

## 젖소 유방염 유래 *Staphylococcus aureus*의 PCR을 이용한 Genomic Fingerprinting

김 두<sup>1</sup> · 권순탁 · 안소저  
강원대학교 동물자원과학대학 수의학과

### Genomic Fingerprinting of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis Milk by PCR

Doo Kim<sup>1</sup>, Soon-tak Kwon, So-jeo Ahn  
Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University

**ABSTRACT :** A total of 137 strains of *Staphylococcus aureus* were isolated from dairy cow's milk with subclinical mastitis from 33 herds in 5 provinces and 36 strains of *S aureus* from clinical mastitis from 4 herds where the mastitis were severe problem. Arbitrary primed polymerase chain reactions with 10 bp oligonucleotide primer were performed and the PCR products were analysed with image analyzer. The *S aureus* strains were genotyped into 20 distinct DNA fingerprinting profiles. The size of PCR products ranged from 163 to 2,479 bp and PCR products of 506, 770, 784 and 2,479 bp were the most prevailing bands. Genotype 3 was founded in all 5 provinces. The various genotypes were identified in newly founded dairy herds, however, only one or two genotypes were identified in the closed herds. In clinical mastitis, only a limited number of different *S aureus* genotype was founded in each of the herds in comparison with subclinical mastitis. The results demonstrated that PCR-based DNA fingerprinting analysis of *S aureus* strain can be used to study epidemiology of mastitis, in addition, common genotype in geographic region can be useful for the development of an effective *S aureus* bacterin.

**Key words :** genomic fingerprinting, *Staphylococcus aureus*, mastitis, PCR, arbitrary primer

## 서 론

*Staphylococcus aureus*는 소의 임상형과 준임상형 유방염에서 가장 흔히 분리되는 병원균이며 소의 질, 유두, 피부병변, 비강과 편도선을 포함하는 신체의 여러 부위에서 장기간 생존할 수 있다<sup>2,11,12</sup>. 그리고 *S aureus*는 다양한 항생제에 대하여 내성을 띄고 있으며 항생제 감수성 시험의 결과에 따라 치료를 실시하는 경우에도 비유기 중의 유방염 치료율은 매우 낮아 목장에서 *S aureus*의 공급원을 확인하고 제거하는 것은 경제적인 측면에서 매우 중요한 일이다<sup>4</sup>. 또한 분만하지 않은 처녀우에서도 *S aureus*에 의한

유방염의 발생이 보고되고 있어 비유우 이외의 감염원이 *S aureus*의 보균자 역할을 하는 것으로 알려졌다<sup>20</sup>.

*S aureus*의 역학적인 연구를 위하여 biotyping, serotyping, phage typing, plasmid pattern analysis와 DNA restriction endonuclease fingerprinting(REF) 등이 이용되어 왔으나 각기 장단점들을 가지고 있으므로 이용에 한계점이 있다<sup>3,5,6,10,13,14,19</sup>. 그러나 최근에 polymerase chain reaction(PCR)을 이용한 DNA fingerprinting이 포도상구균의 genotyping을 위하여 이용되고 있으며 또한 기타의 유방염 원인균의 genotyping에도 이용되었다<sup>7,8,22,23</sup>.

국내에서는 1970년대 초에 젖소의 유방염에 대한 연구가 처음 이루어진 이후 주로 각 지역별로 원인균에 대한 역학적인 조사와 원인균의 항생제감수성에 대한 조사가 이루어졌다<sup>25-31</sup>. 그리고 국내의 젖소에서

이 논문은 1997년 한국학술진흥재단의 학술연구비에 의하여 지원되었음

<sup>1</sup>Corresponding author.

가장 문제시되는 *S aureus*에 대한 연구로는 생화학적 성상에 의한 동정, phage 성상에 따른 subtyping과 plasmid의 성상에 따른 subtyping이 이루어진 바 있지만<sup>24</sup> DNA를 이용한 genotyping의 연구는 아직까지 이루어진 바 없다. 또한 유방염 원인균에 대한 세균학적 검사가 종의 수준까지만 이루어졌기 때문에 세균전파와 관련된 역학적인 조사에 한계가 있었다. 따라서 DNA를 이용한 genotyping으로 국내에서 유행하는 *S aureus*의 genotype 양상을 파악하는 것은 *S aureus*성 유방염의 역학적 연구에 중요한 수단이 될 수 있을 것이다.

