

ISOLASI DAN KARAKTERISASI FAKTOR VIRULENSI *Escherichia coli* ISOLAT ASAL TINJA SAPI DAN PUPUK KANDANG BERBAHAN TINJA SAPI PERAH

Wahyu Prihtiyantoro¹⁾, Hartatik¹⁾, Khusnan¹⁾,
Mitra Slipranata²⁾, Fatkhanudin Aziz³⁾

¹⁾Akademi Peternakan Brahmputra Yogyakarta, Jl Ki Ageng Pemanahan Nitikan Sorosutan Umbulharjo

²⁾ Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna 2, Karangmalang, Yogyakarta

³⁾ Sekolah Vokasi Kesehatan Hewan Universitas Gadjah Mada, Sekip Unit II, Yogyakarta

ABSTRAK

Tinja sapi perah dan pupuk kandang yang berbahan tinja sapi perah merupakan sumber *Escherichia coli*. Pada penelitian ini isolat *E. coli* ditemukan pada semua spesimen yang digunakan. Karakterisasi faktor virulensi yang dilakukan memperoleh hasil bahwa tidak ada isolat *E. coli* yang melisiskan sel darah merah, 25% isolat *E. coli* mampu menggumpalkan sel darah merah dan telah terjadi resistensi 100% terhadap metisilin dan penisilin, 78% terhadap eritromisin 33%, terhadap tetrasiklin dan 33% terhadap gentamisin.

Kata kunci : isolasi, karakterisasi, E. coli, tinja, sapi perah

PENDAHULUAN

Sapi merupakan reservoir utama dalam penyebaran *Escherichia coli* patogen melewati tinja kepada manusia (Parry dan Palmer, 2002; Fairbrother dan Nadeau, 2006). Tinja sapi sebagai sumber penyebaran *E. coli* baik secara langsung atau melalui makanan, air dan lingkungan serta air hujan berperan sebagai penyebar yang potensial (Licence *et al.*, 2001; Adesiyun dan Kaminjolo, 1994)

Penyebaran *E. coli* dapat melalui daging, produk susu, produk segar dari pertanian dan air minum yang terkontaminasi dengan pupuk kandang (Erickson dan Doyle. 2007). Pupuk kandang merupakan sumber yang

signifikan dari kasus penyebaran *E. coli* patogen (Cobbold dan Desmarchelier, 2002; Smith *et al.*, 2001), dan penularan ke manusia terjadi karena mengkonsumsi produk pertanian yang terkontaminasi bakteri melalui pupuk kandang (Mukherjee *et al.*, 2006).

Infeksi bakteri bergantung kepada faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri, Pada *E. coli* virulensi bergantung kepada reaksi hemolisin, racun yang diproduksi dan kerusakan sel inang (Reingold, 1999), resistensi antibiotika (Radji *et al.*, 2003) dan kemampuan reaksi hemagglutinasi (Bohach dan Snyder, 1985). *Escherichia coli* dapat menghasilkan beberapa jenis hemolisin, termasuk protein ekstraseluler

(α -haemolisin), protein sel-bound (β -haemolisin) dan hemolisin diungkapkan oleh mutan tahan asam nalidiksat (γ -haemolisin) (Cavalier, 1984).

Alpha-hemolisis merupakan salah satu jenis hemolisin yang diproduksi *E. coli* (Hardie *et al.*, 1991). Alpha-hemolisis dari *E. coli* berpengaruh pada fungsi sel, menyerang fungsi kekebalan, menyebabkan kerusakan sel saluran kemih. Hemolisin berfungsi meningkatkan kemampuan *E. coli* untuk bertahan hidup dalam aliran darah dengan mediasi resistensi terhadap fagositosis (Welch, *et al.*, 1995a). Hemolisin terdeteksi dengan menentukan zona lisis sekitar setiap koloni pada 5% domba pelat agar darah setelah inkubasi semalam (Raksha *et al.*, 2003).

