

SKRIPSI :

ETTY SETYALESMANAH

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI LISTERIA
MONOCYTOGENES DARI LIMFOGLANDULA
ILIO - CAECAL BABI YANG DIPOTONG DI RUMAH
POTONG HEWAN PEGIRIAN KOTAMADYA SURABAYA**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1986**

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI LISTERIA MONOCYTOGENES DARI
LIMFOGLANDULA ILIO-CAECAL BABI YANG DIPOTONG
DI RUMAH POTONG HEWAN PEGIRIAN
KOTAMADYA SURABAYA

SKRIPSI

DISERAHKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS
AIRLANGGA UNTUK MEMENUHI SEBAGIAN SYARAT GUNA
MEMPEROLEH GELAR DOKTER HEWAN



OLEH
ETTY SETYALESMANAH
SURABAYA - JAWA TIMUR

(drh. MIDIAN NAIBAHO)

Pembimbing Utama

(drh. SOELISTIYANTO)

Pembimbing Kedua

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A

1986

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh -
sungguh , kami berpendapat bahwa tulisan ini baik skope
maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk
memperoleh gelar DOKTER HEWAN.

Panitia Penguji,

Ketua

Sekretaris

Anggota

Anggota

Anggota





Untuk tercinta
Kedua orang tuaku
terima kasih atas nasehat, dorongan
serta doa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Skripsi ini disusun berdasarkan penelitian yang penulis laksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada drh. Midian Nalbaho (Ketua Jurusan Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner) dan drh. Soelistiyanto (Dosen Virologi) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberi petunjuk, bimbingan serta nasehat kepada penulis mulai dari awal penelitian sampai penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan juga kepada drh. Soewadji (Kepala Rumah Potong Hewan Pegirian Kotamadya Surabaya) yang telah memberikan fasilitas untuk pengambilan bahan penelitian. Kedua orang tua tercinta serta keluarga yang telah memberi semangat dan bantuan hingga selesainya pembuatan skripsi ini. Semua pihak yang telah membantu penulisan skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat berguna bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang Kedokteran Hewan guna menunjang usaha pemerintah dalam peningkatan produksi protein hewani.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	ii
DAFTAR ISI	iii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
A. Sejarah Penyakit	3
B. Morfologi dan Sifat Pewarnaan	4
C. Sifat Pupukan	5
D. Sifat Biokimiawi	6
E. Resistensi	7
F. Struktur Antigen dan Toksin	7
G. Pathogenese	8
H. Diagnosa	9
1. Gejala Klinis	9
2. Perubahan Pathologia Anatomis	10
3. Pemeriksaan Laboratoris	10
I. Pengendalian Penyakit	11
1. Pemberantasan dan Pencegahan	11
2. Pengobatan	11
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA	12
A. Bahan	12
B. Cara Kerja	12
1. Pemeriksaan Mikroskopis	12
2. Pemupukan	14
3. Uji Biokimiawi	15

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	23
BAB VI. RINGKASAN	25
DAFTAR KEPUSTAKAAN	27
LAMPIRAN	30



BAB I

PENDAHULUAN

Dewasa ini kebutuhan akan nilai gizi masyarakat Indonesia, khususnya protein hewani per kapita masih belum memadai. Agar kebutuhan protein hewani per kapita dapat terpenuhi, maka perlu ada peningkatan produksi di bidang peternakan. Salah satu sumber yang dapat memenuhi kebutuhan tersebut adalah dengan mengusahakan ternak babi.

Babi sebagai ternak potong cukup tinggi, hal ini antara lain karena babi termasuk ternak yang produktif sebab mempunyai kemampuan berkembang biak cepat, selain itu babi penghasil daging yang cukup baik dalam kualitas dan kuantitas, memiliki konversi terhadap makanan yang cukup tinggi dan babi merupakan ternak yang mudah beradaptasi.

Salah satu penyakit yang dapat menyerang babi adalah listeriosis yang disebabkan oleh infeksi Listeria monocytogenes. Pada babi dapat menyebabkan gangguan syaraf berupa meningitis, septicaemia dengan nekrose fokal pada hati (Dunne, 1964). Selain menyerang babi listeriosis dapat menyerang sapi, domba, kambing, kuda, kelinci dan manusia (Blood and Henderson, 1976; Ressang, 1981).

Kejadian listeriosis dapat dijumpai di negara-negara seperti Inggris, Amerika Utara, New Zealand, Australia, Norwegia, Jerman, Perancis, India dan Scotlandia (Blood and Henderson, 1976).

Kasus listeriosis di Indonesia belum pernah dilaporkan, sehubungan program pemerintah dalam mengimport ternak dari ne-

gara-negara tersebut diatas, dengan alasan inilah maka penulis mencoba untuk menelitinya yaitu dengan cara isolasi dan identifikasi *Listeria monocytogenes* serta berapa prosentase kejadiannya.

Penelitian ini penulis lakukan mulai tanggal 22 April - 20 Mei 1985. Bahan yang diambil yaitu berupa limfoglandula iliocaecal babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kotamadya Surabaya, kemudian langsung dibawa ke laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya untuk diperiksa.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Listeriosis adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi Listeria monocytogenes. Penyakit ini pada babi menimbulkan meningitis, septicaemia sering dijumpai pada babi muda. Pada sapi, domba, kambing, biri-biri dan manusia dapat menimbulkan meningo-encephalitis, abortus dan kematian neonatal (Dunne , 1964; Cottral, 1978).

A. Sejarah Penyakit

Pada tahun 1910 Gustav Hulpers berhasil mengisolasi suatu organisme dari hepar seekor kelinci dan dinamakan Bacillus hepatis (Merchant and Packer, 1971).

Pada tahun 1926 Murray, Webb dan Swann menemukan kejadian septicaemia yang disebabkan oleh suatu organisme dan ditandai adanya leukocytosis mononuclear pada kelinci dan kadang-kadang marmot. Organisme ini mempunyai pengaruh terhadap sel-sel mononuclear, maka disebut Bacterium monocytogenes type 53-XXIII (Smith and Connat, 1960; Merchant and Packer, 1971; Soltyz, 1974).

