

TRANSFER GEN *MOBILIZED COLISTIN RESISTANCE (MCR)-1* DARI *ESCHERICHIA COLI* RESISTAN KOLISTIN KE *SALMONELLA* ENTERITIDIS ATCC 13076

^aMaria Fatima Palupi, ^bI Wayan Teguh Wibawan, ^bEtih Sudarnika, ^bHera Maheshwari, ^{b,c}Huda S. Darusman, ^aErnes Andhesfa, ^aIrma Rahayuningtyas, ^aNeneng Atikah,

^a Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan

^b Fakultas Kedokteran Hewan – IPB

^c Pusat Studi Satwa Primata – IPB

Email: lupi_ima@yahoo.co.id

ABSTRAK

Risiko kegagalan kolistin sebagai *last drug choice* untuk pengobatan infeksi gram negatif patogen multiresistensi semakin besar ketika ditemukan adanya gen *mobilized colistin resistance (mcr)-1*. Gen ini dengan mudah berpindah antarspesies bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui transfer gen *mcr-1* dari *Escherichia coli* resistan kolistin ke bakteri zoonosis *Salmonella enteritica serotype* Enteritidis ATCC 13076 yang peka terhadap kolistin. Transfer gen *mcr-1* dilakukan dengan konjugasi. Sebanyak 68 isolat *E. coli* resistan kolistin digunakan sebagai donor. Uji kepekaan kolistin sulfat dilakukan dengan menggunakan metode *agar dilution*. Uji identifikasi gen *mcr-1* dan *S. Enteritidis* setelah konjugasi dilakukan dengan *polymerase chain reaction* (PCR). Transfer gen *mcr-1* melalui konjugasi berhasil dilakukan dari donor isolat *E. coli* DI15 ke *S. Enteritidis*. Hasil uji kepekaan atau resistansi dan PCR menunjukkan resipien *S. Enteritidis* yang menjadi resistan kolistin memiliki gen *mcr-1* dan juga menjadi resistan terhadap doksisiklin sebagaimana sifat multiresistensi dari donor, *E. coli* DI15, yang juga resistan terhadap doksisiklin. Berdasarkan hasil tersebut maka perlu dilakukan evaluasi mendalam untuk mengurangi penggunaan kolistin sulfat pada hewan produksi guna mengurangi risiko resistansi terhadap kolistin pada hewan maupun manusia.

Kata kunci: *mcr-1*, kolistin, *E. coli*, resistansi, *Salmonella* Enteritidis

PENDAHULUAN

Peningkatan jumlah kasus multiresistensi baik pada manusia maupun hewan menyebabkan kerugian yang tinggi. Penyebaran bakteri zoonosis yang multiresistan dari hewan produksi, produknya maupun lingkungannya ke manusia harus terus diwaspadai. Risiko ancaman kegagalan kolistin sebagai *last drug choice* untuk pengobatan infeksi gram negatif patogen multiresistan semakin besar ketika ditemukan adanya gen *mcr-1* pada bakteri tersebut.

Sejalan dengan berkembangnya penelitian mengenai gen *mcr-1* diketahui bahwa penyebaran gen *mcr-1* tidak hanya melalui konjugasi plasmid. Penyebaran gen *mcr-1* juga bisa melalui komposit transposon, transformasi, dan kromosom. Adanya komposit transposon *Tn6330* yang sangat aktif memindahkan gen *mcr-1* ke berbagai lokasi yang tidak spesifik menyebabkan gen ini dapat ditemukan di plasmid lain ataupun dalam kromosom (Hadjaj *et al.* 2017).

Adanya gen *mcr-1* pada *E. coli* resistan kolistin di sepanjang rantai suplai broiler mengancam efikasi penggunaan kolistin sulfat (Palupi *et al.* 2019). Oleh sebab itu, diperlukan penelitian mengenai transfer *mcr-1* antarspesies bakteri. Transfer gen resistan melalui konjugasi akan dilakukan dengan bakteri *Salmonella enteritica* serotipe Enteritidis (*S. Enteritidis*) yang merupakan salah satu bakteri zoonosis patogen asal pangan. Menurut Riemann dan Cliver (2006), prevalensi resistansi antimikrob pada *S. Enteritidis* masih rendah dan kemampuan resistansi perolehan melalui *mobile genetic element* masih kurang. Kasus

