

## ***Staphylococcus aureus* Penghasil Pigmen Kuning yang Diisolasi dari Kejadian *Bumblefoot* pada *Broiler* Lebih Patogen Dibanding Penghasil Pigmen Putih**

*(STAPHYLOCOCCUS AUREUS PRODUCING YELLOW PIGMENT ISOLATED FROM BUMBLEFOOT CASE IN BROILER CHICKENS IS MORE PATHOGENIC THAN THOSE OF PRODUCING WHITE PIGMENT)*

**Khusnan<sup>1</sup>, Wahyu Prihtiyantoro<sup>1</sup>, Mitra Slipranata<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Akademi Peternakan Brahma Putra,  
Jln. Ki Ageng Pemanahan, Nitikan, Sorosutan, Umbulharjo, Yogyakarta,  
Tlp. 0274-384370, e-mail: drh\_khusnan@yahoo.com

<sup>2</sup>Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan,  
Universitas Gadjah Mada  
Jln. Fauna No 2, Karangmalang, Yogyakarta

### **Abstract**

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji hubungan antara pigmen yang diproduksi oleh *Staphylococcus aureus* dengan kemampuan adesi *S. aureus* pada sel epitel dan fagositosis makrofag secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan 10 isolat *S. aureus* yang berasal dari kasus *bumblefoot* dan artritis pada ayam pedaging/broiler. Untuk uji adesi *S. aureus* digunakan sel epitel bukalis manusia dan uji fagositosis dengan sel makrofag dari peritoneum mencit. Hasil penelitian ini menunjukkan *S. aureus* isolat broiler memproduksi pigmen kuning dan pigmen putih. Bakteri *S. aureus* yang memproduksi pigmen putih beradesi pada tiap sel epitel bukalis lebih banyak dibandingkan dengan *S. aureus* yang memproduksi pigmen kuning, yaitu dengan rata-rata 24,25 bakteri/sel dibanding 23,78 bakteri/sel, sedangkan jumlah *S. aureus* yang memproduksi pigmen putih difagosit oleh makrofag lebih banyak dibandingkan dengan yang memproduksi pigmen kuning, yaitu dengan rata-rata 19,86 bakteri/sel dibanding 15,96 bakteri/sel dengan perbedaan tidak signifikan. Simpulan yang dapat ditarik bahwa *S. aureus* penghasil pigmen kuning lebih patogen dibanding penghasil pigmen putih.

Kata-kata kunci: *S. aureus*, broiler, pigmen, adesi, fagosit

### **Abstract**

A study to evaluate the correlation between the pigments produced by *Staphylococcus aureus* isolates with their adhesion capability on epithelial cells and phagocytes activity of macrophages *in vitro*. Ten *S. aureus* isolates from bumble foot and arthritis cases in broiler were used in this study. The adhesion assay was performed using epithelial cell derived from human buccal epithelial cells whereas phagocytic activity was conducted using mouse peritoneal macrophage cells. The results showed that *S. aureus* isolates from broiler produced both yellow and white pigments. *Staphylococcus aureus* producing white pigment adhered to human buccal epithelial cells with the density of about 24,25 bacteria/cell, which were higher than those of *Staphylococcus aureus* producing yellow pigment about 23,78 bacteria/cell. *Staphylococcus aureus* producing white pigment was more phagocytosed by macrophages than *S. aureus* producing yellow pigment, with an average phagocytic activity of 19,86 bacteria/cell as compared to 15,96 of bacteria/cell, respectively.

Key words : *S. aureus*, broiler, pigment, adhesion, phagocyte.

