(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년10월11일
(11) 등록번호 10-2031359
(24) 등록일자 2019년10월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9789 (2017.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
A61Q 19/10 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A61Q 19/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0145672
(22) 출원일자 2017년11월03일
심사청구일자 2017년11월03일
(65) 공개번호 10-2019-0050357
(43) 공개일자 2019년05월13일
(56) 선행기술조사문헌
Yang 등. Journal of Agriculture & Life Sciences. Vol. 44, No. 1, 페이지 39-42(2013)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
국민대학교산학협력단
서울특별시 성북구 정릉로 77 (정릉동, 국민대학교)
(72) 발명자
김태종
대전광역시 유성구 배울2로 6 , 104동 1302호(관평동, 대덕테크노밸리1단지아파트)
(74) 대리인
특허법인 피씨알

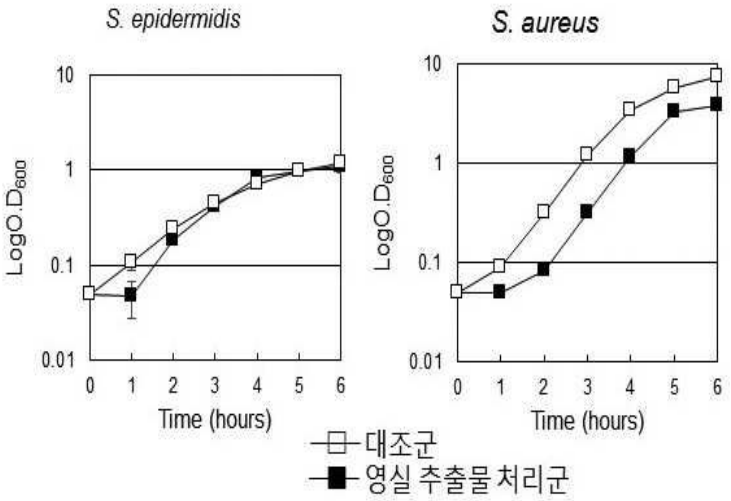
전체 청구항 수 : 총 2 항 심사관 : 김현태

(54) 발명의 명칭 **영실 추출물을 유효성분으로 포함하는 미생물 균총 개선용 조성물**

(57) 요 약

영실 추출물을 유효성분으로 포함하는 미생물 균총 개선용 조성물이 개시되며, 상기 조성물은 유해균의 생장은 억제하고, 유익균의 생장은 촉진할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61Q 19/10 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

영실 추출물을 유효성분으로 포함하는 유해균의 생장은 억제하고, 유익균의 생장은 촉진하는 것인 피부 미생물 균총 개선용 화장료 조성물에 있어서,

상기 유해균은 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)이고,

상기 유익균은 스태필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*)이고,

상기 영실 추출물의 추출용매는 에탄올 수용액이고,

상기 에탄올 수용액은 에탄올 및 물이 95 : 5의 부피비로 혼합된 것인

피부 미생물 균총 개선용 화장료 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 영실 추출물은 조성물 전체 중량에 대하여 0.005 내지 10 중량%로 포함되는 것인 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 영실 추출물을 유효성분으로 포함하는 미생물 균총 개선용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 인간의 몸은 복잡하고 생명 활동이 활발한 생태계이며, 인체의 위장 및 피부 등에는 다양한 미생물들이 존재한다. 위장 및 피부 등에 존재하는 미생물 군집을 미생물 균총이라고 하며, 500종 내지 1000종 이상의 서로 다른 미생물이 공생하면서 미생물 균총을 구성한다. 위장에 존재하는 장내 미생물은 비타민 등의 물질을 합성하여 인체에 공급하며, 오염된 음식을 통해 유입되는 병원성 미생물에 의한 감염을 억제하는 역할을 한다.

[0004] 피부 표면에 생존하는 미생물은 인간의 성장, 영양, 면역, 병원성에 대한 저항 등과 같은 생리 작용에 영향을 미치며, 외부 미생물, 특히 병원성 미생물의 침입을 차단하는 역할을 한다. 또한, 피부에 상주하는 미생물은 피부의 pH 조절 및 피부 장벽 기능을 수행하고, 피부 지질 함량을 변화시켜 피부 상태에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 예를 들어, 아토피 환자의 경우 각질층의 세라마이드 함량이 저하되어 건조하고 균열된 각질 피부를 가지고 있는데 이러한 아토피 환자들에서는 피부 균총이 극단적으로 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)으로 변한 것으로 알려져 있다(비특허문헌 1).

