

유방염 감염 우유에서 분리된 *Staphylococcus* sp의 지방산 조성 비교

김순태 · 김 신 · 김상윤 · 손재권

경상북도 가축위생시험소 북부지소

Comparison of fatty acid composition of *Staphylococcus* sp isolated from bovine mastitis milk

Soon-Tae Kim, Shin Kim, Sang-Young Kim, Jae-Kweon Son

North Branch of Kyung-Buk Veterinary Service Laboratory

Abstract

The result of API staph-ident system was compared with cellular fatty acid composition for the identification of *Staphylococcus* species isolated from cattle. Isolated strains from cattle were correctly identified to *S aureus*, *S intermedius*, *S hyicus*, *S simulans*, *S saprophyticus*, *S epidermis*, *S sciuri* and *S xylosus* by API staph-ident system. The correlation between bacterial cellular fatty acid profile and *Staphylococcus* species isolated to API STAPH-IDENT system were. In conclusion, the result presented indicate that *Staphylococci* can be indentified to the species level by the cellular fatty acid profiles. Moreover, computerized fatty acid profile correlative anaylsis can be applied for determining identify of *Staphylococcus* species.

Key words : *Staphylococcus* sp, Cellular fatty acid, API STAPH-IDENT system

서 론

사람 및 동물에 있어서 포도상구균은 질병과 관련된 중요한 인자이며 여러가지 항생제에

대한 높은 수준의 저항성이 종종 입증되고 있으며¹⁻³⁾. 현재 27개의 서로 다른 종으로 분류 보고되어져 있다⁴⁾. 사람의 질병에 관여하는 포도상구균은 *S aureus*, *S epidermidis* 그리고

*S saprophyticus*가 높은 빈도로 발견되며, 동물에 있어서는 *S aureus*, *S intermedius*, *S hyicus* 등이 많은 것으로 알려져 있으며 그 밖의 일부 다른 종은 병원성이 의심스럽거나 병원성이 없는 것으로 알려져 있다⁷⁾. 그러므로 이들 포도상구균의 종을 동정하는 것은 질병의 정확한 원인 진단 제공에 필수적이다.

포도상구균의 동정을 위하여는 여러가지 실험방법이 권장되고 있다. 일반적으로 실험실에서 포도상구균의 동정은 여러가지 생화학적 실험에 기초를 두고 있으며, Kloos와 Schleifer의 전형적인 방법에 따라 coagulase activity, hemolysis, nitrate reduction, 당 분해능(β -D-fructose, D-xylose, L-arabinose, D-ribose, maltose, α -lactose, sucrose, D-trehalose, D-mannitol, xylitol) 등을 사용하고 있으며 이들 방법의 정확도는 70-90% 정도로 알려져 있다⁸⁻¹¹⁾.

이외에 포도상구균 동정에 있어서 epidemiological typing을 위한 가장 일반적인 접근 방법에는 antimicrobial susceptibility pattern(antibiogram), biochemical characterization(biotyping), bacteriophage susceptibility pattern(phage typing), serological typing(serotyping) 등이 포함되어 있으며^{8,12,13)} 첨가적으로 DNA-DNA hybridization과 chromosomal 및 plasmid DNA의 restriction enzyme 분석과 같은 plasmid profile 분석을 포함하는 molecular technique가 균주의 특성 묘사를 위하여 적용되고 있다¹²⁻¹⁴⁾.

최근에는 변형된 방법으로 균체내에 존재하는 화학물질에 의하여 포도상구균의 종을 동정하는 방법이 도입되었다. 이들 방법에는 균체내 총 단백질의 electrophoretic profile이 포함되어 있으며^{15,16)} 더 나아가 포도상구균의 종을 동정하기 위하여 균체내 지방산 조성의 적용이 시도되었다^{7,17,18)}. Gas-liquid chromatography에 의해 분석한 포도상구균의 지방산 profile은 다른 세균 속의 균체내 지방산 profile과 차이가 있다고 보고 되어져있다^{7,17-19)}. 이상과 같이 균 분리 동정에는 여러가지 방법이 있으나 일반적으로

임상실험실에서 균 분리 동정을 위하여 사용되는 Kloos와 Schliefer의 방법은 다양한 시약 준비와 2-3일 이상의 실험기간이 필요하여 불편한 점이 많은 바, 좀더 간단히 사용 할 수 있도록 포도상구균의 종 동정을 위하여 20종의 생화학적 검사가 포함된 API STAPH-IDENT(API) system이 개발되어 균 분리 동정에 사용되고 있다⁶⁾.

