

## API STAPH system을 이용한 돼지, 닭 및 소유래 *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*의 동정

박 청 규

경북대학교 수의과대학  
(1996년 2월 7일 접수)

### Identification of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* of swine, poultry and bovine origin with the API STAPH system

Cheong-kyu Park

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University

(Received Feb 7, 1996)

**Abstract** : The API STAPH system was compared with conventional methods for identification of 214 strains of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* isolated from cases of exudative epidermitis in piglets, skin of healthy pigs, skin of healthy chickens and bovine intramammary infections, and biochemical characteristics among the swine, avian and bovine strains were also compared.

All of the swine and bovine strains produced acid within 24 hours from fructose, lactose and trehalose by conventional methods, but some of the avian strains showed a delayed positive reaction in these carbohydrates. These delayed positive strains in conventional methods gave usually negative results for them in the API STAPH system.

With the API STAPH system, eighteen different profile numbers were encountered in 214 strains of swine, avian and bovine origin. The swine and bovine strains, respectively, were distributed among 4 profiles, while the avian strains were distributed among 17 profiles. The profile number observed most frequently in the strains of each animal species was uniformly 6 516 153.

By conventional methods, approximately 96% of the swine strains were positive for  $\beta$ -glucuronidase, but not in any strains from chickens and cattle. For hyaluronidase production determined by degradation of sodium hyaluronidate in a solid culture medium, all the swine and bovine strains were positive, but only 37.5% of the avian strains were positive for it.

From these findings, there were differences in the production of extracellular active

substances between swine strains of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* and those isolated from chickens and cattle.

**Key words** : swine, bovine, chicken, *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*, API STAPH system.

## 서 론

*Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*는 동물에만 편재하면서 다양한 질환을 일으키고 있다. 이 균은 어린 돼지에서 삼출성 표피염<sup>1-3</sup>과 다발성 관절염<sup>4,5</sup>의 원인균으로 일찌기 잘 알려져 왔고 근년에는 젖소의 만성 또는 잠재성 유방염<sup>6-8</sup>에서도 높은 빈도로 분리되고 있음이 보고되고 있다. 또한 이 균은 닭에서 피부의 상재균으로 정주하면서 기회적으로 수종성 피부염을 유발시키기도 한다<sup>9-11</sup>.

최근에는 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*의 돼지 유래균주와 닭 및 소 유래균주 사이에 생화학적 특성의 차이점을 밝히려는 연구가 수행되고 있다. Takeuchi et al<sup>12</sup>은 돼지 유래균주의 대부분은 protein A산생이 양성인 반면에 닭과 소 유래의 전균주에서는 음성임을 보고했고, 박<sup>13</sup>은 돼지 유래의 96.3%의 균주는  $\beta$ -glucuronidase산생이 양성이었으나 닭 유래의 전균주에서는 음성이었다고 하였으며 최와 박<sup>11</sup>은 닭 유래균주의 hyaluronidase 활성이 돼지 유래균주에 비해 그 반응의 정도가 현저히 약함을 관찰할 수 있었다고 하는 보고 등으로 미루어 보아 동물종에 따라 분리된 이들 균주사이에는 어떤 다른 특성에서도 차이가 있을 것으로 예상된다.

현재 *Staphylococcus*균종의 동정을 위해 API STAPH system(BIOMERIEUX SA, Marcy-l'Étoile, France)이 널리 이용되고 있다. 이 system은 19종류의 생화학적 검사의 반응결과에 의해 *Staph aureus*를 비롯하여 18균종 2아종의 동정을 가능하게 한다. 이 연구에서는 돼지, 닭 그리고 소로부터 분리된 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*의 동정을 위해 API STAPH system의 유용성을 조사해 보았고 나아가 동물종에 따라 분리된 이들 균주사이에 특성의 차이를 비교검토해 보았다.

## 재료 및 방법

공시균주 : 총 214주의 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*를 사

용하였다. 이들 공시균주는 포유자돈의 삼출성표피염예와 건강한 돼지의 피부로부터 80주, 건강한 닭의 피부로부터 120주 그리고 젖소의 유방염 유증으로부터 분리한 것이 14주이며 이들 균주의 동정을 Devries<sup>14</sup>가 제시한 기준에 의하였다.

