

**KARAKTERISASI FAKTOR VIRULENSI *Escherichia coli* PATOGEN ZONOTIK (O157:H7) ISOLAT ASAL TINJA SAPI POTONG**

**CHARACTERIZATION OF *Escherichia coli* VIRULENCE FACTORS OF ZONOTIC PATHOGENS (O157:H7) ISOLATE OF FECAL CATTLE**

Wahyu Prihtiyantoro<sup>1</sup>, Hartatik<sup>1</sup>, Khusnan<sup>1</sup>, Mitra Slipranata<sup>2</sup>, Fatkhanudin Aziz<sup>3</sup><sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akademi Peternakan Brahmputra Yogyakarta

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

<sup>3</sup>Sekolah Vokasi Kesehatan Hewan Universitas Gadjah Mada,

**ABSTRACT**

*Hemagglutination ability, the existence of hemolysin and antibiotic resistance is an important virulence factor in Escherichia coli. This study aimed to characterize the virulence factors of the nine (9) E. coli isolates beef cattle comprising five (5) isolates from feces and 4 (four) isolates from manure. Twenty-two percent of isolates were able to agglutinate erythrocytes and 100 percent of isolates did not have hemolysin. Immunity isolates by erythromycin, methicillin, penicillin, tetracycline and gentamicin respectively 66.7 percent, 66.7 percent, 66.7 percent, 16.7 percent and 0 percent. Resistance occurs only at the fecal isolates while isolate of manure is still sensitive to the antibiotics*

Key-words: virulence, *Escherichia coli*, beef cattle

**INTISARI**

Kemampuan hemaglutinasi, keberadaan hemolisin dan kekebalan terhadap antibiotik merupakan faktor virulensi yang penting pada *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan melakukan karakterisasi faktor virulensi terhadap 9 (sembilan) *E. coli* isolat sapi potong yang terdiri 5 (lima) isolat berasal dari tinja dan 4 (empat) isolat berasal dari pupuk kandang. Duapuluh dua persen isolat mampu menggumpalkan eritrosit dan 100 persen isolat tidak memiliki hemolisin, 4 isolat asal tinja positif sebagai patogen zoonotik (O157:H7). Kekebalan isolat oleh eritromisin, metisilin, penisilin, tetrasiklin dan gentamisin masing-masing 66,7 persen, 66,7 persen, 66,7 persen, 16,7 persen dan 0 persen. Resistensi hanya terjadi pada isolat asal tinja sedangkan isolat asal pupuk kandang masih sensitive terhadap antibiotika-antibiotika tersebut.

Kata kunci: virulensi, *Escherichia coli*, sapi potong

---

<sup>1</sup> Alamat penulis untuk korespondi: Wahyu Prihtiyantoro, Hartatik, Khusnan (Akademi Peternakan Brahmputra Yogyakarta, Jln. Ki Ageng Pemanahan, Nitikan Sorosutan Umbulharjo, Yogyakarta. Telp. 384370), Mitra Slipranata (Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Jln. Fauna 2, Karangmalang, Yogyakarta), Fatkhanudin Aziz (Sekolah Vokasi Kesehatan Hewan Universitas Gadjah Mada, Sekip Unit II, Yogyakarta).

## PENDAHULUAN

Sapi telah diidentifikasi sebagai reservoir utama dari *E. coli* patogen zoonotik (O157:H7) (Caprioli *et al.* 2005). Secara normal *Escherichia coli* dapat ditemukan dalam tinja sapi, baik serotipe patogen maupun non patogen. *E. coli* patogen zoonotik telah ditemukan pada tinja sapi (Albihn *et al.* 2003). Tinja sapi berperan sebagai sumber penyebaran *E. coli*, penyebaran *E. coli* melewati tinja sapi dari kandang ke lingkungan maupun ke lahan pertanian melewati irigasi (Ogden *et al.* 2002; Jay *et al.* 2007).

Penyebaran *E. coli* patogen zoonotik dapat melalui aliran air irigasi yang berasal dari kandang ternak yang mengalir ke area pertanian (Avery *et al.* 2004). Menurut McGee *et al.* (2001) penyebaran *E. coli* patogen zoonotik dapat melalui pupuk kandang. Pupuk kandang merupakan sumber penyebaran *E. coli* patogen zoonotik saat digunakan untuk produksi pertanian (Fremaux *et al.* 2007; Thurston-Enriquez *et al.* 2005). Penyebaran *E. coli* patogen zoonotik dari hewan ke manusia dapat melalui produk pertanian yang terkontaminasi (Gerba & Smith 2005), seperti wortel, sayuran, dan bawang (Fremaux *et al.* 2007), bayam serta selada (Jay *et al.* 2007), taoge, selada, bayam, melon, keju, jamur, dan kubis (O'Sullivan *et al.* 2007).