[0005] 미생물 균총에는 인체에 유익한 영향을 주는 미생물이 있으므로 단순히 미생물을 모두 제거(살균)하는 것이 아

니라 유해균의 생장은 억제하면서 유익균의 생장을 촉진할 필요가 있다.

[0006] 본 발명자들은 천연물을 이용하여 미생물 균총 개선을 위한 연구를 수행한 결과 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) 1. HC Korting et al., Eur J Clin Pharmacol 39 (1), 33-36. 1990.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 영실 추출물을 유효성분으로 포함하는 미생물 균총 개선용 조성물과 피부 균총 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일 양상은 영실 추출물을 유효성분으로 포함하는 미생물 균총 개선용 조성물을 제공한다.

[0012] 본 명세서에서 사용된 용어, '미생물 균총(microbial flora)'은 인체에 존재하는 박테리아, 곰팡이 및 기타 원핵생물을 모두 포함하는 미생물 군집을 의미하며, 위장 및 피부 등에 주로 서식한다. 예를 들어, 위장에 서식하는 장내 유익균에는 락토바실러스(*Lactobacillus*), 비피도박테리움(*Bifidobacterium*)이 있고, 장내 유해균으로는 클로스트리디움(*Clostridium*)이 알려져 있다.

[0013] 본 명세서에서 사용된 용어, '개선'은 조성물의 투여로 인하여 인체에 유익한 방향으로 미생물 균총의 조성이 변화하는 상태를 의미한다.

[0014] 본 발명의 미생물 균총 개선용 조성물의 유효성분으로 사용되는 영실(*Rosae Multiflorae* fructus)은 찔레꽃 *Rosa multiflora* Thunberg (장미과 Rosaceae)의 열매로 만든 약재를 말하며, 약리작용으로 자양강장, 각기, 면비, 부종, 생리통, 부스럼, 혈액순환, 해독 작용 등이 알려져 있다. 그러나 미생물 균총 개선 효능에 대해서는 알려진 바가 없다.

[0015] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 영실 추출물은 당 업계에 공지된 통상의 방법에 따라 제조될 수 있다. 예를 들어, 영실을 분쇄한 후 추출에 통상적으로 사용되는 용매를 첨가하고, 적절한 온도와 압력으로 추출하여 영실 추출물을 제조할 수 있다.

[0016] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 용매는 물, 헥산, 1,3-부틸렌글리콜, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 에틸아세테이트, 디에틸에테르, 디클로로메탄, 아세톤 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0017] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 용매는 탄소수 1 내지 4의 알코올일 수 있으며, 메탄올 또는 에탄올이 이용될 수 있다.

[0018] 한편, 상기 영실 추출물은 상술한 용매 추출법에 의한 추출물과 통상적인 정제 과정을 거친 추출물을 모두 포함한다. 예를 들어, 일정한 분자량 컷-오프(cut-off) 값을 갖는 한외 여과막을 이용한 분리, 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시한 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획도 본 발명의 영실 추출물에 포함될 수 있다. 또한, 상기 영실 추출물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.

[0019] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 미생물 균총 개선용 조성물은 조성물 전체 중량에 대하여 상기 영실 추출물을 0.005 내지 10 중량%, 또는 1 내지 5 중량%로 포함할 수 있으며, 조성물의 사용방법 및 사용목적에 따라 유효성분의 함량을 적절히 조절할 수 있다.

[0020] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 미생물 균총 개선용 조성물은 유해균의 생장은 억제하면서 유익균의 생장을 촉진할 수 있다. 미생물 균총에서 유익균의 비중이 증가하면 병원성 미생물에 의한 감염을 예방하고, 면역력을 개선시킬 수 있으며, 피부 상태를 개선시키고, 몸의 체취를 개선시킬 수 있다.

