

## 메치실린 내성 포도상구균에 유효한 항생물질을 생산하는 *Streptomyces* sp. YSK-681의 분리 및 수리 동정

김중배 · 이동희\* · 신운섭\*\* · 고춘명\*\*

상지대병설전문대학 식품영양과, 건국대학교 미생물공학과\*

연세대학교 원주의과대학 미생물학교실\*\*

### Isolation and Numerical Identification of Antibiotic-Producing *Streptomyces* sp. for Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*

Jung-Bae Kim, Dong-Heui Yi\*, Woon-Seob Shin\*\*, and Choon-Myung Koh\*\*

Department of Food & Nutrition, Sangji Junior College, Wonju 220-702, Korea

\*Department of Microbiological Engineering, Konkuk University, Seoul 133-702, Korea

\*\*Department of Microbiology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju 220-701, Korea

#### Abstract

The strain YSK-681 has been selected for antibiotic-producing strain against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) from 1,000 strains of actinomycetes which had been isolated from soil. The strain YSK-681 has been identified on the point of morphological, cultural, physiological and chemical characteristics. Forty-one taxonomic unit characters were tested and the data were analysed numerically using the TAXON program. The isolate was classified into the major cluster 29 of *Streptomyces* and best-matched to *Streptomyces lydicus*. Therefore, it was concluded that the isolate was identified to be *Streptomyces lydicus*.

Key words : antibiotics, MRSA, *Streptomyces* sp., numerical identification.

#### 서론

포도상구균은 그람양성 구균으로 농가진·피부감염증·식중독·폐렴·패혈증·뇌수막염 등의 광범위한 감염질환의 원인균으로 알려져 있다<sup>1)</sup>. 임상적으로 *Staphylococcus aureus*, *St. epidermidis*, *St. saprophyticus*의 3종이 화농성 질환의 70%를 차지하고 있으며, 특히 황색 포도상구균(*Staphylococcus aureus*)은 조직 침윤성이 높아 각종 감염증의 주된 원인균으로 밝혀져 있다<sup>2)</sup>. 이러한 감염증 치료를 위해 지난 수십년동안 많은 항생물질이 개발되어 왔으나 내성균의 출현과 감염 경향의 변모로 치료에 어려움을 겪고 있다<sup>3,4)</sup>. 특히 메치실린내성 황색 포도상구균(Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*: 이하 MRSA)은 1961년 처음 보고<sup>5)</sup>된 이래 점차 높

은 비율로 분리되고 있고, 국내에서의 MRSA 분리 빈도는 1995년도에 50%를 넘어 평균 62.1%로 나타나고 있어<sup>6,7)</sup> 다른 선진국과 비교해 매우 심각한 수준이다. 또한 MRSA는 cephalosporin을 포함한 대부분의  $\beta$ -lactam계열의 항생물질 뿐만 아니라 다른 항생물질에도 동시에 내성을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다<sup>8,9)</sup>.

현재 MRSA에 대한 감염증 치료제로서 vancomycin이 사용되고 있으나, vancomycin 내성 장구균의 출현 빈도가 증가하고 있어 새로운 항생제 개발이 요구되고 있다<sup>4)</sup>. 따라서 본 연구는 강원도 일원의 토양에서 분리한 방선균을 대상으로 감염증 치료에 유효한 항생물질을 개발하고자 검색 단계부터 임상가검물에서 분리한 다제내성을 갖고 있는 MRSA를 시험균으로 사용하여 기존에 알려져 있지 않은 새로

은 항생물질을 탐색하고자 하였다. 토양으로부터 분리한 방선균으로부터 MRSA에 대하여 항균력이 우수한 균주인 YSK-681을 선별하였으므로 이 균주의 형태적, 배양학적, 생리적 특성, 화학적 분석과 Williams의 방법<sup>10,11)</sup>에 따른 실험 결과를 기초로 Taxon program을 이용하여 수리 동정하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 약제 내성 황색 포도상구균의 분리 및 감수성 검사

