

**Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus* sp.
pada Babi Penderita *Porcine Respiratory Disease Complex***

(ISOLATION AND IDENTIFICATION OF STAPHYLOCOCCUS SP. BACTERIA
IN PIG INFECTED WITH PORCINE RESPIRATORY DISEASE COMPLEX)

**Putu Wahyuni Paramita¹,
I Gusti Ketut Suarjana², I Nengah Kerta Besung²**

¹Mahasiswa Pendidikan Sarjana Kedokteran Hewan,
²Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,
Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali; Indonesia, 80234;
Telp/Fax: (0361) 223791
e-mail: wahyuniparamita18@yahoo.com

ABSTRAK

Penyakit pernapasan pada babi umum terjadi pada peternakan babi di seluruh dunia, termasuk Indonesia. Penyakit ini dikenal sebagai *porcine respiratory disease complex* (PRDC). *Porcine respiratory disease complex* adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan infeksi pernapasan yang disebabkan oleh polimikroba dengan berbagai kombinasi antara patogen primer dan sekunder pada babi. *Staphylococcus* sp. adalah salah satu bakteri yang berpotensi patogen menyebabkan terjadinya PRDC. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus* sp. yang berpotensi patogen pada saluran pernapasan babi dan mengetahui pengaruh kelompok umur (babi prasapah dan pascasapah) terhadap jumlah kejadian infeksi *Staphylococcus* sp. pada babi penderita PRDC. Sampel yang diteliti menggunakan *swab nasal* pada babi yang menunjukkan gejala klinis penyakit saluran pernapasan dengan jumlah 43 sampel. Sampel diambil dari tiga kabupaten di Bali yaitu Kabupaten Badung, Tabanan dan Gianyar. Isolasi *Staphylococcus* sp. dilakukan pada media *blood agar*. Identifikasi bakteri selanjutnya dilakukan dengan pewarnaan Gram, uji katalase, uji oksidase, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulphide Indol Motility* (SIM), *Simmon Citrate Agar*, *Methyl Red* (MR), uji koagulase dan uji gula-gula. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ditemukan bakteri *Staphylococcus* sp. pada saluran pernapasan babi penderita PRDC dengan kemungkinan spesies yaitu *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, dan *S. hyicus subsp. hyicus*. Kelompok umur (babi prasapah dan babi pascasapah) tidak mempengaruhi jumlah kejadian infeksi bakteri *Staphylococcus* sp.

Kata-kata kunci: babi; *porcine respiratory disease complex* (PRDC); bakteri *Staphylococcus* sp.

ABSTRACT

Respiratory disease in pigs is common in pig farm worldwide, also in Indonesia. This disease is known as *porcine respiratory disease complex* (PRDC). *Porcine respiratory disease complex* is a term used to describe polymicrobial respiratory infections with various combinations of primary and secondary respiratory pathogens in pig. *Staphylococcus* sp. is one of the potential bacterial pathogen causes PRDC. The purpose of this study were to identify *Staphylococcus* sp. were isolated from pig's nasal cavity which are potentially pathogenic in pig's respiratory tract and to determine the effect of age group (pre-weaning pig and post-weaning pig) to the number of occurrences of *Staphylococcus* sp. infection in pigs with PRDC. Research material used nasal swab from pig which showed clinical symptoms of respiratory tract derived

from 43 pigs in total. Samples were taken from three regencies in Bali, Badung, Tabanan and Gianyar. *Staphylococcus* sp. are isolated on blood agar. Identification bacteria by use Gram stain, catalase test, oxidase test, Triple Sugar Iron Agar (TSIA), Sulphide Indol Motility (SIM), Simmon Citrate Agar, Methyl Red (MR), coagulase test and glucose tests. The results showed that *Staphylococcus* sp. were found in pig's respiratory tract with PRDC sufferers with possible species namely *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, and *S. hyicus subsp. hyicus*. Age group (pre-weaning pig and post weaning pig) did not affects the number of occurrences of *Staphylococcus* sp.