## PENDAHULUAN

*Staphylococcus aureus* pada ayam pedaging/broiler menyebabkan *bumblefoot*, artritis dan *septicemia tenosynovitis* (Huang *et al.*, 2002; Butterworth, 1999; McNamee dan Smith, 2000; Mohan *et al.*, 2002; Johansen *et al.*, 2012). *Bumblefoot* merupakan peradangan kronis pada bantalan metatarsal (Hassan *et al.*, 2012). *Bumblefoot* menimbulkan rasa nyeri sehingga memengaruhi pergerakan ayam, mengganggu aktivitas bertengger maupun berjalan, dan membatasi akses ke tempat pakan maupun tempat air minum (Hester, 1994). *Bumblefoot* dapat menyebabkan kerugian ekonomi karena pertumbuhan badan yang jelek akibat kepincangan (Hester, 1994), dan biaya pengobatan yang meningkat (Rasheed, 2011). Bakteri *S. aureus* ditemukan lebih dari 90% pada kasus *bumblefoot* (Hassan *et al.*, 2012; Satterfield dan O'Rourke, 1981).

Artritis ditandai dengan pembengkakan dan degradasi tulang rawan pada sendi (Bremell *et al.*, 1992; Alfonso dan Barnes, 2006; Bremell *et al.*, 1992; Johansen *et al.*, 2012)). Infeksi pada sendi oleh *S. aureus* mengakibatkan terjadi pembengkakan dan terbentuknya cairan sinovial yang keruh dan kekuning-kuningan (Jensen, 1990). Gejala yang tampak pada ayam penderita berupa kepincangan, bengkak pada sendi dan tidak mampu berdiri (Rasheed, 2011), maupun kelumpuhan (Adayel, 2005). Kasus artritis pada ayam pedaging sering ditemukan pada umur panen (Huang *et al.*, 2002; Wladyka *et al.*, 2011).

Adesi bakteri pada sel epitel merupakan langkah awal yang penting dalam proses infeksi (Gilaspay *et al.*, 1998; Patti *et al.*, 1994), kemudian diikuti dengan invasi dan kolonisasi dalam sel inang (Gilaspay *et al.*, 1998). Proses selanjutnya terjadi aktivitas sel-sel fagositik dan antibodi sebagai pertahanan tubuh (Costerton *et al.*, 1999). Fagositosis yang dilakukan oleh sel-sel fagosit merupakan proses yang penting dalam pertahanan tubuh inang terhadap infeksi *S. aureus* (Hoffmann *et al.*, 1999). Makrofag merupakan sel pertahanan tubuh yang berperan dalam fagositosis terhadap infeksi *S. aureus* (Deloid *et al.*, 2009).

Pigmen yang diproduksi oleh *S. aureus* merupakan karakter fenotip yang menunjukkan virulensi (Liu *et al.*, 2005). Bakteri *S. aureus* dapat memproduksi tiga jenis pigmen, yaitu pigmen oranye, kuning dan putih (Salasia *et al.*, 2010). Pigmen kuning oranye yang diproduksi

*S. aureus* dikaitkan dengan tingkat virulensi (Liu *et al.*, 2008). Tujuan penelitian melakukan kajian terhadap hubungan jenis pigmen yang diproduksi oleh *S. aureus* dengan kemampuan perlekatan bakteri pada sel epitel serta pertahanan terhadap sel makrofag.

## METODE PENELITIAN

### Isolat *S. aureus*

Digunakan 10 isolat *S. aureus* yang berasal dari kasus artritis dan *bumblefoot* asal ayam pedaging masing-masing lima isolat, yang telah diidentifikasi berdasarkan fermentasi pada *mannitol salt agar*, uji koagulase, uji *clumping factor*, uji katalase, dan pengecatan Gram (Khusnan *et al.*, 2012).

### Uji Produksi Pigmen

Jenis pigmen yang diproduksi *S. aureus* dapat diamati dengan cara mengulaskan isolat *S. aureus* di atas membran nitroselulose yang diletakkan di atas plat agar darah domba, warna pigmen akan terlihat setelah inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C (Brückler *et al.*, 1994).

### Uji Perlekatan Pada Sel Epitel Bukalis

Uji kemampuan perlekatan *S. aureus* dilakukan pada sel epitel mukosa bukalis manusia. Sel-sel epitel mukosa bukalis manusia diperoleh dengan mengerok pipi bagian dalam dengan menggunakan spatel kayu, segera dilarutkan dalam 5 mL *hanks balance salt solution* (HBSS). Sel epitel dicuci dua kali dengan larutan *phosphat buffer saline* (PBS), sel-sel epitel bukalis dihitung dengan menggunakan *haemocytometer* (AO, USA) sehingga pada akhirnya diperoleh larutan bakteri yang mengandung 10<sup>5</sup> sel/mL HBSS.

