

**KEMAMPUAN ADHESI *Escherichia coli* HEMAGLUTINASI DAN SMAC
POSITIF ISOLAT SAPI POTONG PADA SEL EPITEL BUKALIS SECARA
IN VITRO**

**ADHESION ABILITY OF HAEMAGLUTINATED *Escherichia coli* AND
POSITIVE SMAC OF ISOLATED BEEF CATTLE ON BUKALIS EPITHELIAL
CELLS IN VITRO**

Wahyu Prihtiyantoro¹⁾, Hartatik¹⁾, Khusnan¹⁾
¹⁾Akademi Peternakan Brahmputra Yogyakarta

ABSTRACT

The adhesion of bacteria on the host of epithelial cells surface is the preliminary of infection process. Bacteria which has virulence and adhesin factors do more easily attach to epithelial cells. This study aimed to determine the adhesion ability of haemagglutinated and VTEC strains of Escherichia coli isolates. In conclusion, the isolates that have haemagglutinin and VTEC strains have more adhesion than have both non hemagglutinin and non VTEC strains.

Key-words: Escherichia coli, VTEC, haemagglutinin

INTISARI

Adhesi bakteri pada permukaan sel epitel inang merupakan awal dari proses infeksi. Bakteri yang mempunyai faktor-faktor virulensi dan faktor adhesin lebih mudah beradhesi pada sel epitel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan adhesi isolat-isolat *Escherichia coli* yang memiliki hemagglutinin dan strain *Escherichia coli* zoonotik pathogenic (VTEC). Isolat-isolat yang memiliki hemagglutinin dan strain VTEC memiliki kemampuan adhesi yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat-isolat yang tidak memiliki hemagglutinin dan strain non VTEC.

Kata kunci: *Escherichia coli*, VTEC, hemagglutinin

¹ Alamat penulis untuk korespondensi: Wahyu Prihtiyantoro, Hartatik, Khusnan. Akademi Peternakan Brahmputra Yogyakarta, Jln. Ki Ageng Pemanahan Nitikan Sorosutan Umbulharjo Yogyakarta. Email: wahyumatra@gmail.com

PENDAHULUAN

Escherichia coli merupakan bakteri enterik yang dapat ditemukan pada kotoran sapi yang sehat maupun sakit (Torres, *et al.* 2005; Afset *et al.* 2003). Sapi potong berperan sebagai sumber penularan yang potensial untuk penyakit pada manusia dan ternak lain (Huasai *et al.* 2012; Shabana, 2014). *Escherichia coli* zoonotik patogen telah terisolasi dari kasus penyakit manusia dan hewan (Aidar-Ugrinovich *et al.* 2007).

Penularan *Escherichia coli* dari hewan ke manusia berkaitan dengan pangan yang terkontaminasi (Koochakzadeh *et al.* 2014; Jaros *et al.* 2013), produk pangan olahan yang berasal dari hewan, susu mentah (Guh *et al.* 2010), dan produk daging (Chapman *et al.* 2001).

Pada manusia, *Escherichia coli* dapat menyebabkan wabah penyakit karena sifat bakteri yang mudah menyebar dengan cepat. Strain patogen menimbulkan penyakit gastrointestinal dengan gejala klinis mulai dari diare, hemoragik kolitis, dan diare hemolitik *haemolytic uraemic syndrome* (HUS) (Lynn *et al.* 2005). *Escherichia coli* zoonotic pathogen (0157: H7) merupakan strain yang mempunyai sifat patogen zoonotik karena mempunyai gen verotoxin (Söderlund *et al.* 2012). Strain *Escherichia coli* zoonotic pathogen (0157: H7) dapat diidentifikasi dengan menggunakan media selektif *sorbitol-MacConkey* (SMAC) agar (Thomas *et al.* 2000).

