

닭으로부터 *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus*의 分離 및 그 特性

崔一榮 · 朴清圭

慶北大學校 獸醫科大學
(1995년 3월 31일 접수)

Isolation and characterization of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus* from chickens

Il-young Choi, Cheong-kyu Park

College of Veterinary Medicine, Kyungbuk National University
(Received March 31, 1995)

Abstract : Isolation of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* from the skin of healthy chickens was performed and biochemical characteristics of the isolates were examined.

Staphylococcus hyicus subsp *hyicus* was isolated from 129(14.8%) of 874 healthy chickens. The rate of isolation of this organism from chickens was found to vary depending upon the poultry farms at the isolation rate of 0% to 38.7% and this organism was isolated more frequently from adult chickens of over 1 year old than young chickens.

All of the isolates were negative for haemolysis on rabbit, sheep, pig and chicken blood agars, protein A and β -glucuronidase, but positive for coagulase using pig plasma, heat-stable DNase, phosphatase and Tween 80 hydrolysis. Hyaluronidase was positive in 97.7% of isolates, but their reaction was weaker than that of swine strains of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus*.

The isolates were biotyped on the basis of the reactions for protease, urease, nitrate, galactose, trehalose and lactose, and 11 biotypes were found among the 129 isolates of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus*.

Key words : *Staphylococcus hyicus*, chickens, isolation, characterization, biotyping

緒論

Staphylococcus hyicus subsp *hyicus*는 주로 生後 1개 월령 이내의 哺乳仔豚에서 全身性皮膚炎을 주증으로 하는 渗出性表皮炎의 原因菌^{1,3}으로 작용할 뿐만아니라

多發性關節炎^{4,5}을 유발시키기도 한다. *Staph. hyicus*는 처음에 Sompolinsky¹에 의해 *Micrococcus hyicus*로命名되었으나 그후에 Baird-Parker⁶는 *Staph. epidermidis* biotype 2로 기술하는 등 이 菌의 分류학적 위치는 분명치 않다가 근년에 와서 Devriese et al⁷에 의해 *hyicus*

Address reprint requests to Dr Cheong-kyu Park, College of Veterinary Medicine, Kyungbuk National University, Taegu 702-701, Republic of Korea.

와 *chromogenes*의 2亞種을 포함시켜 *Staph hyicus*로命名되었고 이菌名이 현재 공식적으로 사용되고 있다.

닭에 있어 *Staph hyicus* subsp *hyicus*의 分布와 病原性에 관해 Sato et al⁸은 닭으로부터 분리한 coagulase陽性 staphylococci를 4개의 生物型으로 구분했고 이중 이들이 분류한 *Staph aureus* avian type 2는 그뒤 Devriesse와 Oeding⁹에 의해 *Staph hyicus*와 일치되고 있음이 확인되었다. 그리고 清水 등¹⁰이 產卵鷄에 있어 水腫性皮膚炎의 發生例에서 原因菌이라고 보고한 *Staph epidermidis*는 그 性狀이 현재의 *Staph hyicus* subsp *hyicus*와 매우 유사함을 보이고 있고, Nakabayashi et al¹¹은 滲出性皮膚炎이 집단발생한 產卵鷄로부터 *Staph hyicus* subsp *hyicus*의 分離를 보고한 바 있다. 또한 이菌은 健康한 닭의 皮膚 및 鼻腔에서도 흔히 分離됨이 報告^{12,13}되고 있어 이菌은 닭에서 皮膚의 常在菌으로 定住하면서 機會感染의 역할도 인정되고 있다.

皮膚의 病變部나 건강동물의 皮膚에 존재하는 *Staph hyicus* subsp *hyicus*는 피부에 상재하는 다른 葡萄球菌의 菌種들과 흔히 混合되어 나타나고 있어 分離 및 同定에 어려움을 겪어 왔으나 근년에 Devriese¹⁴가 이菌의 分離를 위한 選擇培地의 考案과 同定基準을 제시함으로써 이菌에 관한 연구의 수행이 한층 용이하게 되었다. 지금까지 *Staph hyicus* subsp *hyicus*의 鮑氏由來菌株에 대해서는 血清型¹⁵, phage型¹⁶ 그리고 bacteriocin型^{17,18} 등 種以下로까지 분류되어 이菌의 疫學的 또는 生態學的研究에 유용한 수단으로 이용될 수 있게 되었다. 한편 최근에 鮑氏由來菌株에 부터 분리된 *Staph hyicus* subsp *hyicus*와 닭 및 소由來菌株와의 비교에서 몇 가지 특징적인 性狀의 차이가 있음이 밝혀지고 있다^{9,19,20}.