최근 국내에는 수입된 *S aureus* bacterin이 시판되어 목장에서 이용되고 있지만 아직 그 효능에 대한 연구결과가 나오지 않았으며 이 제품에 사용된 균주들이 국내에서 주로 문제시되는 *S aureus*의 genotype과 유사한지에 대한 검토의 필요성이 대두되었다.

본 연구에서는 임상형과 준임상형 유방염에 이환된 젖소의 유즙으로부터 분리된 *S aureus*를 대상으로 PCR을 이용한 genomic fingerprinting을 실시하여 젖소의 *S aureus*의 감염양상을 genotype의 수준에서 파악하였으며 국내의 실정에 맞는 *S aureus* bacterin을 생산하기 위하여 국내의 목장에서 가장 흔히 검출되는 genotype의 균주를 선발하였다.

## 재료 및 방법

### 유즙채취 및 균분리동정

다섯 개 도의 20-100 두 규모의 33개 목장을 임의선정하여 시험 개시시에 전체 젖소의 분방별 유즙을 채취하여 *S aureus*의 감염실태를 확인하였으며 그 중 *S aureus* 감염율이 높은 4개 목장에서 10개월 동안 임상형 유방염이 발생할 때 항생제치료를 실시하기 전에 유즙을 채취하였다. 목장에서 무균적으로 채취한 임상형 유방염 샘플은 -20°C에 보관후 매 4주마다 수거하여 미국의 National Mastitis Council의 방법에 의거하여 원인균을 분리하였다<sup>15</sup>. *S aureus*가 유즙 1 ml당 10<sup>4</sup>개 이상일 때 감염분방으로 분류하였고 BHI broth에 계대배양한 후 다음 시험에 이용할 때까지 100% glycerol을 1:1로 첨가하여 -70°C에 보관하였다.

*S aureus*의 동정은 Roberson 등의 방법<sup>17</sup>에 의거하여 실시하였으며 용혈성, catalase test, tube coagulase test, acriflavin이 첨가된 P agar test, β-galactosidase test, acetoin test와 anaerobic mannitol fermentation test를 실시하였다.

### DNA 분리

PCR에 필요한 *S aureus*의 chromosomal DNA를 분리하기 위하여, 임상형과 준임상형 유방염 유즙에서 분리하여 냉동보관한 *S aureus*를 면양혈액배지에 재배양한 후 Matthews 등의 방법<sup>14</sup>으로 chromosomal DNA를 분리하였다.

### 중합효소 연쇄반응(Polymerase chain reaction)

Arbitrary primer를 이용한 PCR을 위하여 *S aureus*의 arbitrary primer에 해당하는 5'-TCACGATGCA-3'를 (주)바이오니아에서 합성하였다<sup>9</sup>.

PCR 반응액은 200 μM의 deoxynucleotide triphosphate(dATP, dCTP, dGTP와 dTTP), 0.2 mM의 primer, 5 unit의 Taq DNA polymerase(Promega), 10×PCR buffer(Promega), 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 ng의 template DNA와 멸균된 증류수를 혼합하여 100 μl가 되도록 조성하였다. PCR 반응액을 thermal cycler(GeneAmp PCR System 9600, Perkin-Elmer)를 이용하여 94°C에서 5분간 denaturation시킨 후, 94°C에서 1분간의 denaturation, 25°C에서 1분간의 annealing, 72°C에서 2분간의 extension 과정을 40회 반복하여 증폭시킨 후, 최종적으로 72°C에서 10분 동안 extension시켰다.

PCR 산물은 1% agarose gel에서 TBE buffer(0.1 M Tris base, 0.1 M boric acid, 1.8 mM EDTA)를 전해질로 사용하여 전기영동을 실시하고 ethidium bromide(10 μg/ml)로 염색하여 UV-transilluminator(Vilber Lourmat, France)로 확인하였다.

### 자료 분석

Bio-Profil software package가 내장된 Image analyzer(Vilber Lourmat)를 사용하여 PCR 생산물의 band의 존재 유무와 분자량에 따라 분리된 *S aureus*의 genotype을 분석하였고 phylogenetic tree를 작성하였다.