Pada tahun 1927 Pirie menemukan suatu organisme penyebab septicaemia dikenal " Tiger River Disease " pada gerbil yang ditandai dengan nekrose fokal pada hati. Organisme yang ditemukan oleh Pirie serupa dengan yang ditemukan oleh Murray, Webb dan Swann, kemudian mengusulkan namanya Listerella monocytogenes. Untuk penghargaan kepada tuan Lister maka penyebab

Tiger River Disease yaitu Listeria hepatolytika. Nama Listerella monocytogenes telah dipakai didalam Bargey's Manual edisi tahun 1934 (Hagan and Bruner, 1961; Merchant and Packer, 1971)

Pada tahun 1937 Gill mengisolasi organisme dari domba yang menderita " Circling Disease " New Zealand dan diberi nama Listerella ovis (Merchant and Packer, 1971; Smith et al, 1974 Siegmund O.H., 1979; Ressang, 1981).

Pada tahun 1938 Slabospikij menemukan Listeria dari babi di Rusia dan diberi nama Listerella suis (Dunne, 1964) .

Nama Listerella telah digunakan untuk genus lain pada tanaman sehingga Pirie mengusulkan bahwa pemberian nama Listeria lebih tepat. Pada Bargey's Manual edisi tahun 1948 nama genus Listeria telah disetujui, dengan demikian terjadi perubahan nama penyakit dari listerellosis menjadi listeriosis (Merchant and Packer, 1971).

Beberapa penulis mengklasifikasikan organisme ini didalam genus Erysipelothrix dan genus Corynebacterium, tetapi terbukti bahwa organisme ini berbeda nyata dari kedua genus tersebut diatas dan nama yang digunakan sampai saat ini masih dibenarkan.

B. Morfologi dan Sifat Pewarnaan

Listeria monocytogenes adalah kuman yang berbentuk batang pendek dengan ujung bulat, mempunyai ukuran panjang 1 sampai 2 mikron dan berdiameter 0,5 mikron. Listeria monocytogenes dapat terletak sendiri-sendiri, berbentuk huruf V atau berpasangan paralel dengan membentuk rantai pendek yang terdiri

dari tiga sampai enam kuman (Dunne, 1964; Merchant and Packer, 1971; Jawes et al, 1980).

Listeria monocytogenes adalah kuman yang bersifat Gram-positip, tidak berkapsul, tidak berspora, tidak tahan asam, motil pada temperatur 20°C - 40°C. Pada pewarnaan Methylen blue bersifat bipoler (Cottral, 1978; Siegmund, 1979; Jawes et al, 1980).

Listeria monocytogenes pada temperatur 25° C mempunyai flagella peritrichous (Merchant and Packer, 1971).

C. Sifat Pupukan

Listeria monocytogenes bersifat aerob atau fakultatif - anaerob, tumbuh baik pada temperatur antara 20°C - 40°C dengan pH. 7,0 - 7,2. Listeria monocytogenes dapat dipupuk pada media yang biasa dipakai untuk pemupukan kuman pathogen (Dunne, 1964; Gillespie and Timoney, 1981).

Untuk isolasi pertama, jaringan yang terinfeksi digerus lebih dahulu sebelum dipupuk pada medium (Merchant and Packer, 1971).

Dengan penambahan 0,05% Potassium tellurite pada Tryptosa agar sangat berguna untuk isolasi Listeria monocytogenes (Merchant and Packer, 1971; Cottral, 1978; Allen Packer, 1980).

Pada medium Tryptosa agar yang ditambah dengan 0,05% Potassium tellurite, koloni Listeria monocytogenes tampak berwarna hitam pada bagian tengahnya dan warna hijau pada bagian tepinya; micrococci berwarna kuning kemerahan pada bagian tepinya dan warna hijau pada pusatnya. Sedang Streptococci koloninya kecil berwarna abu-abu kemerahan dengan permukaan suram

(Merchant and Packer, 1971). Friedman dan Rosaler menganjurkan untuk menambahkan sulfur organik, valin, glutamin, isoleusin, histidin, arginin dan methionin sebagai stimulator untuk beberapa strain Listeria. Welshiner menyatakan bahwa riboflavin, biotin, thiamin dan asam thiotat adalah elemen essential yang dibutuhkan untuk pertumbuhan kuman pada waktu pemupukan kedua (Merchant and Packer, 1971).

Pada medium agar padat, koloni Listeria monocytogenes berbentuk bulat halus, transparan, berwarna abu-abu sampai berwarna biru hijau (Bruner and Gillespie, 1973).

Pada agar darah, koloni dikelilingi oleh suatu daerah beta haemolysis (Dunne, 1964; Soltys, 1974).

Pada perbenihan cair timbul sedikit kekeruhan dan terjadi endapan granuler (Merchant and Packer, 1971; Soltys, 1974).

Pada medium semi solid Listeria membentuk koloni disekeliling garis tusukan (Hagan and Bruner, 1961; Merchant and Packer, 1971).

D. Sifat Biokimiawi

Listeria monocytogenes menghasilkan asam dari glukosa, rhamnosa dan salicin dalam waktu 24 jam setelah inkubasi. Juga menghasilkan asam dari sukrosa, maltosa, laktosa, gliserol, strarch dan dextrin dalam waktu 7 sampai 12 hari. Pada umumnya fermentasi terhadap galaktosa, trehalosa, sorbitol dan xylosa berjalan agak lambat. Listeria monocytogenes tidak memfermentasi mannitol, dulcitol, inulin, inositol dan arabinosa. Tidak membentuk indol, tidak membentuk nitrat, tidak membentuk H₂S dan tidak mencairkan gelatin. Lithmus milk mengalami deko-

larisasi, sedikit membentuk asam, tetapi medium ini tidak di - koagulasikan (Dunne, 1964; Merchant and Packer, 1971; Bruner and Gillespie, 1973; Soltys, 1974; Allen Packer, 1980).

g. Resistensi

Listeria monocytogenes lebih tahan panas dibandingkan dengan bakteri yang tidak membentuk spora. Organisme ini dapat mati pada temperatur 58°C - 59°C selama 10 menit dan peka terhadap desinfektan biasa (Merchant and Packer, 1971).

