

젖소 유방염유래 *Staphylococcus aureus*에서 용원변환에 의한 staphylokinase 산생

박청규*, 임태선

경북대학교 수의과대학
(게재승인 : 2002년 4월 23일)

Staphylokinase production mediated by lysogenic conversion in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis

Cheong-Kyu Park*, Tae-Sun Lim

Department of Veterinary Medicine, Kyungpook National University

(Accepted : April 23, 2002)

Abstracts : Staphylokinase is seldom formed by animal *Staphylococcus aureus* strains. In this study, 76(72.4%) of 105 *Staph aureus* strains isolated from bovine mastitis were found to produce a staphylokinase. These staphylokinase producing strains were tested for lysogenic conversion by means of delysogenization procedure and isolation of serotype B and F converting phages. By the application of delysogenization method comprised of UV irradiation and acriflavine treatment to 76 staphylokinase-positive strains, the delysogenized cells could be observed in 29(38.2%) of the strains and delysogenization rates in 16(55.2%) of 29 delysogenized strains were 0.9% or less. A total of 7 serological group F phages were isolated from 76 staphylokinase-positive strains, and these phages could be again divided into three groups by the immunity reaction. Of 7 serotype F phages, 2 were isolated from the original lysogenic strains producing colonies of delysogenized cells after delysogenizing treatments and 5 were isolated from strains in which delysogenized cells were not observed after delysogenizing treatments. Difference of sensitivities to serological group F phages between original lysogenic strains and strains from which delysogenized cells were not isolated after delysogenizing treatments was not observed. These data suggest that staphylokinase production of the remaining 42 strains might be also mediated by lysogenic conversion.

Key words : *Staphylococcus aureus*, lysogenic conversion, staphylokinase, bovine mastitis

서 론

*Staphylococcus aureus*는 사람 및 각종 동물로부터 흔히 분리되고 있으며 특히 젖소에서 이 균은 유방염의 주요한 원인체로 작용하고 있다¹⁻³. 사람과 동물유래의 *Staph aureus* 균주는 어떤 생화학적 성상에서 그 특성을 달리 하고 있을 뿐만 아니라 동물유래주의 사이에서도 유래 동물종에 따라 서로 생화학적 특성이 다르게 나타나고

있다^{4,7}. 이 균이 분리원에 따라 특성의 상이함에 근거하여 Hájek와 Maršálek⁸는 생물형 분류법을 제안하였다. 이 분류법에 의하면 β -hemolysin 산생은 음성이면서 staphylokinase는 양성(β^-K^+)인 A형(사람유래주)과 이들 두 특성이 반대(β^+K^-)의 관계에 있는 B형(닭 및 돼지유래주), C형(소유래주), D형(토끼유래주), E형(개유래주) 및 F형(비둘기유래주)의 6가지 생물형으로 구분되고 있으며 이들 중 생물형 E와 F는 다시 Hájek⁹에 의해

* Corresponding author : Dr. Cheong-kyu Park, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Taegu, 702-701, Korea (E-mail : ckpark@kyungbook.ac.kr)

*Staph intermedius*라는 새로운 균종으로 명명되면서 이 균명이 현재 공식적으로 사용되고 있다. 또한 Hájek 및 Maršálek⁸의 생물형 분류법을 수정하여 제안한 바 있는 Devriese¹⁰의 분류법에 있어서도 β^-K^+ 의 성상은 주로 human ecovar에서만 볼 수 있는 균주의 특징인 것으로 나타나 있다.

한편, 사람과 동물유래주의 구별에 있어 중요한 표지가 되는 staphylokinase와 β -hemolysin 산생능이 어떤 특징의 포도구균 phage에 의해서 변환될 수도 있다. Winkler *et al*¹¹은 혈청형 F phage에 의해 β^+K^- 의 균주가 β^-K^+ 로 변환되는 2중변환의 현상을 처음으로 보고하였고 그 뒤 Kondo와 Fujise¹²는 혈청형 B phage에 의해서 그리고 Park과 Seo¹³는 혈청형 F phage에 의해서 β^+K^- 의 균주가 β^+K^+ 로의 staphylokinase만 단독변환됨을 보고 하기도 하였다. 또한 Mason과 Allen¹⁴은 혈청형 A 군에 속하는 여러 포도구균 phage 중에서 유일하게 phage 42E에 의해 β -hemolysin 산생이 양성에서 음성으로 변환($\beta^+ \rightarrow \beta^-$)됨을 관찰한 바 있어 staphylokinase와 β -hemolysin 산생의 두 특성이 이와같이 어떤 균주에서 불안정함을 보여 이들 phages에 의한 용원변환이 생물형별에 영향을 줄 수 있는 가능성은 존재하고 있다.