한편 국외의 경우 많은 실험실에서 gas chromatography를 사용하여 세균의 세포성 지방산 조성에 관하여 연구하여 세균의 분류 동정에 유용한 정보를 제공하고 있다. 국내의 경우 동물에 질병을 야기하는 병원 미생물에 대한 균체내 지방산 조성을 분석하여 균분리 동정에 기초자료로 사용하고자 한 연구발표는 미흡한 실정이다.

본 실험에서는 유방염감염 우유에서 분리된 포도상구균에 대하여 API system을 사용하여 포도상구균을 분리 동정하고 분리된 균종에 대하여 균체내 지방산 조성을 분석하여 API system을 사용하여 나타난 결과와 균체내 지방산 조성의 차이를 비교 분석하였다.

재료 및 방법

공시재료 : 1995년 6-10월 사이에 경북북부 지역에서 사육중인 유방염이 발생된 젖소에서 채취한 우유를 사용하였다.

그람 양성 구균 분리 : 유방염이 발생된 젖소로부터 채취한 우유를 6% 산양혈액한천배지에 접종하여 37°C에서 24시간 배양 후 그람 염색과 catalase 시험을 실시하여 포도상구균으로 추정되는 그람 양성 구균을 분리하였다.

포도상구균의 동정 : 포도상구균의 종 결정은 coagulase, mannitol 및 20종의 생화학적 시험이 포함된 API system을 사용하여 실시하였다.

API system : API system은 여러종류의 탈수된 생화학적 그리고 색소원적인 기질을 포함하는 20개의 microcupule로 된 cardboard strip으로 구성되어 있으며, 각 strip은 alkaline phosphatase hydrolysis of α -methyl phos-

phate, urease production, mannose, mannitol, melibiose, xylose, trehalose, glucose, fructose, maltose, lactose, arginine utilization, reduction of nitrate, production of acetyl methyl-carbinol, carbohydrate utilization에 의한 raffinose, xylose, saccharose, α -methyl-D-glucoside, N-acetyl glucosamine의 acidification을 검사 할 수 있도록 구성되어 있다. 우유에서 분리된 균중 포도상구균으로 추정되는 균을 5 ml의 0.85% 생리식염수 용액이 들어있는 시험관에 McFarland Scale No3의 혼탁도가 되게 균을 첨가하여 이 균 부유액을 strip의 각 microcupule에 100 μ l씩 주입하고 37 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양 후 제조회사의 지시에 따라 결과 판독하여 API report sheet에 기록 후 균 종의 동정을 위하여 API profile index와 비교하여 균 종을 동정하였다.

균체내 지방산 조성 분석 : 6% 산양혈액배지에서 배양한 균을 1백금이 취하여 50% methanol에 용해한 1N NaOH 1ml에 첨가한 후 100 $^{\circ}$ C에서 30분간 가열하였다. 그 후 6M HCl 0.5ml 첨가하여 산성화(pH < 2)시켜 냉각된 (7 $^{\circ}$ C) 10% BCl₃ (in methanol) 1ml을 첨가 혼합하여 85 $^{\circ}$ C에서 5분간 가열하여 실온에서 식힌 후 1ml hexane/diethyl ether(1 : 1, v/v)용액 3ml 첨가 혼합한 다음 상층액 분취하여 GC-MS (GC : Hewlett Packard 5890 series II, MS : Hewlett Packard 5971 series MS detector)를 사용하여 Table 1의 조건하에서 지방산 조성을 분석하였다.

Table 1. The condition of GC-MS for analysis of fatty acid

Item	Condition
Injection port temperature	270 $^{\circ}$ C
Oven program	2 min holding at 80 $^{\circ}$ C 15 $^{\circ}$ C/min to 290 $^{\circ}$ C Run time : 20min
Column	SPB 60PTM, 30m
Injection mode	Splitless
Injection vol.	1 μ l
Scan mode	50-500 amu

결 과

젖소 유방염 우유에서 분리한 그람 양성 포도상구균 20균주에 대하여 API system을 사용하여 균을 분리 동정한 결과는 Table 2에 나타난 바와 같이 *S aureus*, *S intermedius*, *S hyicus*, *S simulans*, *S epidermidis*, *S saprofiticus*, *S xylosus* 및 *S sciuri*로 각각 분리 동정되었다.