Keywords: pig; porcine respiratory disease complex (PRDC); *Staphylococcus* sp.

PENDAHULUAN

Populasi babi di Indonesia terkonsentrasi pada beberapa daerah antara lain di Sumatera Utara, Kepulauan Riau, Jawa Tengah, Bali, Nusa Tenggara Timur, Kalimantan Barat, Kalimantan Tengah, Sulawesi Utara, Sulawesi Selatan, dan Papua. Babi merupakan salah satu komoditas ternak penghasil daging yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan. Tatalaksana pemeliharaan ternak babi masih kurang memadai sehingga menyebabkan babi mudah terserang berbagai macam penyakit. Salah satu penyakit yang saat ini menjadi masalah dalam industri peternakan babi adalah penyakit pernapasan. Penyakit ini dikenal sebagai *porcine respiratory disease complex* (PRDC) yang memiliki dampak cukup besar dan menjadi perhatian utama.

Porcine respiratory disease complex digunakan untuk menjelaskan berbagai infeksi pernapasan yang disebabkan oleh multipel etiologi (Motovski, 2003). Gambaran klinis PRDC sering ditandai dengan penurunan nafsu makan, demam, batuk dan *dispnea* yang pada akhirnya mengakibatkan penurunan efisiensi pakan dan penurunan tingkat pertumbuhan (Bochev, 2007; Trang *et al.*, 2018). Selama hampir 10 sampai 15 tahun, kasus PRDC banyak terjadi di Amerika Serikat dan di Eropa (Bochev, 2007). *Porcine respiratory disease complex* dimanifestasikan sebagai *enzooty*. Tingkat morbiditas PRDC dapat berkisar antara 30% sampai 70% dan tingkat kematian sekitar 4% sampai 6% atau bahkan lebih tinggi di peternakan yang terkena dampak infeksi (Thacker dan Thanawongnuwech, 2002).

Staphylococcus sp. adalah salah satu bakteri penyebab terjadinya PRDC. *Staphylococcus* sp. merupakan bakteri *coccus* Gram positif yang dapat menyebabkan infeksi kulit ringan hingga bakterimia (Li *et al.*, 2009). Bakteri ini dapat berubah menjadi patogen jika ada faktor pendukung. *Staphylococcus* sp. secara umum dibagi menjadi dua kelompok yaitu *Staphylococcus* koagulase positif dan koagulase negatif (*Coagulase-Negative Staphylococci/CoNS*). Secara komparatif, faktor virulensi CoNS masih sedikit diketahui (Foster, 2009).

Kejadian penyakit kulit akibat *Staphylococcus* sp. sudah banyak dilaporkan di berbagai negara, tetapi kejadian penyakit pernapasan akibat *Staphylococcus* sp. masih belum banyak dilaporkan. Infeksi saluran pernapasan babi akibat *Staphylococcus* sp. pada kasus PRDC di Indonesia khususnya di Bali, belum pernah dilaporkan secara pasti. Penelitian ini sangat penting dilakukan untuk mengetahui agen penyebab PRDC khususnya bakteri *Staphylococcus* sp.