Isolat *S. aureus* ditanam dalam *tod hewitt broth* (THB) diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian disentrifus 10.000 rpm selama 10 menit. Pelet disuspensi dengan HBSS dan ditentukan *optical density* (OD)-nya dengan spektrofotometer pada 620 nm (mengandung 10<sup>9</sup> bakteri/mL) (Salasia, 1994). Larutan bakteri kemudian diencerkan menjadi 1:10 dalam HBSS (10<sup>8</sup> bakteri/mL).

Sebanyak 1 mL suspensi bakteri ditambah masing-masing dengan 1 mL larutan sel-sel epitel bukalis (10<sup>5</sup> sel/mL) kemudian diinkubasikan selama satu jam pada temperatur 37°C dalam penangas air (*water bath*). Sel-sel epitel bukalis dipisahkan dari bakteri yang tidak

melekat dengan cara sentrifugasi dengan menggunakan 50% larutan *percoll*. Larutan bakteri dan sel epitel bukalis diambil dengan menggunakan pipet *pasteur* dan dicuci dua kali dengan larutan HBSS. Larutan bakteri dan sel epitel bukalis diteteskan pada gelas objek dan dikeringkan. kemudian dilakukan pewarnaan dengan Giemsa. Jumlah bakteri yang melekat pada sel epitel bukalis dihitung dengan bantuan mikroskop cahaya. Perhitungan dilakukan dengan cara menghitung jumlah bakteri yang melekat pada tiap 20 sel epitel bukalis, pengulangan dilakukan sebanyak empat kali preparasi (Salasia, 1994)

#### Uji Fagositosis Makrofag Secara *in vitro*

Sel-sel makrofag diambil dari cairan peritonium dua ekor mencit. Mencit dianestesi dengan cara dimasukkan ke dalam kotak yang berisi *chloroform*. Setelah terbius, bagian abdomen mencit dibuka kemudian dimasukkan 3-5 mL larutan *minimal essential medium* (MEM) secara intraperitoneal, selanjutnya dimasase. Cairan intraperitoneal yang mengandung makrofag diambil dengan menggunakan spuit steril kemudian dimasukkan ke dalam tabung steril. Setelah itu larutan makrofag disentrifus 2.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C dilakukan dua kali berturut-turut. Supernatan dibuang dan *pellet* ditambah MEM sebanyak 3-5 mL. Makrofag dihitung dengan menggunakan *haemocytometer* sehingga diperoleh makrofag  $10^5$  sel/mL.

Uji viabilitas makrofag, digunakan untuk menghitung jumlah makrofag yang hidup. Cara yang dilakukan untuk uji viabilitas yaitu sebanyak 100  $\mu$ L makrofag dimasukkan ke dalam *ependorff* kemudian ditambah dengan 10  $\mu$ L *tryphan blue*, didiamkan selama satu menit, kemudian diteteskan pada *hemocytometer* dilihat di bawah mikroskop. Sel makrofag yang hidup akan terlihat bening dan makrofag yang mati berwarna biru. Makrofag peritoneal yang digunakan harus menunjukkan angka viabilitas di atas 70% (Salasia, 1994).

Uji fagositosis makrofag, dilakukan dengan cara memasukkan 100  $\mu$ L suspensi bakteri ( $10^9$  bakteri/mL) ke dalam *ependorff* kemudian ditambahkan 100  $\mu$ L makrofag ( $10^5$  sel/mL). Larutan diinkubasi dalam penangas air pada suhu 37°C selama satu jam. Setelah satu jam, diteteskan pada gelas objek, ditutup dengan gelas penutup dan diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya.