항균력 측정을 위한 시험균주로 사용한 약제내성 포도상구균은 연세대학교 원주기독병원에서 임상 가검물로부터 분리한 MRSA를 시험에 사용하였다. 황색 포도상구균을 분리하기 위하여 검체를 혈액 한천 배지에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 황색 집락으로 보이는 균주를 선택하여 mannitol 발효 검사, DNase 생산력, catalase 생산력, 용혈성 등의<sup>12,13)</sup> 검사로 최종적으로 129주의 황색 포도상구균을 분리하였다. 항균제에 대한 감수성 검사는 현재 많이 사용되고 있는 9종류의 항생제 (penicillin(Pc), methicillin(Mc) cephalothin(Ct), cefazolin(Cz), tobramycin(Tm), amikacin(Ak), gentamycin(Gm), vancomycin(Vc), chloramphenicol(Cm)에 대하여 한천 희석법<sup>14)</sup>으로 실험하였다. 즉 항생제의 농도를 1~500 $\mu$ g/ml가 되도록 Mueller-Hinton 배지에 희석하여 평판을 만들고 여기에 시험균을 접종하여 37°C 배양기에서 24시간 배양하였다. 배양 후 최소 저지 농도(minimum inhibition concentration: 이하 MIC)를 측정하여 NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standard, 1990)에 준하여 판정하였다<sup>15)</sup>.

### 2. 방선균의 분리

강원도 원주 일원의 산림 부식토에서 채취한 토양을 48시간 풍건한 후 소량의 토양을 멸균된 생리식염수에 현탁한 후 10분간 방치하였다. 상등액을 1백금이 취하여 방선균 분리용 배지에 도말한 후 30°C에서 5일간 배양하면서 이때 나타나는 집락을 육안으로 관찰하여 1,000 균주의 방선균을 분리하였다. 방선균 분리용 배지는 1.0% colloidal chitin, 0.4% peptone, 0.1% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.05% MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 2.0% agar의 조성을 갖는 배지를 사용하였다.

### 3. 항균 활성의 측정

항균 활성은 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P를 시험균으로 하여 paper disc법<sup>16)</sup>으로 측정하였다. 즉 직경 9cm 배양 접시에 15ml의 Mueller-Hinton agar(MHA)배지를 가하여 균인 후 시험균 1백금을 현탁한 0.5% 반유동 한천배지로 증중하였다. 여기에 20 $\mu$ l의 시료를 가하여 건조시킨 지름 4mm의 paper disc를 올려놓고 4°C 냉장고에서 3시간 방치한 후 37°C 배양기에서 18시간 배양하여 형성되는 생육 저지대(clear zone)의 직경 크기로 항생물질의 활성을 측정하였다.

### 4. 항생물질 생산균의 선별

토양에서 분리된 방선균을 1% soluble starch, 0.5% peptone, 0.05% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.05% MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O의 액체 배지에 접종하여 30°C에서 3~5일간 진탕 배양한 후 거름종이로 균체를 제거하여 배양액을 제조하였다. 항균 활성은 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P 및 5가지 이상의 항생제에 내성을 갖고 있는 12주의 MRSA를 시험균주로 사용하여 배양액 중의 항균 활성을 측정하여 모든 내성균에 강한 항균 활성을 나타내는 균주를 최종 선별하였다.

### 5. 항생물질 생산균주의 동정

선별된 항생물질 생산균주를 동정하기 위하여 형태적·배양학적·생리학적·화학적 특성을 조사하였으며 이를 기준으로 수리 동정하였다. 균사의 형태와 포자 상태는 광학현미경으로, 포자의 표면 상태와 크기는 주사 현미경(JSM-T220A, JEOL, Japan)으로 관찰하였다.