API system 사용 결과에 따른 균 동정 후 *S aureus*와 *S intermedius*는 coagulase 및 turanose 검사 결과의 비교로 거의 100% 동정되었으나 일부 균주에서는 동일한 API profile에 대하여 2개 이상의 균주로 동정되는 경우가 있어 *S simulans*와 *S hyicus*는 β -galactosidase 실험 결과를 참고로하여 균 동정하였으며 *S epidermidis*의 경우는 coagulase 실험, colony 크기 및 착색 등에 의하여 동정하였다. *S saprophyticus*의 경우는 novobiocin 저항성, colony 크기, turanose, ornithine decarboxylase 실험에 의하여 균동정의 보조자료로 사용하였다. 한편 *S hyicus*와 *S xylosus*는 특별한 추가 실험 없이 API system의 실험 결과만으로 100% 동정이 가능하였으며 실험에 사용한 20균주 중 1균주에 대하여서는 API system을 사용하여 균동정을 하지 못하였다.

API system에 의하여 동정된 균주에 대하여 균체내 지방산 조성을 비교분석한 결과는 Table 3에 나타내었다.

균체내 지방산의 종류는 실험에 사용한 표준 지방산의(C12 : 0, C13 : 0, C14 : 0, C15 : 0, C16 : 0, C16 : 1, C18 : 0, C18 : 1, C18 : 2, C18 : 3, C19 : 0, C20 : 0, C20 : 4, C21 : 0, C22 : 0, C23 : 0, C24 : 0) 종류에 한하여 분석하여 균주간의 지방산 종류 및 각 지방산 간의 비율을 비교 조사하였다.

본 실험에서 사용된 포도상구균의 균체내 지방산 분석결과 검출된 지방산의 종류는 Table 4에 나타난 바와 같이 C14 : 0에서 C22 : 0 사이의 지방산으로 구성 되어있음을 나타내었다. 각 균주에 대한 지방산 분석결과 본 실험에서 사용된 포도상구균에서 비교적 많이 함유된

Table 2. Frequency of API staph-ident seven-digit profiles among *Staphylococcus* species

<i>Staphylococcus species</i>	NO of strains	API profile	Species with same profile	<i>Staphylococcus species</i>	NO of strains	API profile	Species with same profile
<i>S aureus</i>	4	6736153		<i>S epidermis</i>	2	6716113	<i>S aureus</i>
	1	6732153	<i>S simulans</i> <i>S hominis</i>				<i>S intermedius</i> <i>S chromogenes</i> <i>S hominis</i>
<i>S intermedius</i>	2	6716153	<i>S aureus</i>				
<i>S hyicus</i>	2	6516153		<i>S sciuri</i>	1	633655	<i>S simulans</i>
<i>S simulans</i>	1	6512153	<i>S hyicus</i>		1	6336510	<i>S xylosus</i>
	1	6432153		<i>S xylosus</i>	1	6736562	
<i>S saprophyticus</i>	2	6612152	<i>S lugdunensis</i> <i>S hominis</i>		2	6732552	
				Unknown	1	6737753	

Table 3. Characteristic cellular fatty acid composition of *Staphylococcus* species

Species	Proportion are expressed as the percentage of total fatty acid											
	C12:0	C14:0	C15:0	C15:0	C16:1	C16:0	C18:1	C18:0	C19:0	C20:0	C21:0	C22:0
<i>S aureus</i>	0	2.21	2.94	12.99	0	20.36	0	48.45	0	2.31	0	10.75
<i>S aureus</i>	0	2.07	2.92	13.72	0	22.27	0	47.99	0	2.35	0	8.68
<i>S aureus</i>	0	2.67	2.40	15.88	0	17.60	0	45.26	0	2.99	0	13.20
<i>S intermedius</i>	0	2.66	10.61	11.31	0	21.14	2.35	43.81	0	0	0	8.13
<i>S intermedius</i>	0	2.13	9.29	12.01	0	17.29	3.86	44.67	0	0	0	10.75
<i>S hyicus</i>	0	2.08	14.20	14.74	0	16.07	3.92	36.71	0	2.74	0	9.53
<i>S simulans</i>	0	2.20	5.62	17.01	0	20.23	0	44.64	0	0	0	10.21
<i>S simulans</i>	0	2.14	3.51	14.55	0	21.43	0	49.65	0	0	0	6.94
<i>S saprophyticus</i>	0	0	0	6.66	0	17.74	7.04	41.35	14.60	0	0	12.60
<i>S epidermis</i>	0	2.82	5.19	18.18	0	17.43	0	39.19	2.33	0	4.00	10.85
<i>S epidermis</i>	0	1.97	4.24	19.02	0	15.07	0	37.43	2.24	3.01	5.36	11.65
<i>S sciuri</i>	0	2.39	2.79	11.66	0	19.22	0	51.15	0	0	0	11.80
<i>S sciuri</i>	0	2.83	4.55	8.63	0	22.49	0	51.47	0	0	0	10.03
<i>S xylosus</i>	0	2.51	0	5.08	0	20.21	7.70	51.17	0	0	0	13.33
<i>S xylosus</i>	0	0	4.85	11.34	0	15.96	5.25	39.15	7.89	0	5.17	10.38
<i>S xylosus</i>	0	0	3.32	12.18	0	19.39	3.23	42.05	7.99	0	3.37	8.47
Unknown	2.37	2.17	14.60	27.52	0	17.19	0	38.29	3.54	0	0	12.45