Aktivitas fagositosis makrofag ditentukan dengan cara menghitung jumlah bakteri yang difagosit oleh setiap sel makrofag dari 10 sel makrofag pada setiap preparat (Salasia dan LämmLer, 1995).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pigmen yang diproduksi oleh 10 isolat *S. aureus* yang diteliti diperoleh hasil lima isolat memproduksi pigmen putih dan lima isolat memproduksi pigmen kuning. Pada uji adesi pada sel epitel diperoleh hasil bahwa *S. aureus* yang memproduksi pigmen putih secara rata-rata sebanyak 242,5 bakteri menempel pada setiap sel epitel dan difagosit makrofag sebanyak 198,6 bakteri setiap makrofag, sedangkan *S. aureus* yang memproduksi pigmen kuning menempel pada sel epitel sebanyak 237,8 bakteri dan difagosit oleh makrofag sebanyak 159,6 bakteri setiap makrofag. Hal tersebut disajikan pada Tabel 1.

Bakteri *S. aureus* menunjukkan karakter yang bervariasi dalam memproduksi pigmen. Menurut Han *et al.*, (2000) *S. aureus* mampu memproduksi pigmen putih, kuning, dan oranye. Pigmen-pigmen tersebut menentukan tingkat sifat patogenisitas. Kuman yang memproduksi pigmen kuning ataupun oranye biasanya lebih patogen dibanding kuman yang memproduksi pigmen putih (Han *et al.*, 2000), dan ada hubungannya dengan tingkat virulensi bakteri (Liu *et al.*, 2005)

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa *S. aureus* isolat ayam potong hanya memproduksi dua jenis pigmen yaitu kuning dan putih. Hasil penelitian ini sama dengan pigmen yang diproduksi *S. aureus* isolat dari karkas dan limbah cair penyembelihan ayam potong (Khusnan *et al.*, 2008). Hasil penelitian El-Jakee *et al.*, (2008) menunjukkan bahwa *S. aureus* isolat asal ayam lebih banyak memproduksi pigmen kuning. Hasil ini berbeda dengan jenis pigmen yang diproduksi *S. aureus* isolat pangan olahan asal ternak yang memproduksi tiga jenis pigmen yaitu oranye, kuning dan putih dengan persentase berturut-turut oranye 50,0%, kuning 22,3% dan putih 27,7% (Salasia *et al.*, 2007). Bakteri *S. aureus* yang berasal dari susu sapi juga memproduksi tiga jenis pigmen, dengan persentase pigmen oranye 40%, pigmen kuning 30%, dan pigmen putih 30% (Salasia *et al.*, 2006). Hasil penelitian El-Jakee *et al.*, (2008)

Tabel 1. Jumlah *Staphylococcus aureus* isolat asal *broiler* yang melekat pada sel epitel bukalis dan jumlah *Staphylococcus aureus* yang terfagosit makrofag

No	KodeIsolat	Produksi Pigmen	Adesi pada Sel Epitel Bukalis (bakteri/sel)	Fagositosis oleh Sel Makrofag (bakteri/sel)
1	B9	Putih	231	224
2	B16	Putih	208	250
3	K10	Putih	187	193
4	A4	Putih	247	161
5	A6	Putih	250	165
	Rataan		242,5	198,6
1	B6	Kuning	270	197
2	K13	Kuning	216	181
3	A7	Kuning	144	144
4	A9	Kuning	277	101
5	A11	Kuning	282	174
	Rataan		237,8	159,6

menunjukkan *S. aureus* isolat asal sapi memproduksi pigmen oranye 66%, pigmen kuning 30,2%, dan pigmen putih 3,8%.

Hasil perhitungan jumlah bakteri yang menempel pada sel epitel menunjukkan *S. aureus* yang memproduksi pigmen putih lebih banyak menempel pada sel epitel dibandingkan dengan *S. aureus* yang memproduksi pigmen kuning, tetapi sebaliknya *S. aureus* yang banyak memproduksi pigmen putih lebih banyak difagosit oleh makrofag dibandingkan dengan *S. aureus* yang memproduksi pigmen kuning. Dalam perhitungan statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) antara *S. aureus* yang memproduksi pigmen putih dengan yang memproduksi pigmen kuning yang berhubungan dengan kemampuan adesi maupun pertahanan terhadap fagosit oleh makrofag.

