dr. Soetomo. *K. pneumoniae* carbapenemase yang dimaksud dalam penelitian ini adalah isolat klinis (*wild type*) *K. pneumoniae* carbapenemase yang diinjeksikan secara intraperitoneal pada tikus dengan dosis 1×10^5 CFU/ml yang didapatkan dari laboratorium mikrobiologi RSUD dr. Soetomo.

Tikus yang telah diadaptasikan diinjeksi pada bagian peritoniumnya (Gambar 1) dengan perlakuan sebagai berikut: 1) kelompok 1 sebagai kontrol normal, yaitu tikus diinjeksi *aqua pro injection* bebas pirogen, 2) kelompok 2 sebagai perlakuan 1, yaitu tikus diinjeksi *E. coli* ESBL dengan dosis 1×10^5 CFU/ml, dan 3) kelompok 3 sebagai perlakuan 2, yaitu tikus diinjeksi *K. pneumoniae* carbapenemase dengan dosis 1×10^5 CFU/ml. Tikus yang telah diinfeksi diamati selama 24 jam untuk diamati lama waktu kematiannya (Savitri *et al.*, 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa angka kematian tikus dengan infeksi *K. pneumoniae* carbapenemase lebih tinggi daripada infeksi *E. coli* ESBL. Berikut ini adalah data kematian tikus pada jam ke 2-8 dan jam ke 8-24 setelah injeksi bakteri *E. coli* ESBL dan *K. pneumoniae* carbapenemase (Tabel 1).



Gambar 1. Tikus yang Diinjeksi di Peritonium

Tabel 1. Data Kematian Tikus pada Jam ke 2-8 dan Jam ke 8-24 setelah Diinfeksi Bakteri *Escherichia coli* ESBL dan *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

Kelompok	Tikus Hidup	Tikus Mati Jam ke 2-8	Tikus Mati Jam ke 8-24
Kontrol (n=4)	4 (100%)	0	0
<i>E. coli</i> ESBL (n=4)	4 (100%)	0	0
<i>K. pneumoniae</i> carbapenemase (n=4)	1 (25%)	0	3 (75%)

Berdasarkan data hasil penelitian didapatkan bahwa tikus kelompok kontrol dan tikus kelompok infeksi *E. coli* ESBL semuanya dapat bertahan hidup dalam kurun waktu hingga 24 jam, sedangkan kelompok tikus dengan infeksi *K. pneumoniae* carbapenemase hanya satu yang mampu bertahan hidup lebih dari 24 jam. Selain endotoksik dan gen ESBL yang dimiliki *E. coli* ESBL dan *K. pneumoniae* carbapenemase, peran lain yang berdampak pada kematian hewan coba adalah ketidakstabilan kardiovaskuler dan syok septik yang menyebabkan kematian pada infeksi bakteri Gram negatif (Gambar 2).



Gambar 2. Tikus yang Mati karena Infeksi Bakteri

Bakteri *E. coli* ESBL dan *K. pneumoniae* carbapenemase merupakan bakteri gram negatif memiliki susunan molekul lipopolisakarida (LPS), LPS akan terikat dengan protein dalam bentuk LPS-binding protein (LBP). LBP sangat penting dalam timbulnya respon induksi inflamasi yang disebabkan oleh

LPS. Saat ini telah banyak reseptor endotoksin yang teridentifikasi seperti β 2-integrin CD11/CD18, *macrophage scavenger receptor for acetylated LDL*, *L-selectin*, dan CD14. CD14 dianggap sebagai yang paling penting. Reseptor ini ditemukan dalam dua bentuk, yaitu *membrane bound* CD14 (mCD14) dan *soluble* CD14 (sCD14). LPS juga dapat berinteraksi dengan *transmembrane signal transduction receptor Toll-like Receptor 4* (TLR4), di mana reseptor ini berada pada kompleks *accessory protein MD-2*. Walaupun TLR2 dianggap ikut berperan pada proses signaling LPS, diduga TLR4 memiliki peran kunci dalam respon imun terhadap bakteri Gram negatif pada *innate*.