이 연구에서 저자들이 젖소의 유방염으로부터 분리한 *Staph aureus*에서 특이하게도 staphylokinase를 산생하는 균주의 분리빈도가 상당히 높게 관찰됨을 볼 수 있어 이들 균주들에 대해서 탈용원화와 phage 분리의 방법을 적용하여 용원변환에 대한 조사를 수행하였던 바 얻어진 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시균주

경북지방에서 사육되고 있는 젖소의 급성 또는 만성형 유방염으로부터 분리된 *Staph aureus* 105주를 공시하였으며 이들 균주의 균종동정은 API STAPH system (BIOMERIEUX SA, Marcy-Étoile, France)과 Roberson *et al*¹의 방법을 병용하여 확정하였다.

β -Hemolysin 산생능 검사

Trypticase soy agar (TSA, BBL)에 면양혈액을 3%되게 첨가한 면양혈액한천배지를 준비한 후 공시균주를 접종 배양하여 β -hemolysin 산생능 유무를 검사하였다.

Staphylokinase 산생능 검사

Bovine fibrinogen(fraction 1, type 1-S, Sigma)을 사용하여 Devriese와 Van de Kerckhove¹⁵의 방법에 따라 bovine

fibrin-dog plasminogen 한천배지를 준비한 후 공시균주를 접종 배양하여 staphylokinase 산생능 유무를 검사하였으며 plasmin과 protease 활성의 감별은 soy bean trypsin inhibitor(Sigma)를 적용하여 Hinton과 Orr¹⁶의 방법에 의하였다.

탈용원화

Kondo *et al*^{17,18}의 방법에 준하였다. 즉 공시균(β^-K^+ 및 β^+K^+)을 TSA에 접종하여 37°C에서 16시간 배양한 후 배양균 소량을 4ml의 인산염완충액(pH7.2)에 부유시켜 패트리접시에 넣고 자외선살균등(15W)으로 50cm의 거리에서 30초간 조사하였다. 이 조사균액을 2.5 μ g/ml의 acriflavine(Sigma)이 함유된 면양혈액한천평판배지 또는 bovine fibrin-dog plasminogen 한천배지에 분산시켜 37°C에서 24시간 배양한 후 β -hemolysin 산생 양성 또는 staphylokinase 산생 음성 집락의 출현 정도에 따라 탈용원화 빈도를 산정하였다.

Phage 항혈청 생산

혈청형 A, B 및 F phage에 대한 항혈청 생산은 American Type Culture Collection(ATCC)의 표준형별 phage 3A(혈청형 A), 71(혈청형 B) 및 42D(혈청형 F)와 이들 phage의 증식용 균주를 각각 사용하여 ATCC의 지시에 따라 phage를 증식시켜 Dowell과 Rosenblum¹⁹의 방법에 따라 준비하였다. 즉 고역가의 phage액($10^5 \sim 10^7 \times$ RTD)을 토기에 5일 간격으로 5ml씩 8회 피하 주사하였고 마지막 주사 후 7일째에 전 채혈하여 혈청을 분리하였다.