그리고 개체별, 목장별과 지역별로 분리된 *S aureus*의 genotype 분포를 조사하였으며 임상형유방염에서 분리된 *S aureus*의 유전자형을 분석하여 임상형유방염의 발생역학을 분석하였다.

## 결 과

임상형과 준임상형 유방염 유래의 *Staphylococcus aureus*의 genotyping과 임상형유방염 발생역학을 조사하기 위하여 5개 도의 33개 목장의 준임상형 젖소로부터 총 137주와 임상형 젖소로부터 36주의 *S aureus*를 분리·동정하고 PCR을 실시하여 다음과 같

은 결과를 얻었다.

**유전자형의 분류**

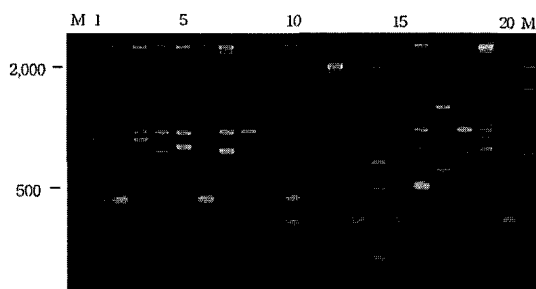
준임상형 유방염 유증에서 분리된 *S aureus*의 PCR 생산물의 polymorphism 분석을 위하여 image analyzer에 의한 분석으로 총 137주의 *S aureus*는 20개의 genotype(유전자형)으로 분류되었으며 20개의 genotype을 Fig 1에 나타내었다.

PCR 생산물의 분자량 범위는 163~2,479 bp이었으며, 각 유전자형의 band의 수는 1~9개이었다. PCR 생산물의 506 bp, 770 bp, 784 bp와 2,479 bp band는 가장 흔히 관찰되는 band이었으며, 유전자형에 따라 각기 다른 크기의 band들이 추가로 관찰되었다. 이들 4개의 band중 2,479 bp의 band는 85.4%의 *S aureus*에서 관찰되어 가장 많이 관찰되었고 770 bp, 784 bp와 506 bp의 band는 각각 84.7%, 62.8%와 55.5%의 순서로 *S aureus*에서 관찰되었다. 그러나 genotype 11과 13에서는 1개의 band만이 관찰되었다.

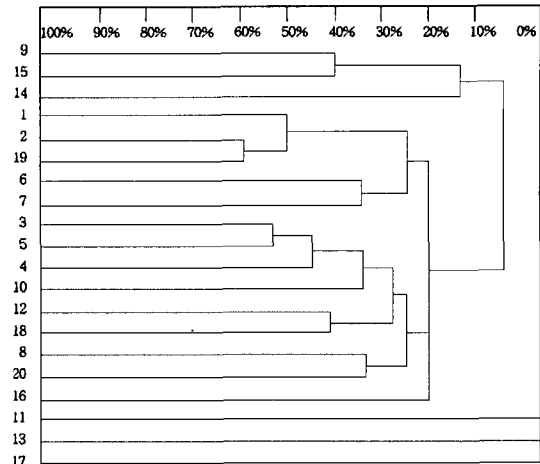
Phylogenetic tree를 이용한 유사성 비교에서 Genotype 2와 19는 가장 높은 근연관계를 나타내었고 genotype 4와 6에서도 높은 근연관계를 나타내었다. 그러나 genotype 11, 13과 17은 다른 genotype과 근연관계가 없었다(Fig 2).

***S aureus*의 유전자형 분포**

준임상형 유방염에서 분리된 *S aureus* 137주의 genotype의 분포양상을 개체별, 목장별과 지역별로 분석하였다(Table 1). Genotype 3은 조사한 5개 도의 11개 목장에서 분리되었으며 Genotype 1도 4개 도의 7개목장에서 분리되어 광범위한 지역에 분포하였다. Genotype 2, 4, 8, 9, 13, 18, 19와 20은 2개 이상



**Fig 1.** Twenty genotypes of *Staphylococcus aureus* isolated from the different herds with subclinical mastitis. The genotype number is indicated by numbers 1 to 20. M; DNA size marker in base pairs (AmpliSize Molecular Ruler, BIO-RAD).