LPS yang terikat pada reseptor akan mengaktifkan beberapa jalur *signaling* intraseluler, termasuk jalur I κ B kinase (IKK)-*Nuclear Factor* κ B (NF κ B) dan berbagai jalur *Nitrogen Activated Protein Kinase* (NAPK). Jalur-jalur ini akan menfosforilasi dan mengaktifkan berbagai faktor transkripsi, termasuk NF κ B/Rel protein, *Activator Protein 1* (AP-1) dan *Nuclear Factor-interleukin 6* (NF-IL6), yang akan menyebabkan induksi gen serta ekspresi mediator inflamasi dengan cepat, termasuk *cytokines*, *lipid mediators*, *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), dan molekul adhesi. Cytokines memiliki berbagai sel target dan aksi spesifik cytokines ini tergantung dari stimulus, tipe sel, serta adanya mediator inflamasi lainnya dan juga reseptor yang ada. Walaupun telah ditemukan beberapa faktor transkripsi yang mungkin berhubungan dengan perubahan aktivasi gen pada sepsis, termasuk AP-1 dan NF-IL-6, NF κ B merupakan faktor yang paling detail dijelaskan.

Menurut perkiraan resistensi antibiotik global yang diterbitkan oleh Organisasi Kesehatan Dunia pada tahun 2014, *K. pneumoniae* dan *E. coli* terdaftar sebagai dua dari tiga agen yang paling dikhawatirkan, terkait dengan infeksi yang didapatkan dari rumah sakit dan masyarakat (WHO, 2014). *E. coli* menghasilkan vitamin B dan K yang menghambat pertumbuhan patogen di usus dan menjadi beragam kelompok genetika dan patogen oportunistik dengan memasukkan patogenitas yang berbeda dengan gen virulensi, misalnya, *E. coli* enterotoksigenik (ETEC) dengan gen untuk toksin yang tahan panas dan panas labil toksin, enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) dengan gen untuk Shiga toksin I

dan II, dan *E. coli* enteropatogenik (EPEC) dengan gen untuk pilus berbentuk bundar. Munculnya bakteri *multidrug-resistant* (MDR), salah satunya adalah *E. coli* ESBL, yaitu bakteri yang mampu menghidrolisis cincin β -laktam cephalosporins spektrum luas (kecuali cephamisin dan carbapenems) dan monobactams, kemudian menginaktivasi senyawa ini (Su, et al., 2016).

Beberapa keluarga gen ESBL (blaCTX-M, blaSHV, blaTEM, dan blaOXA) dikodekan pada plasmid. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa beberapa plasmid pembawa ESBL mempengaruhi faktor lain selain resistensi, seperti kemampuan strain *Klebsiella* untuk menyerang sel-sel epitel. Plasmid ESBL ini memiliki kemampuan untuk mencegah sel dari "*post-segregational killing*", oleh karena itu bakteri selalu melakukan pemeliharaan plasmid selama replikasi. Sistem antitoksin tipe I adalah molekul RNA antisense kecil yang sebagian besar menghambat penerjemahan toksin mRNA atau menurunkan toksin mRNA, sedangkan protein sistem antitoksin tipe II berinteraksi pascatranslasi dengan protein toksin. Replikasi dalam plasmid-free sel tipe I molekul antitoksin RNA tidak stabil (mis. sok) menurun dengan cepat, sementara racun stabil (misalnya hok) menginduksi membran sel, sehingga mengganggu sintesis ATP dan kemudian menyebabkan kematian sel bakteri. Dalam plasmid ESBL yang paling sering mewakili sistem tidak hanya termasuk hok/sok tetapi juga pemK/I dan ccdA/B, yang mana tampaknya terkait dengan CTX-M-15 dan CTX-M-9 *encoding* plasmid dari jenis replika IncF (Schaufler, et al., 2013).