METODE PENELITIAN

Sampel penelitian yang digunakan adalah eksudat rongga hidung dari babi dengan gejala klinis PRDC sebanyak 43 sampel yang diambil secara aseptis, selanjutnya hasil usapan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* yang di dalamnya telah berisi media transport yaitu *stuart transport medium*, kemudian sampel dimasukkan ke dalam *coolbox*. Selanjutnya dilakukan isolasi bakteri pada media *blood agar*. Koloni yang tumbuh dengan dominan warna putih, berbentuk bulat dan tepi rata dicurigai sebagai bakteri *Staphylococcus* sp. yang kemudian diidentifikasi dengan uji primer dan uji biokimia. Identifikasi dengan uji primer meliputi pewarnaan Gram, uji katalase dan uji oksidase. Uji biokimia diidentifikasi dengan *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*, *Sulfide Indole Motility (SIM)*, *Simmon Citrate Agar (SCA)*, *Methyl Red*, uji koagulase, dan uji gula-gula (glukosa, laktosa, manitol, dextrosa, dan sukrosa) (Cappuccino dan Welsh, 2018). Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif. Jumlah babi prasapah dan pascasapah yang positif terinfeksi *Staphylococcus* sp. dianalisis dengan uji *Chi-square* menggunakan aplikasi SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian deteksi bakteri *Staphylococcus* sp. pada babi penderita PRDC secara observatif telah dilakukan pada tiga kabupaten di Bali yaitu Badung, Tabanan dan Gianyar. Sampel berupa *swab nasal* sebanyak 43 sampel (16 ekor babi prasapah dan 27 ekor babi pascasapah). Dari 43 isolat yang diisolasi pada media *sheep blood agar* dan pewarnaan Gram hanya ditemukan 20 isolat yang dicurigai merupakan *Staphylococcus* sp.

Hasil pengamatan morfologi koloni, diketahui bahwa semua isolat memiliki kesamaan pada semua parameter yang diamati kecuali sifat hemolisisnya. Semua isolat berwarna putih, tepi rata dengan diameter 1-3 mm dan berbentuk bulat. Terdapat enam isolat yang tidak mengalami hemolisis disekitar koloninya, sedangkan 14 isolat lainnya mengalami β hemolisis disekitar koloni.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Carter dan Cole (1990) serta Becker *et al.*, (2014), membuktikan bahwa koloni dengan warna putih, tepi rata, diameter 1-3 mm, berbentuk bulat serta bersifat β hemolisis dan non hemolisis (γ hemolisis) termasuk bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus* sp.

Hasil pewarnaan Gram yang telah dilakukan, diketahui bahwa semua isolat merupakan bakteri Gram positif yang ditandai dengan penampakan sel berwarna ungu dan berbentuk bulat atau *coccus* yang menyerupai buah anggur. Enam isolat uji oksidase menunjukkan hasil positif sedangkan 14 isolat menunjukkan hasil negatif. Semua isolat uji katalase menunjukkan hasil positif. Hasil ini sesuai dengan literatur Carter dan Cole (1990) serta Becker *et al.*, (2014) yang menyatakan bahwa *Staphylococcus* sp. berwarna ungu, berbentuk *coccus* yang menyerupai buah anggur, uji katalase positif dan uji oksidase dapat menunjukkan hasil negatif atau positif (sebagian besar oksidase negatif).

Penegasan identifikasi bakteri dilanjutkan dengan uji biokimia menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfide Indole Motility* (SIM), *Simmon Citrate Agar*, *Methyl Red*, uji koagulase, dan uji gula-gula (glukosa, laktosa, manitol, dextrosa, dan sukrosa). Semua isolat menunjukkan *alkaline slant*, *acid butt*, terbentuk gas dan H₂S pada media TSIA. Hasil uji SIM pada semua isolat menunjukkan H₂S positif, indol positif dan non motil. Semua bakteri pada uji *Simmon Citrate* yang diujikan menunjukkan hasil negatif. Bakteri yang diujikan pada uji *Methyl Red* menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna merah pada media yang menandakan bakteri tersebut mampu memfermentasikan karbohidrat menghasilkan asam. Uji koagulase menunjukkan hasil negatif dengan tidak terbentuk gumpalan pada tabung. Identifikasi pada uji gula-gula menunjukkan semua isolat mampu memfermentasi kelima gula (glukosa, laktosa, manitol, dextrosa, dan sukrosa). Masing-masing bakteri diinokulasikan pada media gula-gula dengan posisi terbalik di dalam tabung *durham*. Setelah diinkubasi, media gula berubah warna dari biru menjadi kuning, reaksi ini menandakan adanya aktifitas bakteri dalam merombak media gula. Terdapat gas yang terperangkap dalam tabung *durham*, hal tersebut menandakan bakteri mampu menghasilkan gas sebagai wujud respirasi dan hasil sisa metabolisme.