resistensi kolistin pada *Salmonella* telah dilaporkan dalam beberapa penelitian termasuk juga adanya gen *mcr-1* pada beberapa serovar *Salmonella*. Akan tetapi gen *mcr-1* pada *S. Enteritidis* masih sangat jarang ditemukan. Sebagaimana dilaporkan oleh Chiou *et al.* (2017), dari 431 isolat *S. Enteritidis* resisten kolistin yang diuji dalam penelitiannya tidak ada satu pun yang mengandung gen *mcr-1*. Oleh sebab itu, penelitian transfer gen *mcr-1* dengan resipien *S. Enteritidis* memberikan informasi yang sangat penting. Hal ini tentunya berbahaya bagi hewan ataupun manusia karena dapat menyebabkan kegagalan pengobatan kolistin sulfat dalam menangani *S. Enteritidis* resisten kolistin.

MATERI DAN METODE

Metode uji transfer gen resisten melalui konjugasi plasmid dikembangkan dari Sumadi *et al.* (1999). *Escherichia coli* donor adalah 68 isolat *E. coli* resisten kolistin sulfat dari penelitian sebelumnya (Palupi *et al.* 2018; Palupi *et al.* 2019). Bakteri resipien adalah *S. Enteritidis* ATCC 13076 peka terhadap kolistin sulfat. Tiap donor dan resipien dibiakkan dalam HIB (HIB, DB/Difco-FRA) selama 6 jam pada suhu 37 °C. Satu mL biakan donor dan 0.1 mL biakan resipien dicampur dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37 °C. Campuran biakan kemudian ditanam pada agar *deoxycholate-hydrogen sulfides-lactoes* (DHL, Difco/DB-FRA) yang mengandung standar kolistin sulfat (Sigma-USA) 2 µg/mL. Media DHL yang telah diinokulasi diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37 °C. Koloni *S. Enteritidis* ATCC 13076 yang mampu tumbuh kemudian diuji identitasnya dengan menggunakan media *rapid Salmonella* (RSA, Bio Rad-FRA), *xylose lysine deoxycholate* (XLD, Difco/DB-FRA), dan uji ImVic.

Uji konfirmasi lanjutan identitas dilakukan dengan uji *polymerase chain reaction* (PCR) sebagaimana Alvarez *et al.* (2004) dengan menggunakan primer *S. Enteritidis* ENTf (5'-TGTGTTTTATCTGATGCAAGAGG-3') dan primer ENTR (5'-TGAACACTACGTTCTTCTTCTGG-3'). Amplikon PCR diuji dengan menggunakan elektroforesis dan visualisasi UV dengan menggunakan agarose 1.5% dan panjang amplikon adalah 304 bp. Sebagai kontrol positif adalah *S. Enteritidis* ATCC 13076 awal yang ditanam dalam media penyimpanan (Palupi *et al.* 2018).

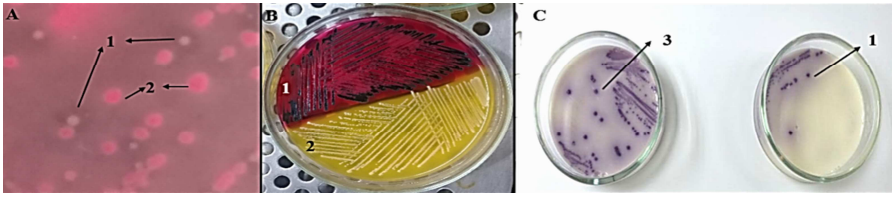
Salmonella Enteritidis ATCC 13076 yang mampu tumbuh pada DHL yang mengandung kolistin sulfat 2 µg/mL kemudian diuji kepekaannya terhadap kolistin sulfat dengan menggunakan metode *agar dilution*. Isolat dinyatakan resisten terhadap kolistin sulfat jika nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) > 2 µg/mL (BSAC 2015; Turlec-Rogacka *et al.* 2018). Isolat *E. coli* ATCC 25922 dan *S. Enteritidis* ATCC 13076 awal digunakan sebagai kontrol positif. Uji kepekaan terhadap antibiotik lainnya (amoksisilin, doksisisiklin, enrofloksasin, dan siprofloksasin) terhadap *S. Enteritidis* resipien resisten kolistin juga dilakukan apabila *E. coli* donor memiliki sifat multiresistan. Metode uji kepekaan multiresistan dilakukan dengan menggunakan metode *agar dilution* dengan menggunakan pembanding *S. Enteritidis* ATCC 13076. Isolat dinyatakan