**Fig 2.** Phylogenetic tree of PCR-based DNA fingerprinting profiles of *Staphylococcus aureus* showing 20 different genotypes.

**Table 1.** Genotypic distribution of 137 *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine subclinical mastitis of 33 herds in 5 provinces

Genotypes	Number of isolates	Number of herds isolated	Number of province isolated
1	34/137*	7/33**	4/5***
2	9/137	3/33	2/5
3	47/137	11/33	5/5
4	8/137	4/33	3/5
5	1/137	1/33	1/5
6	2/137	1/33	1/5
7	3/137	1/33	1/5
8	5/137	5/33	4/5
9	4/137	4/33	2/5
10	2/137	1/33	1/5
11	1/137	1/33	1/5
12	1/137	1/33	1/5
13	2/137	2/33	2/5
14	3/137	1/33	1/5
15	4/137	1/33	1/5
16	1/137	1/33	1/5
17	1/137	1/33	1/5
18	4/137	2/33	2/5
19	2/137	2/33	2/5
20	3/137	3/33	1/5

\*; total strains, \*\*; total herds, \*\*\*; total provinces.

의 목장에서 분리되었다. 그리고 genotype 5, 6, 7, 10, 11, 12, 14, 15, 16과 17은 각각 한 목장에서만

확인되었다.

목장별 비교에서 최근 여러 곳에서 소를 구입한 1개 목장에서는 8개의 유전자형이 분포하는 반면, 오랫동안 외부에서 소를 구입하지 않은 대부분의 목장에서는 1 또는 2개의 유전자형만이 관찰되었다(Fig 3). 그러나 위생관리가 불량한 2개 목장에서는 3개의 유전자형이 관찰되었다. 총 112두중 90두는 1개의 분방에서만 *S aureus*가 분리되었지만 22두의 젖소는 2~4개의 분방에서 *S aureus*가 분리되었다. 22두중 17두의 감염된 분방들은 동일한 유전자형의 *S aureus*에 감염되었으며, 5두의 분방들은 각기 다른 유전자형에 감염되었다.

#### 임상형 유방염의 발생역학

*S aureus*에 의한 임상형 유방염의 발생역학을 조사하기 위하여 *S aureus*에 의한 준임상형 유방염 발생율이 높은 40~60두 규모의 4개 목장을 대상으로 10개월 동안 임상형 유방염을 조사한 결과, 10개월 동안 목장당 3~18 예의 임상형 유방염이 발생하였다(Table 2).

B와 D목장의 임상형유방염에서는 단지 1개의 genotype만이 관찰되었으며 C목장에서는 4개의 genotype이 관찰되었다. A목장에서는 genotype 1과 genotype 3이 각각 13주와 5주씩 분리되었다. 그리고 실험기간 동안 2분방에서 재발이 관찰되었으며 분리된 *S aureus*는 첫 번째 분리된 genotype과 동일한 genotype이었다. C목장에서는 genotype 2, 4, 7과 16이 각각 3, 1, 1과 2주씩 분리되었다.

A, B와 D목장의 임상형 유방염에서 분리된 *S au-*

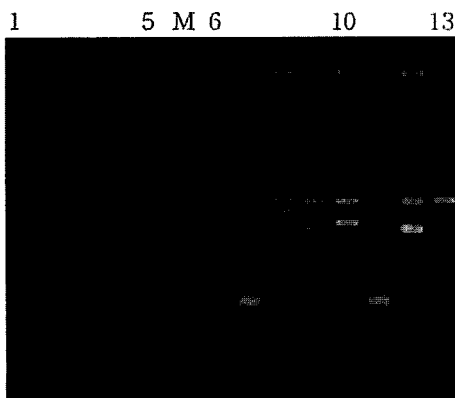


Fig 3. PCR based-DNA polymorphism of *S aureus* in closed herd (lane 1 to 5) and in the newly founded herd (lane 6 to 13). M; DNA size marker (AmpliSize Molecular ruler, BIO-RAD).