Listeria monocytogenes dapat hidup di dalam tanah selama 295 hari, susu, silage dan faeces, pH dapat mempengaruhi daya tahan (Merchant and Packer, 1971; Gillespie and Timoney, - 1981).

F. Struktur Antigen dan Toksin

Listeria monocytogenes menghasilkan antigen somatik (O) dan antigen flagellar (H). Antigen O ada 15 (I sampai XV) , dan antigen H ada 4 (A sampai D) (Gillespie and Timoney, - 1981). Listeria monocytogenes mempunyai 5 serotype yaitu 1, 2, 3, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, dan 5. Serotype 1 atau 4b menyerang sapi dan kambing. Serotype 4b sering dijumpai, type 2 dan 3 jarang ditemukan (Cottral, 1978; Allen Packer, 1980; Singh et al, 1981).

Ada 3 fraksi protein dari sel kuman Listeria monocytogenes yang dihancurkan, salah satu dari fraksi ini adalah F_1 dan menimbulkan gangguan pada cardio vasculer, kenaikan temperatur dan hyperglycaemia yang diikuti dengan hypoglycaemia serta peningkatan monocyte (Merchant and Packer, 1971).

Substansi lipida yang dihasilkan organisme ini dapat menimbulkan peningkatan monocyte didalam darah, juga terjadi akumulasi dari sel-sel monocyte pada lesi-lesi yang dijumpai pada berbagai jaringan (Merchant and Packer, 1971). Dinding sel kuman ini menghasilkan bahan kimia yang menyerupai endotoksin pada kuman Gram negatif. Bahan - bahan tersebut antara lain substansi ekstrak eter dan ekstrak fenol (Singh et al, 1981).

G. Pathogenese

Listeria monocytogenes terdapat dimana-mana, di tanah, sayuran, dan faeces sehingga kemungkinan terinfeksi cukup tinggi (Gillespie and Timoney, 1981). Listeria monocytogenes bersifat parasit fakultatif intraseluler. Apabila daya tahan tubuh induk semang menurun, maka organisme ini melepaskan diri dari sel fagosit, kemudian berkembang biak dan jika tak terkendali maka terjadi penyakit. Faktor-faktor predisposisi seperti musim, stress, dan adanya penyakit yang sebelumnya diderita. Kerusakan pada permukaan mukosa disebabkan oleh virus sehingga organisme ini mudah masuk kedalam epitel.

Listeria monocytogenes masuk kedalam tubuh hewan biasanya melalui alat pencernaan, infeksi dapat pula melalui mukosa nasal dan sepanjang cabang - cabang nervus trigeminus (Blood and Henderson, 1979; Gillespie and Timoney, 1981).

Pada infeksi percobaan secara intestinal, organisme ini dapat berkembang biak dalam sel - sel ilium dan bergerak langsung dari sel ke sel yang lain. Sel - sel yang terinfeksi mengalami degenerasi. Degenerasi ini dapat diketahui dengan tertariknya neutrophil kearah jaringan yang terinfeksi (Gilles-

pie and Timoney, 1981). Infeksi dapat melibatkan kantong peyer dan hati. Terjadinya bakteremia atau septicaemia tergantung imunitas hewan yang diserang penyakit ini (Siddique et al, 1978; Blood and Henderson, 1979; Gillespie and Timoney , 1981).

Listeria monocytogenes memasuki sel hepar secara endocytosis, ini dapat disebabkan oleh aktivitas phospholipase dan lipase yang dihasilkan oleh Listeria monocytogenes yang menyebabkan terjadinya kerusakan dari dinding sel, sehingga sel hepar mengalami degenerasi. Watson dan Lavizzo melaporkan bahwa hemolitik dan lipolitik yang bersifat toksik terhadap sel makrophage mungkin sama dengan enzim yang tersebut diatas (Merchant and Packer, 1971).

H. Diagnosa

Secara garis besar untuk mendiagnosa listeriosis yang disebabkan oleh infeksi Listeria monocytogenes didasarkan pada gejala klinis, perubahan pathologis anatomis, dan pemeriksaan laboratorium bakteriologis.

1. Gejala Klinis

Gejala klinis yang disebabkan oleh Listeria monocytogenes dapat dibagi dalam 2 bentuk yaitu bentuk syaraf yang ditandai dengan meningitis dan bentuk septicaemia (Dunne, 1964) .

Pada bentuk meningitis hewan memperlihatkan gejala gemetar, inkoordinasi yang menyerupai tetanus, bentuk ini sering sebagai kelanjutan dari bentuk septicaemia (Dunne, 1964; Blood and Henderson, 1978).

Pada bentuk septicaemia akut karena infeksi Listeria monocytogenes dijumpai pada hewan muda dengan memperlihatkan gejala umum yaitu depresi, kelemahan, kurus, demam dan beberapa kasus terdapat diarrhae dan nekrose fokal pada hati. Hewan dapat mati setelah terlihat gejala klinis (Blood and Henderson, 1978).

2. Perubahan Pathologis Anatomis

Perubahan pathologis anatomis pada bentuk meningitis dengan memperlihatkan infiltrasi monocyte, adanya partikuler dalam daerah pons, perivaskuler cuffing, sel polynuclear (Dunne, 1964).

Bentuk septicaemia memperlihatkan lesi yang khas dari bentuk ini adalah nekrose fokal pada hati, lesi ini terdiri dari infiltrasi sel - sel mononuklear dan beberapa neutrophil (Dunne, 1964; Smith et al, 1976; Gillespie and Timoney, 1981).

