

Staphylococcin 感受性에 의한 *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*의 菌型別

朴 清 圭
慶北大學校 獸醫科大學
(1993년 5월 10일 접수)

Typing of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* by staphylococcin sensitivity

Cheong-kyu Park

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University

(Received May 10, 1993)

Abstract : Strains of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* were compared and differentiated by staphylococcin sensitivity. Strains were tested by the cross-streaking method on brain heart infusion agar. From 31 staphylococcin producers, a typing set of 9 producers was selected and used to type all of the strains.

All 81 strains of *Staph hyicus* subsp. *hyicus* tested were typable and were differentiated into 12 different sensitivity patterns. Strains of the same serotype from different sources could be further subdivided by their staphylococcin sensitivity patterns.

Other staphylococcus species could also be typed by use of the 9 standard strains of *Staph hyicus* subsp. *hyicus*.

Key words : *Staphylococcus hyicus*, staphylococcin sensitivity patterns, serotypes.

緒 論

Staphylococins은 葡萄球菌이 산생해 내는 抗菌性物質로서 그 성분은 리포단백-탄수화물 복합체로 밝혀져 있다.^{1~4} 이 물질은 同種 또는 近緣의 菌種에 대해서 뿐만 아니라 *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus* 그리고 *Clasitridium*屬의 菌에 대해서도 發育阻止作用을 나타내며 gram 陰性桿菌에 대한 阻止效果는 인정되고 있지 않다.

5-9

여러 gram 陰性桿菌에 있어 bacteriocin 產生頻도는 상당히 높게 나타나고 있어 각종 재료로부터 분리된 菌株는 그들의 bacteriocin 產生 또는 感受性 양상의 차이에 의해서 型別될 수 있고 bacteriocin 型別은 *Serratia marcescens*^{10, 11}, *Klebsiella*^{12, 13}, *Escherichia coli*¹⁴, *Pseudomonas aeruginosa*^{15, 16} 그리고 *Proteus*¹⁷ 등의 疫學的 또는 生態學의 研究에 유용한 수단으로 이용되고 있다.

Staphylococcus hyicus subsp. *hyicus*의 staphylococcin 產生能에 관해 前報⁹에서 돼지滲出性 表皮炎 發症仔豚과 健康豚 皮膚由來 菌株의 38.1%가 staphylococcin 產生陽性株로서 이들 菌株만이 指示菌에 대한 發育阻止 양상에 따라 10 型으로 분류될 수 있었으나 staphylococcin 非產生인 型別不能菌이 많은 것으로 나타나 이 菌의 staphylococcin 產生에 의한 菌型別率은 그다지 높지 않음을 報告한 바 있다.

Staphylococcin 型別이 葡萄球菌의 疫學的 研究의 수단으로서 意義는 높은 型別率과 안정성 그리고 많은 型으로 구분할 수 있는데서 찾을 수 있다. 따라서 이 研究에서는 돼지로부터 분리된 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*에 대해 staphylococcin 型別의 다른 방법인 staphylococcin 感受性에 의하여 분리菌株의 菌型別을 시도하였고 나아가 同一血清型의 菌株가 staphylococcin 型別에 의하여 더욱 細分될 수 있는지에 대해 검토하였다.

材料 및 方法

供試菌 : 총 81株의 *Staph. hyicus* subsp. *hyicus*를 공시하였다. 이들중 72株는 健康豚의 피부로부터 분리되었고 나머지 9株는 滲出性表皮炎 發症仔豚으로부터 분리되었다.

供試된 他 葡萄球菌의 菌種들은 젖소의 乳房炎 乳汁으로부터 분리되었다.

Staphylococci producers의 選定 : 前報⁹에서와 같은 방법으로 staphylococci 產生能 시험에서 供試菌 81株中 31株가 staphylococci 產生株였다. 이들중 15株는 供試菌에 대한 發育阻止作用이 미약하여 제외시켰고 나머지 16株中 指示菌으로 사용된 供試菌들을 發育阻止 양상에 의해 가장 잘 區別지게 하는 staphylococci 產生菌 9株를 선발하였고 이들 9株가 全供試菌의 staphylococci 감수성에 의한 型別에 사용되었다.