지방산은 주로 C15 : 0, C16 : 0, C18 : 0, C22 : 0로 나타났다. 한편 실험에 사용한 균주의 수가 적어 지방산 분석 결과를 통계 처리는 못하였으나 실험 결과는 동정된 균종간의 지방산 조성은 약간씩 다른 양상을 나타내었다. Coagulase 양성균인 *S aureus*와 *S intermedius*의 경우

*S aureus*는 C20의 지방산 성분이 검출된 반면 *S intermedius*의 경우는 C20 성분의 지방산은 검출되지 않았으며 C18 : 1의 경우는 *S aureus*의 경우 검출되지 않았으나 *S intermedius*에서는 검출되었다. 또 다른 coagulase 양성균인 *S hyicus*의 경우는 C18 : 1과 C20 성분의

8. Pfaller MA, Herwaldt LA. 1988. Laboratory, clinical and epidemiological aspects of coagulase-negative *Staphylococci*. *Clin Microbiol rev.* 1 : 281–299.
9. Almeida RJ, Jorgensen JH. 1983. Identification of coagulase-negative *Staphylococci* with API STAPH-IDENT system. *J Clin Microbiol* 18 : 254–257.
10. Crouch SF, Pearson TA, Parham DM. 1987. Comparison of modified Minitec system with Staph-ident system for species identification of coagulase negative *Staphylococci*. *J Clin Microbiol* 25 : 1626–1628.
11. Doern GV, Earls JE, Jeznaih PA, et al. 1983. Species identification and biotyping of *Staphylococci* by the API staph-ident system. *J Clin Microbiol* 17 : 260–263.
12. Parisi JT. 1985. Coagulase-negative *Staphylococci* and the epidemiological typing of *Staphylococcus epidermidis*. *Microbiol Rev.* 49 : 126–139.
13. Parisi JT, Lampson BC, Hoover DL et al. 1986. Comparison of epidemiologic markers for *Staphylococcus epidermidis*. *J Clin Microbiol* 24 : 56–60.
14. Renaud F, Freney J, Etienne J et al. 1988. Restriction endonuclease analysis of *Staphylococcus epidermidis* DNA may be a useful epidemiological marker. *J Clin Microbiol* 26 : 1729–1734.
15. Pierre J, Gutman L, Bornet M, et al. 1990. Identification of clagulase-negative *Staphylococci* by eletrophoretic profile of total proteins and analysis of penicillin-binding proteins. *J Clin Microbiol* 28 : 443–446.
16. Thomson-Carter FM, Penington TH. 1989. Characterization of coagulase-negative *Staphylococci* by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel eletrophoresis. *J Clin Microbiol* 27 : 2199–2203.
17. Durham DR, Kloos WE. 1978. Comparative study of the total cellular fatty acids of *Staphylococcus* species of human origin. *Int J Syst Bacteriol* 28 : 223–228.
18. O'Donnel AG, Nahaie MR, Goodfellow M et al. 1985. Numerical analysis of fatty acid profiles in the identification of *Staphylococci*. *J Gen Microbiol* 131 : 2023–2033.
19. Eerola E, Lehtonen O. 1988. Optimal data processing procedure for automatic bacterial identification by gas-liquid chromatography of cellular fatty acids. *J Clin Microbiol* 26 : 1745–1753.
20. Dobbins CN. 1977. Mastitis losses. *JAVMA* 170 : 1129–1133.
21. 卓鍊斌, 金永洪, 金和植. 1980. 慶北地方 牛乳房炎의 力學的調查 및 治療對策에 관한 研究. 韓國獸醫公衆保健學會誌 4 : 41-45.
22. 김홍수, 홍순국, 소경택 등. 1974. 충남지역 유우유방염의 감염을 및 원인균에 관한 연구. 대한수의학회지 14 : 91.
23. 久米常夫, 平棟孝志, 村瀬信雄. 1970. 牛의 臨床型および潛在性乳房炎と乳汁の細菌叢. 家畜衛生研究報告 61 : 37
24. 손봉환. 1994. 유방염감염조사 및 예방 대책에 관한 연구. 「최근 3년간(91–93) 유방염 발생 실태에 관한 최종 결과 보고서」. 한국가축위생학회.
25. 석호봉, 이광원, 오성룡. 1981. 성환지역의 유우유방염에 관한 연구. I. 유방염의 발생 실태와 그 원인균조사. 대한수의학회지 21 : 161.
26. Devriese LA. 1979. Identification of clumping factor-negative *Staphylococci* isolated from bovine udders. *Res Vet Sci* 27 : 313.
27. Baba E, Fukata T, Matsumoto H. 1980. Ecological studies on coagulase-negative *Staphylococci* in and around bovine udder. *Bull Univ Osaka Pref Series B.* 32 : 69.
28. Kloos WE, Schleifer KH. 1975. Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. *J Clin Microbiol* 1 : 82–88.
29. Peny J, Buissiere J. 1970. Micromethode