혈청형 B 및 F phage의 분리

상기한 탈용원화 처리 과정에서 UV조사한 공시균액 2ml를 동량의 2배농도 tryptic soy broth(TSB, Difco)에 가하여 37°C에서 6시간 진탕 배양하였다. 배양균액을 5000 \times g에서 10분간 원심한 다음 syringe filter(0.45 μ m, Nalgene)로 여과한 후 지시균평판배지에 점적시킨 다음 37°C에서 18시간 배양하였다. 지시균평판배지상에 나타난 독립된 용균반 부위의 한천편을 0.5ml의 TSB에 취하여 진탕한 후 원심하여 그 상층액을 다시 지시균평판배지에 접종하였고 이 과정을 2-3회 반복한 후 점적부에 완전용균부위가 형성되면 용균반내의 지시균을 백금이로 수집하여 bovine fibrin-dog plasminogen 한천배지와 면양혈액한천배지에 각각 도말 배양하여 β^-K^+ 또는 β^+K^+ 의 집락이 관찰되는 phage는 Rountree²⁰가 제시한 중화시험방법에 의해 phage의 혈청형을 결정하였다.

지시용 균주는 탈용원화시켜 얻어진 β^+K^- 의 특성을

나타낸 29주(Table 5 및 7)을 사용하였으며 지시균평판 배지의 준비는 지시균을 2ml의 TSB에 접종하여 37°C에서 6시간 배양한 균액을 400µg/ml의 CaCl₂가 함유된 TSA에 균등하게 도달한 다음 여분의 균액을 제거하고 37°C에서 20분정도 건조시킨 후 phage접종에 사용하였다.

결 과

젖소 유방염으로부터 분리된 *Staph aureus* 105주에서 β-hemolysin과 staphylokinase 산생능에 따라 다양한 성상을 보인 균주의 분포를 보면 Table 1에서와 같다. 분리균주의 staphylokinase 산생은 76주(72.4%)에서 양성을 보였으며 이들 중 β⁻K⁺인 균주가 73주(69.5%)로서 거의 대부분이었고 β⁺K⁺의 균주는 3주(2.9%)였다.

분리균주 중 β⁻K⁺와 β⁺K⁺의 특성을 나타낸 76주로부터 7주의 혈청형 F phage를 분리할 수 있었고 이들 분리 phages의 특성은 Table 2에서와 같다. 분리된 7주의 phages 중에서 phage 2-83, 2-177, 2-97, 403 및 506은 β⁻K⁺의 균주로부터 분리되었으며 이들 5 phage는 모두 β-hemolysin을 양성에서 음성으로 그리고 staphylokinase를 음성에서 양성으로 변환시킴에 따라 혈청형 F 2중변환 phage인 것으로 나타났다. 그러나 phage 470과 499는 β⁺K⁺의 특성을 나타낸 균주로부터 분리되었고 이들 2 phage는 staphylokinase만 단독변환시키는 혈청형 F phage인 것으로 나타났다.

분리된 7주의 phage에 대한 각 용원균주의 면역성을 시험한 결과는 Table 3에서와 같다. 이 결과에서 phage 2-83과 2-177의 2 phages와 phage 2-97, 403 및 506의 3 phages 그리고 phage 470과 499의 2 phages에 대한 각 용원균주의 면역반응이 각각 동일하게 나타남에 따라 이들 3군내의 phages들은 서로서로 동종의 phage인 것으로 나타나 분리된 7주의 혈청형 F phages는 다시 3종류로 구분될 수 있었다.

젖소 유방염으로부터 분리된 β⁻K⁺와 β⁺K⁺의 특성을 보인 76균주의 UV조사와 acriflavine으로 처리한 후 나타낸 탈용원화 빈도는 Table 4에서와 같다. 공시균주 중 29주(38.2%)에서 탈용원화가 관찰되었고 이들 균주 중 16주(55.2%)는 0.9% 또는 그 이하의 낮은 탈용원화율을 나타내었다. 그리고 탈용원화가 관찰되지 않은 47균주 중에서 혈청형 F phage가 5균주로부터 분리되기도 하였다.

공시한 β⁻K⁺의 균주 중 탈용원화 된 28균주와 이들의 원균주 사이에 분리된 3종의 혈청형 F phage에 대한 감수성의 차이를 비교한 성적은 Table 5에서와 같다. 탈

용원균 28주 중 4주(D51, D56, D282 및 D287)를 제외한 24주 모두가 원균주와는 달리 phage 2-97에 감수성을 보여 공시한 원균주는 4주(51, 56, 282 및 287)를 제외한 모두가 phage 2-97, 403 또는 506의 3 phages 중 어느 한 phage에 용원화되어 있는 상태로 나타났으나 이들로부터 혈청형 F phage의 분리는 균주 2-97과 403인 2균주에서만 관찰될 수 있었다. 균주 51, 56, 282 및 287과 이들 유래의 탈용원균주에서 공시한 혈청형 F phages에 대한 감수성은 관찰되지 않았다.