resistan terhadap amoksisilin apabila nilai KHM ≥ 32 $\mu\text{g/mL}$ (Abu-Basha *et al.* 2012), doksisisiklin ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$ (CLSI 2016), siprofloksasin > 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (EUCAST 2017), dan enrofloksasin ≥ 2 $\mu\text{g/mL}$ (Abu-Basha *et al.* 2012).

Uji identifikasi gen *mcr-1* pada *S. Enteritidis* ATCC 13076 resisten kolistin dilakukan dengan uji PCR sebagaimana uji deteksi PCR gen *mcr-1* pada *E. coli* tetapi dengan konsentrasi DNA *template* 100x (Palupi *et al.* 2018). Metode deteksi gen *mcr-1* dikembangkan berdasarkan metode Liu *et al.* (2015) dan Cavaco *et al.* (2016). Ekstraksi DNA dilakukan dengan memasukkan 1 *loop* ose isolat *S. Enteritidis* ATCC 13076 ke dalam 100 μL reagen persiapan sampel PrepMan™ Ultra kemudian direbus dalam air mendidih (100 °C) selama 10 menit. Komposisi *master mix* untuk 25 μL reaksi terdiri atas 12.5 μL Hotstart *master mix*, 1 μL (5 μM) primer *mcr-1* CLR-F (5'-CGGTCAGTCCGTTTGTTC-3'), 1 μL (5 μM) primer *mcr-1* CLR-R (5'-CTTGGTCGGTCTGTAGGG-3'), DNA *template* 5 μL (100x), dan H₂O sampai dengan 25 μL . Kondisi *thermocycler* PCR adalah sebagai berikut: 94 °C 15 menit + 25x (94 °C 30 detik + 57.5 °C 90 detik + 72 °C 60 detik) + 72 °C 10 menit. Amplikon PCR diuji dengan menggunakan elektroforesis dan visualisasi UV menggunakan agarose 1.5%. Donor *E. coli* digunakan sebagai kontrol positif dan *S. Enteritidis* ATCC 13076 dinyatakan memiliki gen *mcr-1* apabila muncul pita pada amplikon 309 bp.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji transfer gen resisten kolistin dilakukan dengan menggunakan donor 68 isolat *E. coli* resisten kolistin. Sebanyak 59 dari isolat donor memiliki gen *mcr-1* (Palupi *et al.* 2018; Palupi *et al.* 2019). Bakteri resipien adalah *S. Enteritidis* ATCC 13076 yang peka terhadap kolistin dengan nilai KHM 0.5 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil uji, hanya pencampuran biakan isolat *E. coli* kolistin resisten kode DI15 dengan *S. Enteritidis* ATCC 13076 yang menghasilkan koloni *S. Enteritidis* ATCC 13076 yang bisa tumbuh di media DHL dengan konsentrasi kolistin sulfat 2 $\mu\text{g/mL}$ (Palupi *et al.* 2018). Isolat *S. Enteritidis* ATCC 13076 yang menjadi resisten kolistin tersebut dikonfirmasi dengan menanamkan dua koloni *S. Enteritidis* ATCC 13076 yang diduga telah resisten ke media XLD dan uji cepat menggunakan media RSA. Isolat yang tumbuh pada media XLD menunjukkan kesesuaian dengan ciri-ciri *Salmonella*, yaitu koloni berwarna dengan titik tengah berwarna hitam. Uji dengan media RSA menunjukkan kesesuaian dengan *Salmonella*, yaitu koloni berbentuk bulat dan berwarna ungu sebagaimana Gambar 1. Dua koloni *S. Enteritidis* tersebut kemudian diberi kode isolat SE DI15-12 dan SE DI15-13.



Gambar 1 Uji konjugasi gen *mcr-1* dari donor *Escherichia coli* resistan kolistin ke resipien *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076.