API STAPH system에 의한 동정 : 각 공시균주를 면양혈액이 5% 함유된 trypticase soy agar(BBL)에 도말하여 20시간 배양한 후 API STAPH medium에 0.5 McFarland 혼탁도가 되게 균부유액을 준비하였다. 이 균부유액을 strip의 각 microtube에 2적씩 주입하고 arginine과 urease검사는 광유 2적씩 중첩시켜 37℃에서 24시간 배양한 후 제조회사의 지시에 따라 판독하였다. 양성반응의 결과에 따라 7자리 숫자로 표시된 각 균주의 profile을 analytical profile index와 비교하였고 여기에 수록되어 있지 않은 균주의 profile은 컴퓨터 데이터 베이스에 의해 얻어진 결과와 비교하였다.

통상법에 의한 생화학적 검사 : 공시균주의 내열성 DNase 산생능은 Lachica et al<sup>15</sup>이 제시한 한천확산법으로 검사하였다. Tween80 분해능검사는 Devriese<sup>14</sup>의 방법에 의하였고 hyaluronidase산생검사는 Smith와 Willett<sup>16</sup>의 방법으로 수행하였다.  $\beta$ -glucuronidase검사는 여과멸균한 p-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucuronide(Sigma)를 0.2%되게 첨가한 nutrient agar(Difco)평판배지에 공시균을 희석도말하고 37℃에서 24시간 배양한 후 발육균 주위에 황색대를 형성하는 균주를 양성으로 판정하였다. 당분해능시험은 여과 멸균한 각종의 당을 1%되게 첨가한 phenol red broth(Difco)에 공시균을 접종하고 37℃에서 5일간 배양하면서 산의 산생을 관찰하였다.

## 결 과

API STAPH system을 구성하고 있는 19종류의 기질에 대한 돼지, 닭 및 소 유래 *Staph hyicus* subsp. *hyicus* 균주의 반응결과는 Table 1에서와 같다. 돼지 및 소 유래균주는 이들 각각의 기질에 대해 거의 동일한 성상을 나타

내었다. 그러나 닭 유래균주는 fructose, lactose 및 trehalose 분해와 urease 산생 등에서 음성의 결과를 나타내는 균주의 출현율이 높았다.

통상방법에 의한 공시균주의 생화학적 성상은 Table 2에 서와 같다. 내열성 DNase, Tween 80 및 maltose 분해능에 서는 분리원에 따른 이들 균주간에 뚜렷한 차이가 인정되 지 않았지만  $\beta$ -glucuronidase 산생에서 돼지 유래의 96% 이 상의 균주가 양성을 보인 반면에 닭 및 소 유래의 전균주에 서는 음성인 것으로 나타났고 hyaluronidase 산생은 돼지 및 소 유래의 전균주는 양성으로 판정되었으나 닭 유래균 주에서는 37.5%의 균주만이 양성으로 관찰되었다.

공시한 돼지 및 소 유래의 전균주는 fructose, lactose 및 trehalose를 24시간 이내에 완전히 분해시킴을 볼 수 있었 다. 그러나 닭 유래균주에서는 3-5일까지 연장배양한 후

에 양성으로 나타나는 균주를 상당수 관찰할 수 있었고 이들 균주의 분리율은 양계장에 따라 큰 차이를 보였다. 이들 지연반응을 나타내는 균주들은 API STAPH system 에서 미약한 양성반응이나 음성의 결과로 관찰되었다.

돼지, 닭 및 소 유래균주에서 얻어진 API code profile의 분포는 Table 3에서와 같다. 공시한 214균주에서 모두 18개의 서로 다른 profile이 관찰되었다. 돼지와 소 유래균 주에서는 각각 4개의 profile이 관찰되었고 대부분의 균주 가 6 516 153의 profile로 나타났다. 닭 유래의 120균주중 에서 83주는 6 516 153에 분포되어 있었고 나머지 균주 들은 16개의 profile에 산재해 있었다. 닭에서 관찰된 17개 profile중 10 profile은 analytical profile index에서 발 견할 수 없었다.

Table 1. Biochemical reactions of swine, avian and bovine strains of *Staph hyicus* subsp. *hyicus* by API STAPH system

Biochemical test	No of positive strains		
	Swine strains (n=80)	Avian strains (n=120)	Bovine strains (n=14)
Glucose	80	120	14
Fructose	80	100, 9w	14
Mannose	80	119, 1w	13, 1w
Maltose	0	0	0
Lactose	80	112, 2w	14
Trehalose	80	97, 2w	14
Mannitol	0	0	0
Xylitol	0	0	0
Melibiose	0	0	0
Nitrate reduction	70, 6w	110, 7w	12, 1w
Phosphatase production	80	119, 1w	14
Acetoin production	78, 2w	109, 7w	7, 7w
Raffinose	0	0	0
Xylose	0	0	0
Saccharose	80	120	14
Acid from :			
Alpha-methylglucoside	0	0	0
N-acetylglucosamine	79	116, 2w	13
Arginine dehydrolase	80	116, 2w	14
Urease	78	111	13

w ; weak reaction.