경향을 나타냈다. 한편 동일한 종 간의 지방산의 차이는 biotype의 차이에 의한 것인지 아니면 실험상의 문제점으로 나타났는지 알 수 없었다.

Sincoweay 등³⁸⁾은 소의 우유로부터 분리된 61주의 coagulase 음성 포도상구균과 19균주의 포도상구균 표준 균의 양적인 지방산 profile을 분석하여 두개의 군으로 분류하였으며 5번째 군은 *S hyicus*와 *S lentus* 두번째군은 *S cohnii*, *S epidermidis*, *S haemolyticus*, *S hominis*, *S saprophyticus* 및 *S warneri*로 분류 보고하였다.

일반적인 포도상구균의 지방산 종류는 C12에서 C22로 구성되어져 있으며 그중 C22 : 0는 *S warnei* 주를 위한 특징¹⁷⁾이라고 보고하였다. 그러나 O'Donnel¹⁸⁾ 및 Sincoweay 등³⁸⁾은 C22 : 0가 *S warneri*에 한정적인 것이 아니라 *S epidermidis*, *S cohnii*, *S haemolyticus*, *S hominis*, *S saprophyticus*, *S simulans* 그리고 *S hyicus subsp hyicus*에도 존재한다고 보고하였다. 한편 본실험에서 사용한 모든 균주에서 지방산 분석 결과 C22 : 0는 모든 균주에서 검출되었다.

이상의 실험결과에서 나타난 포도상구균의 종 간의 지방산 조성은 지금까지 보고된 포도상구균의 균체내 일반적인 지방산 조성과 차이는 있으나 더많은 균주에 대한 반복 실험에 의하여 포도상구균에 대한 지방산 조성비가 확립 될 경우 야외에서 문제시 되는 균주중 생화학적 실험을 통하여 균 동정이 어려운 균주에 대하여 실험실내에서 빠른 시간내 균 분리 동정을 위한 유용한 자료로 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

젖소 유방염 우유에서 분리된 coagulase 양성 및 음성 포도상구균에 대하여 API system을 사용하여 균분류 동정한 결과 coagulase 양성 균은 *S aureus*, *S intermedius*, *S hyicus* 등이며 coagulase 음성균은 *S simulans*, *S saprophyticus*, *S epidermidis*, *S sciuri* 및 *S xylosum*로 나타났다. 분리 동정된 균주에 대한 균체내 지방산 조성을 조사한 결과 coagulase 양성 및 음성균 간에 균체내 지방산 종류의 차이를 보였다.

동일 균종간에는 비교적 비슷한 종류의 지방산과 지방산의 조성비를 나타내었으며 균종간에 지방산종류 및 조성비의 차이는 지방산 분석 균주 수가 적어서 균종간의 서로 다른 type에 의한 것인지 아니면 실험 과정 중에 발생된 것인지는 명확하지 않다.