Faktor virulensi dari *Escherichia coli* mencakup kemampuan untuk merusak sel epitel, resistensi terhadap fagositosis, tahan terhadap serum inang, produksi α -hemolisins, kolisins, aerobaktin, faktor nekrosis sitotoksik, dan hidrofobik permukaan sel (Kausar *et al.* 2009) dan

keberadaan hemaglutinin (Fatima *et al.* 2012), serta sejumlah organel permukaan sel yang berperan sebagai faktor adhesin (Johnson 1991; Muhldorfer *et al.* 2001). Organel permukaan yang berperan sebagai faktor adhesin seperti kapsul, fimbriae atau pili, dan beberapa protein permukaan (Klemm *et al.* 2010).

Kemampuan *Escherichia coli* menggumpalkan sel darah merah merupakan bukti keberadaan hemaglutinin yang berupa fimbriae (Kallenius *et al.* 1980). Proses adesi *Escherichia coli* pada sel inang dimediasi oleh faktor-faktor adhesin tertentu diantaranya fimbriae yang dikodekan oleh gen pap, sfa, dan afa (Blanco *et al.* 1995). Kolonisasi dan adesi bakteri pada permukaan sel inang merupakan langkah awal dan penting pada proses infeksi *E. coli* (Cleary *et al.* 2004).

Pada penelitian ini dilakukan uji deteksi strain *Escherichia coli* zoonotic pathogen dengan menggunakan media selektif SMAC pada isolat *Escherichia coli* dengan hemaglutinasi positif dan kemampuan menempel pada sel epitel bukalis manusia dan tikus secara in vitro.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan 10 isolat *Escherichia coli* asal sapi yang telah dilakukan identifikasi secara fenotip dan genotip serta telah dilakukan karakterisasi kemampuan hemaglutinasi terhadap sel darah merah domba oleh Prihtiyantoro dan Hartatik (2014).

Karakterisasi untuk menentukan strain *Escherichia coli* zoonotic pathogenic dilakukan terhadap semua isolat dengan menggunakan media agar SMAC (Sorbitol MacConkye) sesuai Nataro & Kaper (1998), serta semua isolat dilakukan uji adesi

dengan menggunakan sel epitel bukalis manusia dan tikus secara in vitro seperti metode (Salasia 1998)

Uji Hemaglutinasi. Uji hemaglutinasi menggunakan darah domba dengan antikoagulan 0,2 M Sodium Sitrat pH 5,2 dalam tabung reaksi dan disentrifus lima menit. Larutan jernih yang terbentuk dalam tabung reaksi dibuang dan endapan yang tersisa dalam tabung dicuci dua kali dengan 0,15 M NaCl, kemudian dibuat larutan dua persen dengan larutan NaCl fisiologis. Membuat larutan bakteri *Escherichia coli* yang telah ditentukan *optical density* (OD) nya dengan spektrofotometer transmisi dan λ 620 nm sehingga diperoleh jumlah bakteri kurang lebih 10^9 bakteri per ml 0,15 NaCl.

Uji hemaglutinasi dilakukan dengan cara mereaksikan 20 μ l larutan bakteri *Escherichia coli* dengan 20 μ l larutan sel darah merah domba dalam mikropelat. Mikropelat digoyang selama 30 detik dan reaksi hemaglutinasi akan terbentuk dan dicatat dengan ketentuan sebagai berikut. Reaksi kuat (++), reaksi sedang (+), dan tidak ada reaksi (-) (Wibawan, *et al.* 1993).

Uji SMAC (Sorbitol MacConky). Deteksi strain *Escherichia coli* zoonotic pathogenic dilakukan terhadap semua isolat dengan menggunakan media agar SMAC (Sorbitol MacConky). Strain *Escherichia coli* zoonotic pathogen (0157: H7) dapat diidentifikasi dengan menggunakan media selektif sorbitol-MacConkey (SMAC) agar (Thomas *et al.* 2000).

Bakteri *Escherichia coli* ditanam pada media padat sorbitol MacConky pada cawan petri, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan pada warna koloni yang tumbuh. Strain

Escherichia coli zoonotic pathogenic tumbuh tanpa warna.