Table 2. Biochemical reactions of swine, avian and bovine strains of *Staph hyicus* subsp. *hyicus* by conventional methods

Biochemical test	No of positive strains		
	Swine strains (n=80)	Avain strains (n=120)	Bovine strains (n=14)
Heat-resistant DNase	80	120	14
Hyaluronidase	80	45	14
$\beta$ -Glucuronidase	77	0	0
Precipitation zone on Tween80	80	120	14
Acid from maltose <sup>a</sup> (5 days)	0	0	0
Acid from fructose <sup>a</sup> after			
1 day	80	100	14
2 days	0	0	0
3 days	0	20	0
Acid from lactose <sup>a</sup> after			
1 day	80	113	14
2 days	0	3	0
3 days	0	1	0
4 days	0	3	0
Acid from trehalose <sup>a</sup> after			
1 day	80	97	14
2 days	0	1	0
3 days	0	5	0
4 days	0	1	0
5 days	0	2	0

<sup>a</sup> In phenol red broth.

## 고 찰

돼지 삼출성 표지염을 비롯하여 여러 동물에서 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*에 의해 야기된 감염증의 진단은 임상 가검물로부터 이 균을 분리하여 동정함으로써 이루어진다. 현재 *Staphylococcus*의 균종 동정을 위해 신속성과 편의성을 함께 갖춘 API STAPH system이 널리 이용되고 있다. 그러나 이 system에 의한 동정의 정확성은 균종이나 분리원에 따라 다양하게 평가되고 있다. 이 연구에서 돼지, 닭 그리고 소로부터 분리된 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*

의 동정을 위해 API STAPH system에 의한 생화학적 검사의 반응을 통상적 방법에 의한 검사결과와 비교해 보았던 바 통상방법에서 fructose, lactose 그리고 trehalose에 대해 지연성 양성반응을 보인 균주들이 API STAPH system에서는 대개 음성의 결과로 관찰됨을 볼 수 있었다. 이 차이는 API STAPH system에서 24시간 배양만으로 반응을 판정하는 결과 때문인 것으로 판단할 수 있다. 이와 같은 음성의 결과는 그 균주가 지닌 진정한 음성의 특성과 구별되지 않으며 따라서 이 system에서 이들 균주의 동정은 낮아지거나 타균종으로 잘못 동정될 가능성이 있음을 예상할 수 있다 하겠다.

Table 3. Observed API profiles of swine, avian and bovine strains of *Staph hyicus* subsp. *hyicus*

Origin	Profile no	No(%) of strains
Swine strains (n=80)	6 514 153	4 (5.0)
	6 516 111	1 (1.3)
	6 516 151	1 (1.3)
	6 516 153	74 (92.5)
Avian strains (n=120)	2 106 053 <sup>a</sup>	1 (0.8)
	2 106 153 <sup>a</sup>	2 (1.7)
	2 506 053 <sup>a</sup>	1 (0.8)
	2 506 151 <sup>a</sup>	2 (1.7)
	2 506 153 <sup>a</sup>	3 (2.5)
	2 516 153 <sup>a</sup>	2 (1.7)
	6 106 153 <sup>a</sup>	1 (0.8)
	6 116 151	1 (0.8)
	6 116 153	1 (0.8)
	6 506 151 <sup>a</sup>	3 (2.5)
	6 506 153	8 (6.7)
	6 514 153	3 (2.5)
	6 516 053	2 (1.7)
	6 516 113 <sup>a</sup>	2 (1.7)
	6 516 151	3 (2.5)
6 516 152 <sup>a</sup>	2 (1.7)	
6 516 153	83 (69.2)	
Bovine strains (n=14)	6 514 153	1 (7.2)
	6 516 113 <sup>a</sup>	1 (7.2)
	6 516 151	1 (7.2)
	6 516 153	11 (78.6)

<sup>a</sup> These profile numbers are not listed in the API STAPH analytical profile index, 3rd edition.