Table 2. Number of isolates and number of genotypes of *S aureus*, isolated from clinical mastitis for each of the herds

Herd	Isolates from clinical mastitis	Genotypes of isolates from subclinical mastitis	Genotypes of isolates from clinical mastitis
A	18	1, 3	1, 3
B	8	3	3
C	7	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8	2, 4, 7, 16
D	3	4	4

*reus*는 연구 초기에 준임상형에서 분리된 *S aureus*와 동일한 유전자형이었으나, 연구 초기에 다양한 유전자형을 보인 C목장에서는 임상형 유방염 발생시 새로운 유형의 유전자형이 나타났다.

#### 고 찰

우균의 임상형유방염의 발생율을 감소시키고 유증의 체세포수를 낮게 유지하기 위해서는 *S aureus*에 감염된 소의 숫자를 최소화하고 신감염을 억제하는 것이 중요하다. 그리고 신감염의 예방을 위해서는 유방염원인균에 대한 감염의 역학조사가 체계적으로 이루어져야 하지만 *S aureus*의 분류시 種(species)의 수준에서 동정이 끝나는 경우에는 동일한 *S aureus*에 의하여 감염이 이루어지는지 또는 다른 *S aureus*에 의하여 감염이 이루어지는지 파악할 수 없기 때문에 세균전파의 역학적인 조사에 한계가 있다.

다양한 방법들이 세균의 subtyping에 이용되었다<sup>3,5,6,10,13,14,19</sup>. 그러나 biotyping은 subtype이 너무 많아 분석이 용이하지 않으며 역학적인 자료나 다른 typing 방법에 의한 결과와 상호관련성이 적으므로 역학적인 중요성은 분명하지 않다고 보고되었다<sup>6,19</sup>. 국제표준 phage를 사용한 subtyping에서는 *S aureus*의 73.8%만을 typing할 수 있었으며<sup>3</sup> plasmid profile analysis는 유증에서 분리한 *Staphylococcus spp*의 유전자분류에 부적당한 방법으로 보고되었다<sup>12</sup>. Ribotype에 의한 subtyping은 phage에 의한 subtyping과 비슷한 결과를 얻을 수 있었으나 역학적 연구에는 적합하지 않은 방법으로 보고되었다<sup>16</sup>. 또한 제한효소에 의한 *Staphylococcus spp*의 subtyping은 DNA band의 분석이 어려우며 유전자의 조작기술이나 DNA sequence에 대한 사전 지식이 필요하였다<sup>1,13</sup>. 그리고 일부의 방법들은 몇몇의 제한된 종에서만 유용하기 때문에 이들 방법은 *Staphylococcus spp*의 subtyping에 적

합하지 않은 것으로 알려졌다<sup>3,5,6,13,19</sup>.

Random primed PCR based-DNA fingerprinting은 DNA sequence에 대한 사전 정보와 단크론화된 probe를 사용하지 않더라도 동물에서 유래된 세균, 바이러스와 곰팡이의 genotyping을 간편하고 빠르게 수행할 수 있는 민감한 방법으로 보고되었다<sup>1,8,22,23</sup>. Arbitrary primer PCR(RAPD)과 multilocus enzyme electrophoresis(MLEE)를 비교한 genotyping에서 RAPD가 MLEE보다 역학적인 연구 뿐만 아니라 세균의 유전자 구조 연구와 진화 연구에 더 유용한 것으로 보고되었다<sup>21</sup>. 그리고 Matthews 등<sup>14</sup>, Lipman 등<sup>10</sup>과 Lam 등<sup>9</sup>은 random primed PCR을 젖소의 유방염 유증에서 분리된 *S aureus*의 genotyping에 이용하였다. Random primed PCR에서 8 bp의 primer는 streptococci와 enterococci의 분류에 유효한 primer라고 보고되었으며<sup>8</sup> 젖소의 유방염 유증에서 유래된 *S aureus*의 genotyping에 사용되었다<sup>14</sup>. Lam 등<sup>9</sup>은 *S aureus*의 genotyping에 10 bp의 random primer를 사용하였으며, Lipman 등<sup>10</sup>은 다른 random primer를 사용하여도 유전자형 분류에서 동일한 결과를 얻었다고 보고하였다. 본 연구에서 10 bp의 arbitrary primer를 사용한 PCR은 젖소의 유방염 유래의 모든 *S aureus*를 20개의 유전자형으로 분류하여 유전자형의 분류에 유용한 것으로 생각된다.