Hasil isolasi dan identifikasi dari 20 isolat adalah bakteri *Staphylococcus* sp. dengan kemungkinan spesies yaitu *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* dan *S. hyicus subsp. hyicus*. Menurut literatur Carter dan Cole (1990) serta Becker *et al.* (2014) diketahui karakteristik *S. epidermidis*

adalah koagulase negatif, β hemolisis, katalase positif, oksidase negatif, dan dapat memfermentasi glukosa. Karakteristik *S. saprophyticus* adalah koagulase negatif, non hemolisis, katalase positif, oksidase negatif, dan dapat memfermentasi manitol. Karakteristik *S. hyicus subsp. hyicus* adalah koagulase negatif, non hemolisis, katalase positif, oksidase negatif, dan dapat memfermentasi glukosa. Menurut penelitian Giusti, *et al.*, (1999), *S. epidermidis* merupakan spesies yang dominan dari seluruh isolat *Staphylococcus* sp koagulase negatif yang ditemukan.

Tabel 1. Jumlah kejadian infeksi bakteri *Staphylococcus* sp. pada babi prasapah dan pascasapah penderita *porcine respiratory disease complex*/ PRDC

Umur Babi	Infeksi Bakteri		Total
	Positif	Negatif	
Prasapah	10	6	16
Pascasapah	10	17	27
Total	20	23	43

Pada Tabel 1 menunjukkan jumlah sampel positif bakteri *Staphylococcus* sp. pada babi prasapah dan pascasapah penderita PRDC yaitu sebanyak 20 sampel. Jumlah sampel positif pada babi prasapah sebanyak 10 sampel dan enam sampel negatif. Sampel positif babi pascasapah sebanyak 10 sampel dan 17 sampel negatif. Jumlah kejadian bakteri *Staphylococcus* sp. pada babi prasapah sama dengan babi pascasapah. Hasil penelitian ini tidak menunjukkan perbedaan jumlah kejadian infeksi bakteri *Staphylococcus* sp. penyebab PRDC pada babi prasapah dengan babi pascasapah disebabkan oleh beberapa faktor. Faktor infeksius maupun non-infeksius merupakan kontributor signifikan terhadap penyakit PRDC dengan meningkatkan penularan dan penyebaran patogen, menciptakan kondisi yang tidak menguntungkan sehingga mengakibatkan meningkatnya stres pada hewan, atau secara langsung merusak saluran pernapasan (Martinez *et al.*, 2009). Faktor-faktor non-infeksius yang berkontribusi pada proses penyakit dibagi menjadi tiga kelompok antara lain faktor babi (genetika, *breed* dan status kekebalan), lingkungan, dan manajemen (sistem, ukuran kawanan dan nutrisi) (Joisel *et al.*, 2001).

Babi prasapah memiliki sistem imun yang baik karena mempunyai maternal antibodi. Maternal antibodi merupakan kekebalan pasif, memberikan perlindungan bersifat sementara terhadap infeksi penyakit. Maternal antibodi babi prasapah diperoleh dari induk melalui air susu

(kolostrum). Kolostrum adalah cairan yang dikeluarkan oleh kelenjar susu induk selama 2-3 hari pertama kelahiran, yang mengandung *immune factor* (faktor kekebalan tubuh), *growth factor*, enzim, asam-asam amino, vitamin, dan hormon (Funatogawa *et al.*, 2002). Kandungan *Immune factor* di dalam kolostrum meliputi IgA, IgM, IgG, dan IgE yang akan melindungi anak babi dari serangan infeksi bakteri, virus, fungi, dan parasit (Akita dan Li-Chan, 1998). Kolostrum dapat memberikan pertahanan tubuh pada kehidupan selama umur 10 sampai 14 hari. Setelah umur tersebut, kekebalan yang berasal dari kolostrum akan menurun.