[0021] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 유해균은 프로피오니박테리움 (*Propionibacterium*), 스태필로코커스 (*Staphylococcus*), 스트렙토코커스 (*Streptococcus*), 칸디다 (*Candida*), 아시네토박터 (*Acinetobacter*), 코리네박테리움 (*Corynebacterium*) 및 슈도모나스 (*Pseudomons*)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 상기 유해균은 프로피오니박테리움 아크네(*Propionibacterium acnes*) 또는 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*)일 수 있다.

[0022] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 유해균은 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*, 황색 포도상구균)일 수 있다. 스태필로코커스 아우레우스는 그람 양성(gram-positive)의 통성 혐기성 세균으로 건강한 사람이나 가축의 피부, 비강 표면에 일반적으로 존재하고 있다. *S. aureus*는 식중독뿐만 아니라 피부의 화농, 중이염, 방광염 등 화농성 질환을 일으키는 원인균으로 알려져 있다.

[0023] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 유익균은 스태필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*, 표피 포도상구균; *S. epidermidis*)일 수 있다. 스태필로코커스 에피더미디스는 그람 양성(gram-positive) 세균으로 일반적으로 사람이나 가축의 피부, 점막 등에 존재한다. 스태필로코커스 에피더미디스는 글리세린을 만들어 피부의 보습 효과를 지속시키고(J. Invest. Dermatol., 1960, 34:171-174), 유기산을 합성하여 피부를 산성으로 유지시키며(Br. J. Dermatol. 1986, 80:279-281), 항생물질을 생산하여 스태필로코커스 아우레우스와 같은 유해 미생물의 피부 생장을 억제하는 것으로 알려져 있어(N. Engl. J. Med., 1998, 339:520-532; Nature, 2010, 465:346-349; Peptides, 2010, 31:1661-1668; J. Invest. Dermatol., 2010, 130:192-200), 피부에 유익한 효과를 나타낸다.

[0025] 본 발명의 다른 양상은 영실 추출물을 유효성분으로 포함하는 피부 균총 개선용 화장료 조성물을 제공한다.

[0026] 본 명세서에서 사용된 용어, '피부 균총(skin residential flora)'은 피부에 존재하는 미생물 군집을 의미하며, 두피와 같은 피부 표면과 모공에 주로 서식한다. 피부 균총은 피부 보습 유지, 활성 산소 제거 등과 같이 피부에 이로운 효과를 나타내는 피부 유익균과 여드름, 화농과 같은 피부 트러블을 유발하는 피부 유해균을 포함한다.

[0027] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 화장료 조성물은 상기 화장료 조성물은 겔, 에멀젼, 현탁액, 마이크로에멀젼, 마이크로캡슐, 미세과립구, 이온형 소낭 분산제, 비이온형 소낭 분산제, 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이, 콘실 스틱, 에어로졸, 마스크팩, 바디 파우더, 바디워시, 샴푸, 헤어 컨디셔너, 바디로션, 데오도란트용 바디 팩트 및 바디 미스트의 형태로 제형화될 수 있다. 화장료 조성물의 예로는 기초 화장료, 메이크업 화장료, 모발용 화장료, 바디용 화장료 등이 있을 수 있으며, 목적하는 바에 따라 적절히 선택할 수 있다.

[0028] 예를 들면, 상기 화장료 조성물은 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클린싱, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연화장수, 영양화장수, 로션, 바디로션, 영양 크림, 마사지 크림, 모이스처 크림, 핸드크림, 에센스, 아이 크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 젤, 패치, 수중유(oil-in-water, O/W)형, 유중수(water-in-oil, W/O)형 등의 기초 화장료, 립스틱, 메이크업베이스 또는 파운데이션 등의 색조 화장료, 샴푸, 린스, 바디클렌저, 치약 또는 구강 청정제 등의 세정료, 헤어토닉, 젤 또는 무스 등의 정발제(hair fixatives), 양모제 또는 염모제 등의 모발용 화장료 조성물로 제형화 될 수 있다.