공시한 β⁻K⁺의 73균주 중 탈용원화 되지 않은 45균주의 분리된 3종의 혈청형 F phages에 대한 감수성은 Table 6에서와 같다. 이들 균주의 phage pattern이 Table 5에서의 탈용원화 된 원균주와 동일한 양상을 나타내고 있었다. 그리고 균주 2-83, 2-177 그리고 506으로부터는 혈청형 F 2중변환 phage가 각각 분리되었다.

공시한 β⁺K⁺의 특성을 보인 3균주와 이들 중 균주 2-85의 탈용원균주인 D2-85의 분리된 3종의 혈청형 F phage에 대한 감수성은 Table 7에서와 같다. 이들 균주의 phage pattern은 Table 5 및 6에서 제시된 β⁻K⁺의 특성을 보인 73균주의 그것과는 다르게 나타났고 균주 470과 499로부터는 phage 면역성 시험에 의해 서로 동종인 혈청형 F 단독변환 phage가 분리되었다. 균주 2-85와 이 균 유래의 탈용원균주 D2-85 사이에 공시한 혈청형 F phages에 대한 감수성의 차이는 인정되지 않았다.

고 찰

젖소의 유방염으로부터 분리되는 *Staph aureus*는 Hájek 및 Marsálek³의 생물형분류법에서 주로 생물형 C로 형별되면서 staphylokinase 산생 양성주의 분포는 대체로 아주 낮게 나타나고 있는 것으로 알려져 있다. Devriese와 Oeding⁵은 벨기에에서 젖소 유방염유래 *Staph aureus* 156주 중 6%의 균주가 staphylokinase 산생 양성 이었고 이들의 균주를 생물형별함에 있어 A형이 4%, B형이 12%, C형이 63% 그리고 형별불능이 21%였다 하였으며 Shimizu et al³은 일본의 젖소에서 분리한 324주 중 5주만이 staphylokinase 산생 양성이었고 이들의 분리 균주에서 생물형의 분포는 B형이 47.2%, C형이 46.9% 그리고 형별불능이 5.9%라 보고하면서 staphylokinase 산생 양성주는 A형으로 분류되거나 또는 형별불능주로 간주되고 있다. 이 연구에서 젖소 유방염유래 *Staph aureus*의 staphylokinase 산생 양성균주의 분포는 72.4%로 특이하게도 높게 나타났고 이들 균주는 생물형 분류법에 따라 모두 사람유래의 균주에서 볼 수 있는 생물형 A로 형별될 수 있겠으나 상당수 균주의 staphylokinase 산생이

Table 1. Occurrence of various combinations of β -hemolysin and staphylokinase character in *Staph aureus* isolated from bovine mastitis

Type ^a	No of strains	%
β^-K^+	73	69.5
β^+K^+	3	2.9
β^+K^-	27	25.7
β^-K^-	2	1.9
Total	105	100.0

^a β^+ ; β^- , β -hemolytic and non- β -hemolytic; K^+ ; K^- , staphylokinase positive and staphylokinase negative.

Table 2. Characteristics of serotype F phages isolated from *Staph aureus* of bovine origin

Characteristic ^a	Phage						
	ϕ 2-83	ϕ 2-177	ϕ 2-97	ϕ 403	ϕ 506	ϕ 470	ϕ 499
Serotype	F	F	F	F	F	F	F
Ability to convert from β^+ to β^-	+	+	+	+	+	-	-
Ability to convert from K^- to K^+	+	+	+	+	+	+	+

^a See footnote a of Table 1.