3. Pemeriksaan Laboratoris

Pemeriksaan laboratoris untuk menentukan diagnosa listeriosis dapat berdasarkan isolasi dan identifikasi dan serologis.

S e r o l o g i s

Listeria monocytogenes menunjukkan kecenderungan untuk terjadi auto-agglutinasi dan bereaksi silang dengan kuman lainnya. " Methode Fluorescens Antibody Technic " untuk identifikasi Listeria monocytogenes juga dapat digunakan untuk diagnosa. Didalam semua kejadian, diagnosa yang positif hanya dapat

ditegakkan berdasarkan isolasi dari Listeria monocytogenes (Merchant and Packer, 1971; Corbeil, 1978; Schultz, 1978).

I. Pengendalian Penyakit

1. Pemberantasan dan Pencegahan

Usaha menggunakan vaksin inaktif juga tidak berhasil, walaupun dilapangan pernah dilaporkan penggunaan vaksin inaktif dapat mengurangi kejadian listeriosis (Blood and Henderson, 1979). Pada prinsipnya dalam tindakan pemberantasan dan pencegahan perlu diperhatikan beberapa faktor dengan mengetrapkan sanitasi lingkungan, penempatan babi pada kandang yang bersih. Babi yang menderita diisolasi dan babi yang mati dibakar atau dikubur (Siegmund, 1979).

2. Pengobatan

Pengobatan untuk kejadian listeriosis ini dapat diberikan preparat antibiotika yaitu tetracyclin 10 - 20 milligram - per kilogram berat badan setiap hari berturut - turut selama tiga atau empat hari secara intra muskuler (Siegmund, 1979).

BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

A. B a h a n

Bahan untuk pemeriksaan yaitu berupa limfoglandula ilio caecal babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kotamadya Surabaya. Bahan diambil secara random sebanyak 30 sampel kemudian dimasukkan kedalam kantong plastik lalu dimasukkan dalam termos es dan langsung dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk diperiksa.

B. Cara Kerja

Untuk mengetahui ada tidaknya Listeria monocytogenes di dalam bahan pemeriksaan yaitu limfoglandula ilio - caecal babi, maka dilakukan pemeriksaan laboratoris bakteriologis yang meliputi: pemeriksaan mikroskopis, penampukan dan uji biokimia (Utami, S.P. 1979).

1. Pemeriksaan Mikroskopis

Setiap sampel diperiksa secara mikroskopis, tetapi sebelumnya limfoglandula tersebut dipisahkan dari lemak yang menyelubunginya kemudian dipotong kecil-kecil, lalu dimasukkan dalam mortar ditambah dengan pasir kwarsa dan digerus sampai halus, kemudian dibuat preparat ulas secara natip, pewarnaan methylen blue dan pewarnaan Gram.

1.1. Pemeriksaan preparat natip

Pemeriksaan preparat natip bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pergerakan kuman. Suspensi limfoglandula ilio-caecal diambil dengan ose, diletakan pada object glass seterusnya ditutup dengan cover glass, diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Pada pemeriksaan natip Listeria monocytogenes motil atau bergerak.

1.2. Pemeriksaan dengan pewarnaan Methylen blue

Pewarnaan dengan methylen blue bertujuan untuk mengetahui bentuk, susunan dan struktur kuman. Suspensi limfoglandula ilio-caecal diambil dengan ose, dibuat preparat ulas pada object glass, fiksasi diatas nyala api lalu diwarnai dengan methylen blue selama 2 sampai 3 menit, dicuci dengan air kran, dikeringkan dengan kertas penghisap, ditetesi dengan minyak emersi, kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Pada pemeriksaan dengan methylen blue Listeria monocytogenes berbentuk batang pendek, tidak berspora dan tidak berkapsul.

1.3. Pemeriksaan dengan pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui atau membedakan apakah kuman tersebut bersifat Gram positif atau negatif. Suspensi limfoglandula ilio-caecal diambil dengan ose, dibuat preparat ulas pada object glass, fiksasi diatas nyala api, diwarnai dengan Carbon Gentian Violet selama 3 menit zat warna dibuang kemudian diberi lugol selama 1 menit, dilunturkan dengan alkohol aceton, lalu dicuci dengan air kran kemudian di-

warna dengan safranin selama 3 menit, dicuci dengan air, keringkan dengan kertas penghisap dan ditetesi dengan minyak emersi, kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Pada pewarnaan Gram Listeria monocytogenes bersifat Gram positif (warna violet).

2. Pemupukan

Medium yang digunakan untuk isolasi Listeria monocytogenes adalah Tryptosa agar yang ditambah dengan 0,05% Potassium tellurite sebagai medium selektive. Pemupukan pada medium ini bertujuan untuk menumbuhkan dan memperbanyak kuman Listeria monocytogenes. Suspensi limfogladdula ilio-caecal diambil dan ose selanjutnya dipupuk pada medium ini dengan cara streak kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Bila ditemukan atau diduga terdapat pertumbuhan koloni Listeria monocytogenes, maka terlihat warna hitam pada bagian tengahnya. Kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis yaitu pemeriksaan natip, pewarnaan methylen blue dan pewarnaan Gram. Bila pada pupukan cawan petri I terdapat pertumbuhan koloni kuman yang belum murni, maka dimurnikan lagi pada cawan petri II diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Untuk memperbanyak kuman dapat dilakukan pemupukan pada media miring Tryptosa agar ditambah dengan 0,05% Potassium tellurite secara streak, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam selanjutnya di uji biokimiawi.

3. Uji Biokimiawi

3.1. Uji pada Triple Sugar Iron Agar

Uji pada TSIA bertujuan untuk mengetahui kemampuan memfermentasi glukosa, laktosa, sukrosa dan untuk melihat apakah kuman membentuk H_2S . Dengan menggunakan needle kuman diambil dari pupukan murni lalu dipupuk secara tusukan pada agar tegak, kemudian digoreskan pada agar miring, inkubasikan pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Terbentuknya warna kuning pada bagian bawah medium menunjukkan bahwa kuman tersebut memfermentasi glukosa dan laktosa. Warna kuning pada bagian atas dan bagian bawah medium menunjukkan bahwa kuman memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa. Bila kuman membentuk H_2S terlihat adanya endapan hitam pada medium. Pada uji ini Listeria monocytogenes tidak membentuk H_2S dan terlihat warna kuning pada medium.