Staphylococci 感受性에 의한 菌型別 : Brain heart infusion agar(Difco)平板培地에 staphylococci producer 菌株를 4cm 정도의 간격을 두고 2직선으로 평행되게 도말하여 37°C에서 48시간 배양한 후 發育菌을 slide glass와 면봉으로 제거하고 Petri dish 뚜껑에 chloroform을 3ml정도 加하여 培地面을 거꾸로 두어 20분간 처리함으로써 잔류균을 殺滅시켰다. 여기에 brain heart infusion broth(Difco)에서 37°C 16시간 배양한 供試菌液 1白金耳를 1직선상에 5株씩 교차도말하고 다시 37°C에서 24시간 배양한 후 供試菌의 發育阻止 有無를 보아 판정하였다.

각 菌株의 staphylococci sensitivity pattern은 3자리 숫자로 표시하였다. 즉, 9株의 staphylococci producer를 3株씩 묶어 3群으로 나누고 1群에서 반응이 +++=1, ++-=2, +-+=3, -++=4, +--=5, -+-=6, --+=7 그리고 --- 이면 8의 기호를 부여한 후 각 群別로 나타난 숫자를 모아 표시하였다. 예로서 한 供試菌株가 9株의 staphylococci producer 모두에 의해 發育阻止 반응을 보이면 "111"로 표시하였다.

血清型別 : 供試菌의 血清型은 朴 및 康¹⁸이 報告한 방법에 따라 검사하였다. 즉, 6血清型의 각 菌株를 토끼에 면역하여 抗血清을 얻었고 이를 다시 흡수시켜 준비한 因子血清을 사용하여 slide 응집반응에 의해 血清型을 결정하였다.

結 果

Staphylococci 產生 9菌株의 각각이 供試한 81株의 *Staph. hyicus* subsp. *hyicus*에 대한 發育阻止作用은 Table 1에서와 같다. 이들 產生 各 菌株에 의해 半數이상의 供

Table 1. Inhibition of 81 *Staph. hyicus* subsp. *hyicus* by each of the 9 staphylococci producers

Staphylococci producer	No. of strains inhibited	%
M14	44	54.3
N 5	41	50.6
N38	42	51.9
10	38	46.9
M 4	48	59.3
R16	44	54.3
N27	78	96.3
A 4	76	93.8
J 52	79	97.5

Table 2. Staphylococci sensitivity patterns of 81 strains of *Staph. hyicus* subsp. *hyicus*

Source	Pattern	No. of strains
Healthy pig (72 strains)	111	29
	112	1
	113	4
	141	2
	144	2
	311	1
	581	2
	841	2
	861	1
	881	26
Diseased pig (9 strains)	882	1
	884	1
	111	2
	113	1
	861	3
	881	3

試菌이 阻止됨을 볼 수 있었고 특히 產生菌株 N 27, A4 그리고 J 52는 90% 이상의 높은 阻止率을 나타내었다.

Staphylococci 產生菌 9株를 사용하여 滲出性表皮炎 發症仔豚과 健康豚의 피부로부터 분리된 *Staph. hyicus* subsp. *hyicus*의 staphylococci sensitivity pattern의 分布는 Table 2에서와 같다. 供試菌 81株의 각각이 2이상의 staphylococci에 대해 感受性を 나타냄에 따라 全菌株가 型別되어 12型으로 분류될 수 있었으며 이들중 111型과 881型이 전체의 74.1%로 대부분을 차지하였다. 發症仔豚 由來株에서는 861型과 881型이 대체로 많았다.

同一血清型의 菌株들에 있어 staphylococci sensitivity pattern의 分布를 보면 Table 3에서와 같다. 各血清型群의 菌株들은 2種에서부터 6種에 이르기까지 다양한 staphylococci型이 분포함에 따라 同一血清型菌이 더욱 細分될 수 있었고 出現하는 staphylococci型과 빈도는 血清型에 따라 차이가 있음을 볼 수 있었다.