Deteksi *E. coli* patogen zoonotik (O157:H7) secara fenotip menggunakan media selektif smac (Stapp *et al.* 2000). Media smac digunakan untuk identifikasi *E. coli* O157:H7 yang memiliki sensitivitas tinggi, metode ini merupakan cara sederhana, murah, dan cepat untuk mendeteksi *E. coli* O157:H7 (March & Ratnam 1986).

Potensi *E. coli* sebagai penyebab penyakit infeksi karena faktor-faktor virulensi yang dimiliki, diantaranya adanya fimbria, polisakarida kapsul, O-antigen kapsul, lipopolisakarida, aerobaktin, hemolisin, dan sitotoksin lainnya (Fairbrother & Ngeleka. 1994). Fimbria dan hemolisin merupakan faktor virulensi yang penting (Brauner *et al.*, 1995). Hemolisin berfungsi meningkatkan kemampuan *E. coli* untuk bertahan hidup dalam aliran darah dengan mediasi resistensi terhadap fagositosis (Welch *et al.* 1995). Hemaglutinin pada *E. coli* merupakan faktor adhesin, yaitu faktor virulensi yang berperan dalam proses perlekatan pada permukaan sel pada awal proses infeksi (Bohach & Snyder 1985; Chanter *et al.* 1993).

Resistensi antibiotik merupakan masalah dalam kesehatan hewan dan kesehatan masyarakat. Bakteri yang resisten oleh antibiotik telah banyak ditemukan baik isolat dari lingkungan, kebun, hasil pertanian, pangan, rumah sakit, kandang ternak maupun hewan (Chopra & Roberts 2001). Peningkatan resistensi terhadap antibiotik dapat menimbulkan kerugian bagi pengobatan yang efektif pada penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri (Fasehun 1999).

Antibiotik merupakan antimikroba yang berfungsi sebagai kemoterapi yang digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi bakteri pada manusia, tumbuhan, dan hewan. Namun sebagian besar antibiotik digunakan dalam peternakan sebagai pemacu pertumbuhan (Oliver *et al.* 2011; Spellberg *et al.* 2013). Sebagai pemacu pertumbuhan antibiotik digunakan dengan dosis rendah (Gustafson & Bowen 1997). Penggunaan antibiotik dengan dosis rendah di bawah dosis pengobatan akan

menciptakan resistensi antibiotik (Chattopadhyay 2014). Resistensi antibiotik merupakan masalah dalam pengobatan penyakit infeksi pada ternak dan manusia.

Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan deteksi serotipe *E. coli* patogen zoonotik, kemampuan hemaglutinasi dan produksi hemolisin serta menentukan resistensi antibiotik terhadap *E. coli* isolat asal tinja sapi potong dan pupuk kandang berbahan tinja sapi potong.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan sembilan isolat *E. coli* yang berasal dari sapi potong, yang terdiri dari lima isolat berasal dari tinja dan empat isolat berasal dari pupuk kandang. Kesembilan isolat telah dilakukan identifikasi berdasarkan fenotip dan genotip (Prihtiyantoro & Hartatik 2014).

Identifikasi serotipe patogenik zoonotik dikerjakan seperti cara kerja Suardana *et al.* (2014) dan Olowe *et al.* (2014). Isolat *E. coli* ditanam pada media selektif Sorbitol MacConkey (smac). Setelah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 20 hingga 24 jam, serotipe *E. coli* O157 dideteksi dari koloni jernih tidak berwarna.

Produksi hemolisin ditentukan berdasar adanya zona hemolisis yang terbentuk di sekeliling koloni bakteri yang tumbuh pada plat agar darah sesuai yang dilakukan Skalka *et al.* (1979). Bakteri ditanam pada plat agar (agar base, Oxoid, Jerman), kemudian diinkubasi selama 18 hingga 24 jam pada suhu 37°C, bakteri yang memproduksi alfa-hemolisin akan membentuk zona kehijauan di sekitar koloni, beta-hemolisin akan terlihat zona terang di sekitar koloni, gama-hemolisin tidak terlihat adanya zona di sekitar koloni.

Uji hemaglutinasi digunakan darah kelinci sesuai dengan Wibawan *et al.* (1993). Bakteri yang mengaglutinasi eritrosit akan terlihat larutan berwarna merah difus, sedangkan yang tidak bereaksi dengan eritrosit akan tampak endapan merah di bawah sumuran mikroplat.