Uji Adhesi Pada Sel Epitel Bukalis Manusia dan Tikus. Uji adhesi *E. coli*, pada sel epitel bukalis dilakukan dengan cara menginkubasikan larutan bakteri dengan sel-sel epitel bukalis manusia dan tikus. Isolat *E. coli* ditanam dalam THB dieramkan pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam, kemudian disentrifus 10.000 rpm selama 10 menit. Pelet disuspensi dengan *Hank's balanced salt solution* (HBSS) dan ditentukan *optical density* (OD)-nya dengan spektrofotometer pada λ 620 nm (kira-kira 37×10^9 bakteri per ml) (Salasia 1994).

Sel-sel epitel mukosa bukalis manusia dikerok dengan menggunakan spatel kayu dan dilarutkan dalam lima ml HBSS. Setelah dicuci dua kali dengan larutan PBS, sel-sel epitel bukalis dihitung dengan menggunakan *haemocytometer* (AO, USA) sehingga diperoleh larutan bakteri kira-kira 10^5 sel per ml HBSS. Larutan bakteri kemudian diencerkan menjadi 1:10 dalam HBSS (10^8 bakteri/ml). Sebanyak satu ml suspensi bakteri ditambah masing-masing dengan satu ml larutan sel-sel epitel bukalis kelinci (10^5 sel per ml) kemudian diinkubasikan selama satu jam pada temperatur 37°C dalam *water bath*.

Sel-sel epitel bukalis dipisahkan dari bakteri yang tidak melekat dengan cara sentrifugasi dengan menggunakan 50 persen larutan *percoll*. Lapisan bakteri dan sel epitel bukalis diambil dengan menggunakan pipet pasteur dan dicuci dua kali dengan larutan HBSS. Larutan bakteri dan sel epitel bukalis ditetaskan pada objek gelas dan dikeringkan, kemudian dilakukan pewarnaan dengan Giemsa selama 30 menit. Pemeriksaan dan perhitungan jumlah bakteri yang melekat pada sel epitel bukalis

dilakukan dengan mikroskop. Perhitungan dilakukan dengan cara menghitung jumlah bakteri yang melekat pada tiap 10 sel epitel bukalis (Salasia 1998). Cara yang sama dilakukan untuk koleksi sel bukalis tikus

HASIL DAN PEMBAHASAN

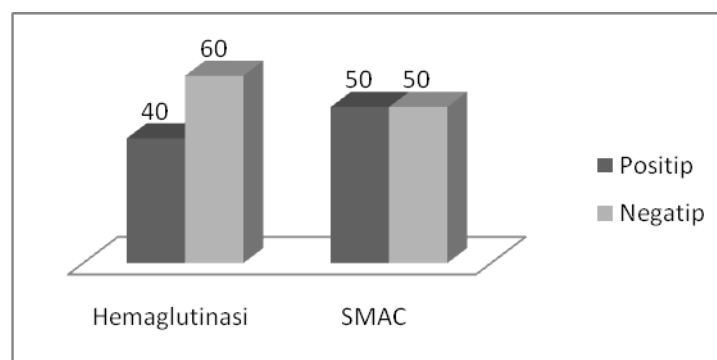
Uji Hemaglutinasi. Pada penelitian ini hasil uji hemaglutinasi dengan menggunakan sel darah domba menunjukkan 40 persen isolat *Escherichia coli* mampu menggumpalkan sel darah merah domba (hemaglutinasi positif) dan 60—persen isolat tidak mampu menggumpalkan sel darah merah (hemaglutinasi negatif) seperti pada Grafik 1.

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Fatima *et al.* (2012) dan Swaroop *et al.* (2013). Hemaglutinasi positif pada *Escherichia coli* persentasenya lebih kecil dibandingkan dengan hemaglutinasi negatif (48 persen positif dibanding 52 persen negatif) (Fatima *et al.* 2012), sedangkan hasil penelitian Swaroop *et al.*

(2013) sebesar 42 persen positif dibanding 58 persen negatif.

Secara fenotip, bakteri yang memiliki hemaglutinin mampu menggumpalkan sel darah merah. Hemaglutinin dilaporkan terdapat pada permukaan sel *Escherichia coli* (Abrar *et al* 2013). Kemampuan *Escherichia coli* menggumpalkan sel darah merah merupakan bukti keberadaan hemaglutinin yang berupa fimbriae (Kallenius *et al.* 1980). Keberadaan hemaglutinin selalu terdeteksi pada isolat *E. coli* patogen (Maheswari *et al.* 2013).