배양학적 특성으로서는 Shirling과 Gottlieb의 방법<sup>17)</sup>과 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology에 명기된 방법<sup>18)</sup>에 따라서 기균사의 색상 및 배면색을 관찰하였으며, 그 외의 색상 판정은 International Streptomyces Project(ISP)의 배지에서 판정하였다. 멜라닌 색소는 peptone-yeast extract agar, tyrosine agar 배지를 사용하여 관찰하였다. 생리학적 특성은 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology<sup>18)</sup>와 Methods for General and Molecular Bacteriology의 방법<sup>19)</sup>에 준하여 조사하였다. 지방산의 분석은 균체를 methyl ester화 시킨 후 gas chromatography(Shimazu GC-14A, Japan)로 분석하였으며<sup>20)</sup>, Menaquinone(MK)의 분석은 동결 건조한 균체를 chloroform : methanol(2 : 1 v/v) 용매로 menaquinone를 추출하여 TLC로 분리하여 분석용 C<sub>18</sub>(4 $\mu$ m, 0.46 $\times$

15.0cm) 컬럼을 사용하여 파장 270nm에서 HPLC로 분석하였다<sup>21)</sup>. 방선균의 세포벽 성분중 diaminopimelic acid(DAP) type의 조사는 6N HCl 2ml을 가하여 121℃에서 15분간 가수분해한 후 cellulose TLC를 사용하여 상승법으로 전개하여 0.2% ninhydrine 시약으로 발색시킨 후 표준물질과 비교하여 결정하였다<sup>22)</sup>. DNA의 G+C의 함량은 HPLC로 분석하였다<sup>23)</sup>. 균주의 수리 동정은 Williams 등의 41개 시험 항목<sup>10,11)</sup>을 조사한 후 TAXON program을 이용하여 결정하였다<sup>24)</sup>.

## 결과 및 고찰

### 1. 약제 내성 황색 포도상구균의 분리 및 감수성 검사

연세대학교 원주기독병원에 내원한 환자와 입원 환자 중 임상병리과에 검사 의뢰된 임상 가검물을 시료로 하여 분리하였다. 분리된 129주의 메치실린내성 황색 포도상구균은 vancomycin(내성 기준: 32 $\mu$ g/ml)에 대한 내성은 없었으나, 그 외의 항생제에서는 높은 내성을 갖고 있었다(Table 1). 특히  $\beta$ -lactam계열에 높은 내성을 나타내고 있었으며, 그 중에서도 methicillin(내성 기준: 4 $\mu$ g/ml)과 penicillin(0.04 $\mu$ g/ml)의 내성율은 100%를 나타내었다. 이 같은 결과는 국내의 다른 보고<sup>9,10)</sup>와 비슷한 경향을 보이고 있으나, 몇 개의 항생제에 대해서는 내성 농도가 더 높은 것으로 조사되었다. 129주의 다제내성 경향은 7가지 이상의 항생제에 내성을 나타내는 균주가 46주로 36%, 5가지 이상에서 98주로 75%이었다. 또한 129주 중에서는 세포벽 합성 저해 작용을

갖는  $\beta$ -lactam계열(Pc, Mc, Ct, Cz)과 단백질합성 저해 작용을 갖는 aminoglycoside계열(To, Am, Gm), chloramphenicol계열(Cm) 간의 교차내성을 나타냈다. 가장 많이 나타난 유형은 Mc-CzPcCtCm의 형태로 10.8%(14주), GmMcCzPcCtCm이 10%(13주), GmMcCzPcCtToCm과 GmMcCzAmPcCm이 4.6%(6주), GmMcCzPcCtCm이 3.9%인 5주로 조사되었다(Table 2).

### 2. 항생물질 생산균의 선별

항생물질 생산균의 1차 선별은 paper disc법<sup>16)</sup>을 사용하여 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P를 도말한 Mueller-Hinton agar(Difco) 배지에서 냉장고에서 3시간 방치 뒤 37℃배양기에서 18시간 배양하여 생육 저지대 형성이 우수한 20균주를 선별하였다. 2차 선별은 임상 가검물에서 분리한 다제내성이 강한 12주의 MRSA를 시험균으로 사용하여 항균력이 우수한 방선균 8균주를 선별하였으며 그 중에서 모든 내성균에 대하여 강한 활성을 나타내는 YSK-681을 최종 선별하였다.