Matthews 등<sup>14</sup>은 젖소 유래의 *S aureus*의 PCR 생산물의 분석에서 PCR 생산물은 157 bp에서 1,760 bp의 분자량의 범위이었고 465 bp, 1,100 bp와 1,760 bp의 band가 전형적으로 관찰되었다고 보고하였다. 그리고 1,100 bp의 band는 조사한 *S aureus*의 99%에서 관찰되었고 465 bp와 1,760 bp의 band는 86% 이상에서 관찰되었다고 보고하였다. 본 연구에서는 506 bp, 770 bp, 784 bp와 2,479의 band가 다수의 유전자형에서 관찰되었다. 2,479 bp의 band는 조사한 균주의 85.4%에서 관찰되었으며 506 bp, 770 bp와 784의 band는 각각 55.5%, 84.7%와 62.8%의 *S aureus*에서 관찰되었다. 분자량의 범위는 163 bp에서 2,479로 차이를 보였다. 따라서 band의 분자량 크기와 분포, 분자량의 범위는 Matthews 등<sup>14</sup>이 보고한 결과와 약간의 차이를 보였으며 이와 같은 차이는 사용한 primer의 차이와 국내에서 분리된 균주와 미국의 일부 지역에서 분리된 균주의 유전적인 차이 때문인 것으로 생각된다.

Matthews 등<sup>14</sup>은 미국의 7개 목장의 유방염 소에서 분리된 75주의 *S aureus*가 19개의 genotype으로 분류되었다고 보고하였으며 여러 다른 목장에서 동일한 *S aureus* genotype이 관찰되기도 하였으며 동

일한 목장에서도 다양한 genotype이 관찰되었다고 보고하였다. 본 연구의 5개 도의 33개 목장의 준임상형 유방염에서 분리된 137주의 *S aureus*는 20개의 유전자형으로 분류되었으며 전체 분리균의 34.3%에 해당하는 균주가 속한 genotype 3은 조사한 모든 도에서 관찰되어 광범위하게 유행하는 유전자형으로 확인되었으며 이들 genotype 균주는 antigenic drift 등을 추가로 확인한후 조사한 지역의 *S aureus*의 백신 개발에 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 기타의 유전자형은 특정지역에 한정되어 관찰되었다.

Lam 등<sup>9</sup>은 5개 우군에서 분리한 63주의 *S aureus*가 11개의 유전자형으로 분류되었고 폐쇄된 우군에서는 한정된 수의 genotype이 관찰되었다고 보고하였다. 본 연구에서도 Lam 등<sup>9</sup>의 보고와 같이 폐쇄된 우군에서는 한정된 수의 유전자형이 관찰되었지만 여러 지역에서 구입한 소로 우군을 새로 구성한 목장에서는 여러 가지의 유전자형이 관찰되었다. 이는 격리된 지역에서 독립적인 유전자형이 만성적인 유방염을 일으킬 수 있고 개체간에 지속적으로 전파되어 반복적인 감염이 이루어질 수 있다는 가설을 뒷받침하였다<sup>9,18</sup>. 한편 본 연구에서 여러 분방이 감염된 개체에서 서로 다른 분방이 같은 유전자형에 감염되었거나 자기 다른 유전자형에 감염된 것이 관찰되었는 바 이는 각각의 유전자형의 세균들이 우군 관리상태나 환경에 따라 전파되는 양상에 차이가 있었기 때문으로 생각된다.

본 연구의 임상형 유방염에서는 준임상형 유방염에서보다 제한된 숫자의 유전자형이 관찰되었다. 이것은 감염이 분방에서 분방으로 직접 전파되는 병원체의 접촉성 성격에 기인하는 것으로 생각되며, 다른 가능성으로는 환경 내에 있는 *S aureus* 균주나 준임상형으로 감염된 단지 소수 만의 유전자형이 임상형 유방염을 일으킬 수 있는 특성을 가지고 있기 때문으로 생각된다.