Table 3. Subdivision of strains of the same serotype by staphylococci sensitivity pattern

Serotype	Staphylococci sensitivity pattern	No. of strains
A (17 strains)	111	6
	581	1
	841	1
	861	2
	881	6
	884	1
B (19 strains)	111	8
	113	2
	841	1
	861	2
	881	6
C (21 strains)	111	3
	141	1
	144	2
	581	1
	881	13
D (7 strains)	882	1
	111	5
	112	1*
E (8 strains)	881	1
	111	2
	113	3
F (7 strains)	141	1
	881	1*
	Untypable	881
Not tested	311	1

* These two strains were isolated from skin of one healthy pig.

Table 4. Differentiation of strains undistinguished by serological typing in litters affected with exudative epidermatitis

Litter affected	Strain	Serotype	Staphylococci sensitivity pattern
1	31	A	881
2	61*	A	861
	62-1*	A	861
3	111	B	111
4	51	B	881
5	10	B	861
6	11	C	111
7	131	C	881
8	12	F	113

* Strains 61 and 62-1 were isolated from two different piglets in an affected litter.

한 個體의 健康豚 피부로부터 분리된 2菌株가 血清型 (I)와 F型)에 의해서 뿐만 아니라 staphylococci型(112

Table 5. Staphylococci sensitivity patterns of other staphylococcal species

Staphylococcus species	No. of strains tested	Staphylococci sensitivity pattern	No. of strains
<i>Staph aureus</i>	9	561	2
		851	1
		881	6
<i>Staph simulans</i>	2	884	2
<i>Staph haemolyticus</i>	1	311	1
<i>Staph xylosus</i>	4	311	1
		821	3

와 881型)에 의해서도 각기 서로 다른 菌株인 것으로 판별될 수 있었다.

야외 滲出性表皮炎 發症例에서 분리된 同一血清型의 菌株에 대해서 staphylococci型에 의한 細分의 결과는 Table 4에서와 같다. 血清學的인 型別에 의해서는 區別되지 않은 同一血清型에 의한 感染例들이 staphylococci sensitivity pattern에 의해서 서로 다른 菌株에 의한 感染으로 판명될 수 있었다. 1腹의 感染仔豚 2頭로부터 각기 분리된 菌株 61과 62-1은 血清型과 staphylococci型이 모두 同一함을 보였다.

선발된 staphylococci producer 9株를 사용하여 *Staph hyicus* subsp. *hyicus* 이의 葡萄球菌의 staphylococci型別能은 Table 5에서와 같이 供試菌種의 모든 菌株가 型別될 수 있었다. *Staph aureus*의 대부분은 881型이었고, *Staph xylosus*에서는 821型이 많았다. *Staph simulans* 2株는 모두 884型이었다.

考 察

Bacteriocin 型別은 전혀 다른 유전적특성에 근거를 둔 bacteriocin 產生과 bacteriocin 感受性에 의한 2가지 방법중 어느것으로도 행해질 수 있다.^{19,20} Bacteriocin 產生에 의한 菌型別은 오직 높은 產生頻度を 보이는 菌種에 대해 실시함으로써 분리균을 많은 型으로 區分할 수 있어 疫學的意義를 찾을 수 있다. 前報⁹에서 돼지로부터 분리된 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*의 staphylococci 產生頻도는 38.1%로서 이들 菌株만이 10型으로 區分할 수 있어 이菌의 staphylococci 產生에 의한 菌型別率은 대체로 낮은 경향임을 報告한 바 있다. 본 연구에서는 이들 菌株를 staphylococci 感受性에 의한 방법으로 型別을 시도하였던 바 供試한 各 菌株는 선발된 9株의 staphylococci 產生菌中 2 以上の 菌株에 의해 產生된 staphylococci에 대하여 感受性을 보임에 따라 全供試菌株가 型別됨을 관찰할 수 있어 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*의 staphylococci型別에는 staphylococci 感受性에 의한

방법이 이 菌의 분류를 위해서 더 유용한 수단임을 알 수 있었다.