이研究에서는 國內 닭으로부터 *Staph hyicus* subsp *hyicus*의 분리빈도와 分離菌株의 生化學的性狀를 조사하고 나아가 이들菌株가 나타내는 性狀의 차이에 따라 이菌의 分류를 위한 하나의 方法으로 生物型別을 시도하였다.

材料 및 方法

材料採取 : 경북지방에서 사육되고 있는 6개 養鷄場의 건강한 닭 868首(20~30일령 140首, 60~80일령 144首, 1년 이상된 산란계 584首)와 수집한 닭 6首(1년 이상된 산란계)를 검사대상으로 하였다. 멸균면봉으로 供試 닭의 裏下皮膚面을 충분히 문질러 재료를 채

취하였다.

菌分離 및 同定 : 採取된 材料를 *Staph hyicus* subsp *hyicus* 分離를 위한 Devriese¹⁴의 選擇培地에 직접도말하여 37℃에서 24시간 배양하였다. 選擇培地에서 lipase產生 양성이면서 백색의 乳頭狀 集落을 *Staph hyicus* subsp *hyicus*로 推定하고 그 數를 算定하였다. 대표적인 集落은 再分離를 실시한 후 純培養임을 확인하고 Devriese¹⁴가 提示한 기준에 따라 同定하였다.

生化學的性狀의 檢查 : *Staph hyicus* subsp *hyicus*로 同定된 分離菌株의 phosphatase, hyaluronidase, gelatinase, coagulase 및 urease產生, 질산염환원능, 溶血性, fibrinolysis 그리고 skim milk 加水分解能검사는 Devriese¹⁴와 Devriese et al²¹의 方法에 따라 실시하였고, 耐熱性 DNase 產生能은 Lachica et al²²이 提示한 한천화 산법으로 검사하였다. Protein A 產生能은 Takeuchi et al²³이 수행한 방법으로 검사하였다. β -glucuronidase검사는 여과멸균한 p-nitrophenyl- β -D-glucuronide (Sigma)를 0.2%되게 加한 nutrient agar(Difco) 平板培地에 分離菌을 확선도말하고 37℃에서 24시간 배양한 후 發育菌 주위에 황색대를 形成하는 菌株를 양성으로 판정하였다. Lecithinase검사는 신선卵黃을 brain heart infusion agar(Difco)에 10%되게 첨가한 배지에 分離菌을 확선도말하고 37℃에서 48시간 배양한 후 集落 주위에 혼탁대의 유무를 보아 판정하였다. 炭水化物 分解能은 여과멸균한 各種의 糖을 phenol red broth(Difco)에 1%되게 加하여 시험판에 2ml씩 分注한 후 分離菌을 접종하고 37℃에서 5일간 배양하면서 酸의 產生을 관찰하였다.

結 果

健康한 닭의 皮膚로부터 *Staph hyicus* subsp *hyicus*의 분리성적은 Table 1에서와 같이 검사한 닭 874首 중 129首에서 分離되어 14.8%의 分離率를 나타내었다. 日齡別에 따라 이菌의 分布를 보면 80일령 以下의 닭에서는 분리되지 않았고 다만 1년 이상된 產卵鷄에서 21.9%의 分離率를 보였다. 成鷄를 중심으로 해서 養鷄場別에 따른 *Staph hyicus* subsp *hyicus*의 分布를 보면 검사 대상의 3.1%에서 38.7%가 분리 양성을 보인 養鷄場도 있어 養鷄場에 따른 이菌의 分포에는 상당한 차이를 나타내고 있었다.