Koloni dan adesi bakteri di permukaan sel epitel merupakan proses awal dari infeksi. Bakteri yang mampu melakukan invasi pada sel epitel akan berhadapan dengan sel-sel pertahanan tubuh, antara lain netrofil dan makrofag (Verdrengh dan Tarkowski, 2000). Perkembangbiakan bakteri pada sel inang dapat terjadi apabila bakteri mampu mempertahankan diri terhadap fagositosis sel darah putih maupun antibodi (Azghani dan Clark, 2009).

Proses infeksi diawali dari proses adesi bakteri pada permukaan sel inang dan diikuti dengan adsorpsi sehingga terjadi ikatan antara bakteri dan sel inang (Rijnaarts *et al.*, 1995), kemudian diikuti proses invasi ke dalam sel

inang (Agerer *et al.*, 2003; Agerer *et al.*, 2005; Ozeri *et al.*, 1998) dan bakteri akan memperbanyak diri serta merusak jaringan inang (Azghani dan Clark, 2009).

Komponen pada permukaan sel bakteri berperan dalam proses adesi pada sel epitel dan resistensi terhadap fagositosis (Sutra dan Poutrel, 1994). Adesi pada sel epitel inang ditentukan oleh komponen-komponen yang berada dipermukaan bakteri meliputi kapsul, fimbria, pili, dan lendir (Mack, 1999; O'Gara dan Humphreys, 2001; Gotz, 2002). Komponen polisakarida yang terdapat dalam membran sel bakteri, dinding sel, dan pada kapsul merupakan faktor adhesin (Wilson *et al.*, 2002). Fibronectin (Fn), merupakan faktor adhesin yang penting pada *S. aureus* (Vaudaux *et al.*, 1984; Herrmann *et al.*, 1988). Proses adesi diperantarai oleh protein yang menyelubungi dinding sel melalui mekanisme sortase A (*srtA*) yang mensekresikan protein seperti *extracellular fibronectin-binding protein (Efb)* terhadap *extracellular adhesion protein (Eap)* (Hussain *et al.*, 2001). Faktor virulensi pada *S. aureus* dapat ditentukan oleh efek gabungan dari faktor ekstraseluler dan racun, karena adanya faktor adhesin dan ketahanan terhadap fagositosis (Projan dan Novick, 1997).

Bakteri yang berhasil masuk menembus sel epitel inang akan berhadapan dengan sel-sel pertahanan tubuh, yaitu netrofil atau makrofag (Bayles *et al.*, 1998; Menzies *et al.*, 1998; Smagur *et al.*, 2009). Makrofag berfungsi di garis depan pertahanan terhadap infeksi dengan

menelan dan menghancurkan bakteri (Rosenberger dan Finlay, 2003).

Proses fagositosis dimulai dari pengenalan antigen, proses invasi, dan proses penghancuran (Koziel *et al.*, 2009). Netrofil dan makrofag merupakan sel yang berfungsi sebagai perusak antigen yang penting pada proses infeksi (Aderem dan Underhill, 1999). Kapsul yang berada di permukaan bakteri merupakan bagian terpenting dalam mempertahankan terhadap fagositosis yang dilakukan oleh netrofil atau makrofag (Wilson *et al.*, 2002)

Bakteri patogen maupun non patogen semuanya akan difagosit. Namun, bakteri patogen yang difagosit jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri nonpatogen (Salasia, 1998). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *S. aureus* yang memproduksi pigmen kuning lebih sedikit difagosit oleh makrofag dibandingkan dengan *S. aureus* yang memproduksi pigmen putih. Hal ini menunjukkan *S. aureus* yang memproduksi pigmen kuning lebih patogen, sesuai dengan laporan Han *et al.*, (2000) bahwa *S. aureus* yang memproduksi pigmen kuning lebih patogen dibandingkan dengan yang memproduksi pigmen putih. Pigmen yang diproduksi oleh *S. aureus* telah dikaitkan dengan sifat virulensi (Liu *et al.*, 2005), yang berdampak pada patogenesis *S. aureus* (Lefu *et al.*, 2010). Golden Pigment Production and Virulence Gene Expression Are Affected by Metabolisms in STAPHYLOCOCCUS AUREUS