Kepekaan isolat *E. coli* terhadap antibiotik diuji dengan menggunakan difusi cakram yang mengandung antibiotik dengan menggunakan media agar Mueller-Hinton sesuai Nontongana *et al.* (2014). Pada penelien ini menggunakan lima cakram yang masing-masing mengandung antibiotik eritromisin (15µg), metisilin (15µg), penisilin (10µg), gentamisin (10µg), dan tetrasiklin (10 mg). Isolat *E. coli* ditanam di permukaan media Mueller-Hinton dalam cawan petri dan cakram antibiotik ditempelkan di permukaan agar Mueller-Hinton, diinkubasi pada 37°C selama 18 hingga 24 jam. Zona inhibisi diukur panjangnya dan ditafsirkan sesuai Standards Institute Guidelines (Clinical and Laboratory Standards Institute 2009; Olowe *et al.* 2014)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Faktor virulensi yang dimiliki oleh *E. coli* diantaranya produksi hemolisis, kemampuan hemaglutinasi dan resistensi terhadap antibiotika serta sifat patogenik zoonotik. Pada penelitian ini Sembilan isolat *E. coli* yang berasal dari tinja sapi potong (lima isolat) dan dari pupuk kandang berbahan tinja sapi potong (empat isolat) semuanya (100 persen) tidak memproduksi hemolisin, dua isolat asal tinja mampu mengaglutinasi eritrosit domba, empat isolat terdeteksi sebagai serotipe patogen zoonotik (smac +). Empat isolat asal tinja telah resisten terhadap eritromisin, metisilin, penisilin, dan tetrasiklin. Adapun

gentamisin dan tetrasiklin masih sensitif terhadap isolat yang berasal dari tinja sapi. Limapuluh persen isolat yang berasal dari pupuk kandang masih sensitif terhadap eritromisin, metisilin, genatamisin, penisilin, dan tetrasiklin (Tabel 1).

Serotipe patogen zoonotik *E. coli* (O157:H7) menurut Doyle (1991) dapat dideteksi dengan menggunakan media selektif *sorbitol MacConkey* (smac). Serotipe *E. coli* O157:H7 pada media smac tidak mampu memfermentasi sorbitol (Bielaszewska *et al.* 2005), pada media smac akan tumbuh koloni jernih tidak berwarna (Olowe *et al.* 2014). Pada penelitian ini empat isolat yang berasal dari tinja sapi potong menunjukkan serotipe patogen zoonotik. Keempat isolat tersebut pada media *sorbitol MacConkey* (smac) koloni bakteri tumbuh terlihat jernih. Menurut Orth *et al.* (2007) serotipe *E. coli* O157:H7 tidak mampu memfermentasi sorbitol sehingga koloni yang tumbuh jernih dan tidak berwarna, dan cara ini telah digunakan untuk identifikasi serotipe *E. coli* O157:H7 dari kotoran, makanan maupun lingkungan.

Serotipe *E. coli* O157:H7 ditemukan pada tinja kerbau, sapi perah, sapi potong, domba, dan kambing serta tinja manusia (Ghoneim *et al.* 2014) dengan persentase sapi perah dan sapi potong sebesar 26,7 persen dan 4,5 persen. Pada penelitian ini serotipe *E. coli* O157:H7 terdeteksi sebesar 44,4 persen dan hanya terdeteksi dari isolat yang berasal dari t, sedangkan isolat asal pupuk tidak terdeteksi.

Keberadaan *E. coli* pada tumpukan tinja pada proses pembuatan pupuk kandang, pada hari 1 dan 7 menurun dari 40 persen ke 0 persen dibandingkan dengan

jumlah pada tinja segar (Meays *et al.* 2005). Keberadaan *E. coli* dalam tumpukan tinja pada proses pembuatan pupuk dipengaruhi oleh waktu, lingkungan, dan sinar matahari (Topp *et al.* 2003). Pada proses pembuatan pupuk kandang *E. coli* mampu bertahan hidup sampai 45 hari (Meays *et al.* 2005).

Kemampuan hemaglutinasi dan produksi hemolisis eritrosit merupakan faktor virulensi yang penting pada isolat *Escherichia coli* (Cooke *et al.* 1987; Minshew *et al.* 1979). *Escherichia coli* dapat menghasilkan beberapa jenis hemolisin, yaitu  $\alpha$ -hemolisin,  $\beta$ -hemolisin, dan  $\gamma$ -hemolisin (Cavalieri *et al.* 1984; Beutin 1991; Lin *et al.*, 2008). Sebagai faktor virulensi pada *E. coli*, hemolisin berperan sebagai pelindung dalam mengatasi mekanisme pertahanan inang (Hill 1981).

