

病原性 葡萄球菌의 同定을 위한 Coagulase, Deoxyribonuclease (DNase) 및 耐熱性 Nuclease 生産能의 比較

金鍾冕 · 宋熹鍾 · 鄭玉峯

全北大學校 農科大學 獸醫學科

緒 論

*Staphylococcus*屬菌에서 迅速하고 正確하게 *St. aureus*를 同定할 目的으로 여러 方法들이 利用되고 있지만, *St. aureus*가 細胞外酵素인 coagulase를 生産하여 血漿을 凝固한다는 事實이 報告된 以來, 現在까지 *Staphylococcus*屬菌의 病原性 有無를 確認하기 위한 routine test로서 coagulase檢查가 가장 廣範圍하게 利用되고 있다.^{1, 27)}

그러나 coagulase檢查에 있어서 非特異的 反應에 의한 誤判, 使用血漿의 不均一性 및 反應值의 測定에 대한 實驗者의 誤差 등^{13, 14, 15, 18, 26)}은 coagulase檢查에 의한 一方的인 *St. aureus*의 同定方法에 問題點이 常存하고 있다. 따라서 近年에 보다 正確하고 迅速한 菌分離方法이 考察되어 報告되고 있으며 이러한 方法들로서 hyaluronidase decapsulation test,^{6, 25)} protein A hemagglutination test,^{6, 7, 11)} latex agglutination test,⁵⁾ bacteriolytic activity test,^{16, 17, 20, 22, ~24)} lyo-group system에 의한 方法,²¹⁾ 耐熱性 nuclease生産能 檢查^{3, 12~14)} 및 agar method에 의한 coagulase와 耐熱性 nuclease生産能을 동시에 檢查하는 方法 등^{3, 28)}이 提示되고 있다. 이들 方法中 hyaluronidase生産을 確認하는 方法은 正確하기는 하나 手技가 復雜하고, protein A hemagglutination 檢查는 結果判定은 쉬우나 臚을 단한 成績을 얻기 어려우며 其他 latex agglutination test, bacteriolytic 活性檢查 및 lyogroup에 의한 方法들에서도 正確도는 있을지라도 手技가 復雜하거나 長時間을 所要 또는 非經濟的이기 때문에 臨床檢査에서 *St. aureus*의 同定方法으로 應用하기에는 適合하지 않은 短點 등이 指摘된다.

그러나 *St. aureus*가 特異的으로 生産하는 耐熱性 nuclease가 coagulase生産과 密接한 關係가 있고, 迅速正確하다고 다른 많은 研究者들에 의해 報告되고 있

다. 따라서 本 實驗에서는 사람의 病巢와 乳牛의 乳房에서 mannitol을 分解하는 *Staphylococcus*屬菌을 分離하고 이들 菌株들에 대하여 coagulase生産能, DNase生産能 및 耐熱性 nuclease生産能 등에 대한 各菌株間의 相互關係를 檢討하였던 바 病原性菌株의 同定을 위한 確實性있는 結果를 얻었기에 이를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

供試菌株 : 本 實驗에 供試한 菌株은 1977년부터 1980年 사이에 分離한 患者由來(中耳炎, 膿, 尿 및 大便) 43株와 乳牛由來(乳房炎牛乳 및 集乳場의 牛乳) 208株로서 總計 251株를 使用하였다.

이들 菌株은 各 可檢物을 phenol red mannitol salt broth (pH 7.4)에 接種, 37°C에 18時間 培養하고 常法에 따라 培養液 1滴을 *Staphylococcus* No. 110 medium (pH 7.0, Difco)에 接種 37°C에 一夜培養하여 나타난 定型의인 集落의 分離, 普通寒天食鹽培地에 保存하면서 Gram染色陽性, 葡萄球菌으로 確認된 菌株에 대하여 mannitol分解能을 再檢하여 實驗에 供試하였다.

Coagulase檢査 : 供試菌株를 brain heart infusion (BHI) broth (pH 7.4, Difco)에 37°C, 18時間 培養한 菌液 0.5ml와 sodium citrate로 處理한 사람血漿(사람由來) 및 牛血漿(乳牛由來)을 各各 同量 加한 後 37°C에 保存하면서 4時間에 血漿凝固與否를 觀察하였으며 陰性인 경우에는 24時間 후에 最終 判讀하였다. 이때 對照로 滅菌培地 0.5ml와 供試血漿을 同量加한 試驗管을 各各 培養하면서 實驗에 使用한 血漿의 偽陽性 凝固有無를 檢査하였다.