Karakter hemolisis dapat berupa α -hemolisis, β -hemolisis, γ -hemolisis atau gabungan α/β -hemolisis. α -hemolisis apabila terbentuk zona agak gelap kehijauan, β -hemolisis apabila terbentuk zona hemolisis yang terang, α/β -hemolisis apabila terbentuk kombinasi zona terang dan agak gelap kehijauan serta karakter γ -hemolisis apabila tidak terlihat adanya zona hemolisis disekitar koloni (Brückler *et al.*, 1994).

Hemagglutinin berperan sebagai adesin untuk pelekatan bakteri (Chanter *et al.*, 1993). Hemagglutinin pada *E. coli* merupakan salah satu faktor virulensi yang penting karena berperan dalam proses pelekatan pada sel dan ini merupakan faktor adesin (Bohach dan Snyder, 1985).

Hemaglutinasi dimediasi oleh fimbriae dan fimbriae merupakan reseptor *E. coli* yang berperan sebagai faktor pelekatan dengan jaringan yang sering disebut hemagglutinin. (Kurl *et al.*, 1989; Wibawan *et al.*, 1993, Salasia dan Lämmler, 1995).

Penggunaan antimikroba pada hewan terbuksi telah memberikan manfaat baik dalam peningkatan kesehatan hewan, produksi yang lebih tinggi dan, dalam beberapa kasus dapat mengurangi bakteri patogen. Namun, penggunaan antibiotik untuk tujuan peningkatan produksi telah menimbulkan berkontribusi pada peningkatan prevalensi bakteri resisten antibiotic (Mathew *et al.*, 2007). Resistensi bakteri terhadap antibiotik menimbulkan masalah kesehatan hewan berat menimbulkan biaya yang mahal, karena dapat memperpanjang jalannya penyakit dan menurunkan produktivitas melalui morbiditas yang lebih tinggi dan tingkat kematian (Bischoff *et al.*, 2002). Resistensi yang paling umum terjadi pada ternak adalah jenis antibiotika yang sering digunakan antara lain; ampisilin, streptomisin, tetrasiklin dan trimetoprim (Kikuvi *et al.*, 2014)

Tujuan penelitian ini melakukan isolasi, identifikasi *E. coli* dari spesimen tinja dan pupuk berbahan tinja sapi perah dan melakukan karakterisasi jenis hemolisis, kemampuan hemaglutinasi dan resistensi sebagai faktor virulensi.

METODE PENELITIAN

Identifikasi E. coli

Spesimen yang digunakan berupa tinja dan pupuk kandang yang berbahan tinja sapi perah. Identifikasi *E. coli* berdasarkan koloni bakteri berwarna merah pada media Mc. Conkey (Anonimus, 2014), memfermentasi Kligger Iron Agar dari merah menjadi kuning pada permukaan miring dan datar serta timbulnya gas pada dasar tabung (Anonimus, 2014a).

Karakterisasi hemolisis

Satu usa biakan *E. coli* ditanamkan pada media padar plat agar darah, kemudian dieramkan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Hemolisin terdeteksi dengan menentukan zona lisis sekitar setiap koloni pada 5% domba pelat agar darah setelah inkubasi semalam (Raksha *et al.*, 2003).

Uji Hemaglutinasi

Uji hemaglutinasi merupakan uji terhadap keberadaan hemaglutinin yang dimiliki oleh *E. coli*. Keberadaan hemaglutinin akan ditunjukkan terjadinya gumpalan darah apabila *E. coli* dicampur dengan eritrosit. Digunakan darah domba dengan antikoagulan 0,2 M Sodium Sitrat pH 5,2 disentrifus dan dicuci dua kali dengan 0,15 M NaCl, kemudian dibuat larutan 2% dengan NaCl. Uji hemaglutinasi dilakukan dengan cara mereaksikan 20 µl larutan bakteri yang telah ditentukan

optical density (OD) nya dengan spektrofotometer transmisi dan λ 620 nm (kira-kira 10⁹ bakteri/ml 0,15 NaCl) dengan 20 µl larutan eritrosit dalam tabung reaksi. Tabung reaksi digoyang selama 30 detik dan reaksi hemaglutinasi dicatat dengan ketentuan sebagai berikut: ++ reaksi kuat, + reaksi sedang dan – tidak ada reaksi (Wibawan *et al.*, 1993).