이상의 결과로 보아 반복실험을 수행하여 균체내 지방산 조성비를 확립할 경우 실험실내 균 분리 동정에 참고 자료로 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Atcher GL. 1978. Antimicrobial susceptibility and selection of resistance among *Staphylococcus epidermidis* isolates recovered from patients with infections of indwelling devices. *Antimicrob Agents Chemother* 14 : 353-359.
2. Devriese LA, Derycke J. 1979. *Staphylococcus hyicus* in cattle. *Res Vet Sci* 26 : 356-358.
3. Kloos WE. 1980. Natural populations of the genus *Staphylococcus*. *Annu Rev Microbiol* 34 : 559-592.
4. Phillips WE, Kloos WE. 1981. Identification of coagulase-positive *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* isolates from veterinary clinical specimens. *J Clin Microbiol* 14 : 671-673.
5. Wilinon BJ, Maxwell S, Schaus SM. 1980. Classification and characteristics of coagulase-negative, methicillin-resistant *Staphylococci*. *J Clin Microbiol* 12 : 161-166.
6. Schleifer KH, Kroppenstedt RM. 1990. Chemical and molecular classification of *staphylococci*. *J Appl Bacteriol Symp* 69 : 9S-24S.
7. Kloos WE, Wolfshol JF. 1982. Identification of *Staphylococcus* species with the API STAPH-ident system. *J Clin Microbiol* 16 (3) : 509-516.

micromethod로서 임상 미생물 실험실에서 일상적으로 접하는 포도상구균의 biotype을 결정하고 종을 동종하는 방법으로서 평가되어졌다.

Kloos와 Wolfshohl⁶⁾는 14종의 포도상구균에 대한 API system의 동정결과와 통상적인 균 동정 방법인 Kloos와 schleifer²⁹⁾의 분류기준에 의한 동정사이에 90% 이상의 일치율을 보고하였으며 Doern 등¹¹⁾은 80.9% 일치율 보고하였다. 한편 Langlois 등³¹⁾은 젖소 유방염 유래 포도상구균의 균종 동정에 API system을 적용한 결과에서 coagulase 음성 포도상구균(41.8%)보다 *S aureus*(93.9%)를 동정하는데 정확성이 높았음을 보고한 바 있으며 Watts 등³²⁾도 이와 유사한 결과를 보고 하였다.

본 실험에서는 젖소 유방염 우유에서 분리된 그람 양성 구균에 대하여 API system을 사용하여 균종을 동정한 결과 분리된 균의 종류는 coagulase 양성균은 *S aureus*, *S intermedius* 및 *S hyicus*이며 coagulase 음성균은 *S simulans*, *S saprophyticus*, *S epidermis*, *S sciuri* 그리고 *S xyloso*로 나타났다. 균 분리 결과 비병원성 균으로 알려진 coagulase 음성 균이 여러종류 동정된 것은 이들 비병원성 균으로 알려진 coagulase 음성균이 젖소 유방염의 원인 균으로 분리된 것인지 아니면 우유 채취시 유방 주위로 부터 오염된 균인지 불명확하다.

한편 박 등³³⁾은 젖소 유방염 우유에서 *S epidermidis*, *S xyloso*, *S haemoliticus* 및 *S simulans*을 분리 동정하였으며, Beba 등²⁸⁾은 *S epidermidis*, *S haemoliticus*, 및 *S xyloso*, 그리고 Devriese 등²²⁾은 *S epidermidis*, *S hyicus subsp chromogenes* 및 *S simulans* 등을 분리 보고하였다.

한편 다수의 실험과 방법들이 포도상구균의 동정을 위하여 권장 되어지고 있으며 포도상구균의 종을 구별하기 위한 여러가지 방법중 어떤 하나의 방법으로는 균 동정이 완전히 만족스럽지 않아 이들 방법중 몇가지가 균 분리확정을 위하여 필요하다.^{1,13,14,29)}

균 동정의 또다른 접근법인 균체내 지방산의 GLC 분석은 비슷한 질적 성질에도 불구하고 여러가지 균종 사이의 뚜렷한 양적인 차이를

나타낸다고 알려져 있으며 균체내 지방산 분석은 균의 동정과 분류를 위한 유용한 정보를 제공한다고 보고 되어져 있다³⁴⁻³⁶⁾.