檢査材料 중 選擇分離培地上에 나타난 *Staph hyicus*

Table 1. Isolation of *Staph hyicus* subsp *hyicus* from skin of healthy chickens

Source	Age of chickens in sample population			Total
	20-30 days	60-80 days	> 1 y	
Farm A	0/35 (0.0) ^a	0/34 (0.0)	4/62 (6.5)	4/131 (3.1)
Farm B	0/35 (0.0)	0/35 (0.0)	5/61 (8.2)	5/131 (3.8)
Farm C	0/70 (0.0)	0/75 (0.0)	-	0/145 (0.0)
Farm D	-	-	40/149 (26.9)	40/149 (26.9)
Farm E	-	-	11/149 (7.4)	11/149 (7.4)
Farm F	-	-	63/163 (38.7)	63/163 (38.7)
Collection chickens	-	-	6/6 (100.0)	6/6 (100.0)
Total	0/140 (0.0)	0/144 (0.0)	129/590 (21.9)	129/874 (14.8)

^a: No of isolation-positive chickens/No of chicken examined(%)

Table 2. Estimated numbers of *Staph hyicus* subsp *hyicus* colonies on selective medium inoculated with samples from various farms

Source	No of isolation positive chickens	No of colonies recovered on primary isolation plates		
		1-10	10-100	> 100
Farm A	4	4 ^a	0	0
Farm B	5	1	3	1
Farm C	0	0	0	0
Farm D	40	32	6	2
Farm E	11	10	0	1
Farm F	63	53	7	3
Collection chickens	6	4	1	1

^a: No of chickens

subsp *hyicus*集落의 算定數는 Table 2에서와 같다. 菌分離陽性鷄의 대부분이 10개以下の 낮은 集落數를 나타내었지만 일부 닭에서는 100개가 넘는 集落數를 보인例도 관찰되었다.

닭으로부터 분리된 129菌株의 각종 酶素 및 毒素产生능을 보면(Table 3 및 Table 4) 全分離菌株가

Tween 80 가수분해, phosphatase 및 耐熱性 DNase 產生 양성이었고, 尿素分解 및 질산염 환원효소의 產生能은 일부菌株에서 결여되어 있음을 볼 수 있었다. Hyaluronidase시험에서 供試菌株의 대부분이 약한 陽性반응을 나타내었다. β -glucuronidase는 분리된 全菌株에서 陰性이었다. Coagulase검사에서 토키 및 닭혈장을

Table 3. Characteristics of 129 strains of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus* isolated from chickens

Characteristic	No of positive strains	%
Phosphatase	129	100.0
Heat stable DNase	129	100.0
Hyaluronidase	126	97.7
Tween 80 hydrolysis	129	100.0
Gelatinase	126	97.7
Skim milk hydrolysis	33	25.6
Lecithinase	0	0.0
β -glucuronidase	0	0.0
Urease	120	93.0
Nitrate reduction	127	98.5

Table 4. Additional characteristics of 129 *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus* strains isolated from chickens

Characteristic	No of positive strains	%
Haemolysis on rabbit, sheep, pig and chicken blood agar	0	0.0
Fibrinolytic activity on Rabbit plasma agar	126	97.7
Pig plasma agar	120	93.0
Chicken plasma agar	129	100.0
Tube coagulase		
Rabbit plasma-EDTA	22	17.1
Chicken plasma-EDTA	12	9.3
Pig plasma-EDTA	129	100.0
Protein A		
Slide hemagglutination test	0	0.0
Serum agar plate test	0	0.0

응고시킨 菌株는 각각 17.1%와 9.3%였으나 뼈지혈장의 사용에서는 全分離菌株가 강한 陽性반응을 나타내었다. Skim milk 培地를 사용한 protease產生검사에서 25.6%의 菌株가 陽性을 보였다.

分離菌 129株의 糖分解能은 Table 5에서와 같다. 分離된 全菌株는 mannose와 ribose로부터 酸을 산생했다. 그러나 이들 由來의 일부 菌株는 trehalose, galac-

tose 및 lactose 分解시험에서 陰性인 것으로 나타났고 trehalose 非分解菌株가 특히 A 및 D 雜鶏場에서 많이 분리되었다.