임상형 유방염의 재발은 *S aureus*에 만성적으로 감염된 분방으로부터 간헐적으로 세균이 배설됨으로써 초래될 수 있고 또한 동일한 genotype의 세균에 재감염되어 발생할 수도 있다<sup>9</sup>. 후자의 가설은 이러한 소에서 *S aureus*에 대한 면역이 형성되지 않는다는 가설하에 가능할 수 있다. 그러므로 소 내에서 또는 소 간에, 환경과 소 사이에, 또는 목장과 목장 사이에 *S aureus*의 전파 양상을 조사하는 것이 *S aureus*성 유방염의 발병기전을 규명하는데 중요한 과정으로 생각된다.

본 연구는 유방염 유증에서 분리된 *S aureus*를 PCR

에 의한 DNA fingerprinting으로 genotyping하는 방법을 확립하였으며 5개 도에서 공통적으로 유행하는 genotype을 확인하여 *S aureus* 백신생산에 적합한 기초자료를 제공하였다. 또한 본 연구에서 확립한 genotyping 방법은 개체간, 목장간과 환경간의 *S aureus*의 전파과정을 파악하는 유방염의 역학적 연구에 활용할 수 있을 것으로 생각되며 우리나라의 실정에 맞는 *S aureus* 백신생산에 적절한 유전자형을 선별하는데 유용한 기초자료를 제공할 것으로 기대된다.

## 결 론

임상형과 준임상형 유방염에 이환된 젖소의 유증으로부터 분리된 *S aureus*를 대상으로 PCR을 이용한 genomic fingerprinting을 실시하여 젖소의 *S aureus*의 감염양상을 genotype의 수준에서 파악하고 국내의 목장에서 가장 흔히 검출되는 genotype의 균주를 선별하기 위하여, 다섯 개 도의 33개 목장에서 137주의 *S aureus*를 분리동정하고 arbitrary primed PCR을 이용한 DNA fingerprinting을 실시하여 준임상형 유방염의 감염상태를 확인하였으며 4개 목장에서 10개월 동안 임상형 유방염의 발생역학을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *S aureus*로 동정된 137주는 20개의 유전자형으로 분류되었다.
2. PCR 생산물의 크기의 범위는 163~2,479 bp였으며, 506, 770, 784와 2,479 bp의 band가 가장 많이 관찰되는 band이었다.
3. 새롭게 신설된 목장에서는 다양한 유전자형이 관찰되었으며 폐쇄된 목장에서는 주로 하나 또는 두 개의 유전자형이 관찰되었다.
4. Genotype 3은 5개 도의 11개 목장에서 공통적으로 관찰되었다. 이 같이 광범위한 지역에 걸쳐 많은 목장에서 유행하는 공통 유전자형은 *S aureus* 백신에 활용될 수 있을 것으로 생각된다.
5. 임상형 유방염에서는 준임상형 유방염에서보다 제한된 숫자의 유전자형이 관찰되었으며 재발된 예에서는 동일한 유전자형이 관찰되었다.

## 참고문헌

1. Anolles GC, Bassam BJ, Gresshoff PM. DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Biotechnology* 1991; 9: 553-557.
2. Baumgartner A, Nicolet J, Eggimann M. Plasmid