### SIMPULAN

Bakteri *S. aureus* yang berasal dari kasus *bumblefoot* dan artritis broiler hanya memproduksi dua jenis pigmen yaitu kuning dan putih. Bakteri *S. aureus* yang memproduksi pigmen putih lebih banyak menempel pada sel epitel bukalis dan lebih banyak difagosit oleh makrofag dibandingkan dengan *S. aureus* yang memproduksi pigmen kuning. Bakteri yang menghasilkan pigmen kuning lebih patogen dibandingkan dengan yang menghasilkan pigmen putih.

### SARAN

Untuk memperoleh informasi faktor virulensi yang lain pada *Staphylococcus aureus* isolat asal ayam potong perlu dilakukan karakterisasi faktor virulensi yang lain.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Publikasi ini merupakan sebagian dari hasil Penelitian Fundamental yang dibiayai oleh Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia tahun anggaran 2011-2012. Kepada; Arisa Diana Ekawati, Dianita Dwi Sugiartini, Eka Yanuarti dan Imam Hanafi diucapkan terima kasih atas bantuannya.

### DAFTAR PUSTAKA

- Adayel SA. 2005. Incidence of *Staphylococcus aureus* causing Arthritis of broiler breeders. 4th Int Sci Conf Mansoura. Pp. 65-70.
- Aderem A, Underhill MD. 1999. Mechanisms of Phagocytosis in Macrophages. *Annu Rev Immunol* 17:593–623.
- Agerer F, Michel A, Ohlsen K, Hauck CR. 2003. Integrin-mediated invasion of *Staphylococcus aureus* into human cells requires Src family protein tyrosine kinases. *J Biol Chem* 278: 42524–42531.
- Agerer F, Lux S, Michel A, Rohde M, Ohlsen K, Hauck CR. 2005. Cellular invasion by *Staphylococcus aureus* reveals a functional link between focal adhesion kinase and cortactin in integrin-mediated internalisation. *J Cell Sci* 118: 2189–2200.
- Alfonso M, Barnes HJ. 2006. Neonatal osteomyelitis associated with *Staphylococcus aureus* in turkey poults. *Avian Dis* 50(1): 148-151.
- Azghani AO, Clark C.A, 2009. Bacterial infection process: An overview. Regulation of the Inflammatory Response in Health and Disease. Dept. of Biology, The University of Texas at Tyler, 3900 University Blvd Tyler, TX 75799, USA
- Bayles KW, Wesson CA, Liou LE, Fox LK, Bohach GA. 1998. Intracellular *Staphylococcus aureus* escapes the endosome and induces apoptosis in epithelial cells. *J Infect Immun* 66: 336–342.