分離菌株를 生化學的性狀의 차이에 따라 분류한 生物型別은 Table 6에서와 같다. 分離菌 129株는 11개의 生物型으로 분류될 수 있었는데 이들中 protease를 산생하고 urease, nitrate, galactose, trehalose 및 lactose 陽

Table 5. Aerobic acid production of 129 *Staph hyicus* subsp *hyicus* strains from various carbohydrates

Carbohydrate	No of positive strains	%
Mannitol	0	0.0
Maltose	0	0.0
Galactose	126	97.7
Trehalose	112	86.8
Lactose	128	99.2
Ribose	129	100.0
Mannose	129	100.0
Salicin	0	0.0
Arabinose	0	0.0

Table 6. Biotyping of 129 strains of *Staph hyicus* subsp *hyicus* isolated from chickens

Biotype	No of strains	Biochemical reactions					
		Protease*	Urease	Nitrate	Galactose	Trehalose	Lactose
I	22	+	+	+	+	+	+
I _a	81	-	+	+	+	+	+
II	6	+	+	+	+	-	+
II _a	7	-	+	+	+	-	+
III	2	+	-	+	+	+	+
III _a	3	-	-	+	+	+	+
IV _a	3	-	-	+	-	+	+
V _a	2	-	+	-	+	+	+
VI	1	+	+	+	-	+	+
VII	1	+	+	+	-	-	+
VIII	1	+	-	+	-	+	-

*: On skim milk agar

性인 I型에 속하는 것이 22株(17.1%) 그리고 protease산생능만이 결여된 I_a型인 것이 81株(62.9%)로서 이들 두형에 속하는 菌이 대부분을 차지하였다.

考 察

哺乳仔豚에서 渗出性表皮炎을 유발시키는 *Staph hyicus* subsp *hyicus*는 돼지 이외에 다른 여려동물의 피부, 비강 또는 편도 등에서도 흔히 분리되기도 한다.

Takeuchi et al¹²은 건강한 닭의 피부로부터 이菌의 分離率은 18.9%였고 어린 닭에서 보다 10개월령 이상된 成鶏에서 월등히 높은分布를 보였다고 하였으며, Teranishi et al¹³은 닭의 비강 및 피부로부터 각각 8.3% 및 9.3%의 分離率을 보고한 바 있다. 이研究에 供試한 닭에 있어서 이菌의 分離率은 14.8%를 나타내어 國內의 닭에서도 養鷄場에 따라 상당한 차이를 보이면서 이菌이 分離하고 있음을 확인할 수 있었다. 그리고 이研究의 成績에서 80일령以下の 닭에서는 이菌이 分離되지 않았고 다만 1년 이상된 産卵鶏에서 21.9%의 分離率을 보인것은 Takeuchi et al¹²의 성적과도 같은 경향이었고 이와같은 분리양상은 嘉州에서 成豚보다 哺乳仔豚으로부터 이菌의 分離率이 높았다고 報告^{12,14,24}한 성적들과는相反된 결과로 나타났다.

動物種에 따라 分離된 *Staph hyicus* subsp *hyicus*의 菌株사이에 特性의 차이로서 Takeuchi et al²³은 嘉州由來菌株의 82.1%는 protein A 산생이 陽性인 반면에 닭과 소由來菌株에서는 險性이었다 하였고 朴²⁰은 API STAPH-IDENT system을 이용해서 嘉州由來의 96.3%菌株가 β -glucuronidase 산생이 陽性이었으나 닭由來의 全菌株에서는 險性이었음을 報告한 바 있다. 이研究에서 供試한 分離菌株에서도 protein A와 한천화산법에 의한 β -glucuronidase 산생 陽性株는 인정되지 않았다. Hyaluronidase는 分離菌株의 97.7%에서 陽性이었다. 그러나 이들 陽性株의 대부분이 이 실험에서 같이 사용된 嘉州由來菌株의 반응에 비해 그 반응의 정도가 현저히 약함을 관찰할 수 있었다. 따라서 이 반응정도의 차이는 *Staph hyicus* subsp *hyicus*의 分離源에 따른菌株에서 볼 수 있는 하나의 特性이 될 수 있을 것으로 사료된다.