Table 3. Immunity reaction of each lysogenic strain to the test phages

<i>Staph aureus</i> ^a	Phage ^b						
	ϕ 2-83	ϕ 2-177	ϕ 2-97	ϕ 403	ϕ 506	ϕ 470	ϕ 499
446	+	+	-	-	-	+	+
D446	+	+	+	+	+	+	+
D446 (ϕ 2-83)	-	-	+	+	+	+	+
D446 (ϕ 2-177)	-	-	+	+	+	+	+
D446 (ϕ 2-97)	+	+	-	-	-	+	+
D446 (ϕ 403)	+	+	-	-	-	+	+
D446 (ϕ 506)	+	+	-	-	-	+	+
D446 (ϕ 470)	+	+	+	+	+	-	-
D446 (ϕ 499)	+	+	+	+	+	-	-

^a Lysogenizing phage strain in parentheses.

^b +, lysis ; -, no lysis.

Table 4. Delysogenization rates by UV irradiation and acriflavine treatment in 76 strains of β^+K^+ and β^-K^+ *Staph aureus*

Delysogenization rate ^a (%)	No of strains
≥ 10.0	6
1.0 - 9.0	7
0.1 - 0.9	11
< 0.1	5
None	47 ^b
Delysogenized strains (%)	29/76 (38.2)

^a Delysogenizing treatments were performed according to the method of Kondo *et al.*(1976), and delysogenization rates were estimated from the percentage of the number of β -hemolysin producing colonies and staphylokinase negative colonies in total colonies.

^b Among 47 non-delysogenized strains, 5 were found to carry serotype F converting phage.

Table 5. Difference of sensitivities to serological group F phages between original strain and delysogenized strain of *Staph aureus*

Original strain (β^+K^+) ^a	Phage ^b			Delysogenized strain (β^-K^+) ^a	Phage ^b		
	φ 2-83	φ 2-97	φ 470		φ 2-83	φ 2-97	φ 470
51	-	-	-	D51	-	-	-
56	-	-	-	D56	-	-	-
74	-	-	-	D74	-	+	-
76	-	-	-	D76	-	+	-
2-29	-	-	-	D2-29	-	+	-
2-86	-	-	-	D2-86	-	+	-
2-97 ^c	-	-	-	D2-97	-	+	-
282	-	-	-	D282	-	-	-
287	-	-	-	D287	-	-	-
315	-	-	-	D315	-	+	-
316	-	-	-	D316	-	+	-
338	-	-	-	D338	-	+	-
403 ^c	+	-	+	D403	+	+	+
407	+	-	+	D407	+	+	+
413	+	-	+	D413	+	+	+
414	+	-	+	D414	+	+	+
419	+	-	+	D419	+	+	+
426	+	-	+	D426	+	+	+
436	+	-	+	D436	+	+	+
437	+	-	+	D437	+	+	+
439	+	-	+	D439	+	+	+
440	+	-	+	D440	+	+	+
444	+	-	+	D444	+	+	+
446	+	-	+	D446	+	+	+
480	+	-	+	D480	+	+	+
659	-	-	-	D659	-	+	-
666	-	-	-	D666	-	+	-
712	-	-	-	D712	-	+	-

^a See footnote a of Table 1. ^b +, lysis ; -, no lysis.

^c Strain from which serotype F double converting phage was isolated.

Table 6. Sensitivities to serological group F phages of 45 strains from which delysogenized cells were not isolated after delysogenizing treatments

Original strain (β^+K^+) ^a	Phage ^b			Original strain (β^+K^+) ^a	Phage ^b		
	ϕ 2-83	ϕ 2-97	ϕ 470		ϕ 2-83	ϕ 2-97	ϕ 470
49	-	-	-	2-163	-	-	-
50	-	-	-	2-177 ^c	-	-	-
55	-	-	-	2-179	-	-	-
58	-	-	-	2-189	-	-	-
79	+	-	+	2-200	-	-	-
82	+	-	+	236	-	-	-
83	+	-	+	238	-	-	-
84	+	-	+	251	-	-	-
85	+	-	+	257	-	-	-
86	+	-	+	408	-	-	-
87	+	-	+	456	+	-	+
88	+	-	+	457	+	-	+
89	+	-	+	465	+	-	+
104	-	-	-	467	-	-	-
2-4	-	-	-	506 ^c	-	-	-
2-12	-	-	-	513	-	-	-
2-28	-	-	-	516	-	-	-
2-31	-	-	-	524	-	-	-
2-49	-	-	-	541	-	-	-
2-83 ^c	-	-	-	632	-	-	-
2-104	+	-	+	669	-	-	-
2-113	-	-	-	689	-	-	-
2-130	+	-	+				

^a See footnote a of Table 1.