Keterangan: (A) Hasil pertumbuhan resipien *S. Enteritidis* ATCC 13076 (1) dan donor *E. coli* DI15 (2) dalam media DHL yang mengandung kolistin sulfat 2 µg/mL. (B) Uji identitas *S. Enteritidis* ATCC 13076 yang diduga telah resistan kolistin (1) dan dibandingkan dengan donor *E. coli* DI15 (2) di media XLD. (C) Hasil uji identitas *S. Enteritidis* ATCC 13076 (1) yang diduga telah resistan kolistin dengan menggunakan media RSA dibandingkan dengan *S. Enteritidis* ATCC 13076 awal (3)

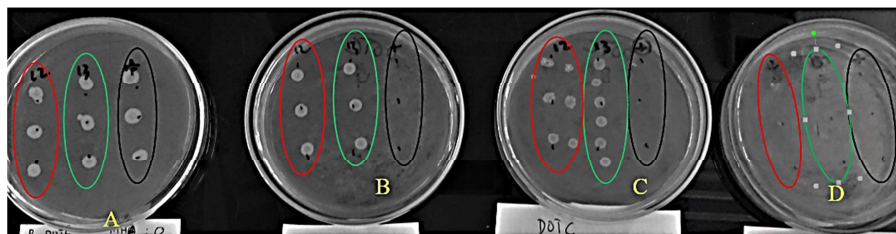
Pada saat dilakukan uji indol terdapat perubahan sifat SE DI15-12 dan SE DI15-13. Apabila sebelumnya hasil uji indol memberikan hasil negatif, maka setelah konjugasi memberikan hasil uji indol positif. Adapun untuk uji MR-VP dan sitrat tetap seperti sifat semula. Oleh sebab itu, guna lebih memastikan bahwa kedua isolat tersebut adalah benar *S. Enteritidis* ATCC 13076 maka dikonfirmasi dengan menggunakan PCR. Berdasarkan hasil PCR isolat *S. Enteritidis* kode SE DI15-12 dan SE DI15-13 adalah betul *S. Enteritidis* ATCC 13076 dengan menunjukkan pita amplikon yang sama, yaitu 304 bp seperti kontrol positif *S. Enteritidis* ATCC 13076 yang masih peka terhadap kolistin (Palupi *et al.* 2018).



Gambar 2 Hasil uji deteksi gen *mcr-1* isolat SE DI15-12 (A), SE DI15-13 (B), *S. Enteritidis* ATCC 13076 (K). Kontrol negatif *E. coli* ATCC 25922 (M) dan kontrol positif *E. coli* DI15 (N).

Kedua isolat tersebut diuji resistansinya terhadap kolistin sulfat dengan metode *agar dilution* dan didapatkan nilai KHM dari kedua isolat tersebut adalah 4 µg/mL. Kedua isolat tersebut kemudian diuji deteksi gen *mcr-1* dan keduanya positif memiliki gen *mcr-1* (Gambar 2). Keberhasilan bakteri resipien menjadi

resistan menunjukkan adanya perpindahan gen *mcr-1* dari *E. coli* donor (DI15) melalui plasmid atau konjugasi. Selain perpindahan gen *mcr-1* yang membuat SE DI15-12 dan SE DI15-13 resistan terhadap kolistin, pada saat bersamaan sifat resistan terhadap doksisisiklin dari *E. coli* DI15 juga berpindah pada saat dilakukan konjugasi. *Escherichia coli* DI15 memiliki sifat multiresistan terhadap amoksisilin, doksisisiklin, enrofloksasin, dan siprofloksasin. Hasil uji kepekaan isolat SE DI15-12 dan SE DI15-13 menunjukkan resistan terhadap doksisisiklin dengan nilai KHM 16 µg/mL (Gambar 3).



Gambar 3 Hasil uji kepekaan doksisisiklin isolat SE DI15-12 (12), SE DI15-13 (13), dan *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 (+) triplo.

Keterangan pada media MHA tanpa doksisisiklin ketiga isolat tersebut tumbuh (A). Pada media MHA dengan konsentrasi 4 µg/mL (B) dan 8 µg/mL (C) isolat SE DI15-12 dan SE DI15-13 tumbuh akan tetapi *S. Enteritidis* ATCC 13076 tidak tumbuh. Pada media dengan konsentrasi 16 µg/mL (D) ketiga isolat tidak tumbuh.