이研究에서 供試된 동물의 血漿에 따라 약간의 차이는 있지만 대부분의菌株가 血漿加平板培地에서 강한 섬유소용해 현상을 관찰할 수 있었는데 이 결과가 分離菌이 산생한 protease에 의한 것인지 또는 plasminogen의 활성화에 관여하는 staphylokinase에 의한 것인지는 판별될 수 없었다. 닭由來 *Staph hyicus* subsp *hyicus*菌株의 토끼血漿을 사용한 coagulase검사에서 陽性率은 0~80%에 이르기까지 報告者에 따라 심한 차이를 보이고 있다^{9,12,14,20}. 이研究에 供試된 分離菌株의 토끼血漿에서 coagulase 陽性率은 17.1%였다. 그러나 嘉州血漿에서는 全菌株가 강한 陽性반응을 보였는데 이와 같은 所見으로 보아 이菌에 대해 coagulase검사를 수행하는 데는 嘉州血漿이 보다 적합할 것으로 사료된다.

한편 Yrios²⁵는 416株의 *Staph aureus*를 사용하여 토끼와 嘉州血漿의 응고능 비교에서同一한 결과를 나타냈다고 보고한 바 있다.

同一菌種의菌株間에도 生化學的性狀의 차이에 따라 生物型으로 型別될 수 있다. 國內에서 分離된 *Staph hyicus* subsp *hyicus*의 嘉州由來菌株의 生化學的性狀은 대체로 단일성을 나타내고 있다^{20,24}. 그러나 이研究에 供試된 닭由來菌株는 生化學的性狀검사의 반응에서 차이를 보여 닭에서는 다양한菌株가 分離해 있음을 알 수 있고 이를 分離菌株를 11개의生物型으로 분류할 수 있었다. 朴¹⁸은 이 군의 staphylococcal感受性에 의한菌型別을 보고함에 있어 血清型別과 병용함으로써 分離菌株를 더욱細別할 수 있었다 하였고 Kawano et al¹⁶은 그들이 분리한 4 phage를 사용하여 이菌의 phage型別을 보고한 바 있다. 따라서 이研究에서 提示된生物型別도 다른型別法과 상호병용하여 추구함으로써 이菌의 異別력은 더욱 높아지리라 사료된다.

結論

닭에 있어서 *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus*의 分離조사와 分離菌株의 각종 生化學的特性을 검사하였다. 건강한 닭 874首 중 129首(14.8%)의 皮膚로부터 *Staph hyicus* subsp *hyicus*가 분리되었다. 養鷄場에 따른 이菌의 分離率은 0~38.7%이며 80일령以下の 어린 닭에서보다 1년以上된 産卵鶏에서 分離率이 높은 경향을 나타내었다.

分離菌株는 溶血性, protein A 및 β -glucuronidase 產生能에서 險性이었다. 그러나 嘉州血漿을 사용한 coagulase, 耐熱性 DNase, phosphatase 및 Tween 80분해에서는 모두 陽性이었다. 分離菌株의 대부분은 hyaluronidase 產生検査에서 약한 陽性반응을 나타내었다.

分離菌株는 protease, urease, nitrate, galactose, trehalose 및 lactose에 대한性狀의 차이에 따라 11개의生物型으로 型別될 수 있었다.

参考文獻

1. Sompolinsky D. De l'impétigo contagiosa suis et du *Micrococcus hyicus* n. sp. Schweiz Arch Tierheilkd 1953; 95: 302-309.