血漿凝固程度의 測定은 Turner 등¹⁹⁾의 方法을 多少 修飾하여 3+, 2+, 1+, -로 大別하였는데 試驗管을 轉倒하여 凝固塊가 流動하지 않을 때 3+, 2/3以上에 凝固塊가 있을 때 2+, 1/3에 凝固塊가 있을 때 1+, 凝固塊가 아주 微弱하거나 痕跡만 있을 때와 眞연 凝固塊를 形成하지 못했을 때는 -로 判讀하였다.

DNase活性 및 耐熱性 nuclease檢査: DNase活性 및 耐熱性 nuclease生産能의 確認用 培地로는 DNA培地 (pH 7.2, Nissui Media)를 增菌用 培地로는 BHI broth를 各各 使用하였다. 即 DNase生産能은 增菌培地에서 增菌시킨 供試菌液 1白金耳를 DNA培地表面에 劃線塗抹하여 37°C에 培養하면서 24時間 및 48時間에 集落周邊의 培地가 赤 또는 赤紫色으로 變換 것을 陽性으로 判讀하였다.²⁸⁾

耐熱性 nuclease 檢査는 Lachia 등⁸⁾의 方法을 修飾하여 實施하였다. 簡記하면 準備된 DNA培地를 使用前에 35~37°C에 約 1時間 放置한 後 培地表面에 直徑 3mm의 孔을 만들고 여기에 37°C에서 增菌시킨 新鮮한 供試菌液을 100°C 水槽에서 15分間 維持한 後, 室溫으로 冷却시킨 菌液을 滅菌한 毛細피펫으로 各各의 孔에 1滴씩 滴下하여 37°C에 保存하면서 2時間, 4時間에 各孔의 周邊部圓가 1~3mm의 幅으로 透明帶를 形成한 것을 耐熱性 nuclease生産 陽性으로 判讀하였다. 이 때 水槽에서 꺼낸 菌液을 選擇培地에 接種培養하므로써 供試菌株의 死滅을 確認하였으며 DNA培地에서 耐熱性 nuclease의 生産時間을 24時間 延長시켜 보므로써 切期反應值에 대한 變化 및 後期에 反應을 일으키는 菌株가 있는지의 與否를 觀察하였던 바 2~4時間에 反應한 것 以外에는 전혀 陽性反應이 나타나지 않음을 確認하였다

實驗成績

本 實驗에 供試한 菌株는 사람由來 43株와 乳牛由來 208株로서 總합 251株이다.

供試菌株의 生物學的性狀은 全供試菌株가 7.5%食鹽 菌性 및 mannitol分解株이었으며 coagulase, 耐熱性 nuclease 및 DNase의 生産能은 사람由來菌株에서 各

各 81.4%, 88.4% 및 93.0%이었으며 乳牛由來菌株에서는 各各 56.7%, 57.7% 및 70.2%로 나타났다(第2表 參照).

*St. aureus*를 同定하기 위하여 比較實驗한 coagulase, 耐熱性 nuclease 및 DNase生産能의 成績은 第3, 4, 5表에서와 같다. 即 *St. aureus*로 同定된 菌株는 사람由來菌株에서 38株(88.4%), 乳牛由來菌株에서 120株(57.7%)로 總합 158株이었는데 이중 146株는 coagulase, 耐熱性 nuclease 및 DNase가 모두 陽性이었으며 나머지 12株는 耐熱性 nuclease나 DNase는 產生하였으나 供試한 citrate處理血漿은 凝固시키지 못하였으며 EDTA處理血漿에서는 1+에서 3+까지 凝固시키고 있다.

한편, 耐熱性 nuclease나 coagulase를 產生한 28株는 *St. epidermidis*로 同定되었으며 其他 사람 由來 3株와 乳牛由來 62株는 *St. aureus*以外的 *Staphylococcus* 屬菌으로 區別된다.