Escherichia coli merupakan bakteri yang memiliki faktor virulensi yang banyak dan kompleks dan dapat memengaruhi patogenisitas. Virulensi pada *Escherichia coli* terdiri dari struktur permukaan yang bersifat antigenik dan faktor virulensi yang berupa toksin-toksin yang diproduksi (Emody *et al.*, 2003). Faktor virulensi termasuk sifat hidrofobisitas, keberadaan kapsul polisakarida, antigen permukaan, faktor koloni dan adhesin, resistensi terhadap serum inang, resistensi terhadap fagositosis serta produksi hemolisin (Mitta *et al.* 2014).



Grafik 1. Hasil Uji Hemaglutinasi dan SMAC pada Isolat-Isolat *E. Coli* (%)

Hemaglutinin pada *E. coli* aktivitasnya berbeda terhadap sel darah merah manusia maupun terhadap sel darah merah pada beberapa spesies hewan, pada sel merah manusia hemaglutinasi cukup kuat, pada sel darah merah domba dan kambing hemaglutinasi lemah, dan pada sel darah merah sapi tidak terjadi hemaglutinasi sama sekali (Duguid *et al.* 1979).

Uji SMAC (Sorbitol MacConky). Deteksi strain *Escherichia coli* zoonotic pathogenic dilakukan terhadap semua isolat dengan menggunakan media agar SMAC (Sorbitol MacConky). *Escherichia coli* pathogenic zoonotic (VTEC) merupakan strain patogen yang dapat diidentifikasi dengan menggunakan media Sorbitol MacConkey (SMAC) (Thomas *et al.* 2000);

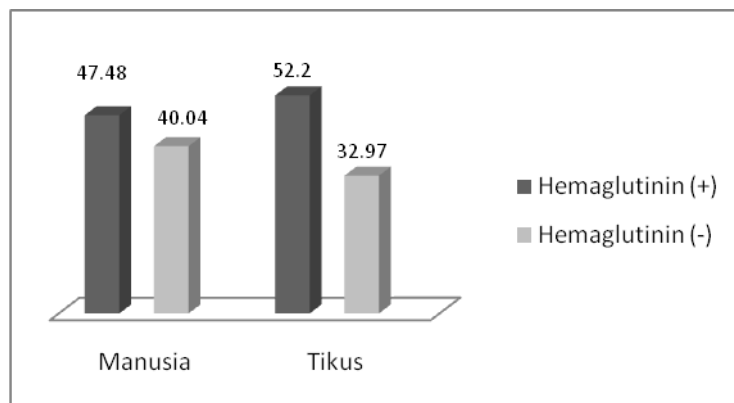
Pada penelitian ini lima isolat (50 persen) terdeteksi sebagai strain VTEC dari identifikasi uji SMAC yang positif dan lima isolat lainnya (50 persen) termasuk strain non VTEC dari identifikasi uji SMAC yang negatif (Grafik 1).

VTEC merupakan strain *Escherichia coli* yang patogen karena dapat memproduksi Verotoxin (VT) atau *Shiga like toxin* (Stx), yaitu racun yang

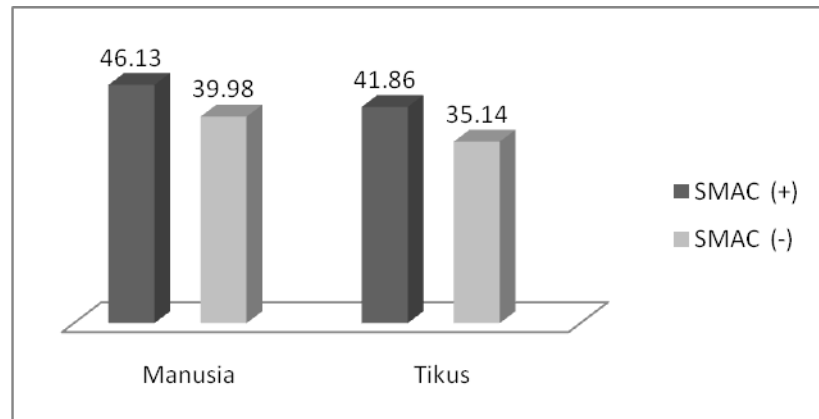
menyebabkan diare, perdarahan kolitis, dan hemolytic_uremic syndrome (HUS) pada manusia (Nataro & Kaper 1998).