- Bremell T, Abdelnour A, Tarkawski A. 1992. Histopathological and serological progression of experimental *Staphylococcus aureus* arthritis. *J Infect immune* 60: 2976-2985.
- Bruckler J, Schwarsz S, Untermann F. 1994. Staphylokokken-Infektionen und Enterotoxin, band. II/1, In Blobel, H. und Schlieâer (Herausber), Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, 2 Auflage. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.
- Butterworth A. 1999. Infectious components of broiler lameness: a review. *J World's Poultry Scie* 56(4): 327-352.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *J Science* 284: 1318-1322.
- DeLoid, GM, Sulahian, Timothy H, Imrich A, Kobzik L. 2009. Heterogeneity in Macrophage Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* Strains: High-Throughput Scanning Cytometry-Based Analysis. *PLoS ONE* 4(7) : 1-2.
- El-Jakee J, Nagwa, AS, Bakry M, Zouelfakar SA, Elgabry E, Gad El-Said GWA. 2008. Characteristics of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Human and Animal Sources. *J Agric & Environ Sci* 4 (2): 221-229.
- Gilaspay A, Lee C, Sau S, Cheung A, Smeltzer M. 1998. Factors affecting the collagen binding capacity of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* 66: 3170-3178.
- Gotz F. 2002. *Staphylococcus* and biofilms. *Mol Microb* 43: 1367-1378.
- Han HR, Park SI, Kang SW, Jong WS, Youn CJ. 2000. Capsular Polysaccharide Typing Of Domestic Mastitis-Causing *Staphylococcus aureus* Strains And Its Potential Exploration Of Bovine Mastitis Vaccine Development. I. Capsular Polysaccharide Typing, Isolation And Purification Of The Strain. *J Vet Sci* 1: 53-60.
- Hassan AH, Hussein SA, Ahad EA. 2012. Pathological and bacteriological study of bumblefoot cases in Sulaimaniyah province. *J Al-Anbar Vet Sci* 5(1): 195-201
- Herrmann M, Vaudaux PE, Pittit D. 1988. Fibronectin, fibrinogen, and laminin act as mediators of adherence of clinical staphylococci isolates to foreign material. *J Infect Dis* 158: 693-701.
- Hester PY. 1994. The role of environment and management on leg abnormalities in meat-type fowl. *Poult Sci* 73: 904-915.
- Hoffmann JA, Kafatos FC, Janeway CA, Ezekowitz RA. 1999. Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science* 284 : 1313-1318.
- Huang JG, Hu XY, Cheng GF, SQ Zhou SQ, Song NH. 2002. The diagnosis of staphylococcus arthritis in breeding broilers. *Hubei Agric Sci* 4: 78-79.
- Hussain M, Karstan B, Christof JS, George P, Mathias H. 2001. Identification and Characterization of a Novel 38,5 Kilodalton Cell Surface Protein of *Staphylococcus aureus* with Extended-Spectrum Binding Activity for Extracellular Matrix and Plasma Proteins. *J Bacteriol* 183: 6778-6786.
- Johansen LK, Koch J, Frees D, Aalbæk B, Nielsen OL, Leifsson PS, Iburg TM, Svalastoga E, Buelund LE, Bjarnsholt T, Høiby N, Jensen HE. 2012. Pathology and Biofilm Formation in a Porcine Model of Staphylococcal Osteomyelitis. *J Comp Path* 147: 343-353.
- Khusnan, Salasia SIO, Sugiyono. 2008. Isolasi dan karakterisasi fenotip *S. aureus* dari limbah penyembelihan dan karkar ayam pedaging. *J Media Vet* 9(1): 45-51.
- Khusnan, Prihtiyantoro W, Slipranata M. 2012. Identifikasi dan karakterisasi fenotipik *Staphylococcus aureus* asal kasus bumblefoot dan artritis pada broiler. *JKed Hewan* 6(2): 102-104.
- Koziel JA, Maciag-Gudowska T, Mikolajczyk M, Bzowska DE, Sturdevant AR, Whitney LN, Shaw FR, DeLeo, Potempa J. 2009. Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by Macrophages Exerts Cytoprotective Effects Manifested by the Upregulation of Anti-apoptotic Factors <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2668171/pdf/pone.0005210.pdf> Vol. 4, Issue 4, e5210.
- Lan L, Cheng A, Dunman PM, Misiakias D, He C. 2010. Golden Pigment Production and Virulence Gene Expression are Effected by Metabolisms *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 192(12): 3068-3077.
- Liu CI, Liu GY, Song Y, Yin F, Hensler ME, Jeng WY, Nizet V, Wang AH, Oldfield E. 2008. A cholesterol biosynthesis inhibitor blocks *Staphylococcus aureus* virulence. *Science* 319 : 1391-1394.
- Liu GY, Essex A, John T, Buchanan JT, Datta V, Hoffman HM, Bastian JF, Fierer VJ. 2005. *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. *Exp Med* 202(2): 209-215.

