

Clostridium difficile 배양 및 Toxin A, B PCR 검사를 기준으로 한 Toxin A 면역검사 및 라텍스 응집검사의 비교 분석 및 의의

신보문, 이은주

인제의대 상계백병원 진단검사의학과

서 론 : *Clostridium difficile*은 병원 감염을 일으키는 원인균 중의 하나로 정확한 진단이 중요하다. 그러나 일반적으로 배양을 시행하기보다는 효소면역법을 이용한 독소(toxin A 혹은 toxin B) 검사를 하거나 latex agglutination (LA)법을 이용한 항원검사를 시행하여 *C. difficile*의 존재 유무를 간접적으로 증명하는 경우가 많다. 이에 toxin A 검사 및 항원 검사에 대한 임상적 유용성 및 의의를 *C. difficile*배양 및 toxin A, B에 대한 PCR검사를 근거로 평가하고자 하였다.

재료 및 방법 : *C. difficile* 배양 검사가 의뢰되었던 107예의 설사변을 대상으로 혐기성 배양을 시행하였으며, 같은 검체로 효소면역법을 이용한 toxin A 검사 및 LA법을 이용한 항원검사를 시행하였다. toxin A의 검출은 VIDAS *C. difficile* Toxin A II (BioMérieux, France)를 이용하였으며 LA법은 BD CDT Culturette CDT (Beckton Dickson and Company, USA)를 사용하였다. Toxin A 및 B 유전자를 검출하기 위한 PCR검사는 배양에서 분리된 *C. difficile* 73균주를 대상으로 시행하였다.

결 과 : 배양을 기준으로 한 LA법과 ELFA법의 예민도 및 특이도는 각각 54.8%/100% 및 17.8%(24.6%)/100%였다. LA법과 ELFA법의 결과 일치율은 68.2%(63/107)였다. PCR법을 이용한 toxin A 및 toxin B 유전자검사는 100% 일치한 결과를 보였으며, 이를 근거로 한 LA법과 ELFA법의 예민도 및 특이도는 각각 37.9%/85.7%와 19.7%(27.3%)/100%였다.

결 론 : 검출율만을 비교하여 본다면 LA법이 상대적으로 민감도도 높고 사용하기 용이할 것이나 LA법이나 ELFA법 모두 기존의 보고들에 비해 만족스러운 검출율을 나타내지 않았다. 이는 본 연구에서 나타난 효소면역법(ELFA)의 낮은 민감도(검출율)을 단순히 산술 비교하여 저평가 할 수 없으며, 국내의 toxin A(-)/toxin B(+)변이주의 고빈도 출현 가능성과 toxin A 혹은 B를 분비하는 *C. difficile* 균주의 유병율에 대한 역학적 연구를 필요로 한다.

서 론

*Clostridium difficile*은 병원 감염을 일으키는 원인균 중의 하나로 정확한 진단이 중요하다[1,2]. 그러나 cycloserine cefoxitine fructose agar (CCFA)배지를 이용한 혐기성 배양은 48-72시간의 긴 배양시간을 요하며, 분리 균주 중에 있는 독소 비생성 균주를 감별하지 못하는 단점이 있고, 세포독성 검사는 세포 배양 등의 기술적 난이도를 요하므로 *C. difficile* 감염의 진단은 효소면역법을

이용한 독소(toxin A 혹은 toxin B) 검사를 하거나 latex agglutination법(LA)을 이용한 항원 검사를 시행하여 *C. difficile*의 존재 유무를 간접적으로 증명하는 경우가 많다[3-8]. 국내에서 이들 검사간의 상호 연관성 및 의의에 대해 연구된 논문들에 의하면 세포독성 검사로 *C. difficile* 균주의 23-80% 정도에서 양성이라고 보고했으며[9-11], 변검체에서 효소면역법으로 toxin A를 검출한 연구에 따르면 9.8-26.2%의 검출율 및 임상상 혹은 세균배양을 기준시 80%정도의 일치율을 나타내었다[11,12]. *C. difficile* 균주에서 toxin B를 PCR법으로 검출한 연구에서는 81.2%의 양성율을 보고하였다[13]. 따라서 국내 *C. difficile* 분리 균주들도 독소를 생성하는 균주들이 다수일 것으로 여겨지는데 최근 저자들은 *C. difficile* 감염이 의심되는 사례들에서 세균배양에서는 양성이나 효소면역법상 toxin A가 음성인 경우가 자주 관찰되어, 항원 검사 및 효소면역법을 이용한 toxin A 검사와 *C. difficile* 배양 및 PCR법을 이용한 toxin A, B 유전자 검사를 같이 분석하여