[0029] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 화장료 조성물의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

[0030] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 화장료 조성물의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0031] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 화장료 조성물의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0032] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 화장료 조성물의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0033] 또한, 각 제형의 화장료 조성물에 있어서, 상기 **영실** 추출물 이외에 다른 성분들을 화장료 조성물의 제형 또는 사용 목적 등에 따라 임의로 선정하여 배합할 수 있다. 또한, 각 제형의 조성들은 그 제형의 제제화에 필요한 각종 기제와 첨가물을 함유할 수 있으며, 그 효과를 감소시키지 않는 범위 내에서 비이온 계면활성제, 실리콘 폴리머, 체질 안료(extender pigment), 향료, 방부제, 살균제, 산화 안정화제, 유기 용매, 이온성 또는 비이온성 증점제, 유연화제, 산화방지제, 자유 라디칼 파괴제, 불투명화제, 안정화제, 에몰리언트(emolient), 실리콘, α-히드록시산(α-hydroxy acid), 소포제, 보습제, 비타민, 보존제, 계면활성제, 충전제, 중합체, 추진제, 염기성화제, 산성화제, 또는 착색제 등 공지의 화합물을 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0035] 영실 추출물은 유해균의 생장은 억제하면서 유익균의 생장은 촉진하므로 미생물 균총 개선 및 피부 균총 개선 용도로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0037] 도 1은 영실 추출물의 처리에 의한 스태필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*) 및 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)의 생장 속도 변화를 측정한 결과를 보여준다.

도 2는 스태필로코커스 에피더미디스와 스태필로코커스 아우레우스를 혼합 배양한 경우 영실 메탄올 추출물 처리에 의한 생장 변화를 보여준다.

도 3은 스태필로코커스 아우레우스와 스태필로코커스 에피더미디스를 혼합 배양한 경우 영실 95% 에탄올 추출물 처리에 의한 생장 변화를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038] 이하 하나 이상의 구체예를 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0040] **실시예 1: 영실 추출물의 제조**

[0041] 영실 5 g에 95% 에탄올 또는 메탄올 50 ㎖(약재:용매의 비율 1:10)을 첨가하고, 50 항온 수조에서 3시간 동안 진탕(shaking)하여 1차 추출물을 수득하였다. 1차 추출물을 여과지로 여과하고, 여과된 추출물을 농축 및 건조시켜 영실 추출물을 제조하였다. 건조된 영실 추출물 50 ㎎을 각각의 추출 용매 1 ㎖에 용해시키고, 용매에 용해되지 않는 고형분은 원심분리하여 제거한 후 상등액만을 시료로 사용하였다.

[0043] **실시예 2: 영실 추출물에 의한 피부 미생물의 생장 변화**

[0044] **2-1. 미생물 및 배양 배지**

[0045] 피부 유해균으로 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*, 황색 포도상구균; 이하 *S. aureus*로 기재함)를 이용하고, 피부 유익균으로는 스태필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*, 표피 포도상구균; 이하 *S. epidermidis*로 기재함)를 이용하였다.

[0046] 실험에 이용한 *S. aureus* KCTC 1916 및 *S. epidermidis* KCTC 1917은 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, 대한민국)에서 구매하였다. 상기 두 미생물의 배양에 이용한 배지 조성을 하기 표 1에 기재하였다.

표 1

[0047]

S. epidermidis KCTC 1917	NB 배지 (100 ㎖)	Nutrient Broth	0.8 g
		(Agar)	1.5 g
		물	총 부피 100 ㎖이 되도록 보충
S. aureus KCTC 1916	TSB 배지 (100 ㎖)	Tryptic Soy Broth	3.0 g
		(Agar)	1.5 g
		물	총 부피 100 ㎖이 되도록 보충

[0049] **2-2. 영실 추출물에 의한 개별 피부 상주 미생물의 생장 변화**

[0050] *S. aureus* KCTC 1916 균주 스톡(stock)을 TSB(Tryptic Soy Broth, Becton Dickinson and Company, USA) 한천 플레이트에 도말하여 37℃에서 24시간 동안 배양하였다. 이후, 단일 콜로니를 하나 취하여 TSB 액체 배지 5 ㎖에 접종하고, 37℃ 및 250 rpm으로 하룻밤 동안 전배양(preincubation)하였다. 전배양한 *S. aureus* KCTC 1916 균주를 $O.D_{600}$이 0.05가 되도록 TSB 액체 배지 20 ㎖에 접종하고, 영실 메탄올 추출물 200 ㎕(1% (v/v))를 첨가하였다. 대조군은 영실 추출물 대신 메탄올을 1%(v/v) 농도로 첨가하였다. 이후, 37℃ 및 250 rpm으로 배양하면서 1시간 마다 Optizen 2120 UV plus spectrophotometer (Mecasys Co., Ltd., Daejeon, Korea)를 이용하여 600 ㎚에서 흡광도를 측정하여 생장 정도를 확인하였다.