동일 균속의 균체내 지방산의 질적인 차이는 분명하지 않으나 종간의 개개 지방산의 양적인 차이는 분명하다고 보고 되어져 있다. 예를 들어 *S epidermidis*는 비교적 많은 양의 C18:0을 함유하고 있으며, *S warneri*는 Ca-15:0을 *S haemolyticus*는 Ca-17:0을 그리고 *S capitis*는 Ci-17:0의 지방산을 함유하고 있는 것이 특징이라고 보고 되어져 있다³⁷⁾.

아직까지 종간의 차이를 나타내는 개개의 지방산의 양들이 서로 중복되며 컴퓨터로 처리된 지방산의 상관관계 분석은 포도상구균의 종 분류에 도움을 주며 *S epidermidis*, *S hominis* 및 *S simulans*은 뚜렷한 차이를 보여주며 다른 종은 80% 이하의 차이를 나타내며, GLC로 분석한 지방산 profile의 차이로 7종의 coagulase 음성 포도상구균이 분류 보고 되어져 있다³⁷⁾.

Antibiogram, biotype, plasmid profile 등의 방법에 의하여 결정된 균들은 지방산 profile이 비슷하여 GLC로 분석한 지방산 profile의 상관관계는 95% 이상으로 표준 typing method와 비교할 때 균체내 지방산 조성의 상관관계 분석은 실험 비용, 시간, 간편성 등의 많은 장점이 있다. 이 방법은 많은 수의 세균에 대한 급속한 screening을 위해 적당하며 향후 GLC method는 plasmid가 부족한 coagulase 음성 포도상구균 동정 뿐만 아니라 그들의 resistance plasmid의 부족과 그들의 antimicrobial susceptibility profile의 변화된 포도상구균의 typing을 구별하기 위하여 특별히 가치가 있다. 더욱이 지방산 profile의 상관관계 분석은 phage가 불확실한 균주 사이의 동일성 설정을 위한 실용적인 방법을 제공 할 것으로 알려져 있다³⁷⁾

본실험의 결과 포도상구균에서 검출된 일반적인 지방산 성분은 주로 C14-C22로 나타났으며 실험에서 분류된 coagulase 음성 및 양성균 사이의 지방산 조성의 차이가 있으며 종 간의 지방산 성분 및 조성비는 약간의 차이를 보이는

Table 4. Fatty acids isolated from *Staphylococci*

Designation	Name
C12 : 0	Dodecanoate
C14 : 0	Tetradecanoate
C15 : 0	Pentadecanoate
C16 : 0	Hexadecanoate
C16 : 1	9-Hexadecenoate
C18 : 0	Octadecanoate
C18 : 1	9-Octadecenoate
C19 : 0	Nonadecanoate
C20 : 0	Eicosanoate
C21 : 0	Heneicisanoate
C22 : 0	Docosanoate

지방산이 모두 검출되는 차이를 나타내었다. coagulase 음성균인 *S simulans*, *S saprophyticus*, *S epidermis*, *S scieri*, *S xylosus*는 C15 : 0, C16 : 0, C18 : 0, C22 : 0의 지방산은 모든 균주에서 검출되었으며 그외의 지방산 성분은 균종에 따라 검출 정도의 차이를 나타내었다.

실험 결과 API-system을 사용하여 동정된 동일한 균종 간의 지방산 종류와 지방산 간의 비율이 정확히 일치하지는 않으나 동일 종으로 분류된 균종끼리는 서로 비슷한 지방산 종류와 지방산 간의 비율을 나타내는 경향을 보였다.

고 찰

동물에서 질병을 일으키는 포도상구균은 약 20여 종이며 그 중 대표적인 것은 *S aureus*, *S epidermidis*, *S intermedius*, *S hyicus subsp hyicus*, *S caprae*, *S gallinarum*, *S lentus*, *S simulans* 등이다.

젖소 유방염 발생에는 각종의 병원세균이 관여하고 있으며 급만성 유방염 원인균으로 특히 포도상구균에 의한것이 대부분을 차지하고 있다^{20,21)}. 특히 *S aureus*는 여러 조사 보고에서

젖소 유방염 우유로부터 가장 높은 분리 빈도를 나타내고 있어²²⁻²⁴⁾ 젖소 유방 염의 주요 원인균으로 크게 문제시 되고 있다.