*Staph hyicus* subsp. *hyicus*는 fructose, lactose 그리고 trehalose를 분해시킬 수 있는 능력을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다<sup>7,14,21</sup>. 그러나 이 연구에 공시된 돼지, 닭 그리고 소 유래균주 가운데 닭 유래균주에서만 24시간 배양 후 이들 당이용의 효율성이 낮은 균주가 상당수 관찰되고 있었고 또한 양계장별에 따라 이들 균주의 분리빈도도 현저한 차이를 나타내고 있어 분리원에 따른 균주사이에 특성의 차이가 있음을 볼 수 있었다. 이와같은 결과로 보아 어떤 환경적 요인이 특성을 달리하는 균주의 출현율에 영향을 주는 것으로 판단되며 박<sup>13</sup>은 돼지와 닭 유래균주를

사용하여 API STAPH-IDENT system에 의한 특성의 비교에서도 이와 유사한 결과를 보고한 바 있다.

API STAPH system의 analytical profile index와 computer data base에는 하나의 profile에 여러 균종이 중복되는 "Low Discrimination"인 경우 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*의 최종감별을 위한 보충검사로서  $\beta$ -glucuronidase 시험이 제시되어 있다. 그러나 이 연구에 공시된 돼지 유래의 96% 균주는  $\beta$ -glucuronidase를 산생하는 것으로 나타났으나 닭 및 소 유래의 전균주에서는 음성으로만 관찰되었다. 최와 박<sup>11</sup>은 닭으로부터 분리된 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*에서  $\beta$ -

glucuronidase 양성의 균주는 발견할 수 없었다 하였고 Langlois 등<sup>22</sup>의 소 유래균주에서도 이 효소에 대한 양성 균주는 나타나지 않았음을 볼 때  $\beta$ -glucuronidase 산생은 돼지 유래균주에서 볼 수 있는 하나의 특성으로 간주된다. 따라서 API STAPH system이 제시한 보충검사에서  $\beta$ -glucuronidase 양성반응의 결과에 의해 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*의 균종판정은 돼지 유래균주에서만 가능할 것으로 사료된다.

동일균종의 균주간에도 생화학적 반응의 양상에 근거하여 다시 생물형으로 세분할 수 있고 이 형별은 분리균의 역학적 또는 생태학적 연구의 유용한 수단으로 이용될 수 있다. 이 연구에서 API STAPH system에 포함된 19종의 기질에 대한 공식균주의 반응결과에 의해 결정된 API code profile의 분포를 보았던 바 돼지 및 소 유래균주에서 각각 4개의 profile이 관찰되었고 이들중 6 516 153의 profile인 균주가 다같이 높은 빈도로 분포해 있음을 볼 수 있었다. 그러나 Maddux와 Koehne<sup>23</sup>은 이 system을 사용하여 돼지 유래의 31균주에서 7 profile을 관찰하고 이들중 6 514 151과 6 514 153이 대체로 높게 분포되어 있었다 하였고 Langlois 등<sup>19</sup>이 젖소 유방염 유래의 21균주에서 관찰한 10개의 profile중 6 716 053이 가장 빈번하였다고 보고한 바 있어 생물형의 분포가 지역에 따라 다르게 나타나고 있음을 볼 수 있었는데 이런 차이를 더욱 명확히 규명하기 위해서는 여러지역에서 많은 균주에 대한 조사가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

돼지, 닭 그리고 소로부터 분리된 *Staph hyicus* subsp. *hyicus*의 동정을 위한 API STAPH system이 통상방법에 의한 결과와 비교되었고 또한 동물종에 따라 분리된 이들 균주사이에 생화학적 특성의 차이를 비교검토하였다. 돼지 및 소 유래의 모든 균주는 통상적 방법에서 fructose, lactose 그리고 trehalose를 24시간 이내에 완전히 분해시켰으나 닭 유래의 상당수 균주는 이들 당에 대해 지연성 양성반응을 나타내었다. 통상방법에서 지연성 양성반응을 나타내는 균주들은 API STAPH system에서 해당 기질에 대해 대개 음성의 결과를 보였다.

API STAPH system에 의해 공식한 214균주에서 18개의 profile이 관찰되었다. 돼지 및 소 유래균주는 각각 4개의 profile에 그리고 닭 유래균주는 17 profile에 분포되어

있었고 각 동물종유래의 균주에서 가장 빈번히 나타난 profile은 다같이 6 516 153이었다.