### 3. 항생물질 생산균주의 형태적, 배양학적 특성

Inorganic salt-starch agar와 oatmeal agar 평판 배지에서 포자의 연결 상태는 나선형(spirale)이었으며, 표면 상태는 smooth형을 이루고 있었다(Fig. 1). Peptone-yeast extract iron agar에서의 집락은 주름진 형태이었으나 포자는 형성되지 않았으며, yeast extract-malt extract agar, oatmeal agar, inorganic salt-starch agar, tyrosine agar에서 집락의 형태는 가루 모양(powdery)으로 관찰

Table 1. Minimum inhibition concentration of MRSA isolated from clinical samples

Antibiotics	Number of isolate										
	Inhibited at given concentration( $\mu$ g/ml)										
	1	2	4	8	16	32	64	125	250	500	>500
Penicillin	1			1	3	4	1	4	35	62	18
Methicillin		1	1	1	3	1	4	4	9	2	103
Cephalothin	2		2	1	1	2	18	73	28	2	
Cefazolin	3	1		1	1	1	2	11	75	26	8
Vancomycin	127	1	1								
Tobramycin	5	2		2	26	35	48	8			
Amikacin		2	4	30	16	28		25	21	1	2
Gentamycin		1		3	2	18	13	45	30	14	3
Chloramphenicol					2	7	30	21	3	66	

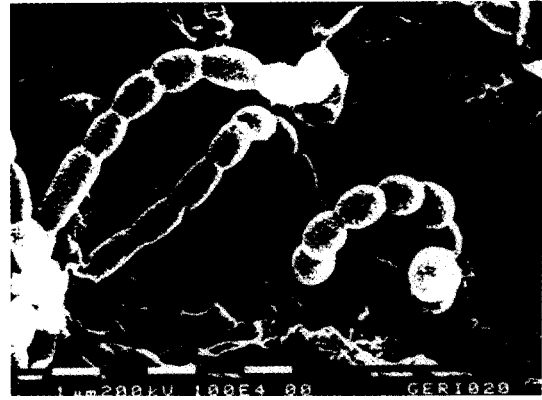
MIC were determined by 2-fold agar dilution method at 37℃ for 18 hours using Bacto Mueller-Hinton medium(Difco).

**Table 2. Antibiotic resistant patterns of *Streptococcus aureus***

Multiplicity of resistance	Antibiogram	Number of strain
8	GmMcCzAmPcCtToCm	4
8	GmMcCzAmPcCtToCm	3
7	GmMcCzPcCtToCm	6
7	GmMcCzAmPcCtTo	1
7	GmMcCzAmPcCtCm	1
6	McCzPcCtToCt	4
6	McCzPcCtToCm	2
6	McCzAmPcCtCm	1
6	GmMcCzPcToCm	1
6	GmMcCzPcCtCm	5
6	GmMcCzPcCtCm	13
6	GmMcCzAmPcCm	6
6	GmMcCzAmPcCm	2
6	GmMcCzAmCtCm	10
6	GmMcCzPcCtCm	5
5	McCzPcCtTo	1
5	McCzPcCtCm	8
5	McCzPcCtCm	14
5	GmMcCzPcCt	1
5	GmMcCzPcCm	3
5	GmMcCzAmCm	2
5	GmMcAmPcCm	1
5	GmCzPcCtCm	1
5	GmCzPcCtCm	1
5	GmCzAmCtCm	1
4	McCzPcCt	4
4	McCzPcCt	1
4	GmMcCzCm	1
4	GmAmPcCt	1
3	McCzCm	2
3	CzPcCm	1
2	PcCm	3
2	McPc	1
2	McCm	1
2	GmAm	1
1	Pc	1

Pc : Penicillin, Mc : Methicillin, Ct : Cephalothin, Cz : Cefazolin, To : Tobramycin, Am : Amikacin, Gm : Gentamycin, Cm : Chloramphenicol.