^b +, lysis ; -, no lysis.

^c Strain from which serotype F double converting phage was isolated.

Table 7. Sensitivities to serological group F phages of 3 original strains of β^+K^+ *Staph aureus* and 1 delysogenized strain

<i>Staph aureus</i>	Phage ^b		
	ϕ 2-83	ϕ 2-97	ϕ 470
Original strain (β^+K^+) ^a			
2-85	+	+	+
470 ^c	-	+	-
499 ^c	-	+	-
Delysogenized strain (β^+K^+) ^a			
D2-85	+	+	+

^a See footnote a of Table 1.

^b +, lysis ; -, no lysis.

^c Strain from which serotype F single converting phage was isolated.

Winkler *et al*¹¹이 보고한 혈청형 F 포도구균 phage에 의한 용원변환의 결과임을 확인할 수 있었다. 따라서 Hájek 및 Maršálek⁸와 Devriese¹⁰의 생물형 분류법의 응용에는 staphylokinase의 본성이 명확히 규명되어야 정확한 형별이 가능할 것으로 사료된다.

혈청형 F 포도구균 phage에 의한 용원균의 표현형질이 β^+K^- 에서 β^-K^+ 로의 변환은 이 phage의 DNA가 정위특이성에 따라 숙주균의 염색체 DNA상에 있는 β -hemolysin 산생 유전자에 통합됨으로써 삽입적 불활성화에 의해 β -hemolysin 산생능이 상실되고 staphylokinase 산생능의 획득은 phage DNA에 존재하는 유전자에 의한 결과인 것으로 밝혀져 있다²¹⁻²⁵. 이 연구에서 분리된 β^-K^+ 와 β^+K^+ 의 특성을 나타낸 76균주에 대해 Kondo *et al*^{17,18}의 방법에 따라 탈용원화 처리를 한 결과를 보면 29(38.2%)균주에서 prophage가 제거됨에 의해 본래의 형질인 β^+K^- 의 특성을 관찰할 수 있었으나 이들 중 반수 이상 균주의 탈용원화 빈도는 0.9%이하로 아주 낮게 나타남을 볼 수 있었다. 그리고 분리된 7주의 혈청형 F phage 중에서 5주는 탈용원화가 일어나지 않은 균주 중에서 분리되고 있었을 뿐만 아니라 탈용원화가 관찰되지 않은 균주(β^-K^+)와 관찰된 원균주(β^-K^+)의 phage pattern에 차이가 인정되지 않은 것으로 미루어 보아 공시한 staphylokinase 산생양성 76주의 전부가 혈청형 B 또는 F phage에 의한 용원균주로 추정되고 있으므로 이들의 균주로부터 prophage를 증명해 낼 수 있는 보다 효과적인 방법이 요구된다 하겠다.

용원균으로부터 prophage를 제거시킨 탈용원균주는 용원성 phage의 분리를 위한 좋은 증식용 균주가 될 수 있다. 이 연구에서 탈용원화 처리에 의해 얻은 탈용원균주를 사용하여 staphylokinase 산생양성의 76균주로부터 혈청형 B 또는 F phage의 분리를 시도하였던 바 모두 7주의 혈청형 F phage가 분리되어 아주 낮은 분리빈도를 나타내었는데 특히 혈청형 F phage의 탈용원화가 관찰된 28균주(Table 5) 중에서도 단지 2균주에서만 분리됨을 볼 때 이들 균주들이 보유하고 있는 prophage는 Kondo *et al*¹⁷이 관찰한 바와 같은 defective prophage일 것으로 판단된다. 그리고 분리된 7주의 혈청형 F phage에 대한 각 용원균주의 면역성시험에 의해 이들 혈청형 F phage는 다시 3종류로 구별될 수 있었고 탈용원화된 28균주(Table 5) 중 24균주가 phage 2-97에 감수성임을 볼 때 이들의 원균주(β^-K^+)는 phage 2-97 또는 그와 동종의 phage에 의해 용원화되었음을 알 수 있다. 한편 탈용원균주 D51, D56, D282 및 D287은 공시한 3종의 F phage에 대해 감수성을 나타내지 않음을 볼 때 이들 3종의 F phage 외에 또다른 종류의 혈청형 F phage가 존재

함을 시사해 준다 하겠다.