Escherichia coli zoonotic pathogen (O157: H7) merupakan strain yang mempunyai sifat patogen zoonotik karena mempunyai gen verotoxin (Söderlund *et al.* 2012).

Uji Adhesi Pada Sel Epitel Bukalis Manusia dan Tikus. Dari penelitian dapat diketahui empat isolat (40 persen) dengan hemaglutinin (+) pada uji adhesi menunjukkan rerata jumlah bakteri *E. coli* lebih banyak menempel pada sel epitel bukalis manusia maupun tikus dibandingkan dengan enam isolat lain (60 persen) dengan hemaglutinin (-). Rerata jumlah bakteri *E. coli* yang menempel pada sel epitel bukalis manusia adalah 47,58 pada hemaglutinin (+) dan 40,04 pada hemaglutinin (-), sedangkan rerata jumlah bakteri *E. coli* yang menempel pada sel epitel bukalis tikus adalah 52,2 pada hemaglutinin (+) dan 32,97 pada hemaglutinin (-) seperti nampak pada Grafik 2.



Grafik 2. Rerata Jumlah Bakteri *E.coli* dengan Hemaglutinin (+) dan Hemaglutinin (-) yang Melekat pada Sel Epitel Bukalis Manusia dan Tikus



Grafik 3. Rerata Jumlah Bakteri *E. Coli* Strain VTEC (SMAC Positif) dan Non-VTEC SMAC (Negatif) yang Melekat pada Sel Epitel Bukalis Manusia dan Tikus

Rerata jumlah bakteri *E. coli* isolat strain VTEC (uji SMAC Positif) lebih banyak menempel pada sel epitel bukalis manusia maupun tikus dibandingkan dengan strain non VTEC (uji SMAC Negatif). Rerata jumlah bakteri *E. coli* isolat strain VTEC dibandingkan non VTEC pada sel epitel bukalis manusia adalah 46,13 dibanding 39,98; sedangkan pada sel epitel bukalis tikus adalah 41,86 dibanding 35,14 (Grafik 3).

Isolat *E. coli* yang memiliki hemaglutinin (+) dan strain VTEC (uji SMAC Positif) cenderung lebih banyak menempel pada sel epitel bukalis pada manusia maupun tikus dari pada isolat yang tidak memiliki hemaglutinin dan strain non VTEC

Adhesi (penempelan) bakteri di permukaan sel epitel inang merupakan langkah awal dari proses infeksi (Mulvey 2002). Kemampuan adhesi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya struktur permukaan bakteri sebagai antigen

permukaan dan keberadaan gen-gen adhesin (Ewers *et al.* 2007; Giron *et al.* 2002). Antigen permukaan terdiri dari organela bakteri yang berfungsi sebagai adhesin, seperti kapsul, fimbriae atau pili, dan beberapa protein permukaan (Klemm *et al.* 2010).

Fimbriae merupakan protein ekstraseluler yang berperan sebagai faktor adhesin (Esther-Maria *et al.* 2009), dan fimbriae berperan sebagai hemagglutinin (Hobot 2001; Maheswari *et al.* 2013). Hemagglutinin merupakan protein permukaan bakteri yang berperan sebagai faktor adhesin. Bakteri yang memiliki hemagglutinin dapat lebih mudah menempel pada permukaan sel epitel (Abrar *et al.* 2013). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Abrar *et al.* (2013), bahwa bakteri yang memiliki hemagglutinin akan menempel pada sel epitel lebih banyak dibandingkan dengan isolat-isolat dengan hemagglutinin negatif.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa isolat *Escherichia coli* yang memiliki hemagglutinin dan strain VTEC lebih virulen dibandingkan dengan isolat yang tidak memiliki hemagglutinin dan isolat non strain VTEC.