되었다(Table 3). 포자의 형성은 peptone-yeast extract iron agar만을 제외하고는 모두 잘 형성되었다. Glycerol-asparagine agar, peptone-yeast extract iron agar 배지에서 집락의 색상은 흰색이었으며, 그 밖의 yeast extract-malt extract agar, oatmeal agar, inorganic salt-starch agar, tyrosine agar에서는 초기에 흰색이었으나 배양 4일이 지난 시기부터 회색으로 변화되었다. 멜라닌 색소와 가

**Fig. 1. Scanning electron microscopic photograph of *Streptomyces* sp. YSK-681.**

용성 색소는 관찰되지 않았으며, 집락 배면색은 inorganic salt-starch agar, glycerol-asparagine agar에서 흰색으로, 그 밖의 yeast extract-malt extract agar, oatmeal agar, inorganic salt-starch agar, tyrosine agar에서는 옅은 갈색으로 관찰되었다. Dextrose, fructose, arabinose, xylose, mannitol 등의 탄소원은 잘 이용하였으나, sucrose, raffinose, adonitol, cellobiose는 이용하지 못하였다(Table 4). 생리적 특성은 gelatin, skim milk를 잘 분해하였으나, xanthine, allantoin, pectin 등은 분해하지 못하였다. 또한 skim milk를 응고시키지 못하였고, 7% NaCl, 0.01% sodium azide, 0.1% phenol에서는 생육하지 못하였으며, neomycine과 rifampicin에 대한 저항성도 없었다. 생육 최적온도와 pH는 30℃와 pH 7~8이었으며, 45℃에서도 성장하였으며, H<sub>2</sub>S가스는 발생하지 않았다(Table 5).

#### 4. 균체의 화학적 분석

세포내 지방산은 C<sub>15</sub> fatty acid의 *ante-iso* type과 *iso* type으로 구성되어 있으며, C<sub>15</sub> fatty acid는 43.24%, C<sub>16</sub> fatty acid는 23.35% 그리고 C<sub>17</sub> fatty acid는 29.25%를 함유하고 있었다. 세포내 quinone의 종류는 MK-9(H<sub>6</sub>)와 MK-9(H<sub>8</sub>)의 menaquinone을 함유하고 있었다. 세포벽의 peptidoglycan층에 존재하는 diaminopimelic acid(DAP) 이성질체는 LL-DAP를 함유하고 있었다. LL-DAP type을 함유하고 있는 방선균은 *Streptomyces* 속과 *Streptoverticillium*속이 있으며, 그 밖에 *Sporichthya*속, *Nocardioides*속 및 *Kineosporia*속과 *Kitasatosporia* 속의 일부 균종들이 있으며, 나머지는

**Table 3. Cultural characteristics of *Streptomyces* sp. YSK-681**

Media	Aerial mass color	Reverse side color	Pigment	Colony morphology	Sporulation (colony surface)
Yeast extract-malt extract agar	Grey	Light brown	None	Powdery	Good
Oatmeal agar	Grey	Light brown	None	Powdery	Good
Inorganic salts-starch agar	Grey	White	None	Powdery	Good
Glycerol-asparagine agar	White	White	None	Umbonate	Good
Peptone-yeast extract iron agar	White	Light brown	None	Powdery	None
Tyrosine agar	Gray	Light brown	None	Powdery	Good

The strain was cultured in various kinds of media at 30°C for 14 or 21 days.