이 연구에서 β^+K^+ 의 특성을 나타낸 공시균 3균주 중 균주 470과 499로부터 분리된 두 phage는 staphylokinase 만 양성으로 변환시켜 Kondo와 Fujise¹²가 보고한 혈청형 B phage와 동일한 특성을 나타내었으나 이들 phage가 혈청형 F군인 phage 42D의 항혈청에 의해 중화됨에 따라 혈청학적으로 F phage임이 판명된 사실은 이미 Park과 Seo¹³에 의해 보고된 바 있다. 이들 2 혈청형 F 단독변환 phage(phage 470과 499)는 면역성시험에서도 같이 공시한 5주의 혈청형 F 2중변환 phage와는 다른 종의 phage인 것으로 관찰되었다. 그리고 β^+K^+ 의 특성을 지닌 3균주의 탈용원화 처리에 의해 균주2-85에서만 탈용원균주(D2-85)를 얻을 수 있었으나 phage는 어떠한 것도 분리되지 않았다. 이 탈용원균주와 원균주 사이에 공시한 혈청형 F phage에 대한 감수성의 차이가 인정되지 않은 점으로 보아 균주 2-85는 다른종의 혈청형 F phage 나 아니면 혈청형 B phage에 의해 용원화되었을 것으로 추측된다.

결 론

젖소 유방염으로부터 분리된 *Staphylococcus aureus*의 105균주 중 76주(72.4%)가 staphylokinase 산생 양성으로 관찰되고 있어 이들 균주들에 대해서 탈용원화처리와 phage 분리의 방법으로 용원변환에 대한 조사를 수행하였다. Staphylokinase 산생 양성의 76균주 중 자외선 조사와 acriflavine으로 탈용원화처리에 의해 29주(38.2%)에서 탈용원화가 관찰되었고 이들 균주 중 반수 이상이 0.9%이하의 낮은 탈용원화율을 나타내었다.

Staphylokinase 산생 양성의 76균주로부터 혈청형 B 및 F phage 분리의 시도에서 모두 7주의 혈청형 F phage가 분리되었고 분리된 phage들은 면역성시험에 의해 다시 3종류로 세분될 수 있었다.

감염성의 혈청형 F phage는 탈용원화가 관찰된 29균주 중 2균주에서 그리고 탈용원화가 관찰되지 않은 47균주 중 5균주에서 분리되었다. 탈용원화처리에 의해 용원성으로 확인된 균주와 탈용원화가 관찰되지 않은 균주 사이에 혈청형 F phage에 대한 감수성의 차이는 인정되지 않았다. 이들 결과로 보아 용원성이 확인되지 않은 나머지 42균주의 staphylokinase 산생도 용원변환에 의한 결과일 것으로 추정된다.