Hasil penelitian ini semakin menguatkan bahwa perpindahan gen *mcr-1* dapat terjadi antarspesies bakteri. Beberapa penelitian transfer gen *mcr-1* dari *E. coli* resistan kolistin ke bakteri lain menunjukkan bahwa gen ini sangat bisa berpindah antarspesies bakteri antara lain ke *E. coli* J53, *Klebsiella pneumonia*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Liu *et al.* 2015; Nguyen *et al.* 2016; Shen *et al.* 2016). Gen *mcr-1* terdapat dalam berbagai tipe plasmid dan sebagian besar terdapat dalam plasmid IncI2, IncHI2, serta IncX4. Beberapa tipe plasmid ini dikenal memiliki korelasi yang kuat dengan berbagai gen resistan terhadap antimikrob. Pada penelitian transformasi gen *mcr-1* yang dilakukan oleh Yi *et al.* (2017) juga ditemukan bahwa gen resistan *floR* (resistan *florfenicol*) dan gen *oqxb* (resistan olakuindok dan siprofloksasin) juga ikut berpindah bersama gen *mcr-1* ke bakteri resipien.

Perpindahan gen resistan *mcr-1* dari *E. coli* ke *S. Enteritidis* merupakan peringatan penting bagi kesehatan manusia. *Salmonella* Enteritidis merupakan bakteri asal hewan yang penting bagi kesehatan manusia dan merupakan bakteri zoonosis yang berasal dari produk hewan. *Salmonella* Enteritidis termasuk serotipe yang paling umum diisolasi dari manusia yang sakit selain *S. typhimurium* (Howard *et al.* 2012; CFSPH 2013). Manusia umumnya terkontaminasi *Salmonella* karena mengonsumsi makanan asal hewan yang telah terkontaminasi bakteri ini. Telur merupakan sumber utama infeksi *Salmonella* di beberapa negara, akan tetapi daging ayam, daging babi, daging sapi, daging ikan, bahkan daging reptil bisa juga terkontaminasi *Salmonella*. Infeksi *Salmonella*

pada manusia melalui kontak langsung dengan hewan, antara lain melalui reptil, amfibi, dan unggas (ayam dan bebek) (CFSPH 2013). Kejadian wabah infeksi akibat *S. Enteritidis* pada manusia pernah terjadi di Eropa dan Amerika Serikat berkenaan dengan produksi telur yang intensif (Riemann dan Cliver 2006).

Kasus kematian pada manusia akibat infeksi *Salmonella* jarang terjadi, akan tetapi meningkatnya resistansi *Salmonella* terhadap beberapa antimikrob menjadi masalah bagi penanganan penyakit ini. Sebagai contoh pada tahun 1998 di Tajikistan wabah *S. typhi* multiresistan yang mencemari sumber air minum bagi penduduk menyebabkan 10000 kasus infeksi dan 100 di antaranya meninggal (Riemann dan Cliver 2006; CFSPH 2013). Sejalan dengan berbagai penelitian mengenai pola resistansi antimikrob pada *S. Enteritidis* yang diisolasi dari manusia dan hewan ditemukan adanya gen-gen resistan antimikrob yang terletak di *mobile genetic element* (Firoozeh *et al.* 2011; Salem *et al.* 2017).

Transfer gen *mcr-1* dengan metode konjugasi yang digunakan pada penelitian ini menunjukkan bahwa tidak semua bakteri donor berhasil memindahkan gen *mcr-1* ke resipien. Metode konjugasi juga gagal dilakukan oleh beberapa penelitian lain (Hadjadj *et al.* 2017; Lima Barbieri *et al.* 2017; Yi *et al.* 2017). Kegagalan ini bisa disebabkan karena beberapa hal antara lain kemungkinan lokasi gen *mcr-1* berada pada kromosom atau *non mobile plasmid*, jumlah bakteri resipien terlalu sedikit sehingga kalah saat berkompetisi dengan donor, dan frekuensi transfer plasmid yang rendah karena frekuensi transfer plasmid sangat bergantung pada tipe bakteri donor dan resipien (Hadjadj *et al.* 2017; Lima Barbieri *et al.* 2017; Dénervaud Tendon *et al.* 2017). Penyebaran gen *mcr-1* tidak hanya disebarkan melalui konjugasi plasmid, akan tetapi gen *mcr-1* juga terdapat dalam kromosom, dan dapat disebarkan melalui transposon (Hadjaj *et al.* 2017; Lima Barbieri *et al.* 2017; Sun *et al.* 2018; Tada *et al.* 2017).