- profiles of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis. *J Appl Bacteriol* 1984; 56: 159-163.
3. Carroll PJ, Francis PG. The basic phage set for typing bovine staphylococci. *J Hyg* 1985; 95: 665-669.
4. Craven N, Anderson J. Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by bovine mammary gland macrophage and intercellular protection from antibiotic action. *J Dairy Res* 1984; 51: 513-523.
5. Davidson I. A collaborative investigation of phages for typing bovine staphylococci. *Bull World Health Org* 1972; 46: 81-98.
6. Hebert KH, Baily JS, Pritchard DE. Coagulase-positive staphylococcal mastitis in a herd with low somatic cell counts. *J Am Vet Med Assoc* 1988; 192: 777-780.
7. Jayarao BM, Oliver SP, Tagg JR, Matthews KR. Genotypic and phenotypic analysis of *Streptococcus uberis* isolated from bovine mammary secretions. *Epidemiol Infect* 1991; 107: 24-28.
8. Jayarao BM, Dore JE, Caetano-Anolles G, Gresshoff PM, Oliver SP. Subtyping of *Streptococcus uberis* by DNA amplification fingerprinting. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1347-1350.
9. Lam TJGM, Lipman LJA, Schukker YH, Gaastra W. Epidemiological characteristics of bovine clinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* studied by DNA fingerprinting. *Am J Vet Res* 1996; 57: 39-42.
10. Lipman LJA, Nijs A, Lam TJGM, Rost JA, Dijk L, Schukken YH, Gaastra W. Genotyping by PCR, of *Staphylococcus aureus* strain, isolated from mammary glands of cows. *Vet Microbiol* 1996; 48: 51-55.
11. Matos JS, White DG, Harmon RJ, Langlois BE. Isolation of *Staphylococcus aureus* from sites other than the lactating mammary gland. *J Dairy Sci* 1991; 73: 107-114.
12. Matthews KR, Jayarao BM, Oliver SP. Plasmid pattern analysis of *Staphylococcus* species isolated from bovine mammary secretions. *J Dairy Sci* 1992; 75: 3318-3323.
13. Matthews KR, Jayarao BM, Oliver SP. Restriction endonuclease fingerprinting of genomic DNA of *Staphylococcus* species of bovine origin. *Epidemiol Infect* 1992; 109: 59-68.
14. Matthews KR, Kumar SJ, O'Conner SA, Harmn RJ, Pankey JW, Fox LK, Oliver SP. Genomic fingerprinting of *Staphylococcus aureus* of bovine origin by polymerase chain reaction-based DNA fingerprinting. *Epidemiol Infect* 1994; 112: 177-186.
15. National Mastitis council. Laboratory and field handbook on bovine mastitis. Arlington: National Mas-

- titis Council. 1987.
16. Richardson JF, Aparicio P, Marples RR, Cookson BD. Ribotyping of *Staphylococcus aureus*: an assessment using well-defined strains. *Epidermiol Infect* 1994; 112: 93-101.
  17. Roberson JR, Fox LK, Hancock DD, Besser TE. Evaluation of method for differentiation of coagulase positive staphylococci. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 3217-3219.
  18. Sears PM, Smith BS, English PB, Herer PS, Gonzalez RN. Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infection. *J Dairy Sci* 1990; 73: 2785-2789.
  19. Tenover FC, Arbeit R, Archer G, Biddle J. Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 407-415.
  20. Trinidad P, Nickerson SC, Alley TK. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. *J Dairy Sci* 1990; 73: 107-114.
  21. Wang G, Whittam TS, Berg CM, Berg D. RAPD (arbitrary primer) PCR is more sensitive than multilocus enzyme electrophoresis for distinguishing related bacterial strains. *Nucleic Acids Res*, 1993; 21: 5930-5933.
  22. Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res*, 1990; 18: 7213-7218.
  23. Welsh J, McClelland M. Genomic fingerprinting using arbitrarily primed PCR and a matrix of pairwise combinations of primers. *Nucleic Acids Res* 1991; 19: 5275-5279.
  24. 강호조, 김용환, 손원근, 강광식, 이제용. 가축유래 *Staphylococcus aureus*의 enterotoxin산생과 plasmid profile에 관한 연구. *한국수의공중보건학회지* 1992; 16: 27-33.
  25. 고팡두, 김 두. 강원지역의 젖소 유방염 감염을 및 원인균에 관한 연구. *한국임상수의학회지* 1991; 8: 47-52.
  26. 김 두. 유우의 임상형 유방염 원인균과 항생제 감수성의 변화양상. *대한수의학회지* 1998; 28: 397-404.
  27. 김홍수, 홍순국, 노경택, 한홍률. 충남지역 유우 유방염의 감염을 및 원인균에 관한 연구. *대한수의학회지* 1974; 14: 91-97.
  28. 나진수, 강병규. 전남지역 유우 유방염의 역학적 연구. *대한수의학회지* 1975; 15: 83-91.
  29. 마점술, 조희택, 이주홍. 경남지방의 젖소 유방염 감염을 및 원인균에 관한 실험. *서울대수의대 논문집*, 1977; 2: 25-37.
  30. 정창국, 정길택. 우리 나라 젖소의 유방염 원인균의 역학적 조사 및 치료에 관한 연구. *대한수의학회지* 1970; 10: 39-45.
  31. 한홍률. 우리 나라 젖소의 유방염 원인균에 관한 연구. *서울대수의대 논문집* 1978; 3: 1-23.