참고문헌

1. Roberson JR, Fox LK, Hancock DD, *et al.* Evaluation

- of methods for differentiation of coagulase-positive staphylococci. *J Clin Microbiol*, 30 : 3217-3219, 1992.
2. Harmon RJ, Langlois BE, Akers K. A simple medium for the verification of identity of *Staphylococcus aureus* of bovine origin. *J Dairy Sci*, 74(Suppl. 1) : 202, 1991.
 3. Shimizu A, Kawano J, Kimura S. Biotyping of coagulase-positive *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus intermedius* strains isolated from various animals in Japan. *Jpn J Vet Sci*, 48 : 1227-1235, 1986.
 4. Meyer W. Differenzierungsschema für Standortvarianten von *Staphylococcus aureus*. *Zbl Bakt Hyg, Abt I Orig*, A201 : 465-481, 1966.
 5. Devriese LA, Oeding P. Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from different animal species. *Res Vet Sci*, 21 : 284-291, 1976.
 6. Witte W, Hummel R, Meyer W, et al. Ecology of *Staphylococcus aureus* : Characterization of strains from chicken. *Z Allg Mikrobiol*, 17 : 639-646, 1977.
 7. Dimitracopoulos G, Sakellariou C, Papavassiliou J. Staphylococci from the feces of different animal species : Biotypes of *Staphylococcus aureus* strains of sheep and goat origin. *Appl Environ Microbiol*, 32 : 53-55, 1976.
 8. Hájek V, Maršálek E. The differentiation of pathogenic staphylococci and a suggestion for their taxonomic classification. *Zbl Bakt Hyg, Abt I Orig*, A217 : 176-182, 1971.
 9. Hájek V. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *Int J Syst Bacteriol*, 26 : 401-408, 1976.
 10. Devriese LA. A simplified system for biotyping *Staphylococcus aureus* strains isolated from different animal species. *J Appl Bacteriol*, 56 : 215-220, 1984.
 11. Winkler KC, de Waart J, Grooten C, et al. Lysogenic conversion of staphylococci to loss of β -toxin. *J Gen Microbiol*, 39 : 321-333, 1965.
 12. Kondo I, Fujise K. Serotype B staphylococcal bacteriophage singly converting staphylokinase. *Infect Immun*, 18 : 266-272, 1977.
 13. Park CK, Seo MS. Isolation and characteristics of serotype F staphylococcal phage singly converting staphylokinase. *Korean J Vet Res*, 40 : 49-55, 2000.
 14. Mason RE, Allen WE. Characteristics of *Staphylococcus aureus* associated with lysogenic conversion to loss of beta-hemolysin production. *Can J Microbiol*, 21 : 1113-1116, 1975.
 15. Devriese LA, Van de Kerckhove A. A comparison of methods used for testing staphylokinase(fibrinolysin) production in *Staphylococcus* strains. *Antonie van Leeuwenhoek*, 46 : 457-465, 1980.
 16. Hinton NA, Orr JH. The distribution of toxins in coagulase-positive staphylococci isolated from infections and carriers. *J Lab Clin Med*, 50 : 912, 1957.
 17. Kondo I, Fujise K, Sakurai S. Staphylokinase mediated by lysogenic conversion. *Zbl Bakt Parasit Infect Hyg, Abt I Suppl* 5, 529-538, 1976.
 18. Kondo I, Nakahara H, Ishikawa T, et al. Simple effective method for delysogenizing *Staphylococcus aureus*. *Jikeikai Med J*, 23 : 223-231, 1976.
 19. Dowell CE, Rosenblum ED. Serology and transduction in staphylococcal phage. *J Bact*, 84 : 1071-1075, 1962.
 20. Rountree PM. Serological studies of the multiplication of a staphylococcal bacteriophage. *Aust J Epl Biol Med Sci*, 30 : 567-587, 1952.
 21. Coleman DC, Sullivan DJ, Russell RJ, et al. *Staphylococcus aureus* bacteriophages mediating the simultaneous lysogenic conversion of β -lysin, staphylokinase and enterotoxin A : Molecular mechanism of triple conversion. *J Gen Microbiol*, 135 : 1679-1697, 1989.
 22. Coleman DC, Arbutnot JP, Pomeroy HM, et al. Cloning and expression in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* of the beta-lysin determinant from *Staphylococcus aureus* : Evidence that bacteriophage conversion of beta-lysin activity is caused by insertional inactivation of the beta-lysin determinant. *Microb Pathogen*, 1 : 549-564, 1986.
 23. Lee CY, Iandolo JJ. Structural analysis of staphylococcal bacteriophage ϕ 11 attachment sites. *J Bact*, 170 : 2409-2411, 1988.
 24. Carroll JD, Cafferkey MT, Coleman DC. Serotype F double-and triple-converting phage insertional inactivate the *Staphylococcus aureus* β -toxin determinant by a common molecular mechanism. *FEMS Microbiol Lett*, 106 : 147-156, 1993.
 25. Borecká P, Rosypal S, Pantůček R, et al. Localization of prophage of serological group B and F on restriction fragments defined in the restriction map of *Staphylococcus aureus* NCTC 8325. *FEMS Microbiol Lett*, 143 : 203-210, 1996.