Staphylococcus sp. dengan koagulase negatif muncul sebagai patogen, terutama pada pasien yang sistem imunnya menurun (Wieser dan Busse, 2000). Infeksi bakteri terjadi *Staphylococcus* sp. penyebab PRDC pada babi pascasapih disebabkan karena berkurangnya antibodi yang didapatkan secara pasif. *Porcine respiratory disease complex* terutama terjadi pada babi *grower-finisher*, biasanya sekitar umur 12-24 minggu dan terkait dengan berkurangnya antibodi yang didapat secara pasif (Pomorska-Mol *et al.*, 2011).

Pengetahuan tentang beternak babi yang benar dan produktif belum banyak diterapkan di Bali mengingat kurangnya informasi, akibatnya peternakan babi di Bali cenderung masih dilakukan secara tradisional bahkan banyak peternakan babi yang dikelola dengan sangat sederhana dalam arti belum dikandangkan dengan baik, belum diperhatikan pakan, pertumbuhan, perkembangbiakan maupun kesehatannya. Sebagian besar masyarakat di Bali memelihara ternak babi dalam usaha rumah tangga. Pemeliharaan secara rumah tangga ini dilakukan secara tradisional dengan mengandangkan ternak babi di pekarangan rumah, dimana kandang dibuat secara permanen berlantai semen. Fakta dilapangan menunjukkan bahwa sebagian besar ternak babi pada sistem pemeliharaan yang tradisional tidak dipelihara dalam kandang sesuai dengan umurnya. Ketika babi dengan berbagai umur (prasapih dan pascasapih) dan status kekebalan berbeda dicampur dalam satu kandang, maka penyebaran penyakit akan meningkat (Opriessnig *et al.*, 2011). Adanya ketidakmerataan pembagian kandang sesuai umur, keparahan infeksi PRDC juga disebabkan karena lingkungan. Kondisi lingkungan yang buruk seperti kelembaban tinggi, polutan udara dan amonia berlebihan diketahui mempengaruhi perkembangan PRDC pada babi (Done, 1991).

Kualitas pakan juga penting karena debu dalam pakan dapat mengganggu pertahanan saluran pernapasan babi. Selain itu, jamur atau mikotoksin dalam pakan dapat secara langsung merusak

paru-paru atau membahayakan imunitas. Kekurangan nutrisi juga dapat mempengaruhi sistem kekebalan tubuh (Opriessnig *et al.*, 2011).

Tingkat keparahan infeksi *Staphylococcus* sp. penyebab PRDC tergantung pada interaksi dan sinergi faktor menular (baik patogen virus dan bakteri), sanitasi lingkungan, jenis sistem, manajemen produksi dan faktor spesifik babi (genetika, usia dan status imunologis). Menurut Opriessnig, *et al.* (2011), hingga saat ini tidak ada faktor resistensi spesifik terhadap patogen pernapasan yang telah diidentifikasi pada babi, namun bukti peningkatan kerentanan untuk penyakit yang disebabkan oleh virus tertentu seperti PRRSV (*Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus*) dan PCV2 (*Porcine Circovirus type 2*) telah dilaporkan (Opriessnig *et al.*, 2006; Vincent *et al.*, 2006).

SIMPULAN

Bakteri *Staphylococcus* sp. ditemukan pada saluran pernapasan babi penderita PRDC dengan kemungkinan spesies yaitu *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, dan *S. hyicus* subsp. *hyicus*. Tidak ada perbedaan jumlah kejadian infeksi bakteri *Staphylococcus* sp. pada babi prasapah dengan babi pascasapah.