**Table 4. Carbon utilization of *Streptomyces* sp. YSK-681**

Carbon source	Utilization
Dextrose	+
Galactose	+
Mannose	+
Fructose	+
Arabinose	+
Xylose	+
Rhamnose	+
Sucrose	-
Raffinose	-
Mannitol	+
Inositol	-
Adonitol	-
Inulin	-
Cellobiose	-

+ utilized, - not utilized

The strain was incubated in carbon utilization basal salt agar supplemented with 1% of carbon source, and the growth was checked after cultivation at 30°C for 14 days.

meso-DAP type의 세포벽을 가진다고 알려져 있다<sup>25)</sup>. 그러나 본 균주는 배양적, 형태학적 특성으로 보아 *Streptomyces* 속 균주로 판정되었다.

### 5. 균의 수리 동정

선별된 항생물질 생산균주를 동정하기 위하여 형태적, 배양적, 생리적 특성을 이용하여 수리 분석을 실시하였다. 포자 모양은 smooth형이었고 나선형으로 연결되어 있었다. 지방산은 iso, ante iso branch type의 fatty acid이었으며, chromosomal DNA (G+C) 함량은 75.9 mol%을 함유하고 있었다. 이 상과 같은 형태적, 배양학적, 생리적 특성과 화학적

**Table 5. Physiological characteristics of *Streptomyces* sp. YSK-681**

Test	Result
Gelatin hydrolysis	+
Skim milk hydrolysis	+
Skim milk coagulation	-
Pectin hydrolysis	-
Degradation of lecithin	+
Oxidase	+
Catalase	+
Urease	+
Degradation of xanthine	-
Degradation of allantoin	-
Indole production	-
Nitrate reduction	-
H <sub>2</sub> S production	-
Resistance to neomycin(50µg/ml)	-
Resistance to rifampicin(50µg/ml)	-
Growth at 45°C	+
<i>Bacillus subtilis</i> antibiosis	+
<i>Aspergillus niger</i> antibiosis	+
Growth in phenol(0.1%, w/v)	-
Growth in NaCl(7%, w/v)	-
Growth in sodium azide(0.01%, w/v)	-

+ utilized, - not utilized

분석 결과를 기초로 하여 Williams의 방법에 의해 41개의 단위 특성 항목을 조사하여 (Table 8) Taxon program을 이용하여 수리 동정을 하였다<sup>11)</sup>. Taxon program은 Willcox probability가 높고(>0.85), 분류학적 거리가 95%분류군 반경 내에 들며, 반경이 짧을수록 그리고 % probability of strain further away 값이 클수록 이상적으로 동정할 수 있다. *Streptomyces* 주군집 (major cluster)을 대상으로 수리 동정한 결과 주군집 29(*Streptomyces lydicus*)에 대해

**Table 6. Identification of *Streptomyces* sp. YSK-681 in the major clusters of *Streptomyces* using TAXON program**

Taxon major cluster	Taxon distance	95% Taxon radius	% Prob of strain further away	Willcox probability
29 ( <i>Streptomyces lydicus</i> )	0.4030	0.3711	0.5523	0.995835
31 ( <i>Streptomyces antibioticus</i> )	0.4467	0.3930	0.1081	0.003100
15 ( <i>Streptomyces chromofuscus</i> )	0.4737	0.3994	0.0170	0.001016

**Table 7. Identification of HMO, centrotpe, best matched strain, out-most member and the isolate *Streptomyces* sp. YSK-681 to the major cluster 29 by TAXON program**

Members of cluster 29	Taxon distance	95% Taxon radius	% Prob. of strain further away	Willcox probability
YSK- 681	0.4030	0.3711	0.5523	0.995835
HMO ( <i>Streptomyces lydicus</i> )	0.1877	0.3711	99.9772	>0.999999
Centrotpe ( * )	0.2281	0.3711	99.2556	>0.999999
Outer-most member ( * )	0.4218	0.3711	0.2422	0.999920
Best matched strain ( * )	0.3019	0.3711	61.6605	>0.999999