통상적 방법에서 돼지 유래의 96% 균주가  $\beta$ -glucuronidase 산생양성이었으나 닭 및 소 유래의 전균주에서는 음성이었다. 돼지 및 소 유래의 전균주가 hyaluronidase를 산생함에 비하여 닭 유래균주에서는 37.5%의 균주만이 이 효소를 산생하는 것으로 나타났다.

## 참 고 문 헌

1. Sompolinsky D. De l'impetigo contagiosa suis et du *Micrococcus hyicus* n. sp. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 95:302-309, 1953.
2. L'Ecuyer C. Exudative epidermitis in pigs. *Can J comp Med*, 30:9-16, 1966.
3. Taylor DJ. Exudative epidermitis. In: Leman AD, Straw BE, Mengeling WL, et al, ed. *Diseases of swine*, 7th ed. *Iowa State University Press*, 522-525, 1992.
4. Phillips WE, King RE, Kloos WE. Isolation of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* from a pig with septic polyarthritis. *Am J Vet Res*, 41: 274-276, 1980.
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*, 39: 305-310, 1986.
6. Devriese LA. Identification of clumping-factor-negative staphylococci isolated from cow's udders. *Res Vet Sci*, 27:313-320, 1979.
7. Devriese LA, Hajek V, Oeding P, et al. *Staphylococcus hyicus* (Sompolinsky 1953) comb. nov. and *Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes* subsp. nov. *Int J Syst Bacteriol*, 28:482-490, 1978.
8. Park CK, Cho YJ. Studies on staphylococci isolated from bovine udder infections: II. Distribution and biochemical properties of coagulase-negative staphylococci. *Korean J Vet Res*, 23:165-172, 1978.
9. Nakabayashi D, Watanabe T, Honma H, et al. Exudative dermatitis in layer chickens associated with *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*. *J Jpn Soc, Poult*

- Dis*, 23:12-20, 1987.
10. Takeuchi S, Kobayashi Y, Morozumi T, et al. Isolation and some properties of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* from pigs, chickens and cows. *Jpn J Vet Sci*, 47:841-843, 1985.
  11. Choi IY, Park CK. Isolation and characterization of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* from chickens. *Korean J Vet Res*, 35:497-504, 1995.
  12. Takeuchi S, Kobayashi Y, Morozumi T, et al. Protein A in *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* isolates from pigs, chickens and cows. *Jpn J Vet Sci*, 50:153-157, 1988.
  13. Park CK. Identification of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* of swine and poultry origin by API STAPH-IDENT system. *Korean J Vet Res*, 34:315-320, 1994.
  14. Devriese LA. Isolation and identification of *Staphylococcus hyicus*. *Am J Vet Res*, 38:787-792, 1977.
  15. Lachica RVF, Genigeorgis C, Hoerich PD. Metachromatic agar-diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity. *Appl Microbiol*, 21:585-589, 1971.
  16. Smith RF, Willett NP. Rapid plate method for screening hyaluronidase and chondroitin sulfatase-producing microorganisms. *Appl Microbiol*, 16:1434-1436, 1968.
  17. Watts JL, Nickerson SC. A comparison of the STA-PH-IDENT and STAPH-TRAC systems to conventional methods in the identification of staphylococci isolated from bovine udders. *Vet Microbiol*, 12:179-187, 1986.
  18. Gemmell CG, Dawson JE. Identification of coagulase-negative staphylococci with the API STAPH system. *J Clin Microbiol*, 16:874-877, 1982.
  19. Langlois BE, Harmon RJ, Akers K. Identification of *Staphylococcus* species of bovine origin with the DMS Staph-Trac system. *J Clin Microbiol*, 20:227-230, 1984.
  20. Giger O, Charilaou CC, Cundy KR. Comparison of the API Staph-Ident and Staph-Trac systems with conventional method used for the identification of coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol*, 19:68-72, 1984.
  21. Teranishi H, Shimizu A, Kawano J, et al. Isolation and characterization of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* from animals. *Mem Grad School Sci & Technol, Kobe Univ*, 5-A:61-66, 1987.
  22. Langlois BE, Harmon RJ, Akers K. Identification of *Staphylococcus* species of bovine origin with the API Staph-Ident system. *J Clin Microbiol*, 18:1212-1219, 1983.
  23. Maddux RL, Koehne G. Identification of *Staphylococcus hyicus* with the API Staph strip. *J Clin Microbiol*, 15:984-986, 1982.
-