Menurut Gadesberg *et al.* (1983) hemolisin memiliki aktivitas selektif terhadap neutrofil. Pada penelitian ini 100 persen isolat *E. coli* tidak memproduksi hemolisis. Hasil yang sama telah dilaporkan oleh Karama *et al.* (2008) bahwa *E. coli* isolat sapi potong tidak memproduksi hemolisis. Hasil penelitian Lorenz *et al.* (2013) menunjukkan *E. coli* isolat sapi potong secara genotip terdeteksi gen hemolisin sebesar 2,8 persen, tetapi secara fenotip semua isolat tidak memproduksi hemolisis. Secara fenotip zona hemolisis akan tampak pada media plat agar darah setelah tiga hingga 24 jam masa inkubasi, dan zona tersebut dapat dievaluasi sebagai  $\alpha$ -hemolisis,  $\beta$ -hemolisis,  $\gamma$ -hemolisis atau tidak membentuk zona hidrolisis (Paton & Paton 1998).

Tabel 1. Identifikasi isolat *Escherichia coli* asal sapi potong dan katakterisasi terhadap sorbitol *mecconkey* (smac), kemampuan hemaglutinasi, produksi hemilisis, dan resistensi antibiotik

No	Spesimen		Identifikasi*				Virulensi				
	Kode	Asal	M.C	KIA	DNA	16S rRNA	Smac	Hema glutinasi	Hemo lisis	Antibiotik	
										Resisten	Sensitif
1.	Ps1	Feses	+	+	+	+	-	-	-	#	#
2.	Ps2	Feses	+	+	+	+	+	+	-	E.M.P	G.T
3.	Ps3	Feses	+	+	+	+	+	-	-	E.M.P.T	-
4.	Ps4	Feses	+	+	+	+	+	+	-	E.M.P.	T.G.
5.	Ps5	Feses	+	+	+	+	+	-	-	E.M.P.	T.G.
6.	PPT16	Pupuk	+	+	+	+	-	-	-	#	#
7.	PPT26	Pupuk	+	+	+	+	-	-	-	#	#
8.	PPT29	Pupuk	+	+	+	+	-	-	-	-	E.G.M.P.T
9.	PPT30	Pupuk	+	+	+	+	-	-	-	-	E.G.M.P.T

Keterangan: M.C: Mc. Conkey, KIA: Kligger Iron Agar, Smac: Sorbitol Mc. Conkey,

E: Eritromisin, G: Gentamisin, M: Metisilin, P: Penisilin, T: Tetrasiklin,

+ : hasil positif - : hasil negatif # : tidak diuji

\* Prihtiyantoro dan Hartatik (2014).

Hemaglutinasi merupakan faktor virulensi *E. coli* yang berperan dalam proses kolonisasi dan adesi pada sel epitel inang sebagai awal proses infeksi (Green & Thomas 1981). Isolat *E. coli* yang memiliki hemaglutinin akan mampu menggumpalkan eritrosit. Pada penelitian ini 22,2 persen isolat mampu menggumpalkan eritrosit. Hasil ini lebih rendah dari hasil penelitian Hogan *et al.* (1990), yaitu 46 persen *E. coli* isolat asal sapi mampu menggumpalkan eritrosit.

*Escherichia coli* pathogenic zoonotic merupakan strain *E. coli* yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada manusia. *Verocytotoxigenic Escherichia coli* (VTEC) merupakan strain bakteri pathogen zoonotik pada manusia yang dapat menyebabkan diare berdarah, hemoragi kolitis, hemolitik-uremik sindrom dan persisten diare (Nataro & Kaper 1998). Strain ini dapat diidentifikasi secara fenotip dengan menggunakan media *Sorbitol Mc*

*Conkey* (Smac) (Muslimin *et al.* 2014; Musa *et al.* 2013).

Antibiotika merupakan salah satu komponen yang diperlukan dalam manajemen kesehatan ternak. Antibiotika digunakan untuk pengobatan penyakit, pencegahan, pengendalian dan pemacu pertumbuhan serta efisiensi pakan (Marshall & Levy 2011). Efek positif dari pemberian antibiotik terhadap produksi pada ternak telah banyak dilaporkan, tetapi efek samping antibiotik yang muncul dari manajemen produksi ternak tidak banyak dilaporkan, salah satunya terbentuknya strain bakteri yang kebal terhadap beberapa jenis antibiotik (Gorbach 2001).

Pada penelitian ini ditemukan beberapa jenis antibiotik yang sudah tidak efektif untuk pengobatan terhadap infeksi *E. coli* strain patogen zoonotik dan berasal dari spesimen tinja, yaitu: eritromisin, mesitilin, dan penisilin, sedangkan gentamisin dan tetrasiklin masih efektif untuk pengobatan

terhadap infeksi *E. coli*. Terhadap *E. coli* strain yang tidak pathogen, kelima jenis antibiotik tersebut masih efektif, kelima isolat tersebut berasal dari spesimen pupuk kandang.