**Table 8. Criteria used for the classification and identification of *Streptomyces* sp. YSK-681**

Spore chains rectiflexibilis	-
Spore chains retinaculiaperti	-
Spore chains spirales	+
Spore chains verticillisti	-
Spore surface : smooth	+
Spore surface : rugose	-
Spore colour : grey	+
Spore colour : green	-
Spore colour : red	-
Pigment : reverse yellow /brown	+
Pigment : reverse red /orange	-
Melanin production : PI agar	-
Fragmentation of mycelium	-
Use of d, l- $\alpha$ -aminobutyric acid	-
Use of l-histidine	-
Use of l-hydroxyproline	-
Degradation of lecithin	+
Pectin hydrolysis	-
Nitrate reduction	-
Hydrogen sulfide production	-
<i>Bacillus subtilis</i> antibiosis	+
<i>Streptomyces murinus</i> antibiosis	*
<i>Aspergillus niger</i> antibiosis	-
Degradation of xanthine	-
Degradation of allantoin	-
Degradation of arbutin	*
Resistant to neomycin (50 $\mu$ g /ml)	-
Resistant to rifampicin (50 $\mu$ g /ml)	-
Grow at 45 $^{\circ}$ C	+
Tolerance of NaCl (7%, w /v)	-
Tolerance of sodium azide (0.01%, w /v)	-
Tolerance of phenol (0.1%, w /v)	-
Grow on xylose	+
Grow on meso-inositol	+/-
Grow on mannitol	+
Grow on D-fructose	+
Grow on L-rhamnose	+/-
Grow on raffinose	+/-
Grow on inulin	-
Grow on adonitol	-
Grow on cellobiose	-

\* not test, + Positive, - negative,  $\pm$  weakly positive.

0.995835의 Willcox probability 값을 나타내었으며, 주군집 31(*Streptomyces antibioticus*)의 0.0031에 비해 상당히 높게 조사되었다. 또한 분류군 거리도 낮으며, 95% 분류군 반경도 짧고, % probability of strain further away 값은 높았기 때문에, 주군집 29에 속하는 것으로 조사되었다. 주군집 29의 HMO(Hypothetical median organism), centrotpe, outer-most member, 가장 근접한 균주(best match strain)등의 단위 특성을 비교한 결과도 주군집 29에 속하므로, 본 균주를 *Streptomyces lydicus* YSK-681로 동정하였다(Table 7).

## 요 약

항생제에 대한 내성균의 출현은 매년 급격하게 증가되고 있으며 이에 대한 약제 개발이 요구되고 있다. 특히 메치실린내성 황색 포도상구균(MRSA)은 여러 항생물질에 대하여 다제내성을 나타내므로 감염증 치료에 어려운 문제점으로 남아 있다. 이러한 감염증 치료에 사용할 목적으로 임상 가검물에서 분리한 MRSA를 시험균으로 사용하여 항균 활성이 강한 방선균인 YSK-681을 선별하였다. 균주 동정을 위하여 선별된 YSK-681을 형태적, 배양학적, 생리적, 화학적 분석을 하였으며 41개의 단위 항목을 조사하여 TAXON program으로 수리 동정한 결과 주군집 29에 속하는 *Streptomyces lydicus*로 동정하였다.