Staph hyicus subsp. *hyicus*의 血清型에 관해朴 및康¹⁸은 6血清型을 확인했고 이들중 4血清型이 哺乳仔豚의 滲出性表皮炎 發症例에서 분리됨을 報告한 바 있다. 본 연구에서 供試菌들에 대해 血清型을 결정한 후 同一한 血清型群의 菌株에서 出現하는 staphylococcin型과 빈도를 보았던 바 同一血清型的 菌株에서도 staphylococcin型에 의해 다시 다양하게 細分될 수 있었고 逆으로 同一한 staphylococcin 型群의 菌株에서 여러 血清型이 分布함을 볼 수 있었는데 이러한 結果는 이 菌에 대해 血清型과 staphylococcin型을 동시에 추구함으로써 疫學的 有用성을 더욱 높일 수 있음을 시사한다 하겠다.

Staph hyicus subsp. *hyicus*에 있어 疫學的標識로서 staphylococcin 感受性的 안정성은 야외 滲出性表皮炎 發症例에서 관찰할 수 있었다. 1腹의 感染仔豚 2頭로부터 분리된 菌株 61과 62-1은 모두가 血清型 A로 同定되었고 동시에 staphylococcin 感受성에 의한 型別에서도 이들 2菌株는 同一함을 보이고 있어 이 同腹의 仔豚들에서 發病은 同一菌株에 의한 感染임을 확인할 수 있었다.

본 연구에서 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*이외의 葡萄球菌에 대해 staphylococcin 感受성에 의한 菌型別을 시도한 성적에서 供試한 各 菌種이 이들 產生菌株에 의해서도 또한 型別될 수 있음을 보았다. 현재 葡萄球菌의 各 菌種에 대한 血清學的型別은 확립되어 있지 않다. Pulver와 Sieg²¹는 *Staph aureus*의 50% 菌株가 staphylococcin 產生陽性임을 報告하였고, Fink와 Ortel²²은 단일 指示菌을 사용하여 *Staph aureus*의 4.1%와 *Staph epidermidis*의 5.7% 菌株에서 그리고 Hsu와 Wiseman⁶은 *Staph aureus*의 4.9%와 coagulase 음성 葡萄球菌의 8.5% 菌株에서만 staphylococcin 產生能이 있음을 報告한 성적으로 미루어 보아 葡萄球菌屬의 各 菌種에 있어 staphylococcin 產生頻도는 대체로 낮은 것으로 판단된다. 따라서 각종 병원 재료에서 분리된 葡萄球菌은 staphylococcin 感受성에 의한 菌型別이 이 菌의 疫學的 및 生態學的研究에 있어 보다 효과적인 수단이 될 수 있을 것으로 사료된다.

선발된 staphylococcin 產生菌 9株를 사용하여 供試한 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*의 菌株에서 전개되는 staphylococcin 感受性型은 모두 12個型으로 나타났다. 이 중 111型和 881型이 전체의 74%로서 이들 2型에 편중되고 있어 判別力이 저하됨을 볼 수 있었는데 이러한 경향은 앞으로 새로운 staphylococcin 產生菌을 선발하여 追加시킴으로써 이들 型에 속해 있는 菌株들도 더욱 細別될 수

있을 것으로 판단된다.

結 論

대지로부터 분리된 *Staph hyicus* subsp. *hyicus* 菌株에 대해 staphylococcin 感受성에 의한 菌型別을 시도하였다. 그리고 同一血清型的 菌株가 staphylococcin型別에 의해서 더욱 細分될 수 있는지를 검토하였다.

Staphylococcin 산생균 31株로부터 指示菌들에 대한 阻止樣相이 서로 다른 9株를 선발하였고 선발된 產生菌 9株를 사용하여 供試菌 81株에 대해 型別해 본 결과 全 供試菌이 型別되어 12個型으로 분류될 수 있었다. 供試菌中 同一血清型的 菌株는 staphylococcin 感受性型에 의하여 더욱 細分될 수 있었다.