3.2. Uji Indol

Uji pada medium semi solid bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pergerakan kuman dan mengetahui apakah kuman membentuk indol dari tryptopan. Kuman diambil dengan needle, kemudian dipupuk secara tusukan pada semi solid agar, diinkubasikan pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Jika kuman bersifat motil atau bergerak ditandai dengan pertumbuhan pada tusukan seperti akar terbalik. Kemudian ditetesi dengan reagen Kovak's dan chloroform, bila kuman membentuk indol ditandai dengan terbentuk warna jingga.

3.3. Uji Methyl Red (MR) - Voges Proskauer

Uji MR-VP bertujuan untuk membedakan kuman eubakteria - les dengan kuman dari famili lain. Uji MR : kuman diambil de - ngan ose dimasukkan kedalam medium ini dan diaduk sampai homo - gen kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 5 hari, lalu ditambahkan larutan methyl red 5 tetes . Uji VP : kuman diam - bil dengan ose dimasukkan kedalam medium dan diaduk sampai ho - mogen, diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam selan - jutnya ditambahkan KOH 10% dan alpha naptol. Reaksi positif pa - da MR terlihat perubahan warna dari kuning menjadi merah, se - dang reaksi positif pada VP terlihat perubahan warna dari ku - ning menjadi merah muda.

3.4. Uji Katalase

Uji katalase bertujuan untuk melihat apakah kuman man - merubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Pada object glass ditetesi hidrogen peroksida 3% sebanyak 2 tetes, kuman diambil dengan ose dan dicampur sampai homogen. Uji katalase positif bila terlihat gelembung-gelembung udara pada medium.

3.5. Uji Nitrat

Uji nitrat bertujuan untuk mengetahui apakah kuman meng - duksi nitrat menjadi nitrit atau tidak. Pada medium cair ini kuman dimasukkan dengan menggunakan ose, kemudian dicampur sam - pai homogen, kemudian inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu ditetesi H_2SO_4 pekat. Reaksi positif bila terjadi peruba - han warna dari kuning menjadi merah muda.

3.6. Uji Litmus Milk

Uji litmus milk bertujuan untuk mengetahui apakah kuman dapat mengkoagulasi litmus milk atau tidak dan membentuk asam dari litmus milk. Kuman diambil dengan ose kemudian dicampur selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam . Reaksi positif pada uji ini bila terbentuk koagulasi pada medium dan disertai asam.

3.7. Uji Gula-gula

Uji gula-gula bertujuan untuk mengetahui daya fermentasi kuman terhadap gula-gula yaitu glukosa, sukrosa, laktosa , maltosa, salicin, galaktosa, xyloza, sorbitol, dulcitol, dan arabinosa. Media ini berbentuk cair dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml. Kuman diambil dengan ose kemudian dipupuk pada gula gula dengan cara mengaduk sampai rata, kemudian inkubasi 37°C selama satu minggu. Reaksi terhadap gula-gula positif apabila terjadi perubahan warna dari merah menjadi kuning.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan pemeriksaan mikroskopis yaitu prepa - rat natip, pewarnaan methylen blue dan pewarnaan Gram, uji biokimia terhadap 30 sampel limfoglandula ilio-caecal babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kotamadya Surabaya. Maka pemeriksaan mikroskopis didapat hasil seperti terlihat pada tabel I dibawah ini.

TABEL I : HASIL PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS

NO. SAMPEL	NATIP	M.B	GRAM	NO. SAMPEL	NATIP	M.B	GRAM
1	-	-	-	16	+	+	+
2	-	-	-	17	-	-	-
3	+	+	+	18	-	-	-
4	+	+	+	19	+	+	+
5	+	+	+	20	+	+	+
6	-	-	-	21	-	-	-
7	+	+	+	22	-	-	-
8	-	-	-	23	-	-	-
9	-	-	-	24	+	+	+
10	-	-	-	25	+	+	+
11	+	+	+	26	-	-	-
12	-	-	-	27	+	+	+
13	-	-	-	28	+	+	+
14	-	-	-	29	+	+	+
15	-	-	-	30	-	-	-

Keterangan :

- Natip (+) : ada pergerakan kuman atau motil
diduga terdapat Listeria monocytogenes
- M.B (+) : batang pendek, berpasangan sejajar atau berbentuk huruf V
- Gram (+) : bersifat Gram positif

Hasil pemeriksaan mikroskopis yaitu preparat natip, pewarnaan methylen blue, pewarnaan Gram didapat 13 sampel limfoglandula ilio-caecal babi yaitu nomer sampel 3, 4, 5, 7, 11, 16, 19, 20, 24, 25, 27, 28 dan 29 yang diduga mengandung Listeria monocytogenes dari 30 sampel yang diperiksa. Kemudian dilakukan pemupukan pada Tryptosa agar + 0,05% Potassium tellurite, didapat hasil seperti tabel II dibawah ini.

TABEL II : HASIL PEMERIKSAAN PADA TRYPTOSA AGAR YANG DI TAMBAH 0,05% POTASSIUM TELLURITE

NO. SAMPEL	TRYPTOSA AGAR + 0,05% POTASSIUM TELLURITE
3	-
4	+
5	+
7	+
11	-
16	-
19	+
20	+
24	+
25	+
27	-
28	-
29	-

Keterangan :

Pemupukan pada medium Tryptosa agar + 0,05% Potassium tellurite dikatakan positif (+) : terdapat pertumbuhan koloni kuman berwarna hitam pada bagian tengahnya.