Table 1. Source and Number of Isolates of Mannitol Fermented *Staphylococcus*

Source of Isolates	No. of Isolates
Human	
Stool in Diarrheal Patient	22
Pus in Traumatic Wound	14
Otitis Media	4
Urine in Patient	3
Bovine Udder	
Bulk Milk	143
Mastitis Milk	65
Total	251

Table 2. Biological Properties of 251 Isolates of *Staphylococcus* Examined

Biological Properties	Hman (n=43) ^a		Bovine Under (n=208) ^b	
	No. of Positive	%	No. of Positive	%
7.5% Salt Resistance	43	100	208	100
Mannitol Fermentation	43	100	208	100
Coagulase Production				
3+, 2+, 1+	35	81.4	811	56.7
-	8		90	
DNase Production	40	93.0	146	70.2
Thermostable Nuclease Production	38	88.4	120	57.7

^a and ^b: Coagulase test performed with citrate treated human and bovine plasma diluted by 4 times with saline solution, respectively.

Table 3. Number of Isolates of *Staphylococcus* Identified by Production of Coagulase, Thermonuclease and DNase and Utilization of Mannitol in Human Origin

Test (n=43) ^a	<i>St. aureus</i>		<i>St. epidermidis</i>		Other Species		Total	
	33	5 ^b	1 ^c	1	1 ^c	2	+	-
Coagulase	+	-	+	-	+	-	35	8
Thermostable Nuclease	+	+	-	-	-	-	38	5
DNase	+	+	+	+	-	-	40	3
Mannitol	+	+	+	+	+	+	43	0

a: Coagulase test performed with sodium citrate treated human plasma.

b and c: Positive and negative with EDTA treated human plasma, respectively.

Table 4. Number of Isolates of *Staphylococcus* Identified by Production of Coagulase, Thermonuclease and DNase and Utilization of Mannitol in Bovine Udder Origin

Test (n=208) ^a	<i>St. aureus</i>		<i>St. epidermidis</i>		Other Species		Total	
	113	7 ^b	4 ^c	22	1 ^c	61	+	-
Coagulase	+	-	+	-	+	-	118	90
Thermostable Nuclease	+	+	-	-	-	-	120	88
DNase	+	+	+	+	-	-	146	62
Mannitol	+	+	+	+	+	+	208	0

a: Coagulase test performed with sodium citrated treated bovine plasma.

b and c: Positive and negative with EDTA treated bovine plasma, respectively.

Table 5. Corelation between Coagulase, DNase and Thermonuclease Test for *St. aureus* Identification

Coagulase Production		DNase Production			Thermostable Nuclease Production	
Degree of Clot	No.	24 Hours	48 Hours	%	4 Hours	%
Human Origin(n=43)^a						
3+, 2+, 1+	35	26	34	97.1	33	94.3
-	8	2	6		5 ^c	
Subtotal	43	28	40	93.0	38	88.1
Bovine Udder Origin(n=208)^b						
2+, 1+	118	92	117	99.2	113	95.8
-	90	13	29		7 ^d	
Subtotal	208	105	146	70.2	120	57.7
Total	251	133	186	74.1	158	62.9

a and b: Coagulase test performed with sodium citrate treated human and bovine plasma, respectively.

c and d: Positive with EDTA treated human and bovine plasma, respectively.

考 察

臨床檢査에 있어서 *St. aureus*와 其他 *Staphylococcus* 屬菌과의 鑑別은 選擇培地에서 *Staphylococcus*屬菌을 분

離·増菌시킨 後 Gram染色에 의한 形態的 鑑別과 몇 種의 糖(glucose, mannitol) 分解能外에 Sodium citrate로 處理된 家兔血漿을 利用한 coagulase檢査가 가장 廣範圍하게 그리고 公認되어 利用되고 있다.^{1,17}

25) 그러나 家兔血漿이 사람 또는 家畜의 血漿에 比較하여 coagulase activity를 높여주는 coagulase reacting factor(CRF)가 比較的 낮은 濃度로 含有되어 있는 反面, staphylokinase 또는 staphylococcal Müller factor 등에 의하여 plasminogen-plasmin system이 活性化되고 그 結果 plasmin이 形成됨으로서 fibrinolysis를 일으켜 偽陰性 coagulase反應을 惹起시키는 plasmin activity는 오히려 家兔의 血漿에 다른 動物의 血漿에 比較하여 보다 높기 때문에 coagulase檢査에 家兔血漿의 使用은 바람직스럽지 못하다고 Orth 등¹⁵⁾은 報告하고 있으며, Rayman 등¹⁴⁾, Sperber 등¹⁸⁾, Wegrzynowicz 등²⁶⁾도 最近報告에서 凝固塊의 程度에 따른 coagulase生産의 陽性反應値에 對해 問題點을 指摘하고 있다.