Antibiotik merupakan sediaan obat untuk penyembuhan infeksi *E. coli*. Kekebalan *E. coli* oleh antibiotik telah banyak dilaporkan. *E. coli* isolat sapi telah kebal terhadap ampisilin, kanamisin, sulfisoxazole, streptomisin, dan tetrasiklin (Meng *et al.* 1998). Tadesse *et al.* (2012) melaporkan *E. coli* telah kebal terhadap ampisilin, sulfonamid, gentamisin, tetrasiklin, dan streptomisin. Vali *et al.* (2004) melaporkan ampisilin, tetrasiklin, dan streptomisin sudah tidak efektif untuk pengobatan infeksi *E. coli* pada sapi. Adapun menurut Muslimin *et al.* (2014) *E. coli* zoonotik asal daging sapi masih resisten oleh tetrasiklin, eritromisin, amoksisilin, kloramfenikol, dan siprofloksasin serta levofloksasin.

Resistensi antibiotik terbentuk karena penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan kaidah pemberiannya. Pemberian antimikroba yang tidak sesuai akidah pengobatan adalah faktor yang paling bertanggung jawab atas terbentuknya strain resisten, baik dalam manusia maupun hewan (Stobberingh & van den Bogaard 2000). Penggunaan antibiotik pada ternak seharusnya digunakan hanya untuk pengobatan penyakit infeksi dan atas rekomendasi dokter hewan (Marshall & Levy 2011).

Kenyataannya beberapa antibiotik telah digunakan sebagai pemacu pertumbuhan pada ternak, meningkatkan konversi pakan, dan mengurangi morbiditas dan mortalitas akibat penyakit infeksi yang bergejala klinis maupun subklinis (Ewing & Cole 1994). Penggunaan antibiotik untuk memacu pertumbuhan ternak biasanya

diberikan dalam dosis rendah atau dosis *nontherapeutic* dan diberikan dalam waktu yang lama (Reti *et al.* 2013). Penggunaan antibiotik yang dicampurkan dalam pakan ternak bertujuan untuk peningkatan produksi dan risikonya akan menimbulkan resistensi *E. coli* (Tauxe *et al.* 1989).

Banyak jenis antibiotika yang dicampurkan dalam pakan ternak untuk alasan *nontherapeutic* (Kruse & Sorum 1994). Jenis antibiotik yang sering digunakan dalam dosis rendah dan dalam waktu yang lama akan meningkatkan kekebalan *E. coli* terhadap antibiotik. Parul *et al.* (2014) membuktikan bahwa jenis antibiotik yang jarang digunakan dalam manajemen peternakan masih efektif untuk pengobatan infeksi *E. coli*, diantaranya ceftriakson, ciprofloksasin, amoksisilin, amikasin, dan tetrasiklin serta gentamisin, sedangkan ampisilin dan streptomisin yang sering digunakan pada ternak sudah tidak efektif lagi. Eritromisin dan tetrasiklin menurut Atabe & Bezuidenhout (2008) sudah tidak efektif untuk mengobati *E. coli* pada manusia.

Antibiotik sebagai aditif pakan telah digunakan pada sistem peternakan modern, meskipun akan menimbulkan risiko terbentuknya strain bakteri yang kebal terhadap antibiotik. Menurut Butaye *et al.* (2003), penggunaan penisilin, tetrasiklin, tilosin, dan sulfonamid sebagai pemacu pertumbuhan pada ternak segera dihentikan. Menurut Smith *et al.* (2002), membatasi penggunaan antibiotik sebagai pemacu pertumbuhan pada ternak, baik melewati pakan maupun air minum, merupakan cara yang paling efektif untuk mengurangi menurunnya efektifitas antibiotik (Smith *et al.* 2002)

## KESIMPULAN

*Escherichia coli* strain patogen zoonotik ditemukan pada tinja sapi potong dan tidak ditemukan pada pupuk kandang yang berbahan tinja sapi potong. Isolat *E. coli* yang ditemukan yang memiliki faktor virulensi yang mampu menggumpalkan eritrosit dan telah resisten oleh metisilin, eritromisin, penisilin, dan streptomisin serta masih efektif oleh gentamisin dan tetrasiklin serta tidak memiliki hemolisin.