Hasil dari pemeriksaan pemupukan pada medium Tryptosea agar + 0,05% Potassium tellurite ternyata yang menunjukkan pertumbuhan koloni kuman yaitu sampel nomer 4, 5, 7, 19, 20, 24, dan 25 menghasilkan sifat dari kuman Listeria monocytogenes, yaitu membentuk koloni berwarna hitam pada bagian tengahnya, dan warna hijau dibagian tepinya (Merchant and Packer, 1971) Kemudian dilakukan uji biokimiawi terhadap 7 sampel yang diduga mengandung Listeria monocytogenes didapat hasil seperti tabel III dibawah ini.

TABEL III : HASIL UJI BIOKIMIAWI

UJI BIOKIMIAWI	NOMER SAMPEL						
	4	5	7	19	20	24	25
TSIA	a/ε	a/ε	a/ε	a/ε	a/ε	a/ε	a/ε
Indol	-	-	-	-	-	-	-
MR-VP	+	+	+	+	+	+	+
Katalase	+	+	+	+	+	+	+
Nitrat	-	-	-	-	-	-	-
Lithmus milk*	+	+	+	+	+	+	+
Glukosa	+	+	+	+	+	-	+
Salicin	+	+	+	+	+	+	+
Sukrosa	+	+	+	+	+	+	+
Laktosa	-	+	+	+	+	+	+
Galaktosa	+	+	+	+	+	+	+
Xylosa	+	+	+	+	+	+	+
Manitol	-	-	-	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-
Inulin	-	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	-
Arabinosa	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

Positip (+) : memfermentasi

Negatip (-) : tidak memfermentasi

a/ε : asam, tidak membentuk H₂S

* : sedikit membentuk asam, tidak mengkoagulasi

Hasil pemeriksaan uji biokimiawi ternyata diperoleh 5 sampel yang mengandung Listeria monocytogenes dari 7 sampel yang dipupuk. Hasil dari pemupukan pada medium Tryptosa agar yang ditambah dengan 0,05% Potassium tellurite sebagai berikut :

Hasil pada uji TSIA terhadap Listeria monocytogenes adalah negatif, kuman tidak membentuk endapan hitam pada dasar medium, memfermentasi glukosa hal ini dapat terlihat dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning pada dasar tabung setelah diinkubasi 24 jam.

Uji indol Listeria monocytogenes menghasilkan reaksi negatif, sebab tidak terjadi warna jingga setelah penambahan reagen Kovak's dan chloroform pada medium semi solid. Tidak terbentuknya indol karena kuman tidak menghasilkan enzim triptonase yang dapat merubah tryptosa menjadi indol dan asam piruvat.

Pada uji MR-VP Listeria monocytogenes menghasilkan reaksi positif, hal ini ditandai dengan perubahan warna dari kuning menjadi merah setelah penambahan indikator.

Pada uji katalase Listeria monocytogenes menghasilkan reaksi positif, dengan ditandai gelembung-gelembung udara. Timbulnya gelembung ini karena kuman menghasilkan enzim katalase yang dapat merubah hydrogen peroksida menjadi air dan oksigen.

Pada uji nitrat Listeria monocytogenes adalah negatif karena tidak terjadi perubahan warna menjadi merah, sebab kuman tidak menghasilkan enzim nitrase yang dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit.

Pada uji litmus milk Listeria monocytogenes menghasilkan reaksi negatif, karena tidak terjadi koagulasi dan sedikit membentuk asam yang ditandai dengan perubahan warna dari merah menjadi agak kuning.

Pada uji gula-gula Listeria monocytogenes menghasilkan reaksi positif terhadap gula-gula glukosa, salicin, sukrosa, laktosa, maltosa, galaktosa, xylosa dalam waktu satu minggu. Yang ditandai dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning. Sedang terhadap gula-gula inulin, inositol, dulcitol, mannitol dan arabinosa Listeria monocytogenes tidak merubah warna jadi tetap merah.

Dari hasil pemeriksaan mikroskopis, pemupukan dan uji biokimiawi ditemukan 5 sampel (16,6%) limfoglandula ilio-caecal babi yang mempunyai sifat-sifat yang sama dengan Listeria monocytogenes dari 30 sampel yang diperiksa. Maka kuman yang di isolasi dan diidentifikasi dari limfoglandula ilio-caecal babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kotamadya Surabaya adalah positif Listeria monocytogenes.

Limfoglandula merupakan pertahanan tubuh bila kuman ditemukan dalam limfoglandula maka hewan telah terinfeksi sebesar 16,6% dari sampel yang diperiksa.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Setelah dilakukan pemeriksaan terhadap 30 sampel limfoglandula ilio-caecal babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kotamadya Surabaya diperoleh hasil 5 sampel yang mengandung Listeria monocytogenes berarti ada 16,6% dari sampel yang diperiksa adalah positif Listeria monocytogenes.

Dari hasil penelitian ditemukannya Listeria monocytogenes dari limfoglandula ilio-caecal babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kotamadya Surabaya, hal ini merupakan suatu masalah yang baru dalam penanggulangan penyakit. Dengan adanya Listeria monocytogenes yang ditemukan dalam penelitian ini, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- a. Adanya faktor lingkungan alamiah asal babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kotamadya Surabaya, yang memungkinkan pertumbuhan Listeria monocytogenes.
- b. Listeria monocytogenes ada di Surabaya.
- c. Babi telah terinfeksi sebesar 16,6% dari sampel yang diperiksa adalah rendah.
- d. Listeria monocytogenes ditemukan dalam limfoglandula ilio-caecal.

Untuk pencegahan sampai saat ini belum ditemukan vaksin yang efektif terhadap listeriosis maka saran yang dapat diberikan atau disarankan :

- a. Kiranya penelitian ini dapat diteliti lebih lanjut dengan sampel yang berbeda.

- b. Perlu diperhatikan hygien makanan, kebersihan air minum, se lokan pembuangan air dan kebersihan kandang.
- c. Pemisahan hewan yang sakit atau yang diduga sakit.
- d. Hewan yang mati dibakar atau dikubur mengingat penyakit ini bersifat zoonosa dan menghindari penyebaran penyakit.