Gen *mcr-1* yang terdapat dalam kromosom akan terus dipertahankan dan diturunkan saat perkembangbiakan bakteri meskipun tidak dapat ditransfer melalui proses konjugasi. Pada beberapa penelitian yang gagal melakukan transfer gen *mcr-1* dengan menggunakan metode konjugasi setelah diulang menggunakan metode transformasi ternyata transfer gen *mcr-1* berhasil dilakukan (Tijet *et al.* 2017; Yi *et al.* 2017).

Hasil penelitian lain menemukan bahwa gen *mcr-1* dikelilingi oleh dua *copy IS_{Apl}*. *IS_{Apl}* merupakan *insertion sekuens* (IS) yang termasuk dalam transposon IS30. *IS_{Apl}* memacu terbentuknya komposit transposon *Tn6330* (*IS_{Apl} -mcr-1* ORF- *IS_{Apl}*) yang mampu memindahkan gen *mcr-1* (Li *et al.* 2016; Poirel *et al.* 2016; Hadjadj *et al.* 2017). Sekuens *IS_{Apl}* kadang tidak selalu ditemukan mengelilingi gen *mcr-1*. Pada beberapa kasus *IS_{Apl}* ditemukan pada gen *TraE* yang akan menyebabkan inaktivasi gen *IS_{Apl}* dan mempengaruhi kemampuan bakteri untuk mentransfer plasmid melalui konjugasi. *IS_{Apl}* merupakan IS yang sangat aktif dan mampu untuk *transpose* dengan frekuensi yang sangat tinggi di berbagai *site insertion* yang nonspesifik. *IS_{Apl}* telah ditemukan *E. coli mcr-1* positif dalam beberapa tipe plasmid IncI2, IncFII, IncY, dan IncFIB (Hadjadj *et al.* 2017). Veldman *et al.* (2016) melaporkan *IS_{Apl}* juga ditemukan pada gen *mcr-1* dengan tipe plasmid IncHI2 dan kromosom pada *E. coli* resistan kolistin.

Oleh sebab itu, dikarenakan keterbatasan metode penelitian mengenai transfer gen *mcr-1* melalui konjugasi, maka informasi mengenai ketidakberhasilan konjugasi pada penelitian ini sangat terbatas dan diperlukan penelitian lanjutan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Gen *mcr-1* dan gen resisten doksisisiklin dari *E. coli* donor bisa berpindah antarspesies bakteri khususnya *S. Enteritidis* melalui konjugasi plasmid. Meskipun hanya satu isolat dari 58 isolat yang memiliki gen *mcr-1* yang berhasil melakukan transfer gen *mcr-1* melalui konjugasi, akan tetapi hal ini menunjukkan bahwa gen ini bisa berpindah dengan mudah dan menyebarkan sifat resistansi terhadap kolistin. Kemampuan konjugasi gen *mcr-1* ke bakteri patogen zoonosis lainnya menunjukkan bahwa resistansi kolistin sulfat mengancam bagi kesehatan manusia. Oleh sebab itu disarankan pembatasan dan pengurangan penggunaan kolistin di hewan produksi, meningkatkan praktik higiene di sepanjang rantai suplai daging broiler, dan surveilans berkelanjutan gen *mcr*.