[0051] *S. epidermidis* KCTC 1917 또한 스톡을 NB(nutrients broth, Becton Dickinson and Company) 한천 플레이트에 도말하여 배양하는 것을 제외하고, 상기와 동일한 방법으로 배양하여 생장 정도를 측정하였다.

[0052] 측정 결과, 도 1에 나타난 바와 같이 영실 메탄올 추출물에 의하여 *S. epidermidis*의 생장 속도는 증가하고, *S. aureus*의 생장 속도는 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 구체적으로, *S. epidermidis*의 배가 시간(doubling time)은 대조군(77.22분) 대비 영실 추출물 처리군(55.61분)에서 약 27.98% 감소하였다. 반면, *S. aureus*의 배가 시간은 대조군(35.12분) 대비 영실 추출물 처리군(119.14분)에서 약 239.24% 증가하였다.

[0054] **2-3. 영실 메탄올 추출물에 의한 피부 상주 미생물의 생장 변화**

[0055] 상기 실시예 2-2와 동일한 방법으로 미생물을 전배양하고, 전배양한 *S. aureus* KCTC 1916 균주 및 *S. epidermidis* KCTC 1917 균주를 $O.D_{600}$이 0.05가 되도록 NB 액체 배지 20 ㎖에 혼합 접종하였다. 영실 메탄올 추출물을 200 ㎕(1%(v/v)) 첨가하고, 대조군은 메탄올을 1%(v/v)농도로 첨가하여 37℃, 250 rpm으로 3시간 동안 배양하였다. 이후, NB 한천 플레이트에 배양액 100 ㎕를 도말하고, 37℃에서 24시간 동안 배양하여 CFU(Colony forming unit)를 확인하였다.

[0056] 확인 결과, 도 2에 나타난 바와 같이 영실 메탄올 추출물 처리에 의하여 *S. epidermidis*의 생장은 일정하게 유지하였고, *S. aureus*의 생장은 다소 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

[0058] **2-4. 영실 95% 에탄올 추출물에 의한 피부 상주 미생물의 생장 변화**

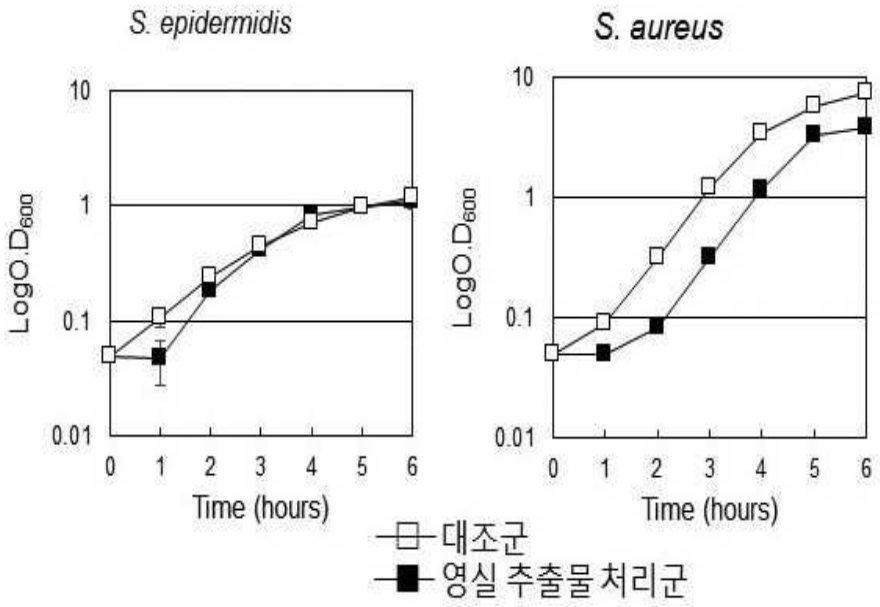
[0059] 서로 다른 농도(0 내지 0.5 g/L)의 영실 95% 에탄올 추출물을 처리하는 것을 제외하고, 상기 2-3과 동일한 방법으로 미생물의 생장 정도를 확인하였다.