K. pneumoniae Carbapenemase memberikan perlawanan kepada hampir semua β -laktam, termasuk carbapenem. Gen blaKPC dipendam pada transposon Tn3 yang sangat mobile, Tn4401, dan memiliki telah genotip ke banyak plasmid pada berbagai kelompok (Chavda, et al., 2015; Mathers, et al., 2015). Di antara banyak bakteri Gram-negatif yang signifikan secara medis adalah anggota keluarga Enterobacteriaceae yang paling umum dan penting. Resistensi carbapenemase pada Enterobacteriaceae dapat terjadi melalui sejumlah mekanisme yang berbeda, termasuk hilangnya porins, mempengaruhi permeabilitas membran luar, peningkatan regulasi sistem

penghabisan dalam hubungannya dengan *hyperproduction* dari AmpC- β -lactamases atau *extended spectrum- β -laktamase* (ESBLs), dan produksi carbapenemases, seperti KPC dan New Delhi metallo- β -lactamase (NDM) ([Chen et al., 2014](#); [Pitout, et al., 2015](#)).

Penyebab akhir kematian pada tikus adalah kegagalan organ multipel. Terdapat hubungan erat antara derajat keberatan disfungsi organ terhadap perawatan intensif dan kemungkinan kesintasan serta antara jumlah organ yang gagal dengan risiko kematian. Mekanisme ini melibatkan deposisi fibrin luas yang menyebabkan oklusi mikrovaskular, timbulnya eksudat jaringan yang kemudian mengganggu oksigenasi adekuat dan gangguan hemostasis mikrovaskular yang timbul dari elaborasi zat-zat vasoaktif seperti PAF, histamin dan prostanoide. Infiltrat selular, terutama netrofil, merusak jaringan secara langsung dengan melepaskan enzim lisosomal dan radikal-radikal bebas turunan superoksida. TNF- α dan sitokin-sitokin lainnya meningkatkan ekspresi sintase oksida nitrat terinduksi dan peningkatan produksi oksida nitrat lebih lanjut akan menyebabkan instabilitas vaskular dan juga berkontribusi terhadap depresi miokardial yang timbul pada sepsis ([Aird, 2003](#); [Elbers & Ince, 2006](#)).

Tingkat kejadian mortalitas pada hewan coba tidak hanya bergantung pada jumlah endotoksin dan adanya gen ESBL pada bakteri, tetapi juga bergantung pada kemampuan tubuh masing-masing hewan coba dalam merespon infeksi oleh bakteri Gram negatif.

SIMPULAN

Tikus kelompok kontrol dan tikus kelompok infeksi *E.coli* ESBL semuanya dapat bertahan hidup dalam kurun waktu hingga 24 jam, sedangkan kelompok tikus dengan infeksi *K. pneumoniae* carbapenemase hanya satu yang mampu bertahan hidup lebih dari 24 jam. Selain endotoksik dan gen ESBL yang dimiliki *E.coli* ESBL dan *K. pneumoniae* carbapenemase, peran lain yang berdampak pada kematian hewan coba adalah ketidakstabilan kardiovaskuler dan syok septik yang menyebabkan kematian pada infeksi bakteri. Tingkat kejadian mortalitas pada hewan coba tidak hanya bergantung pada jumlah endotoksin dan adanya gen ESBL pada bakteri, tetapi juga bergantung pada kemampuan tubuh masing-masing hewan coba dalam merespon infeksi oleh bakteri Gram negatif.