## DAFTAR PUSTAKA

- Albihn, A., Eriksson E., Wallen, C. & A. Aspan. 2003. Verotoxinogenic *Escherichia coli* (VTEC) O157:H7 -A Nationwide Swedish Survey of Bovine Faeces. *Acta Veterinaria Scandinavia*. 44: 43-52.
- Ateba, C.N. & C.C. Bezuidenhout. 2008. Characterisation of *Escherichia coli* O157 strains from humans, cattle and pigs in the North-West Province, South Africa. *International Journal of Food Microbiology*. 128: 181–188.
- Avery, S.M., Moore, A. & M.L. Hutchison. 2004. Fate of *Escherichia coli* originating from livestock faeces deposited directly onto pasture. *Letters in Applied Microbiology*. 38: 355–359
- Beutin, L. 1991. The different hemolysins of *Escherichia coli*. *Medicine Microbiology and Immunology*. 180: 167-182.
- Bielaszewska, M., Karch, P.I., Zhang, W. & W. Mathys. 2005. Phenotypic and molecular analysis of tellurite resistance among enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and sorbitol-fermenting O157:NM clinical isolates. *Journal Clinical Microbiology*. 43: 452–454.
- Bohach, G.A. & I.S. Snyder. 1985. Chemical and immunological analysis of the complex structure of *Escherichia coli* alpha-hemolysin. *Journal Bacteriology*. 164: 1071-1080.
- Brauner, A., Katouli. M. & C.G. O'stenson. 1995. P-fimbriation and haemolysin production are the most important virulence factors in diabetic patients with *Escherichia coli* bacteremia: a multivariate statistical analysis of seven bacterial virulence factors. *Journal Infections*. 31: 27–31.
- Butaye, P., Devriese, L.A. & F. Haesebrouck. 2003. Antimicrobial Growth Promoters Used in Animal Feed: Effects of Less Well Known Antibiotics on Gram-Positive Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*. 16(2): 175–188
- Caprioli, A., Morabito, S., Brugère, H. & E. Oswald. 2005. Entero-haemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Veterinary Research*. 36: 289-311.
- Cavalieri, S.J., Bochach, G.A. & I.S. Snyder. 1984. *Escherichia coli* a-hemolysin: characteristics and probable role in pathogenicity. *Microbiology Reviews*. 48: 326-343
- Chanter, N., Jones, P.W. & T.J. Alexander. 1993. Meningitis in pigs caused by *Streptococcus suis* - a speculative review. *Journal Veterinary Microbiology*. 36: 39-55.
- Chattopadhyay, M.K. 2014. Use of antibiotics as feed additives: a burning

question. *Frontiers in Microbiology*. Article 3. 5: 1-3. [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org).

Chopra, I. & M. Roberts. 2001. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology Molecular Biology Reviews*. 65:232–260.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009. M100-S19: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Cooke, E.M. & S.P. Ewins. 1987. Properties of strains of *Escherichia coli* isolated from a variety of sources. *Journal of Medicine Microbiology*. 8:107-113.

Doyle, M.P. 1991. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Int J Food Microbiol*. 12(4): 289-301

Ewing, W.N. & D.J.A. Cole. 1994. *The living gut. An introduction to microorganisms in nutrition*. Context, Dungannon, Ireland

Fairbrother, J.M. & M. Ngeleka. 1994. *Extraintestinal Escherichia coli infections in pigs*, In C. L. Gyles (ed.), *Escherichia coli in domestic animals and humans*. CAB International, Wallingford, United Kingdom. 221–236

Fasehun, F. 1999. The antibacterial paradox: essential drugs, effectiveness, and cost. *Bull World Health Organ*. 77(3): 211–216.

Fremaux, B., Raynaud, S., Beutin, L. & C. Vernozy-Rozand. 2006: Dissemination and persistence of Shiga toxin-producing

*Escherichia coli* (STEC) strains on French dairy farms. *Veterinary Microbiology*. 117: 180–191.

Gadesberg, O.V., Orskov, I. & J.M. Rhodes. 1983. Cytotoxic effect of an alpha-hemolytic *Escherichia coli* strain on human blood monocytes and granulocytes in vitro. *Infection and Immunity*. 41: 358-366.

Gerba, C.P., & J.E. Smith. 2005. Sources of pathogenic microorganisms and their fate during land application of wastes. *Journal Environ Qual*. 34: 42-48.

Ghoneim, N.H., Khaled A. Abdel-Moein & Mudar A. Mohamed. 2014. Are Non-O157 Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* Imposing Their Predominance Over O157 in Farm Animals and Human. *Global Veterinaria* 12 (5): 636-642.

Gorbach, S.L. 2001. Antimicrobial use in animal feed—time to stop. *New England Journal Medicine*. 345: 1202–1203.

Green, G.P., & V.L. Thomas. 1981. Hemagglutination of human type 0 erythrocytes, hemolysin production, and serotyping of *Escherichia coli* isolates from patients with acute pyelonephritis, cystitis, and asymptomatic bacteriuria. *Infection and Immunity*. 31:309.

Gustafson, R.H.&d R.E. Bowen. 1997. Antibiotic use in animal agriculture. *Journal Applied Microbiology*. 83: 531–541.

Hill, A.W. 1981. Factors influencing the outcome of *Escherichia coli* mastitis in the dairy cow. *Journal Research in Veterinary Science*. 31:107-114.