Haemagglutination ini terdeteksi oleh penggumpalan eritrosit oleh fimbriae bakteri (Raksha *et al.*, 2003).

Resistensi Antibiotika

Uji resistensi antibiotik terhadap *E. coli* digunakan metode *disc diffusion* dengan menempelkan lempeng (*disc*) yang mengandung antibiotik pada Müller-Hinton agar (MHA, Oxoid). Zona inhibisi yang terbentuk dievaluasi sesuai dengan ketentuan CLSI (2007).

Bakteri ditanam pada pelat agar darah domba (PAD), diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Bakteri kemudian ditanam dalam media Tod-Hewitt broth (THB), diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya kultur bakteri dari THB sebanyak 200 µl dituangkan dan diratakan pada permukaan pelat MHA dengan menggunakan kapas steril. Pelat diputar 60° untuk menyebarkan biakan, 10-15 menit kemudian disk antibiotik metisilin (5 µg; Oxoid), penisilin, tetrasiklin, doxysiklin, gentamisin dan eritromisin, di letakkan secara hati-hati dengan menggunakan pinset. Pelat diinkubasi

selama 24 jam pada suhu 37°C dengan posisi terbalik. Diameter zona terang di sekeliling disk antibiotik diukur dengan menggunakan penggaris. Hasil yang diperoleh disesuaikan dengan tabel interpretasi standar zona hambatan *Kirby-Bauer* untuk mengetahui resistensi bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan identifikasi *E. coli* terhadap 10 spesimen tinja sapi perah dan 10 spesimen pupuk kandang berbahan tinja sapi perah diperoleh 20 isolat *E. coli*. Identifikasi tersebut berdasarkan 2 jenis karakter fenotip, yaitu uji Mc Conkey dan uji Kligler Iron Agar (KIA). Pada uji Mc Conkey isolat yang diduga *E. coli* akan tubuh koloni berwarna merah (Anonimus, 2014) dan pada uji KIA akan merubah warna media dari merah menjadi kuning dan terbentuknya gas (Anonimus, 2014a)

Faktor-faktor virulensi yang diteliti pada penelitian ini meliputi kemampuan hemaglutinasi, kemampuan melisis sel darah merah dan resistensi antibiotika. Hasil penelitian diperoleh dari 20 isolat *E. coli* yang diuji 25% mampu menggumpalkan sel darah merah, 100% tidak ada yang mampu melisis sel darah merah domba, 50% *smec* positif dan uji resistensi antibiotik menunjukkan 100% resisten terhadap metisilin dan penisilin, 78% resisten terhadap eritromisin dan 33,3% resisten terhadap tetrasiklin serta 11,1% resisten terhadap gentamisin.

Pada uji hemaglutinasi 25% isolat menunjukkan hasil positif. Hemaglutinasi positif menunjukkan isolat tersebut mempunyai kemampuan untuk melekat pada sel epitel. Hemaglutinin berperan sebagai adhesin untuk pelekatan bakteri pada permukaan sel epitel hospes (Chanter *et al.*, 1993). Reaksi hemagglutinasi berperan dalam proses pelekatan pada sel pada sel inang sebagai faktor adhesin (Chanter *et al.*, 1993; Bohach dan Snyder, 1985). Adesi bakteri pada permukaan sel mukosa merupakan awal terjadinya infeksi. Fimbriae yang berada dipermukaan sel merupakan reseptor yang dimiliki *E. coli* yang berperan sebagai faktor pelekatan dengan jaringan yang sering disebut hemaglutinin. Hasil penelitian ini hasilnya lebih rendah dari hasil penelitian Hogan *et al.* (1990), 50% *E. coli* isolat asal sapi perah hemaglutinasi positif.