접 수 일: 05/7/12 게재승인일: 05/8/31

본 연구는 2003년도 인제대학교 학술연구조성비의 지원으로 이루어진 것임

교신저자: 신보문

(139-707) 서울 노원구 상계 7동

상계백병원 진단검사의학과

TEL: (02)950-1227 FAX: (02)950-1224

E-mail: bmsbin@unitel.co.kr

이들 검사 결과에 대한 검증 및 해석을 시도해 보고자 했다.

재료 및 방법

항생제 연관 설사증 및 기타 원인에 의한 설사를 주소로 하여 2004년 1월부터 6월 사이에 *C. difficile* 배양 검사가 의뢰되었던 107명 환자의 107예의 설사변을 대상으로 접수 즉시 CCFA배지에 접종하여 72시간 혐기성 배양을 시행하였다. 의심되는 균주를 분리하여 아포염색(spore stain) 및 Vitek ANA identification card (BioMérieux sa, Marcy-l' Etoile, France)를 이용하여 동정을 하였다.

같은 검체를 냉장보관후 4시간내 효소면역법을 이용한 toxin A 검사 및 LA법을 이용한 항원검사를 시행하였다. Toxin A의 검출은 Enzyme Linked Fluorescent Immunoassay (ELFA)를 원리로 하는 VIDAS *C. difficile* Toxin A II (CDA 2, BioMérieux sa, Marcy-l' Etoile, France)를 이용하였으며 제품 설명서에 근거하여, relative fluorescence value (RFV)가 1.0이상이면 양성, 0.4이상-1.0 미만이면 equivocal, 0.4미만이면 음성으로 판정하였다. LA법은 BD CDT Culturette CDT (Becton, Dickison and Company, USA)를 사용하여 제품서의 설명에 근거하여 양성, 약양성(weakly positive), 음성으로 판정하였다.

PCR을 이용한 toxin A 및 toxin B 검사는 Kato의 방법들 [14] 다소 변형하여 *C. difficile* 배양에서 분리된 73균주를

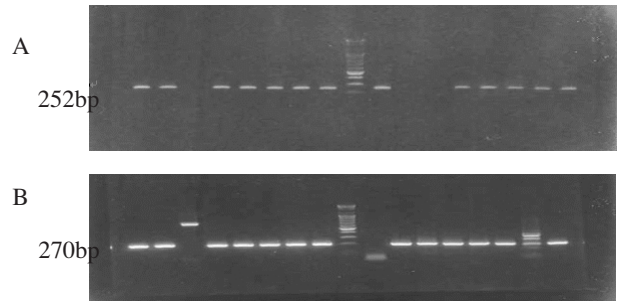


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of PCR products of *C. difficile* strains. Two primer pairs, NK3-NK2 for toxin A gene (A) and NK104-NK105 for toxin B gene. The size markers used were a 100-bp ladder.

대상으로 시행하였다. Toxin A는 NK3 (GGAAGAAAAG-AACTTCTGGCTCACTCAGGT)-NK2 (CCCAATAGATT-CAATATTAAGCTT) 시발체를 사용하여 95℃에서 5분간 변성시킨후 95℃에서 95초, 55℃에서 120초, 60℃에서 150초의 조건으로 35주기 증폭시킨후 74℃에서 5분간 반응시켰다. 증폭산물은 전기영동후 252 bp의 band가 관찰되면 양성으로 판정하였다. Toxin B는 NK104 (GTGTAG-CAATGAAAGTCCAAGTTTACGC)-NK105 (CACTTAG-CTCTTTGATTGCTGCACC) 시발체를 사용하여 95℃에서 5분간 변성시킨후 95℃에서 20초, 62℃에서 1분, 72℃