Terima kasih diucapkan kepada Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Kementerian Pertanian atas beasiswa dan bantuan dana penelitian. Ucapan terima kasih juga diberikan kepada Kepala BBPMSOH beserta penyelia dan staff Unit Uji Bakteriologi, Farmasetik dan Premiks, Supply Center, dan Unit Biotek BBPMSOH.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Basha EA, Gharaibeh SM, Thabet AM. 2012. In vitro susceptibility of resistant *Escherichia coli* field isolates to antimicrobial combinations. *J Appl Poult Res*. 21:595-602. doi.org/10.3882/japr.2011-00500
- Alvarez J, Sota M, Vivanco AB, Perales I, Cisterna R, Rementeria A, Garaizar J. 2004. Development of a multiplex PCR technique for detection and epidemiological typing of *Salmonella* in human clinical samples. *J Clin Microbiol*. 42(4):1734-1738
- [BSAC] British Society for Antimicrobial Chemotherapy. BSAC to actively support the EUCAST disc diffusion method for antimicrobial susceptibility testing in preference to the current BSAC disc diffusion method ver. 14.0 updated January 5th 2015. United Kingdom. [Internet]. [Diunduh 1 Maret 2016]. Terdapat dalam bsac.org.uk.
- Cavaco L, Mordhorst H, Hendriksen R. 2016. Laboratory Control: PCR for plasmid-mediated colistin resistance genes, *mcr-1* and *mcr-2* (multiplex) Version 2. European Union Reference Laboratory Antimicrobial Resistance Updated October 2016. DTU Food – National Institute, Denmark. [Internet]. [Diunduh 24 Juli 2017]. Terdapat dalam <http://www.eurl-ar.eu>.

- [CFSPH] The Center for Food Security and Public Health. 2013. *Salmonellosis*. [Internet]. [Diunduh 17 September 2018]. Terdapat dalam www.cfsph.iastate.edu/.../pdfs/nontyphoidal_salmonellosis.pdf
- Choi MJ, Ko KS. 2014. Mutant prevention concentration of colistin for *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumonia* Clinical Isolat. *J Antimicrob Chemother*. 69(1):275-277. doi.org/10.1093/jac/dkt315
- [CLSI] Clinical Laboratory Standards Institute. 2016. M100S: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 26th Ed. CLSI. USA. pp: 52-54, 196
- Dénervaud Tendon V, Poirel L, Nordmann P. 2017. Transferability of the *mcr-1* Colistin Resistance Gene. *Microb Drug Resist*. 23(7):813-814
- [EUCAST] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2017. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 7.1. [Internet] [Diunduh 20 Maret 2017]. Terdapat dalam www.eucast.org
- Firoozeh F, Shahcheraghi F, Zahraei Salehi T, Karimi V, Aslani MM. 2011. Antimicrobial resistance profile and presence of class I integrons among *Salmonella enterica* serovars isolated from human clinical specimens in Tehran, Iran. *Iran J Microbiol*. 3(3):112-117
- Hadjaj L, Riziki T, Zhu Y, Li J, Diene SM, Rolain JM. 2017. Study of *mcr-1* gene-mediated colistin resistance in *Enterobacteriaceae* isolated from humans and animals in different countries. *Genes*. 8:394. doi:10.3390/genes8120394
- Howard ZR, O'Bryan CA, Crandall PG, Ricke SC. 2012. *Salmonella* Enteritidis in shell eggs: Current issues and prospects for control. *Food Res Int*. 45(2):755-764. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.030>
- Lima Barbieri N, Nielsen DW, Wannemuehler Y, Cavender T, Hussein A, Yan S-g, Nolan LK, Logue CM. 2017. *mcr-1* identified in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *PloS One*. 12(3):e0172997. doi: 10.1371/journal.pone.0172997
- Li A, Yang Y, Miao M, Chavda KD, Mediavilla JR, Xie X, Feng P, Tang Y-W, Kreiswirth BN, Chen L, Du H. 2016. Complete sequences of *mcr-1*-harboring plasmids from extended-spectrum- β -lactamase- and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 60:4351-4354. doi:10.1128/AAC.00550-16.

- Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R., Spencer J, Doi Y, Tian G, Domg B, Huang X, Yu LF, Gu D, Ren H, Chen X, Lu L, He D, Zhou H, Liang Z, Liu JH, Shen J. 2015. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human being in china: a microbiological and molecular biology study. *Lancet Infect Dis*. 201. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)
- Nguyen NT, Nguyen HM, Nguyen CV, Nguyen TV, Nguyen MT, Thai HQ, Ho MH, Thwaites G, Ngo HT, Baker S, Carrique-Mas J. 2016. Use of colistin and other critical antimicrobials on pig and chicken farms in Southern Vietnam and its association with resistance in commensal *Escherichia coli* bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 82(13):3727–3735. doi: 10.1128/AEM.00337-16.
- Palupi MF, Maheshwari H, Darusman HS, Sudarnika E, Wibawan ITW. 2018. Resistansi *Escherichia coli* Terhadap Kolistin dan Deteksi Gen *mcr-1* Pada Broiler Akibat Pemberian Kolistin Sulfat. *J Vet Ed*. Juni Vol. 19 No. 2: 167-207
- Palupi MF, Wibawan IWT, Sudarnika E, Maheshwari H, Darusman HS. 2019. *Prevalence of mcr-1 Colistin Resistance Gene in Escherichia coli Along Broiler Meat Supply Chain in Indonesia*. *J Biotropia* Vol. 26 No. 2 2019. DOI:<http://dx.doi.org/10.11589/btb.2019.26.2.1054>
- Poirel L, Kieffer N, Brink A, Coetze J, Jayol A, Nordmann P. 2016. Genetic features of MCR-1-producing colistin-resistant *Escherichia coli* isolates in South Africa. *Antimicrob Agents Chemother*. 60:4394–4397. doi:10.1128/AAC.00444-16.
- Riemann HP, Cliver DO. 2006. Foodborne Infections and Intoxications 3rd Ed. Academic Press Elsevier. pp 57-115, 719-720
- Salem RB, Abbassi MS, García V, García-Fierro R, Fernández J, Kilani H, Jaouani I, Khayeche M, Messadi L, Rodicio MR. 2017. Antimicrobial drug resistance and genetic properties of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis circulating in chicken farms in Tunisia. *J Infect Public Health*. 10:855–860
- Shen Z, Wang Y, Shen Y, Shen J, Wu C. 2016. Early emergence of *mcr-1* in *Escherichia coli* from food-producing animals. *The Lancet Infect Dis*. 16(3):293.doi: 10.1016/S1473-3099(16)00061-X.
- Sumadi, Mariana S, Istiyaningsih, Nakamura M. 1999. Drug resistance and conjugative r plasmids in *Escherichia coli* strains isolated from cattle, pigs, and chickens in Indonesia. *Buletin Pengujian Mutu Obat Hewan*. 6:1-6.

- Sun J, Li XP, Fang LX, Sun RY, He YZ, Lin J, Liao XP, Feng Y, Liu YH. 2018. Co-occurrence of *mcr-I* in the chromosome and on an IncHI2 plasmid: persistence of colistin resistance in *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents*. 51(6):842-847. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.01.007.
- Tada T, Nhungc PH, Shimada K, Tsuchiya M, Phuong DM, Anh NQ, Ohmagari N, Kirikae T. 2017. Emergence of colistin-resistant *Escherichia coli* clinical isolates harboring in Vietnam. *Int J Infect Dis*. 63:72-73. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2017.07.003>
- Tijet N, Faccione D, Rapoport M, Seah C, PasteraÂn F, Ceriana P, Albornoz E, Corso A, Petroni A, Melano RG. 2017. Molecular characteristics of *mcr-I*-carrying plasmids and new *mcr-I* variant recovered from polyclonal clinical *Escherichia coli* from Argentina and Canada. *PloS One*. 12(7):e0180347. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180347>
- Turlej-Rogacka A, Xavier BB, Janssens L, Lammens C, Zarkotou O, Pournaras S, Goossens H, Malhotra-Kumar S. 2018. Evaluation of colistin stability in agar and comparison of four methods for MIC testing of colistin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 37:345-353. doi: 10.1007/s10096-017-3140-3
- Veldman K, van Essen-Zandbergen A, Rapallini M, Wit B, Heymans R, van Pelt W, Mevius D. 2016. Location of colistin resistance gene *mcr-I* in *Enterobacteriaceae* from livestock and meat. *J Antimicrob Chemother*. 2340-2342. doi:10.1093/jac/dkw181
- Yi L, Wang J, Gao Y, Liu Y, Doi Y, Wu R, Zeng Z, Liang Z, Liu JH. 2017. *mcr-I*-Harboring *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Sequence Type 34 in Pigs, China. *Emerg Infect Dis*. 23(2):291-295. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2302.161543>