- Hogan, J.S., Todhunter, D.A., Smith, K.L. & P.S. Schoenberger. 1990. Hemagglutination and Hemolysis by *Escherichia coli* Isolated from Bovine Intramammary Infections. *Daily Science*. 73: 3126-3131.
- Jay, M.T., Cooley, M., Carychao, D., Wiscomb, G.W., Sweitzer, R.A., Crawford-Mikszta, L., Farrar, J.A., Lau, D.K., O'Connell, J., Millington, A., Asmundson, R.V., Atwill, E.R. & R.E. Mandrell. 2007. *Escherichia coli* O157:H7 in feral swine near spinach fields and cattle, central California coast. *Emerging Infectious Diseases*. 13: 1908–1911.
- Karama, M., Johnson, R.P., Holtslander, R. & C.L. Gyles. 2008. Phenotypic and Genotypic Characterization of Verotoxin-Producing *Escherichia coli* O103:H2 Isolates from Cattle and Humans. *Journal of Clinical Microbiology*. 46(11): 3569–3575.
- Kruse, H., & H. Sorum. 1994. Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments. *Applied Environ. Microbiology*. 60: 4015–4021.
- Lin, X.M., Li, H., Wang, C. & X.X. Peng. 2008. Proteomic analysis of nalidixic acid resistance in *Escherichia coli*: identification and functional characterization of OM proteins. *Journal Proteome Researh*. 7: 2399-2405.
- Lorenz, S.C., Son, I., Maounounen-Laasri, A., Lin A., Fischer M. & J.A. Kasea. Prevalence of Hemolysin Genes and Comparison of ehxA Subtype Patterns in Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) and NonSTEC Strains from Clinical, Food, and Animal Sources. *Applied and Environmental Microbiology*. 79(20): 6301– 6311.
- March, S.B. & S Ratnam. 1986. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol*. 1986 May; 23(5): 869–872.
- Marshall, M. & S.B. Levy. 2011. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health Bonnie. *Clinical Microbiology Reviews*. 24(4): 718–733.
- McGee, P., Bolton, D.J., Sheridan, J.J., Earley, B. & N. Leonard. 2001. The survival of *Escherichia coli* O157:H7 in slurry from cattle fed different diets. *Letters in Applied Microbiology*. 32: 152–155.
- Meays, C.L., Broersma, K., Nordin, R. & A. Mazumder 2005. Survival of *Escherichia coli* in Beef Cattle Fecal Pats Under Different Levels of Solar Exposure. *Rangeland Ecol Manage* 58: 279–283
- Meng, J, Zhao, S., Doyle, M.P. & S.W. Joseph. 1998. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157:H7 and O157: NM isolated from animals, food, and humans. *Journal Food Protection*. 61(11):1511-1514.
- Minshew, B.H., Jorgensen, J., Swanstrom M., Grootes-Reuvecamp, G.A. & S. Falkow. 1979. Some characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from extraintestinal infections of humans. *Journal Infectious Diseseses*. 137: 648.
- Musa, J.A., Raji, M.A., Kazeem, H.M. & N.M. Useh. 2013. A Novel Report on the Prevalence of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* non-O157 Isolated from

Cattle in Kaduna State, Nigeria. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 6(1): 73-76

Muslimin, L.W., Jamaluddin, A.W., Dwiyanti, R. & M. Hatta. 2014. Antimicrobial inhibition on zoonotic bacterial *Escherichia coli* O157: H7 as a cause of food borne disease. *American Journal of Biomedical and Life Sciences*. 2(6): 163-166

Nataro, J.P. & J.B. Kaper. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. 11: 142-201.

Nontongana, N., Sibanda, T., Ngwenya, E. & A.I. Okoh. 2014. Prevalence and Antibigram Profiling of *Escherichia coli* Pathotypes Isolated from the Kat River and the Fort Beaufort Abstraction Water. *International Journal of Environmental Research and Public Health*: 11(8): 8213–8227.

O'Sullivan, M.B., Garvey, P., O'Riordan, M., 2008. Increase in VTEC cases in the south of Ireland: Link to private well. *European Surveillance*. 13(39): 1-2. [www.eurosurveillance.org](http://www.eurosurveillance.org)

Ogden, I.D., Hepburn, N.F., MacRae, M., Strachan, N.J., Fenlon, D.R., Rusbridge, S. M. & T.H. Pennington. 2002. Long-term survival of *Escherichia coli* O157 on pasture following an outbreak associated with sheep at a scout camp. *Letter Applied Microbiology*. 34: 100-104.

Oliver, S.P., Murinda, S.E. & B.M. Jayarao. 2011. Impact of antibiotic use in adult dairy cows on antimicrobial resistance of veterinary and human pathogens: a comprehensive review. *Foodborne Pathology. Dis*. 8: 337–355.

Olowe, O.A., Aboderin, B.W., Idris, O.O., Mabayoje, V.O., Opaleye, O.O., Adekunle, O.C., Olowe, R.A. & P.A. Akindut. 2014. Genotypes and phenotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in Abeokuta, Southwestern Nigeria. *Infection and Drug Resistance*. 7: 253–259.