DAFTAR PUSTAKA`

- Abrar M., I.W.T. Wibawan, B.P. Priosoeryanto, M. Soedarwanto, & F.H. Pasaribu. 2013. Role of *Staphylococcus aureus* Haemagglutinin in Adhesion Process on Udder Epithelial Cells. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 7(1): 43-46.
- Afset, J.E, K. Bergh, & L. Bevanger. 2003. High prevalence of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in Norwegian children with diarrhoea. *J. Med. Microbiol*. 52:1015-1019.
- Aidar-Ugrinovich, L., J. Blanco, M. Blanco, J.E. Blanco, L. Leomil, G. Dahbi, A. Mora, D.L. Onuma, W.D. Silveira, & A.F. Pestana de Castro. 2007. Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxinproducing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *E. coli* (EPEC) isolated from calves in São Paulo, Brazil. *Int. J. Food Microbiol*. 115: 297-306.
- Blanco M, J. Blanco, J.E. Blanco, M.P. Alonso, & I. Abalia. 1995. Virulence factors and O serogroups of *Escherichia coli* as a cause of community-acquired urinary infections. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 13:236-241.
- Chapman, P.A., A.T. Cerdan, M. Ellin, & R.A. Harkin, 2001. *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. *Int. J. Food Microbiol*. 64: 139-150.
- Cleary, J., L. Li-Ching, K. Robert, S.A. Straatman-Iwanowska, S. Michael, F. Donnenberg, & S. Knutton. 2004. Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) adhesion to intestinal epithelial cells: role of bundle-forming pili (BFP), EspA filaments and intimin. *Microbiology*. 150:527-538
- Duguid, J.P., S. Clegg, & M.I. Wilson. 1979. The Fimbrial and Non-Fimbrial Haemagglutinins of *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol*. 12:213-227.
- Emody, L., M. Kerenyi, & G. Nagy, 2003. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*,” *International Journal of Antimicrobial Agents*, 22(2):29-33.
- Esther-Maria A., L.H. Wieler, & C. Ewers. 2009. Adhesive threads of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Gut Pathogens* 1:22.
<http://www.gutpathogens.com/content/1/1/2>; Tanggal akses : 7 Juni 2014.
- Ewers, C., G. Li, H. Wilking, S. Kiessling, K. Alt, E.M. Antão, C. Laturnus, I. Diehl, S. Glodde, T. Homeier, U. Böhnke, H. Steinrück, H.C. Philipp, & L.H. Wieler. 2007. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: How closely related are they. *Int J Med Microbiol*. 297(3):163-176.
- Fatima, N., M. Agrawal, I. Shukla, & P.A. Khan. 2012. Characterization of Uropathogenic *E. coli* in relation to virulence *Factors*.1:342. Doi:10.4172/scientificreports.
- Giron, J.A., A.G. Torres, E. Freer, & J.B. Kaper. 2002. The flagella of enteropathogenic *Escherichia coli* mediate