2. L'Ecuyer C. Exudative epidermitis in pigs. *Can J Comp Med* 1966; 30: 9-16.
3. Amtsberg G, Bollwahn W, Hazem S et al. Bakteriologische, serologische und tierexperimentelle Untersuchungen zur Ätiologischen Bedeutung von *Staphylococcus hyicus* beim Nässenden Ekzem des Schweines. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 1973; 80: 493-499, 521-523.
4. Phillips WE, King RE, Kloos WE. Isolation of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus* from a pig with septic polyarthritis. *Am J Vet Res* 1980; 41: 274-276.
5. Noda K, Fukui T. Outbreaks of pyogenic arthritis in new-born piglets and stillbirth caused by *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus*. *Jpn J Vet Res* 1986; 39: 305-310.
6. Baird-Parker AC. *Micrococcaceae*. In *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8th ed. Williams & Wilkins Company, Baltimore 1974; 487.
7. Devriese LA, Hajek V, Oeding P, et al. *Staphylococcus hyicus*(Sompolinsky 1953) comb. nov. and *Staphylococcus hyicus* subsp *chromogenes* subsp. nob. *Int J Syst Bacteriol* 1978;28: 482-490.
8. Sato G, Miura S, Terakado N. Classification of chicken coagulase-positive staphylococci into four biological types and relation of the types to additional characteristics including coagulase-an-tigenic type. *Jpn J Vet Res* 1972; 20: 91-110.
9. Devriese LA, Oeding P. Coagulase and heat resis-tant nuclease producing *Staphylococcus epidermidis* strains from animals. *J Appl Bact* 1975; 39: 197-207.
10. 清水 健, 堀内貞治, 勝屋茂實 等. *Staphylococcus epidermidis*に 起因する 鶏皮膚疾患の 集團發生 例 に ついて. 家畜衛生研究報告 1967; 55: 21-26.
11. Nakabayashi D, Watanabe T, Honma H, et al. Exudative dermatitis in layer chickens associated with *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus*. *J Jpn Soc Poult Dis* 1987; 23: 12-20.
12. Takeuchi S, Kobayashi Y, Morozumi T, et al. Iso-lation and some properties of *Staphylococcus hy-*
- icus* subsp *hyicus* from pigs, chickens and cows. *Jpn J Vet Sci* 1985; 47: 841-843.
13. Teranishi H, Shimizu A, Kawano J, et al. Iso-lation and characterization of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus* from animals. *Mem Grad School Sci & Technol, Kobe Univ* 1987; 5-A: 61-66.
14. Devriese LA. Isolation and identification of *Staphylococcus hyicus*. *Am J Vet Res* 1977; 38: 787-792.
15. Park CK, Kang BK. Studies on exudative epidermitis in pigs. II. Serological typing of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus* isolated from pigs. *Korean J Vet Res* 1987; 27: 47-52.
16. Kawano J, Shimizu A, Kimura S. Bacteriophage typing of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus* iso-lated from pigs. *Am J Vet Res* 1983; 44: 1476-1479.
17. Park CK. Bacteriocin(*Staphylococcin*) typing of swine strains of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus*. *Korean J Vet Res* 1992; 32: 579-583.
18. Park CK. Typing of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus* by staphylococcin sensitivity. *Korean J Vet Res* 1993; 33: 387-391.
19. Hoover G, Tatini SR, Maltais JB. Charact-erization of staphylococci. *Appl Environ Microbiol* 1983; 46: 649-660.
20. Park CK. Identification of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus* of swine and poultry origin by API STAPH-IDENT system. *Korean J Vet Res* 1994; 34: 315-320.
21. Devriese LA, Schleifer KH, Adegoke GO. Iden-tification of coagulase-negative *staphylococci* from farm animals. *J Appl Bact* 1985; 58: 45-55.
22. Lachica RVF, Genigeorgis C, Hoeprich PD. Meta-chromatic agar diffusion methods for detecting sta-phylcoccal nuclease activity. *App Microbiol* 1971; 21: 585-589.
23. Takeuchi S, Kobayashi Y, Morozumi T, et al. Pro-tein A in *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus* iso-lates from pigs, chickens and cows. *Jpn J Vet Sci* 1988; 50: 153-157.
24. Park CK, Kang BK. Studies on exudative epidermitis in pigs: I. Isolation and some pro-

perties of *Staphylococcus hyicus* subsp *hyicus* from diseased and healthy pigs. *Korean J Vet Res* 1986; 26: 251-257.

25. Yrios JW. Comparison of rabbit and pig plasma in the tube coagulase test. *J Clin Microbiol* 1977; 5: 221-224.