即, 使用하는 血漿에 따른 false clotting이나 false negative clotting 등의 問題點을 排除하고 더욱 正確하게 *St. aureus*를 同定하기 위하여 Disalvo⁴⁾에 의해 DNase檢査方法이 考案되었다. 이에 따르면 DNase檢査가 coagulase檢査에 따르는 未備點을 補充한다고 報告하고 있다. 그러나 Zierdt 등²⁹⁾은 *St. epidermidis*에서 비록 小數에서일지라도 DNase를 產生하고 있어 *St. epidermidis*를 *St. aureus*로 誤判할 수 밖에 없는 危險性을 가지고 있다고 指摘하고 있다.

또한 Lachia 등⁸⁾도 *St. epidermidis* 및 *Micrococcus* 屬 菌株中에서도 一部가 DNase를 產生하기 때문에 coagulase나 DNase檢査 以外에 *St. aureus*에서만 特異적으로 產生되는 耐熱性 nuclease를 檢査하므로써 이들과의 區別을 確實하게 할 수 있다고 報告하고 있다. 近年에 Menzies¹³⁾도 耐熱性 nuclease生産能과 coagulase生産能이 一致함을 確認하였으며, Barry 등³⁾, Boothby 등³⁾ Rayman 등¹⁴⁾, Zarzour 등²⁸⁾도 *St. aureus*를 迅速하고 正確하게 同定하는 데에는 coagulase檢査 以外에도 耐熱性 nuclease의 生産能을 檢討해야 된다고 主張하고 있다.

本 實驗成績에 있어서 coagulase陽性株 大部分이 DNase나 耐熱性 nuclease를 產生(사람由來 94.3%, 乳牛由來 95.8%)함을 볼 수 있었지만 特히 耐熱性 nuclease檢査에 있어서는 血漿凝固의 程度에 따라 그 差異를 볼 수 있었다. 즉, 3+ 및 2+ 以上에서는 Rayman 등¹⁴⁾, Sperber 등¹⁸⁾, Zarzour 등²⁸⁾의 報告에서처럼 모두 陽性으로 나타났으나 1+에서는 陰性株가 7株(4.6%)나 되었다. 이는 使用된 抗凝固劑의 種類와 供試된 血漿의 種類에 따라 多少의 差異가 있을 수 있다는 Lee 등¹⁰⁾의 報告를 勘案할 때 本 耐熱性 nuclease 實驗은 이를 補充하는 進一步 發展된 方法이라 아니할

수 없다.

한편 本 實驗에 있어서 coagulase陰性인 93株中 23株(24.7%)가 DNase를 產生하고 있음을 볼 수 있었는데 이는 *Staphylococcus*屬菌中의 *St. epidermidis*로 同定²⁹⁾할 수 있었다. 즉 coagulase陰性株 中에서의 *St. epidermidis*의 分離率이 Morton 등¹⁴⁾의 13.5%, Zarzour 등²⁸⁾의 4.3%에 比較하여 높았음은 本 實驗의 材料中에 *St. epidermidis*의 高感染率에 影響이 있었던 것으로 思料되어진다. 그리고 coagulase와 耐熱性 nuclease를 產生하는 菌株로서 DNase陰性인 菌株가 없었다는 事實은 그만큼 coagulase나 耐熱性 nuclease의 產生이 病原성과 깊은 關係가 있음을 示唆하는 것으로 思料된다.

以上の 結果를 綜合하여 보면 大部分의 coagulase陽性株가 DNase나 耐熱性 nuclease生産 陽性이며 特히 耐熱性 nuclease生産은 病原性 *St. aureus*의 固有한 特性임을 確認할 수 있었다. 또한, coagulase 陽性反應임에도 耐熱性 nuclease를 產生하지 못하는 菌株들이 있었는데 이는 *St. aureus*가 아닌 *St. epidermidis*로서 coagulase反應만을 檢査하였을 때 흔히 誤判하기 쉬운 경우라고 思料되었다.

끝으로 *St. aureus*의 分離同定에 있어서 coagulase反應은 當然한 基本方法이지만 이 方法에 內包하고 있는 몇가지 問題點을 거의 完全하게 補充할 수 있는 DNase檢査 및 耐熱性 nuclease檢査는 時間적으로도 迅速하고 明確하여 臨床의 경우 뿐만아니라 同菌에 있어서 반드시 導入利用되어야 할 方法임을 確認할 수 있었다.