Hemolisin merupakan salah satu faktor virulensi bakteri yang secara *in vitro* ditandai adanya kemampuan bakteri melisis sel darah merah. Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa dari semua isolat *E. coli* tidak ada yang melisis sel darah domba. Menurut Brauner *et al.* (1995) reaksi hemolisis merupakan faktor virulensi yang paling penting sebagai faktor virulensi. Kemampuan hemolisis yang dilihat oleh bakteri disebabkan adanya gen hemolisin (*h1A* atau *h1B*). Tidak adanya isolat yang melisis darah kemungkinan isolate-isolat tersebut tidak memiliki gen yang bertanggung jawab terhadap hemolisis baik *h1A* atau *h1B*.

Tabel 1. Hasil identifikasi *E. coli* dari specimen tinja sapi perah dan pupuk kandang berbahan tinja sapi perah

No	Kode isolat	Asal specimen	Identifikasi	
			Mc Conkey	KIA
1.	Fr1	Feses sapi perah	+	K/K + GAS
2.	Fr2	Feses sapi perah	+	K/K + GAS
3.	Fr3	Feses sapi perah	+	K/K + GAS
4.	Fr4	Feses sapi perah	+	K/K + GAS
5.	Fr5	Feses sapi perah	+	K/K + GAS
6.	Fr6	Feses sapi perah	+	K/K + GAS
7.	Fs1	Feses sapi perah	+	K/K + GAS
8.	Fs2	Feses sapi perah	+	K/K + GAS
9.	Fs3	Feses sapi perah	+	K/K + GAS
10.	Fs4	Feses sapi perah	+	K/K + GAS
11.	FPT 16	Pupuk sapi perah	+	K/K + GAS
12.	FPT 17	Pupuk sapi perah	+	K/K + GAS
13.	FPT 18	Pupuk sapi perah	+	K/K + GAS
14.	FPT 19	Pupuk sapi perah	+	K/K + GAS
15.	FPT 20	Pupuk sapi perah	+	K/K + GAS
16.	FPT 22	Pupuk sapi perah	+	K/K + GAS
17.	FPT 24	Pupuk sapi perah	+	K/K + GAS
18.	FPT 25	Pupuk sapi perah	+	K/K + GAS
19.	Pr1	Pupuk sapi perah	+	K/K + GAS
20.	Pr2	Pupuk sapi perah	+	K/K + GAS

Hasil uji antibiogram menunjukkan semua *E. coli* telah terjadi resistensi terhadap jenis 5 jenis antibiotika baik isolat asal tinja dari pupuk kandang berbahan tinja sapi perah, dengan penyebaran 17% resisten terhadap 5 jenis antibiotik yang diuji, 11% resisten untuk 4 jenis antibiotik, 55% resisten terhadap 3 jenis antibiotik dan 17 resisten terhadap 2 jenis antibiotik. Dilihat dari jenis antibiotik semua isolat (100%) telah resisten terhadap metisilin dan penisilin, 78% resisten terhadap eritromisin, 33% resisten terhadap tetrasiklin dan 17% resisten terhadap gentamisin

Hasil penelitian Maidhof *et al.* (2002) bahwa *E. coli* isolat dari sapi telah resisten terhadap tetrasiklin sebesar 75,0%, dan gentamisin 10,0%. Sedangkan hasil penelitian Aksoy *et al.* (2007) *E. coli* telah resisten terhadap tetrasiklin, 51,6%, dan gentamisin, 4,6%, hasil lain menyebutkan resistensi terhadap gentamisin 88,1% dan tetrasiklin 64,3% (Ajayi *et al.*, 2011). Hasil penelitian Tadesse *et al.* (2012) *E. coli* isolate sapi telah terjadi resisten terhadap tetrasiklin sebesar 71,1%, terhadap streptomisin 59% terhadap kanamisin 37,1% dan terhadap ampisilin 34,1%.