- adherence to epithelial cells. *Mol Microbiol.* 44: 361–379.
- Guh, A., Q. Phan, R. Nelson, K. Purviance, & E. Milardo. 2010. Outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with raw milk, Connecticut. *Clin. Infect. Dis.*, 51:1411-1417.
- Hobot, JA. 2001. Bacterial Ultrastructure. In *Molecular Medical Microbiology. Volume 1*. Edited by: Sussman M. Academic Press, 7-32.
- Huasai, S., A. Chen, W. Chun-jie, Y. Li, & B. Tongrige. 2012. Occurrence and Characteristics of Virulence Genes of *Escherichia coli* Strains Isolated from Healthy Dairy Cows in Inner Mongolia, China. *Brazilian Journal of Microbiology.* 528-534
- Hultgren, S.J., C.H. Jones, & S.N. Normark. 1996. Bacterial Adhesins and Their Assembly. In: *Escherichia coli and Salmonella; Cellular and Molecular Biology*. Neidhardt, F.C. (ed.). Washington DC: American Society for Microbiology Press, pp. 2730–2756.
- Jaros, P., A.L. Cookson, D.M. Campbell, T.E. Besser, & S. Shringi. 2013. A prospective case-control and molecular epidemiological study of human cases of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in New Zealand. *BMC Infect. Dis.*, 30:13-450.
- Johnson, J.R. 1991. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev.* 4: 80–128
- Kallenius, G., R. Mollby, & J. Winberg. 1980. In vitro adhesion of uropathogenic *Escherichia coli* to human periurethral cells. *Infect Immun* 28: 972-980.
- Kausar, Y, S.K. Chunchanur, S.D. Nadagir, L.H. Halesh, & M.R. Chandrasekhar. 2009. Virulence factors, serotypes and antimicrobial susceptibility pattern of *Escherichia coli* in urinary tract infections. *J Med Sci.* 2:47-51.
- Klemm, P., R.M. Vejborg, & V. Hancock. 2010. Prevention of bacterial adhesion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 88, 451-459.
- Koochakzadeh, A., M.A. Badouei, E. Mazandarani, & O. Madadgar. 2014. Survey on O157:H7 enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) in cattle in Golestan province, Iran. 6(4):276-280.
- Lynn, R.M., S.J. O'Brien, C.M. Taylor, G.K. Adak, & H. Chart. 2005. Childhood hemolytic uremic syndrome, United Kingdom and Ireland. *Emerg Infect Dis.* 11(4): 590–596
- Maheswari, U.B., S. Palvai, P. Rajalingam, Anuradha & N. Kammili 2013. Hemagglutination and biofilm formation as virulence markers of uropathogenic *Escherichia coli* in acute urinary tract infections and urolithiasis. 29(4):277-281
- Mitta, S., M. Sharma, & U. Chaudhary. 2014. Study of virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* and its antibiotic susceptibility pattern. 57(1): 61-64.
- Muhldorfer, I., W. Ziebuhr, & J. Hacker. 2001. *Escherichia coli* in Urinary Tract Infections. In: *Molecular Medical Microbiology*. Sussman, M. (ed.) London: Academic Press, 1739–1748.
- Mulvey, M.A. 2002. Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*. *Cellular Microbiology.* 4(5):257–271

- Nataro, J.P. & J.B. Kaper. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 11:142–201.
- 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
- Salasia, S.I.O. 1994. Untersuchungen zu mutmasslichen Pathogenisitats faktoren von Streptococcus suis. Vt.Med.Dis. Justus-Liebig-Universitat-Giessen
- Salasia, S.I.O. 1998. Sifat adesi dan fagositosis *Streptococcusequi* subsp. *zooepi demicus isolayt Indonesia*. *J. Vet. Sci.* XII(1): 42-50
- Shabana, I.I. 2014. *Escherichia coli* Pathotypes Associated With Diarrhea in Human and Domestic Animals. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* 9(3): 155-161.
- Söderlund, R., I. Hedenström, A. Nilsson, E. Eriksson & A. Aspán. 2012. Genetically similar strains of *Escherichia coli* O157:H7 isolated from sheep, cattle and human patients. *BMC Veterinary Research* 2012, 8:200 doi:10.1186/1746-6148-8-200.
- <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/8/200#sec2>
- Swaroop, S., H.P. Kumari, & U.S. Rao. 2013. Virulence-associated factors in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections P. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2(10): 436-440
- Thomas, J.N., J.A. Daly, S.L. Mottice, & K.C. Carroll. 2000. Comparison of Sorbitol MacConkey Agar and a Two-Step Method Which Utilizes Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Toxin Testing and a Chromogenic Agar To Detect and Isolate Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 38(2): 547–551.
- Thran, B.H., H.S. Hussein, M.R. Hall & S.F. Khaiboullina. 2001. Occurrence of verotoxin producing *Escherichia coli* in dairy heifers grazing an irrigated pasture. *Journal of Toxicology* 159:159-169.
- Torres, A.G., X. Zhou, & J.B. Kaper. 2005. Adherence of Diarrheagenic *Escherichia coli* Strains to Epithelial Cells. *Infection and Immunity*, 73(1):18–29.
- Wibawan, I.W.T., Lämmler, 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.