結 論

*Staphylococcus*屬菌에서 迅速하고 正確한 *St. aureus*를 同定하기 위해서 mannitol을 分解한 251株(사람由來 43株, 乳牛由來 208株)에 대하여 *St. aureus*가 特異적으로 生産하는 coagulase, 耐熱性 nuclease, DNase 등의 生産能을 實驗하고 그 成績을 比較檢討한 바 158株가 耐熱性 nuclease 및 DNase를 生産하여 *St. aureus*로 同定하였는데 이중 146株는 供試한 citrate處理血漿을 나머지 12株는 EDTA處理血漿을 凝固하였으므로 耐熱性 nuclease生産菌株 全부가 *St. aureus*임을 알았다.

耐熱性 nuclease나 coagulase를 生産하지 못한 菌株 93株中 28株가 DNase를 生産하여 *St. epidermidis*로 同定할 수 있었다.

本 實驗의 結果에서 耐熱性 nuclease檢査는 coagulase檢査에서 惹起되는 여러가지 問題點을 補充하여 증은 물론, 迅速하고 正確하게 *St. aureus*를 鑑別할 수

있어 臨床檢査에서 有用하리라 思料되었다.

參 考 文 獻

1. Baird-Parker, A.C.: Gram positive cocci, In R.E. Buchanan and N.E. Gibbons (ed.), Bergey's manual of determinative bacteriology. 8 ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore. (1974) pp.478.
2. Barry, A.L., Lachia, R.V.F. and Atchison, F.W.: Identification of *Staphylococcus aureus* by simultaneous use of tube coagulase and thermonuclease tests. Appl. Microbiol. (1973) 25 : 496.
3. Boothby, J., Genigeorgis, C. and Fanelli, M.J.: Tandem coagulase thermonuclease agar method for the detection of *Staphylococcus aureus*. Appl. Environ. Microbiol. (1979) 37 : 298.
4. Disalvo, J.W.: Deoxyribonuclease and coagulase activity of *Micrococci*. Med. Tech. Bull. (1958) 9 : 191.
5. Essers, L. and Radebold, K.: Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by a latex agglutination test. J. Clin. Microbiol. (1980) 12 : 641.
6. Essers, L. and Radebold, K.: Zentralbl. Bakteriolog. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. 1. Orig. Reihe A. (1980) 247-170. Cited from 5.
7. Forsgren, A.: Significance of protein A production by *Staphylococci*. Infect. Immun. (1970) 2 : 672.
8. Lachia, R.V.F., Genigeorgis, C. and Hoerich, P.D.: Metachromatic agar-diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity. Appl. Microbiol. (1971) 21 : 585.
9. Lachia, R.V.F., Hoerich, P.D. and Genigeorgis, G.: Nuclease production and lysostaphin susceptibility of *Staphylococcus aureus* and other catalase-positive cocci. Appl. Microbiol. (1971) 21 : 823.
10. Lee, Jeong-Ho and Ha, Tai-You.: Comparison of human, rabbit and pig plasma in coagulase test. The Jeonbuk University Medical Journal. (1978) 2 : 149.
11. Maxim, P.E., Mathews, H.L. and Mengoli, H.F.: Single-tube mixed agglutination test for the detection of staphylococcal protein A. J. Clin. Microbiol. (1976) 4 : 418.
12. Menzies, R.E.: Comparison of coagulase, deoxyribonuclease (DNase), and heat-stable nuclease test for identification of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Pathol. (1977) 30 : 606.
13. Morton, H.E. and Cohn, J.: Coagulase and deoxyribonuclease activity of *Staphylococci* isolated from clinical source. Appl. Microbiol. (1972) 23 : 725.
14. Rayman, M.K., Park, C.E., Philpott, J. and Todd, C.D.: Reassessment of the coagulase and thermostable nuclease tests as means of identifying *Staphylococcus aureus*. Appl. Microbiol. (1975) 29 : 451.
15. Orth, D.S. and Anderson, A.W.: Comparison of animal sera for suitability in coagulase testing. Appl. Microbiol. (1971) 21 : 420.
16. Satta, G., Varaldo, P.E., Grazi, G. and Fontana, R.: Bacteriolytic activity in *Staphylococci*. Infect. Immun. (1977) 16 : 37.
17. Satta, G., Varaldo, P.E., Tenca, M. and Radin, L.: The relevance of bacterial lytic activity in the taxonomy of the *Micrococccaceae*: failure of its production by *Micrococcus* and *Planococcus* as opposed to *Staphylococcus*. J. Gen. Microbiol. (1978) 109 : 385.
18. Sperber, W.H. and Tatani, S.R.: Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. Appl. Microbiol. (1975) 29 : 502.
19. Turner, F.J. and Schwartz, B.S.: The use of a lyophilized human plasma standardized for blood coagulation factor in the coagulase and fibrinolytic tests. J. Lab. Clin. Med. (1958) 52 : 888.
20. Varaldo, P.E., Crazi, G., Cisani, G. and Satta, G.: Routine separation of *staphylococci* from *micrococci* based on bacteriolytic activity production., J. Clin. Microbiol. (1979) 9 : 147.
21. Varaldo, P.E., Grazi, G., Sero, O., Cisani, G. and Satta, G.: Simplified lyogroup system,