REFERENSI

- Aird WC. 2003. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood*, 101:3765-77.
- Catherine Wentowski, David Perez Ingles, Nathan D. Nielsen, Sepsis 2021: a review, *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 2021, 22(11):676-684
- Chavda KD, Chen L, Jacobs MR, Rojzman AD, Bonomo RA, Kreiswirth BN. 2015. Complete sequence of a bla(KPC)-harboring cointegrate plasmid isolated from *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 59: 2956–2959.
- Chen L, Mathema B, Chavda KD, DeLeo FR, Bonomo RA, Kreiswirth BN. 2014. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding. *Trends Microbiol*, 22:686–696.
- Elbers PW, & Ince C. 2006. Mechanisms of critical illness--classifying microcirculatory flow abnormalities in distributive shock. *Crit. Care*, 10:221.
- Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK et al (2016) Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations. *Am J Respir Crit Care Med*, 193(3): 259–272.
- Fleischmann-Struzek C, Mellhammar L, Rose N et al (2020) Incidence and mortality of hospital and ICU treated sepsis: results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*, 46(8):1552–1562.
- Hamzan NI, Yean CY, Rahman RA, Hasan H, Rahman ZA. Detection of blaIMP4 and blaNDM1 harboring *Klebsiella pneumoniae* isolates in a university hospital in Malaysia. *Emerg Health Threats J*. 2015; 8:26011.
- Kocsis B and Szabo D. 2013. Antibiotic Resistance Mechanisms in Enterobacteriaceae. *Formatex*, 251-257.
- Kurittu Paula, Khakipoor Banafsheh, Aarnio Maria, Nykäsenoja Suvi, Brouwer Michael, Myllyniemi Anna-Liisa, Vatunen Elina, Heikinheimo Annamari. Plasmid-Borne and Chromosomal ESBL/AmpC Genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Global

- Food Products. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 125.
- Mathers AJ, Peirano G, Pitout JD. 2015. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev*, 28:565–591.
- Pajariu A, Firmanti SC, & Isbandrio B. 2010. *Infeksi oleh Bakteri Penghasil Extended-Spectrum-Beta-Lactamase (ESBL) di RSUP Dr. Kariadi Semarang: Faktor Risiko Terkait Penggunaan Antibiotik*. Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Pasala, Chiranjeevi & Katari, Sudheer & Nalamolu, Ravina & Alexander, Sharon & Vankadoth, Umakanth & Pakala, Siva Ranjani & Umamaheswari, Amineni. (2021). Lipopolysaccharide: An indispensable source for potential targets and therapeutic design against Gram-negative bacteria. *Journal of Clinical and Scientific Research*. 10, 4.
- Pitout JD, Nordmann P, Poirel L. 2015. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. *Antimicrob Agents Chemother*, 59:5873– 5884.
- Rhee C, Dantes R, Epstein L et al (2017) Incidence and trends of sepsis in US hospitals using clinical vs claims data, 2009–2014. *JAMA*, 318(13):1241–1249.
- Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* (London, England). 2020; 395(10219):200-11.
- Savitri, L., Sandhika, W. and Wahyu Widodo, A. 2018. Differences of Caspase-3 Expression in the Spleen and Liver of Sepsis Models in Rats Infected with *Escherichia coli* ESBL and *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase. *In Proceedings of the 2nd International Conference Postgraduate School (ICPS 2018)*, pages 249-252.
- Savitri, L., Sandhika, W., & Wahyu Widodo, A. (2019). Perbedaan Ekspresi Caspase 3 pada Limpa Tikus Model Sepsis yang Diinfeksi *Escherichia coli* ESBL dan dengan yang Diinfeksi *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase. *Prosiding Seminar Nasional Multidisiplin*, 2(1), 300-306.
- Schauflier K, Wieler LH, Semmler T, Ewers C, and Guenther S. 2013. ESBL-plasmids carrying toxin-antitoxin systems can be “cured” of wild-type *Escherichia coli* using a heat technique. *Gut Pathogens*, 5:34
- Su Y, Yu CY, Tsai Y, Wang SH, Lee C, and Chu C. 2016. Fluoroquinolone-resistant and extended-spectrum b-lactamase-producing *Escherichia coli* from the milk of cows with clinical mastitis in Southern Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 49, 892e901
- World Health Organization. 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva. *WHO Press*: 17-19.