Resistensi antibiotik dalam peternakan menurut Tadesse *et al.* (2012)

akan terjadi peningkatan lebih tinggi terhadap jenis yang biasa digunakan dibandingkan dengan antibiotik yang jarang digunakan. Peningkatan resistensi yang paling umum adalah antibiotik yang lebih tua seperti tetrasiklin (40,9%) (diperkenalkan pada 1948), sulfonamide (36,2%) (diperkenalkan pada 1936), streptomisin (34,2%) (diperkenalkan pada 1943), dan ampicilin (24,1%) (diperkenalkan pada 1961). Sebuah jumlah yang jauh lebih kecil dari isolat resisten terhadap obat antimikroba diperkenalkan untuk penggunaan klinis sejak tahun 1980,

seperti amoksisilin / asam klavulanat (5,6%) (diperkenalkan pada 1984), ceftriaxone (2,4%) (diperkenalkan pada 1984), ceftiofur (2,3%)(diperkenalkan pada 1988), dan ciprofloxacin (0,4%) (diperkenalkan pada 1987. Antibiotik yang jarang digunakan dalam peternakan menimbulkan resistensi yang lebih rendah terhadap *E. coli* isolat asal tinja sapi (Ajayi *et al.*, 2011), resistensi tersebut; 11,0% terhadap ciprofloxacin, 7,8% terhadap norfloksasin, 5,2% ofloxacin 4,6% pefloxacin dan levofloxacin

Tabel 2. Hasil hemaglutinasi, hemolisis dan resistensi terhadap antibiotic

No	Kode isolat	Hemaglutinasi	Hemolisis	Uji antibiogram*	
				Resisten	Sensitif
1	Fr1	+	-	met,pen,eri	tet,gen
2	Fr2	-	-	met,pen,eri	tet,gen
3	Fr3	-	-	met,pen	eri,tet,gen
4	Fr4	-	-	#	#
5	Fr5	-	-	met,pen,eri	tet,gen
6	Fr6	+	-	met,pen,eri	tet,gen
7	Fs1	-	-	met,pen,tet	eri,gen
8	Fs2	+	-	met,pen.tet,eri,	gen
9	Fs3	+	-	met,pen,eri	tet,gen
10	Fs4	-	-	met,pen	eri,tet,gen
11	FPT16	-	-	met,pen	eri,tet,gen
12	FPT17	-	-	met,pen,eri	tet,gen
13	FPT18	-	-	met,pen,eri	tet,gen
14	FPT19	-	-	met,pen,eri,tet,gen	-
15	FPT20	-	-	met,pen,eri,tet,gen	-
16	FPT22	-	-	met,pen,eri	tet,gen
17	FPT24	+	-	#	#
18	FPT25	-	-	met,pen,eri	tet,gen
19	Pr1	-	-	met,pen,eri,tet	gen
20	Pr2	-	-	met,pen,eri,tet,gen	-

*met= metisilin eri= eritromisin gen= gentamisin
pen= penisilin tet= tetrasiklin

Sebagai contoh resistensi tetrasiklin terhadap *E. coli* isolat asal ternak sebesar

71,1% karena tetrasiklin telah banyak digunakan dalam meningkatkan efisiensi

pakan, untuk pencegahan dan untuk pengobatan infeksi bakterial (McEwen *et al.*, 2002). Resistensi antibiotik merupakan masalah yang serius tidak hanya pada obat untuk manusia akan tetapi juga dalam peternakan baik penggunaan untuk manajemen produksi maupun kesehatan ternak (Witte, 1998)

SIMPULAN

Berdasarkan identifikasi *Escherichia coli* terhadap 20 spesimen dari tinja sapi perah dan pupuk kandang berbahan tinja sapi perah diperoleh 20 isolat. Hasil uji karakterisasi menunjukkan semua isolat tidak melisiskan sel darah merah, 5 isolat mampu menggumpalkan sel darah merah serta semua isolat telah resisten terhadap antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2014. Mac Conkey agar European pharmacopoeia, for the isolation and identification of Enterobacteriaceae from feces, urine, wastewater and foods.
- Anonimus. 2014a. Kligger Iron Agar (KIA) http://www.scharlabmagyarorszag.hu/katalogus/01-103_TDS_EN.pdf. download 7 Juni 2014
- Adesiyun, A.A. and Kaminjolo, J.S. 1994. Prevalence and epidemiology of selected enteric infections in livestock in Trinidad. *Preventive Veterinary Medicine* 19: 51–165
- Ajayi, A.O., Oluyeye, A.O., Olowe, O.A. and Famurewa, O. 2011. Antibiotic Resistance among Commensal *Escherichia coli* Isolated from Faeces of Cattle in