- Mack D. 1999. Molecular mechanisms of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation. *J Hosp Inf* 43: S113-S125.
- McNamee PT, Smyth JA. 2000. Bacterial chondronecrosis with osteomyelitis (femoral head) of broiler chicken: A review. *Avian Pathol* 29: 253-270.
- Menzies BE, Kourteva I. 1999. Internalization of *Staphylococcus aureus* by endothelial cells induces apoptosis. *Infect Immun* 66: 5994-5998.
- Mohan K, Shroeder-Tucker LC, Karenga D, Dziva F, Harrison A, Muvavarirwa P. 2002. Unidentified Coryneform Bacterial strain from cases of polyarthritis in Chickens: phenotype and fatty acid profile. *Avian Diseases* 46 : 1051-1054.
- Ozeri V, Rosenshine I, Mosher DF, Fassler R, Hanski E. 1998. Roles of integrins and fibronectin in the entry of *Streptococcus pyogenes* into cells via protein F1. *Mol Microbiol* 30: 625-637.
- Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, Hook M. 1994. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu Rev Microbiol* 48: 585-617.
- Projan SJ, Novick RP. 1997. The molecular basis of pathogenicity, In: K.B. Crossley & G.L. Archer (Eds.). *The Staphylococci in Human Disease: 55-81* New York: Churchill Livingstone.
- Rasheed BY. 2011. Isolation and identification of bacteria causing arthritis in chickens. *J Iraqi of Vet Scie* 25(2): 93-95.
- Rijnaarts HHM, Norbe W, Bouwer EJ, Lyklema J, Zehnder AJB. 1995. Reversibility and mechanism of bacterial adhesion. *Col Surf B: Bioint* 4: 5-22.
- Rosenberger CM, Finlay BB. 2003. Phagocyte sabotage: disruption of macrophage signalling by bacterial pathogens. *J Nature Reviews Molecular Cell Biol* 4: 385-396.
- Salasia SIO. 1994. Untersuchungen zu mutmaßlichen Pathogenitätsfaktoren von *Streptococcus suis*. *Vet Med Dis Giessen Justus-Liebig-Universität*.
- Salasia SIO. 1998. Sifat desi dan fagositosis *Streptococcus equi* subsp. *zoepidemicus* isolat Indonesia. *J Sain Vet* 16 (1): 42-50.
- Salasia SIO, Lämmle C. 1995. Occurrence of haemagglutinating adhesin among virulent and avirulent isolates of *Streptococcus suis*. *Med Sci Res* 22: 763 - 764
- Salasia SIO, Haryadi M, Khusnan. 2005. Karakterisasi Fenotipe *S. aureus* dari Sampel Susu Sapi Perah Mastitis Subklinis. *J Sain Vet* 23(2): 72-78.
- Salasia SIO, Widiasih DA, Khusnan, Sugiyono dan Anggraeni NS. 2007. Identifikasi dan karakterisasi *Staphylococcus aureus* dari berbagai produk pangan asal ternak. Seminar Klaster Riset, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 30 Oktober 2007.
- Satterfield WC, O'Rourke KI. 1981. Staphylococcal bumblefoot (claw disease of birds): Vaccination and immunomodulation in the early treatment and management. *J Zoo Anim Med* 12: 95-98.
- Smagur J, Guzik K, Magiera L, Bzowska M, Gruca M. 2009. A new pathway of staphylococcal pathogenesis: Apoptosis-like death induced by Staphopain B (SspB) in human peripheral blood neutrophils and monocytes. *J Innate Immun* 1: 98-108.
- Sutra L, Poutrel B. 1994. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 40: 79-89.
- Vaudaux PE, Waldvogel FA, Morgenthaler JJ, Nydegger UE. 1984. Adsorption of fibronectin onto polymethylmethacrylate and promotion of *Staphylococcus aureus* adherence. *Infect Immunol* 45: 768-774.
- Verdrengh M, Tarkowski A. 2000. Role of macrophages in Staphylococcus aureus-induced arthritis and sepsis. *Arthritis Rheum* 43(10): 2276-2282.
- Wilson JW, Schurr MJ, Le Blanc CL, Ramamurthy R, Buchanan KL, Nickerson CA. 2002. Mechanisms of bacterial pathogenicity. *J Postgrad Med* 78: 216-224.
- Wladyka B, Dubin G, Adam D, 2011. Activation mechanism of thiol protease precursor from broiler chicken specific *Staphylococcus aureus* strain CH-91. *Vet Microbiol* 147: 195-199.