Orth, D., Grif, K., Dierich, M.P. & R. Würzner. 2007. Variability in tellurite resistance and the tem gene cluster among Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from humans, animals and food. *Research Microbiology*. 158: 105– 111.

Parul, B.B., Sharma, B. & U. Jain. 2014. Virulence associated factors and antibiotic sensitivity pattern of *Escherichia coli* isolated from cattle and soil. *Veterinary World*. 7(20): 361-372.

Paton, J.C. & A.W. Paton 1998. Pathogenesis and diagnosis of shigatoxin producing *Escherichia coli* infections. *Clinical Microbiology Reviews*. 11: 450-479.

Prihtiyantoro, W. & Hartatik, 2014. *Isolasi dan Karakterisasi Fenotip dan Genotip Faktor-Faktor Virulensi Escherichia coli Patogen Zoonotik O157:H7 (VTEC) dari Kotoran Sapi dan Pupuk Kandang Berbahan Kotoran Sapi*. Laporan Penelitian. Yogyakarta.

Reti, K.L. Thomas, M.C., Yanke, L.J., Selinger, L.B. & G.D. Inglis. 2013. Effect of antimicrobial growth promoter administration on the intestinal microbiota of beef cattle. *Gut Pathogens*. 5: 8-15.

Skalka, B., Smola, J. & J. Pillich. 1979. A simple method of detecting staphylococcal

- hemolysin. *Zentralblat Bakteriologie*. 245: 283-286.
- Smith, D.L., Harris, A.D., Johnson, J.A., Silbergeld E.K. & J.G. Morris. 2002. Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. *Proceedings National Academic Science*. U. S. A. 99: 6434–6442.
- Spellberg, B., Bartlett, J.G. & D.N. Gilbert. 2013. The future of antibiotic and resistance. *New England Journal Medicine*. 368: 299–302.
- Stapp, J.R., Jelacic, S., Yoo-Lee Y., Klein, E.J., Fischer M., Clausen, C.R., Qin, X., David L. Swerdlow, E.J. & P.I. Tarr. 2000. Comparison of *Escherichia coli* O157:H7 Antigen Detection in Stool and Broth Cultures to That in Sorbitol-MacConkey Agar Stool Cultures. *Journal Clinical Microbiology*. Sep; 38(9): 3404–3406.
- Stobberingh, E.E., van den Bogaard, A.E. 2000. Spread of antibiotic resistance from food animals to man. *Acta Veterinary Scandinavia*. 93 (1): 47-50.
- Suardana I.W., Iwan Harjono Utama 2 , & Michael Haryadi Wibowo. 2014. Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Chicken Feces and Test of Hemolytic Profile on Blood Agar Medium. *Jurnal Kedokteran Hewan*.
- Tadesse, D.A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M.J. & P.F. McDermott. 2012. Antimicrobial Drug Resistance in *Escherichia coli* From Humans and Food Animals. *Emerging Infectious Diseases*. 18(5):741-749.
- Tauxe, R.V., Cavanagh, T.R. & M.L. Cohen. 1989. Interspecies gene transfer in vivo producing an outbreak of multiply resistant shigellosis. *Journal Infectious Diseases*. 160: 1067-1070.
- Thurston-Enriquez, J.A., Gilley, J.E. & B. Eghball. 2005. Microbial quality of run off following land application of cattle manure and swine slurry. *Journal Water Health*. 3:157–171.
- Topp, E., M. Welsh, Y. Tien, A. Dang, G. Lazarovits, K. Conn, & H. Zhu. 2003. Strain-dependent variability in growth and survival of *Escherichia coli* in agricultural soil. *FEMS Microbiology Ecology* 44: 303–308.
- Vali, L., Wisely, K.A., Pearce, M.C., Turner, E.J., Knight, H.I., Smith, A.W. & S.G.B. Amyes. 2004. High-Level Genotypic Variation and Antibiotic Sensitivity among *Escherichia coli* O157 Strains Isolated from Two Scottish Beef Cattle Farms. *Applied and Environmental Microbiology*. 70(10): 5947–5954.
- Welch, A.R., Holman, C.M., Browner, M.F., Gehring, M.R., Kan, C.C. & H.E. Van Wart 1995. Purification of human matrilysin produced in *Escherichia coli* and characterization using a new optimized fluorogenic peptide substrate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 32(1): 59-66.
- Wibawan, I.W.T., Lämmle, C., Seleim, R.S. & F.H. Pasaribu. 1993. A haemagglutinating adhesin of group B streptococci isolated from cases of bovine mastitis mediates adherence to HeLa cells. *Journal of General Microbiology*. 139: 2173-2178.