Ado-Ekiti, Nigeria *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 10(2): 174-179

Aksoy, A., Yildirim, M., Kaçmaz, B., Zafer, T.Z, and Sedefgöçmen, J.S. 2007. Verotoxin Production in Strains of *Escherichia coli* Isolated from Cattle and Sheep, and Their Resistance to Antibiotics. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 31(4): 225-231

Bischoff, K. M., White, D.G., McDermott, P.F., Zhao, S., Gaines, S., Maurer, J.J. and Nisbet, D.J. 2002. Characterization of chloramphenicol resistance in beta-hemolytic *Escherichia coli* associated with diarrhea in neonatal swine. *J. Clin. Microbiol.* 40: 389-394

Bohach, G.A., and Snyder, I.S. 1985. Chemical and immunological analysis of the complex structure of *Escherichia coli* alpha-hemolysin. *J. Bacteriol.* 164:1071-1080

Brauner, A., Katouli M. and Ostenson, C.G. 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. *J. Infect.* 31:27–31.

Brückler, J., Schwarz, S., and Untermann, F., 1994. Staphylokokken-Infektionen und –Enterotoxine, Band. II/1, In Blobel, H. und Schließer (Herausgeber), *Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren*, 2. Auflage. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.

Cavalier, S.J., Bohach, G.A. and Snyder, I.S. 1984. *Escherichia coli*

- haemolysin: characteristics and probable role in Pathogenicity. *Microbiological Reviews* 48:326–343
- Centers for Disease Control. 2006. Ongoing multistate outbreak of *E. coli* O157:H7 infections associated with consumption of fresh spinach – United States, Morbid Mortal Week Rep Dispatch 55:September 26, 2006.
- Chanter, N., Jones, P.W. and Alexander, T.J.L. 1993. Meningitis in pigs caused by *Streptococcus suis*-a speculative review. *Vet Microbiol.* 36:39-55.
- Clinical and Laboratory Standart Institute. 2007. *Performance Standart for Antimicrobial Susceptibility Testing, Seventeenth Informational Suplement.* 26(3):1-176
- Cobbold, R. and Desmarchelier. P. 2002. Horizontal transmission of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* within groups of dairy calves. *Appl Environ Microbiol.* 68:4148–4152.
- Erickson, M.C. and Doyle, M.P., 2007. Food as a vehicle for transmission of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *J. Food Prot.* 70:2426–2449.
- Fairbrother, J.M. and Nadeau, E. 2006. *Escherichia coli*: on-farm contamination of animals. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz* 25(2):555-569
- Hardie, K.R., Issartel, J.P., Koronakis E., Hughes, C. and Koronakis, V. 1991. In vitro activation of *Escherichia coli* prohemolysin to the mature membrane-targeted toxin requires HlyC and a low molecular weight cytosolic polypeptide. *Molecular Microbiology*, 5: 1669-1679.
- Hogan, J.S., Todhunter, D.A., Smith, K.L. and Schoenberger, P.S. 1990. hemagglutination and hemolysis by *Escherichia coli* isolated from Bovine intramammary infections. *J. Dairy. Sci.* 73:3126-3131
- Kikuvi, G.M., Ole-Mapenay, I.M., Mitema, E.S. and Ombui, J.N. 2014. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolates From Faeces And Carcass Samples Of Slaughtered Cattle, Swine And Chickens In Kenya. *Israel Journal Of Vet Med*, 16; 3-4.
- Kurl, D.N., Haataja, S. and Finne J. 1989. Hemagglutination activities of group B, C, D and G streptococci: Demonstration of novel sugar-specific cell-binding activities in *Streptococcus suis*. *Infect Immun.* 57: 384-389.
- Licence, K., Oates, K.R., Synge, B.A. and Reid, T.M.S. 2001. An outbreak of *E. coli* O157 infection with evidence of spread from animals to man through contamination of a private water supply. *Epidemiol Infect.* 126:135–138
- Maidhof, H., Guerra, B., Abbas, S., Elsheikha, H.M., Whittam, T.S. and Beutin, L.A. 2002. A multiresistant clone of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O118(H16)is spread in cattle and humans over different European countries. *Appl. Environ Microbiol.* 68: 5834-5842