Untuk pengobatan terhadap kasus listeriosis dapat diberikan preparat antibiotika pada babi secara efektif.



BAB VI
RINGKASAN

Telah dilakukan pemeriksaan terhadap 30 sampel lymphoglandula ilio - caecal babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kotamadya Surabaya yang diambil secara random.

Hasil pemeriksaan laboratoris yang terdiri dari pemeriksaan mikroskopis, pemupukan pada Tryptosa agar + 0,05% Potassium tellurite dan uji biokimiawi dari sampel tersebut ternyata 5 diantara 30 sampel atau 16,6% mengandung Listeria monocytogenes.

Listeriosis adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi Listeria monocytogenes. Kuman ini berbentuk batang pendek dengan ujung bulat, terletak sendiri-sendiri atau huruf V atau berpasangan paralel dengan membentuk rantai pendek terdiri dari tiga sampai enam kuman. Listeria monocytogenes mempunyai ukuran panjang 1 sampai 2 mikron dan berdiameter 0,5 mikron, bersifat Gram positif, tidak berkapsul, tidak berspora, tidak tahan asam, motil, bersifat aerob atau fakultatif anaerob.

Kejadian listeriosis dapat dijumpai di negara-negara: Inggris, Amerika Utara, Australia, New Zealand, Perancis, Norwegia, Jerman, India dan Scotlandia. Sedang di Indonesia belum pernah dilaporkan.

Listeria monocytogenes pada babi dapat menyebabkan gejala syaraf dan septicaemia dengan nekrose fokal pada hati dan menyebabkan kematian babi muda.

Karena sampai saat ini belum ada vaksin yang efektif

untuk listeriosis, maka pencegahan dapat ditujukan pada sanitasi lingkungan dan management pemeliharaan. Pengobatan penyakit ini dapat diberikan preparat antibiotika.



DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Allen Packer, 1980. Isolation and Identification of Avian Pathogens. 2th Ed. The American Association of Avian Pathologist. p. 27-28.
- Anonymous. Handbook of Microbiology. E, Merck. Darmstadt. Federal Republic of Germany.
- Blood, D.C., O.M. and J.A. Henderson. 1979. Veterinary Medicine 5th Ed. The English Language Book Society and Balliere Tyndall. p. 307-311.
- Bruner, D.W. and J.W. Gillespie. 1973. Hagan's Infectious Diseases of Domestic Animals. 6th Ed. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. Ithaca and London. p. 327-330.
- Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. 1974. Bargey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th Ed. 593-596.
- Conclin, A.R. and I.H. Siddique. 1976. Certain chemical and biological preperities of phenol extracts from *Listeria monocytogenes*. Am. Jour. Vet. Res. 37:11. p. 1331-1335.
- Corbell, L.B. 1978. Role of complement system in immunity and immonopathology. Jour. Vet. Clin. of Nor. Am. 8:4. p. 585-611.
- Cottral, G.E. 1978. Manual Standardized for Veterinary Microbiology. Comstock Publishing Associate Adivision of Cornell University Press. Ithaca and London. p. 425-426.
- Dolman, C.E. 1975. The Epidelogy of Meat Borne Disease W.H.O. Palais des Nation, Genve. p. 24-27.

- Dunne, H.W. 1964. Diseases of Swine. 3th Ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa. U.S.A. p. 313-321.
- Gillespie, J.H. and Timoney. 1981. Hagan and Bruner's Infectious Diseases of Domestic Animals. 7th Ed. Comstock Publishing Associate a Division of Cornell University Press. Ithaca London. p. 211-225.
- Hagan, W.A. and D.W. Bruner. 1961. The Infectious Diseases of Domestic Animals. 4th Ed. Comstock Publishing Associates Ithaca. New York. p. 160-166.
- Harrison, R.J. and A.W. Asscher. 1977. The Pathogenesis of Infectious Disease. 2th Ed. Academic Press inc. p. 58.
- Jawes, E.J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1980. Review of Medical Microbiology. 14th Ed. p. 393-394.
- Kramer, T.T. 1978. Immunity to Bacterial Infection. Jour. Vet. Clin. of Nort Am. 8:4. p. 683-695.
- Merchant, I.A. and R.A. Parcker. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7th Ed. The Iowa State University Press Ames Iowa U.S.A. p. 379-385.
- Ressang, A.A. 1984. Patology Khusus Veteriner. Edisi ke dua N. V. Percetakan Bali : 377.
- Schultz, R.D. 1978. Basic veterinary immunology. an overview Jour. Vet. Clin. of Nor. Am. 8:4. p. 555-585.
- Shigidi, M.T.A. 1979. Isolation of *Listeria monocytogenes* from animals in the Sudan. Jour. Br. Vet. 135:3. p. 297.
- Siddique, A.H., B.E. MC Kenzie, W.J. Sapp and P. Rich. 1978. Light and electron microscopic study of the liver of pregnant mice infected with *Listeria monocytogenes*. Jour. Am. Vet. Res. 39:5. p. 887-892.

- Siddique, A.H., Y.F.A. Khan and A.R. Conklin. 1976. Effect of *Listeria monocytogenes* and its components on adenosine triphosphat concentration in mice. Jour. Am. Res. 37:2 p. 579-584.
- Siegmund, O.H. 1979. The Merck Veterinary Manual, 5th Ed. Merck and Co. Rahway. N.J.W. U.S.A. p. 1060-1062.
- Singh, S.P., B.L. Moore and A.H. Siddique. 1981. Purification and further characterization of phenol extract from *Listeria monocytogenes*. Am. Jour. Vet. Res. Vol. 42. p. 1266 - 1268.
- Smith and Connat. 1960. Zinsser Microbiology. 12th Ed. Appleton Century Crofts, inc. New. York. p. 510-511.
- Smith, H.A.C. Jones and R.D. Hund. 1976. Veterinary Pathology 4th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. p. 610.
- Soltys, M.A. 1974. Bacteria and Fungi Pathogenic to Man and Animals. Balliere and Tyndall and Cox London. P. 382-385.
- Takeda, Y.T. Takeda, T. Honda and P. Miwata. 1978. Inhibition by gangliosides of hemolysis induced by Streptolysine O and *Listeria monocytogenes* hemolysin. Jour. Japan Med. Sci. Boil. 31. p. 198-200.
- Utami, S.P. 1979. Pedoman Praktikum Bakteriologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga kerja sama dengan Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. p. 40.