- a new method for routine identification of *Staphylococci*: description and comparison with three other methods. *J. Clin. Microbiol.* (1980) 12: 63.
22. Varaldo, P.E. and Satta, G.: Grouping of *staphylococci* on the basis of their bacteriolitic activity patterns: a new approach to the taxonomy of the *micrococcaceae*. II. Main characters of 1,054 strains subdivided into "lyogroups". *Int. J. Syst. Bacteriol.* (1978) 28: 141.
 23. Varaldo, P.E., Satta, G., Grazi, G. and Romanzi, C.A.: Grouping of *Staphylococci* on the basis of their bacteriolytic activity patterns: a new approach to the taxonomy of the *Micrococcaceae*. I. Identification of six different "lyogroups". *Int. J. Syst. Bacteriol.* (1978) 28: 141.
 24. Varaldo, P.E., Satta, G. and Hajek, V.: Taxonomic study of coagulase-positive *staphylococci*: bacteriolytic activity pattern analysis. *Int. J. Syst. Bacteriol.* (1978) 28: 445.
 25. Vogelsang, T.M., Wormnes, A. and Østervold B.: Correlation between staphylococcal phage groups and some staphylococcal enzymes demonstrated by simple methods. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* (1962) 54: 218.
 26. Wegrzynowicz, Z., Heczko, P.B., Jeljaszewicz, J., Neugebauer, M. and Pulverer, G.: Pseudocoagulase activity of *Staphylococci*. *J. Clin. Microbiol.* (1979) 9: 15.
 27. Wilson, G.S. and Miles, A.A.: Principles of bacteriology, virology and immunity. 6th ed. Edward Arnold Ltd. (1975) p.781.
 28. Zarzour, J.Y. and Belle, E.A.: Evaluation of three test procedures for identification of *Staphylococcus aureus* from clinical source. *J. Clin. Microbiol.* (1978) 7: 133.
 29. Zierdt, C.D. and Golde, D.W.: Deoxyribonuclease-positive *Staphylococcus epidermidis* strains. *Appl. Microbiol.* (1970) 20: 54.

Comparison of Coagulase, Deoxyribonuclease (DNase), and Thermostable Nuclease Tests for Identification of Pathogenic *Staphylococcus aureus*

Jong-Myeon Kim, D.V.M., Ph.D., Hee-Jong Song, D.V.M., M.S. and Ok-Vong Jeong, B.Sc.

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Jeonbuk National University

Abstract

A total of 251 clinical isolates (human origin 43 strains and bovine udder origin 208 strains) of the *Staphylococcus* that fermented mannitol aerobically were tested for their ability to produce coagulase, DNase, and thermostable nuclease. Of these, 158 isolates coagulated human or bovine plasma, produced DNase, and thermostable nuclease and were identified as *St. aureus*, 146 of which produced a 1+ to 3+ clot. The remaining 12 isolated produced a -clot in citrate treated plasma but produced 1+ to 3+ clot in ethylenedi-aminetetraacetic acid (EDTA) treated plasma.

It was found that 7 coagulase positive isolates failed to produce thermostable nuclease. In these organisms, we found out of the clot formation is not by coagulase activity but utilization of citrate, because EDTA treated plasma is not coagulated.

Among 93 isolates which did not coagulate citrate or EDTA treated plasma and thermostable nuclease negative, 28 strains produced DNase were identified as *St. epidermidis*, and other strains were not identified further.

It was found that thermostable nuclease production appears to be a consistent property of *St. aureus* and the test is easy to perform, is rapid became quite distinct within 2 to 4 hour, and is not influenced by as many factors and variations as the coagulase test.