- Mathew, A.G., Cissell, R. and Liamthong, S. 2007. Antibiotic resistance in bacteria associated with food animals: a United States perspective of livestock production. *Foodborne Pathog Dis. Summer*. 4(2):115-133.
- McEwen, S.A. and Fedorka-Cray, P. 2002. Antimicrobial use and resistance in animals. *Clin Infect Dis*. 34(3):S93–106.
- Mukherjee, A., Cho, S., Scheftel, J., Jawahir, S., Smith, K. and Diez-Gonzalez, F. 2006. Soil survival of *Escherichia coli* O157:H7 acquired by a child from garden soil recently fertilized with cattle manure. *J Appl Microbiol*. 101:429–436.
- Parry, S. and Palmer, S. 2002. *E. coli. Environmental health issues of VTEC O157*. Spon Press, New York.
- Raji, M.A, Adekeye, J.O., Kwaga, J.K.P. and Bale, J.O.O. 2003. In Vitro And In Vivo Pathogenicity Studies of *Escherichia coli* Isolated from Poultry In Nigeria. *Israel Journal Of Vet Med*. 58(1):13-16
- Raksha, R., Srinivasa, H. and Macade, R.S. 2003. Occurrence and characterisation of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract infections. *Indian J of Medical Microbiology*. 21 (2):102-107
- Reingold, J., Starr, N., Maurer, J. and Lee, M.D. 1999. Identification of a new strains *Escherichia coli* she haemolysin homolog in avian *Escherichia coli*. *Veterinary microbiology*. 66(2):125-135.
- Report on Trends and sources of zoonotic agents in the European Union and Norway, 2002.
- Kurl, D.N., Haataja S. and Finne, J.1989. Hemagglutination activities of group B, C, D and G streptococci: Demonstration of novel sugar-specific cell-binding activities in *Streptococcus suis*. *Infect. Immun*. 57: 384-389.
- Salasia, S.I.O. and Lämmler, Ch. 1995. Occurrence of haemagglutinating adhesin among virulent and avirulent isolates of *Streptococcus suis*. *Med. Sci. Res*. 22: 763–764
- Smith, D., Blackford, M., Younts, S., Moxley, R., Gray, J., Hungerford, L., Milton, T. and Klopfenstein, T. 2001. Ecological relationships between the prevalence of cattle shedding *Escherichia coli* O157:H7 and characteristics of the cattle or conditions of the feedlot pen. *J. Food Prot*. 64:1899–1903.
- Tadesse, D.A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Aparna, A., Bartholomew, M.J. and Mc Dermott, P.F. 2012. Antimicrobial Drug Resistance in *Escherichia coli* from Humans and Food Animals, United States, 1950–2002. *J. of Emerging infectious diseases* 18(5):
- Welch, A.R., Holman, C.M., Browner, M.F., Gehring, M.R., Kan, C.C. and Van Wart H.E. 1995. Purification of human matrilysin produced in *Escherichia coli* and characterization using a new optimized fluorogenic peptide substrate. *Arch Biochem Biophys*. 1;324(1):59-64.

- Welch, A.R., Bauer, M.E., Kent, A.D., Leeds, J.A., Moayeri, M., Regassa, L.B. and Swenson, D.L. 1995a. Battling against host phagocytes: the wherefore of the RTX family of toxins. *Infect. Agents Dis.* 44:254–272
- Wibawan, I.W.T., Lämmler, Ch., Seleim, R.S. and Pasaribu, F.H. 1993. A haemagglutinating adhesin of group B streptococci isolated from cases of bovine mastitis mediates adherence to HeLa cells. *J.Gen.Microbiol.* 139: 2173
- Witte, W. 1998. Medical Consequences of Antibiotic Use in Agriculture. *Science.* 279: 996-997