SARAN

Perlu dilakukan identifikasi bakteri *Staphylococcus* sp. secara molekuler untuk mengkonfirmasi hasil identifikasi uji biokimia. Uji coba lapangan perlu dilakukan untuk mengetahui patogenitas bakteri *Staphylococcus* sp. Bagi peternak babi agar lebih memperhatikan sanitasi kandang, nutrisi dan kebersihan pakan serta kesehatan babi sehingga babi terhindar dari berbagai penyakit khususnya penyakit saluran pernapasan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dan Kepala Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana atas izin pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Akita EM, Li-Chan ECY. 1998. Isolation of Bovine Immunoglobulin G Subclasses From Milk, Colostrum, and Whey Using Immobilized Egg Yolk Antibodies. *Journal of Dairy Science*. 81: 54–63.
- Becker K, Heilmann C, Peters G. 2014. Coagulase-Negative *Staphylococci*. *Institute of Medical Microbiology, University Hospital Münster, Münster, Germany*. 27(4): 870–926.
- Bochev, I. 2007. Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC): A review. I. Etiology, Epidemiology, Clinical Forms and Pathoanatomical Features. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 10(3): 131–146.
- Cappuccino J, Welsh C. 2018. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 11th Ed. Pearson, London.
- Carter GR, Cole JR. 1990. *Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology*. 5th Ed. Academic Press.
- Done SH. 1991. Environmental Factors Affecting the Severity of Pneumonia in Pigs. *Veterinary Record*. 128: 582–586.
- Foster TJ. 2009. Colonization and Infection of the Human Host by *Staphylococci*: Adhesion, Survival and Immune Evasion. *Vet Dermatol*. 20: 456-470.
- Funatogawa K, Ide T, Kirikae F, Saruta K, Nakano M, Kirikae T. 2002. Use of Immunoglobulin Enriched Bovine Colostrum Against Oral Challenge with Enterohaemorrhagic *E. coli* O157:H7 in Mice. *Microbiology and Immunology*. 46: 761–766.
- Giusti MD, Pacifico L, Tufi D, Panero A, Boccia A, Chiesa C. 1999. Phenotypic Detection of Nosocomial *mecA*-positive Coagulase Negative *Staphylococci* from Neonates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 44: 351-358.
- Joisel F, Randoux S, Hérin JB, Bost F. 2001. Controlling *Mycoplasma hyopneumoniae*. France: Merial.
- Li M, Wang X, Gao Q, Lu Y. 2009. Molecular Characterization of *Staphylococcus epidermidis* Strains Isolated From a Teaching Hospital in Shanghai, China. *Journal of medical microbiology*. 58(4): 456–461.
- Martinez J, Peris B, Gomez EA, Corpa JM. 2009. The Relationship Between Infectious and Non-Infectious Herd Factors with Pneumonia at Slaughter and Productive Parameters in Fattening Pigs. *Veterinary Journal*. 179: 240–246.
- Motovski A. 2003. Porcine Respiratory Disease Complex. *VM News*. 3(4): 24–28.
- Opriessnig T, Fenaux M, Thomas P, Hoogland MJ, Rothschild MF, Meng XJ, Halbur PG. 2006. Evidence of Breed Dependent Differences in Susceptibility to Porcine Circovirus type-2-associated Disease and Lesions. *Veterinary Pathology*. 43: 281–293.
- Opriessnig T, Gimenez-Lirola LG, Halbur PG. 2011. Polymicrobial Respiratory Disease in Pigs. *Animal Health Research Reviews*. 12(2): 133-148.
- Pomorska-Mol M, Markowska-Daniel I, Rachubik J, Pejsak Z. 2011. Effect of Maternal Antibodies and Pig Age on the Antibody Response After Vaccination Against Glassers Disease. *Veterinary Research Communications*. 35: 337–343.
- Thacker EL, Thanawongnuwech R. 2002. Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC). *Thai Journal of Veterinary Medicine*. 32: 126–134.
- Trang NT, Ngan PH, Hop NV, Hirai T. 2018. Nasal Swab—a New Tool for the Detection of Porcine Respiratory Disease Complex in Natural Infected Pigs. *Acta Scientific Microbiology*. 1(6): 02-05.

- Vincent AL, Thacker BJ, Halbur PG, Rothschild MF, Thacker EL. 2006. An Investigation of Susceptibility to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Between Two Genetically Diverse Commercial Lines of Pigs. *Journal of Animal Science*. 84: 49–57.
- Wieser M, Busse HJ. 2000. Rapid Identification of *Staphylococcus Epidermidis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 50: 1087–1093.