Medium Tryptosa agar + 0,05% Potassium tellurite

Komposisi	:	Tryptosa	20	g
		Glukosa	1	g
		Sodium Chlorida	5	g
		Thiaminium Dichlorida	0,005g	
		Agar-agar	13	g
		pH akhir	7,3	

Cara Membuat

1. Ambil 39 gram dilarutkan dalam 1 liter aquades
2. Tambahkan dengan 0,05% Potassium tellurite sebanyak 2 ml
3. Disterilkan dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C
4. Larutan dikocok dengan cara memutar lalu dituangkan dalam petri dish
5. Inkubasi selama 24 jam (Anonymous, tanpa tahun).

Medium Triple Sugar Iron Agar

Komposisi	: Meat extract	3.000 g
	Yeast extract	3.000 g
	Pepton	20.000 g
	Laktosa	10.000 g
	Sukrosa	10.000 g
	Glukosa	1.000 g
	Ammonium Iron (III) Citrat	0.500 g
	Sodium Chlorida	5.000 g
	Sodium Thiosulfat	0.005 g
	Phenol Red	0.024 g
	Agar-agar	12.000 g

Cara Membuat

1. Ambil 65 gram dan dilarutkan dalam 1 liter aquades, kemudian dipanaskan sampai mendidih
2. Dibagikan kedalam tabung reaksi masing-masing 5 cc
3. Disterikan kedalam autoclave 121°C selama 15 menit, sebelum media menjadi dingin masing-masing tabung diletakkan dalam keadaan miring (Anonymous, tanpa tahun).

Medium Gula - gula

Komposisi	: Air pepton	100 ml
	Gula-gula	2 g
	Phenol Red	1 ml

Cara Membuat

1. Gula-gula dilarutkan dalam air pepton, setelah larut sempurna kemudian ditetesi phenol red
2. Dibagikan dalam tabung reaksi masing-masing 3 ml
3. Disterilkan dalam autoclave 121°C selama 15 menit
4. Media gula-gula didinginkan selama 24 jam untuk melihat ada tidaknya kontaminasi (Anonymous, tanpa tahun).



Medium Semi Solid

Komposisi	: Tryptosa	5 g
	Sodium Chlorida	5 g
	Agar-agar	4 g

Cara Membuat

1. Ambil 14 gram dan dilarutkan dalam 1 liter aquades, kemudian dipanaskan sampai mendidih
2. Dibagikan kedalam tabung reaksi masing - masing 3 ml
3. Disterilkan dalam autoclave 121°C selama 15 menit (Anonymous).



Medium Nitrat

Komposisi	: Air pepton	100 g
	Kalium nitrat	2 g

Cara Membuat

1. Kalium nitrat dilarutkan dalam air pepton sampai larut sempurna
2. Dibagikan kedalam tabung reaksi masing-masing 3 ml
3. Disterilkan dalam autoclave 121°C selama 15 menit (Anonymous)



Media Methyl Red - Voges Proskauer

Komposisi	: Buffered Pepton	7 g
	Dipotassium phosphate	5 g
	Bacto Dextrose	5 g

Cara Membuat

1. Ambil 17 gram dan larutkan kedalam 1 liter aquades
2. Dibagikan kedalam tabung reaksi masing-masing 5 ml
3. Disterilkan dalam autoclave 121°C selama 15 menit (Utami, S.P. 1979).



Medium Litmus Milk

Komposisi : Skim milk 100 ml
Bromcresol purple 16%
dalam larutan alkohol 1 ml

Cara Membuat

1. Lebih dulu membuat 100 ml larutan skim milk
2. Tetesi dengan 1 ml larutan bromcresol purple
3. Sterilkan pada temperatur 13°C selama 15 menit



Hewan & Manusia	Penemuan & Tahun	Tempat
- Domba	Gill, 1931, 1933, 1937 Ten Broeck, 1935 Olafson, 1936 Jungherr, 1937 Graham, Dunlap dan Brandlyl, 1938 Biestir dan Schwarte, 1939 Peterson, 1939	New Zealand New Jersey New York Connecticut Illinois Iowa England
- Sapi	Jones dan Little, 1934 Fincher, 1935 Olafson, 1936 Graham, Dunlap dan Brandlyl, 1938 Biester dan Schwarte, 1938 1941 Harbour, 1941, Wyan Jones, 1954	New Jersey New York New York Illinois Iowa Britania
- Ayam	Ten Broeck, 1932 Seastone, 1935 Peterson, 1937	New Jersey New Jersey England
- Babi	Biester dan Schwarte, 1939 Jarrett, dkk. 1959	Iowa Scotlandia
- Srigala	Cromwell, Sweebe dan Camp, 1939	Illinois
- Chinchilas	Shalkop, 1950	Washington, DC
- Ferrets	Morris dan Norman, 1950	Washington, DC
- Raccons	Giffort dan Jungherr, 1950	Connecticut
- Kuda	Grini, 1943; Svenkerud, 1948 Krage, 1944 Belin, 1947	Norwegia Jerman Perancis
- Manusia	Burn, 1934, 1935, 1936 Schultz, Terry, Brice, Gebhart, 1934 Gibson, 1935; Macgregor dan Wright, 1938 Carey, 1936	Connecticut California Scotlandia Massachusetts

Sumber: diolah dari Merchant, I.A. and R.A. Packer 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7th ed. The Iowa University Press. Ames, Iowa, USA.