손 등²⁵⁾은 1991-1993년 동안 조사한 국내 전국 유방염 감염율은 전국적으로 1두이상 유방염 있는 경우 양성목장으로 간주하여 목장별로는 양성목장 93.3%, 준임상목장 53.6%, 임상목장 39.7%, 두수별 감염률은 양성두수 38.0%, 준임상 두수 32.8%, 임상두수 5.2%, 유방염 원인균은 *Staphylococcus*균종이 46.2%, *Streptococcus*균종이 18.8%로 총 분리균의 65.05%이라고 보고하였으며, *Staphylococcus* 균종 *S aureus*와 *S epidermidis*균을 분리하였으며 나머지 포도상구균의 종은 분리 동정하지 않았다.

한편 coagulase 음성 포도상구균은 독소 및 효소 산생능력이 낮아 비병원성균으로 간주되어 있으나 이들 음성균에 의한 젖소 유방의 감염 또는 발증과 관련하여 많은 조사 연구가 있었다²⁶⁻²⁸⁾. 현재 coagulase 음성 포도상구균이 최근 젖소 유방염 원인균으로서 중요시되고 있으므로 coagulase 음성균의 종 동정이 필요한 실정이다. 그러나 실험실에서 짧은 시간내 일반적인 생화학 검사에 의해서는 균종 까지 분류는 어려운 실정이다.

포도상구균의 명확한 종의 동정과 biotyping은 임상미생물 실험실에서 유용하며 이들 균의 분리 동정을 위하여 Kloos와 Schleifer²⁹⁾는 대부분의 사람에서 발견되는 10종의 포도상구균의 차이를 나타내는 판정표를 보고하여 많은 실험실에서 균 동정을 위한 참고 자료로 사용하고 있으나 3일 정도의 배양시간과 표의 복잡성 등으로 인하여 주로 참고적인 실험실 기준으로 남아있다.

근래에는 포도상구균의 균종 동정을 위하여 사용방법이 간단하면서 짧은 시간내 균종을 결정할 수 있는 API system이 널리 사용되고 있다. API system은 Kloos와 Schleifer²⁹⁾에 의하여 묘사된 10종의 포도상구균의 종 동정과 biotyping에 사용된 19가지 기질로 구성된 micromethod법으로 Peny와 Buissiere³⁰⁾에 의하여 제안된 방법의 변형으로 상업적으로 이용 가능한 biochemical and chromogenic substrate

- identification des bacteries. II. Identification du genre *Staphylococcus*. *Ann Inst Pasteur Paris* 118 : 10-18.
31. Langlois BE, Harmon GJ, Akers K. 1983. Identification of *Staphylococcus* species of bovine origin with the API Staph-Ident system. *J Clin Microbiol* 18 : 1212-1219.
 32. Watts JL, Pankey JW, Nickerson SC. 1984. Evaluation of the Staph-Ident and STAPHase system for identification of *Staphylococci* from bovine intramammary infections. *J Clin Microbiol* 20 : 48-452.
 33. 박청규, 조용준. 1983. 젖소 유방염유래 포도구균에 관한 연구. II. coagulase 음성 *Staphylococci*의 분류 및 생화학적 특성. 대한수의학회지 23(2) : 165-172.
 34. Moss CW, Kai A, Lambert MA et al. 1984. Isoprenoid quinone content and cellular fatty acid composition of *Campylobacter* species. *J Clin Microbiol* 19 : 772-776.
 35. Moss CW, Wallace PL, Hollis DG et al. 1988. Cultural and chemical characterization of CDC groups EQ-2, M-5, and M-6, *Moraxella*(*Moraxella*) species, *Oligellaurethralis*, *Acinetobacter* species, and *Psychrobacter immobilis*. *J Clin Microbiol* 26 : 484-492.
 36. Wallace PL, Hollis DG, Weaver RE et al. 1988. Cellular fatty acid composition of *Kingella* species, *Cardiobacterium hominis*, and *Eikenella corrodens*. *J Clin Microbiol* 26 : 1592-1594.
 37. Kotilainen P, Huovinen P, Eerola E. 1991. Application of gas-liquid chromatographic analysis of cellular fatty acids for species identification and typing of coagulase negative *Staphylococci*. *J Clin Microbiol* 29(2) : 315-332.
 38. Sincoweay H, Miyagawa E, Kume T. 1981. Cellular fatty acid composition in *Staphylococci* isolated from bovine milk. *Nat Inst Anim Health Quart*(Japan) 21 : 14-20.