[0060] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이 영실 95% 에탄올 추출물 처리에 의하여 *S. aureus*의 생장이 현저하게 감소하는 것을 알 수 있었으며, *S. epidermidis*의 생장은 일정하게 유지하는 것을 확인할 수 있었다.

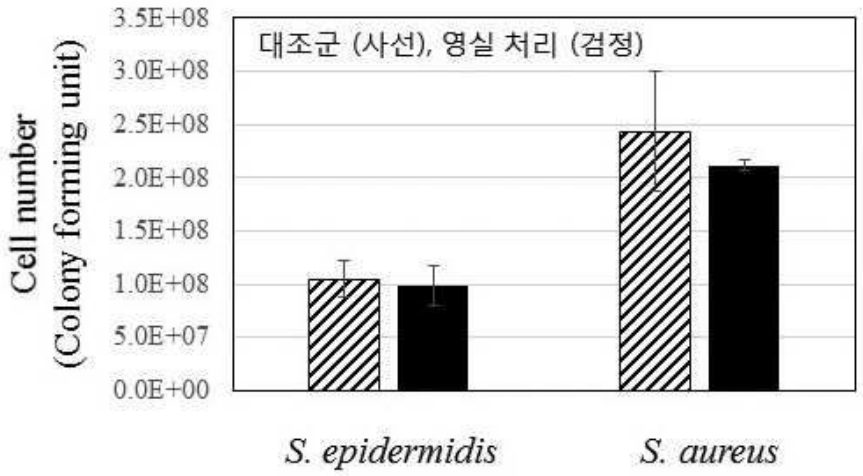
[0062] 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

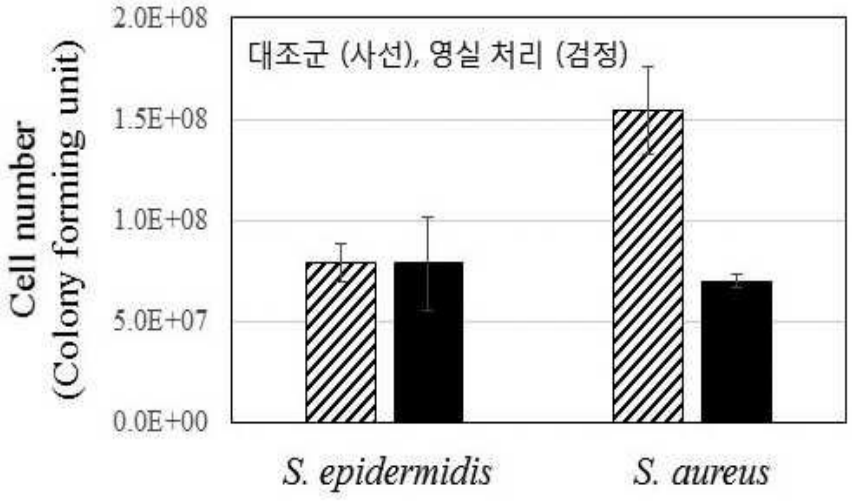
도면1


S. epidermidis
S. aureus
LogO.D600
10
1
0.1
0.01
0 1 2 3 4 5 6
Time (hours)
대조군
영실 추출물 처리군

도면2


Cell number
(Colony forming unit)
3.5E+08
3.0E+08
2.5E+08
2.0E+08
1.5E+08
1.0E+08
5.0E+07
0.0E+00
대조군 (사선), 영실 처리 (검정)
S. epidermidis
S. aureus

도면3


2.0E+08
1.5E+08
1.0E+08
5.0E+07
0.0E+00
Cell number
(Colony forming unit)
대조군 (사선), 영실 처리 (검정)
S. epidermidis
S. aureus