供試된 他 葡萄球菌의 菌種들도 선발된 staphylococcin 產生菌 9株에 의해 全菌株가 또한 型別될 수 있었다.

參 考 文 獻

1. Gagliano VJ, Hinsdill RD. Characterization of a *Staphylococcus aureus* bacteriocin. *J Bact* 1970 ; 104 : 117~125.
2. Lachowicz T. Investigations on staphylococins. *Zbl Bakt I Abt Org* 1965 ; 196 : 340~351.
3. Barrow GI. Microbial antagonism by *Staphylococcus aureus*. *J Gen Microbiol* 1963 ; 31 : 471~481
4. Barrow GI. The nature of inhibitory activity by *Staphylococcus aureus* type 71. *J Gen Microbiol* 1963 ; 32 : 255~261.
5. Parker MT, Simmons LE. The inhibition of *Corynebacterium diphtheriae* and other Gram-positive organisms by *Staphylococcus aureus*. *J Gen Microbiol* 1959 ; 21 : 457~476.
6. Hsu CY, Wiseman GM. Antibacterial substances from *Staphylococci*. *Can J Microbiol* 1967 ; 13 : 947~955.
7. Jones GW, Edwards SJ. Examination of an antibiotic produced by coagulase-negative staphylococci isolated from the bovine udder. *J Dairy Res* 1966 ; 33 : 271~276.
8. Edward SJ, Jones GW. The distribution and characters of coagulase-negative staphylococci of the bovine udder. *J Dairy Res* 1966 ; 33 : 261~270.
9. Park CK. Bacteriocin(staphylococcin) typing of swine strains of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*. *Korean J Vet Res* 1992 ; 32 : 579~583.
10. Farmer JJ, III. Epidemiological differentiation of

- Serratia marcescens* : Typing of bacteriocin production. *Appl Microbiol* 1972 ; 23 : 218~225.
11. Traub WH, Raymond EA, Startzman TS. Bacteriocin(marcescin) typing of clinical isolates of *Serratia marcescens*. *Appl Microbiol* 1971 ; 21 : 837~840.
 12. Edmondson AS, Cooke EM. The development and assessment of a bacteriocin typing method for *Klebsiella*. *J Hyg, Camb* 1979 ; 82 : 207~223.
 13. Hall FA. Bacteriocine typing of *Klebsiella* spp. *J Clin Path* 1971 ; 24 : 712~716.
 14. Vosti KL. Production of and sensitivity to colicins among serologically classified strains of *Escherichia coli*. *J Bact* 1968 ; 96 : 1947~1952.
 15. Fyfe JAM, Harris G, Govan JRW. Revised pyocin typing method for *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 1984 ; 20 : 47~50.
 16. Schable B, Olson DR, Smith PB. Improved, computer generated system for pyocin typing of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 1986 ; 24 : 1017 ~ 1022.
 17. Cradock-Waston JE. The production of bacteriocines by *Proteus* species. *Zentralbl Bakteriol Parasitenk Infektionskr Hyg Abt Orig* 1965 ; 196 : 385 ~ 388.
 18. Park CK, Kang BK. Studies on exudative epidermitis in pig. II . Serological typing of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* isolated from pigs. *Korean J Vet Res* 1987 ; 27 : 47~52.
 19. Reeves P. The bacteriocins. *Bacteriol Rev* 1965 ; 29 : 24~45.
 20. Nomura M. Colicins and other related bacteriocins. *Annu Rev Microbiol* 1967 ; 21 : 257~284.
 21. Pulverer G, Sieg JF. Bacteriocinotypie bei *Staphylococcus aureus*. *Zbl Bakt Hyg I Abt Orig* 1972 ; 222 : 446 ~458.
 22. Fink H, Ortel S. Untersuchungen über Staphylococcins : I. Isolierung Staphylococcinbildender Stämme, Herkunft, Lysisbild und Antibiotikaresistenz. *Zbl Bakt I Abt Orig* 1969 ; 211 : 39~47.
-