## 감사의 말

본 연구의 균주 동정에 도움을 주신 한국과학기술연구원 생명공학연구소의 이창호, 윤병대 박사님에게 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Jawetz, E., Melnick, J. L. and Adelberg, E. A. : *The Staphylococci*. In, Review of Medical Microbiology, 15th ed. Lange Medical Co. California, p. 189~198(1982).
2. John, C. S. : *Medical Microbiology*, 2th ed, Elsevier Science Publishing Co. Inc., New York, p. 275~289(1990).
3. Franklin, T. J. and Snow, G. A. : *Biochemistry of Antimicrobial Action.*, Chapman & Hall Press, New York(1989).
4. Brian, G. S. : Resistant to antibiotics mediated by target alterations, *Science*, **264**, 388~392(1994).
5. Henry, F. C. : Methicillin-resistant *Staphylococcus*, *Clin. Microbiol. Rev.*, **1**, 173~186(1988).
6. 김성광, 이영선, 이태진, 김희선 : 병원성 포도상구균의 동정 및 항균제 감수성 정상, *대한미생물학회지*, **28**, 251~259(1993).
7. 류팔열, 신완수, 정선식, 양동욱 : 최근 광주 지역에서 분리된 황색 포도상구균의 파아지형과 항균제 내성양상, *대한미생물학회지*, **330**, 375~390(1995).
8. Alexander, T. : Benefit and risk in the  $\beta$ -lactam antibiotic-resistance strategies of *Staphylococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*, *Trends Microbiol.*, **2**, 380~385(1994).
9. Travis, J. : Reviving the antibiotics miracle, *Science*, **264**, 360~362(1994).
10. Williams, S. T., Goodfellow, M., Alderson, G., Wellington, E. M. H., Sneath, P. H. A. and Snackin, M. J. : Numerical classification of *Streptomyces* and Genera, *J. Gen. Microbiol.*, **129**, 1743~1813(1983).
11. Williams, S. T., Goodfellow, M., Alderson, G., Wellington, E. M. H., Sneath, P. H. A., Snackin, M. J. and Mortimer, A. M. : A probability matrix for identification of some *Streptomyces*, *J. Gen. Microbiol.*, **129**, 1815~1829(1983).
12. Lennette, E. H., Spaulding, E. H. and Traunt, J. P. : *Manual of Clinical Microbiology*. 3th ed. American Society for Microbiology, Washington(1980).
13. Koneman, E. W., Allen, S. D., Dowell, V. R., Sommers, W. M. and Winn, W. C. : *Diagnostic Microbiology*, 3th ed, J. B. Lippincott co., Philadelphia, p. 331~354(1988).
14. Hawkey, P. M. and Lewis, D. A. : *Medical bacteriology*, IRL press, Oxford, England, p. 167~194(1989).
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards : Method for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, Approved standard M7-A4, National 32. Committee for Clinical Laboratory Standards, Millanova Pa. (1990).
16. Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. and Turck, M. : Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method, *Am. J. Clin. Pathol.*, **45**, 493~496(1966).
17. Shirling, E. B. and Gottlieb, D. : Method for characterization of *Streptomyces* species, *Int. J. System. Bacteriol.*, **16**, 313~340(1966).
18. Williams, S. T., Sharpe, M. E. and Holt, J. G. : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 4, Williams & Wilkins, New York(1989).
19. Gerhardt, P. R., Murray, G. E., Wood, W. A. and Krieg, N. R. : *Methods for general and molecular bacteriology*, American Society for Microbiology, Washington(1994).
20. Komagata, K. and Suzuki, K. I. : Lipid and cell wall analysis in bacterial systematics, In Colwell, R. R. and Grigorova, R., eds. *Method in Microbiology* Vol. 19, Academic Press, p. 161~207(19~87).
21. Tamaoka, J., Katayama Y. and Kuraish, H. : Analysis of bacterial menaquinone mixtures by high performance liquid chromatography, *J. Appl. Bacteriol.*, **54**, 31~36(1983).
22. Yamada, K. and Komagata, K. : Taxonomic studies on Coryneform Bacteria II. Principal Amino Acids in the Cell Wall and Their Taxonomic Significance, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **16**, 103~113(1970).
23. Tamaoka, J. and Komagata, K. : Determination of DNA base composition by reversed-phase HPLC, *FEMS Microbiol. Letters.*, **25**, 125~128(1984).
24. Willcox, W. B., Kapage, S. P., Bascomb, S. and Curtis, M. A. : Identification of bacteria by computer : theory and programming, *J. Gen. Microbiol.*, **7**, 317~330(1973).

(1998년 6월 10일 접수)