Table 1. Results of ELFA and LA tests of *C. difficile* detection based on culture results

		Culture		Total
		(+)	(-)	
ELFA	(+)	13 (17.8%)	0	13 (12.1%)
	Equivocal	5 (6.8%)	0	5 (4.7%)
	(-)	55 (75.3%)	34 (100%)	89 (83.2%)
LA	(+)	29 (39.7%)	0	29 (27.1%)
	(+), weakly	11 (15.1%)	0	11 (10.3%)
	(-)	33 (45.2%)	34 (100%)	67 (62.6%)
Total		73 (100%)	34 (100%)	107 (100%)

Abbreviation: LA, latex agglutination; ELFA, enzyme linked fluorescent assay.

Table 2. Comparison of ELFA Toxin A and LA Antigen Assay

		ELFA			Total
		(+)	equivocal	(-)	
LA	(+)	11 (84.6%)	0	18 (20.2%)	29 (27.1%)
	weakly (+)	1 (7.7%)	0	10 (11.2%)	11 (10.3%)
	(-)	1 (7.7%)	5 (100%)	61 (68.5%)	67 (62.6%)
Total		13 (100%)	5 (100%)	89 (100%)	107 (100%)

Abbreviation: LA, latex agglutination; ELFA, enzyme linked fluorescent assay.

Table 3. Results of ELFA and LA tests of *C. difficile* based on PCR toxin A/B test

		PCR results for toxin A/B				Total	
		(+) (100%)		(-) (100%)			
ELFA	(+)	13	(19.7%)	0		13	(17.8%)
	Equivocal	5	(7.6%)	0		5	(6.8%)
	(-)	48	(72.7%)	7	(100%)	55	(83.4%)
LA	(+)	19	(28.8%)	1	(14.3%)	20	(27.4%)
	(+), weakly	6	(9.1%)	0		6	(8.2%)
	(-)	41	(62.1%)	6	(85.7%)	47	(64.4%)
Total		66	(100%)	7	(100%)	73	(100%)

Abbreviation: LA, latex agglutination; ELFA, enzyme linked fluorescent assay.

에서 40초 조건으로 40주기 증폭시킨 후 74℃에서 5분간 반응시켰다. 증폭산물은 전기영동후 270 bp의 band가 관찰되면 양성으로 판정하였다.

결 과

107검체중 73검체에서 *C. difficile*이 분리되었으며 이를 기준으로 한 LA법과 ELFA법의 결과는 Table 1과 같다. 배양을 기준으로 한 LA법의 민감도 및 특이도는 54.8%와 100%였다. ELFA법의 민감도 및 특이도는 17.8% 및 100%였다. Equivocal로 나온 ELFA결과를 양성으로 판정할 경우에도 ELFA법의 민감도는 24.6%로 낮았다. LA법과 ELFA법의 결과 일치율은 68.2%(73/107)였다 (Table 2). 불일치를 보인 34예중 28예(82.4%)는 ELFA 음성, LA 양성인 경우였고 5예(14.7%)는 ELFA equivocal, LA 음성이었으며 1예만 ELFA 양성, LA음성이었다. PCR을 이용한 toxin A 및 toxin B 유전자 검사는 상호간에 100% 일치한 결과를 보였으며, 이를 근거로 한 LA법 및 ELFA법의 민감도 및 특이도는 각각 37.9%/85.7% 및 19.7%/100%였다 (Table 3). ELFA equivocal, LA 음성이었던 5예가 모두 PCR검사에서도 양성이었으므로 이를 ELFA 양성 범주로 포함할 경우 ELFA법의 민감도는 27.3%로 다소 상향되었다.

고 찰

병원내 감염으로 인해 설사를 일으키는 원인균중 *C. difficile*이 가장 중요한 원인균이며 항생제 사용이 많은 우리나라의 경우 *C. difficile*의 원내 감염이 많을 것으로 추정되며, 항생제 연관 설사나 항생제 연관 장염뿐 아니라 위막성 대장염까지 초래하는 *C. difficile*을 정확히 진단하는 것은 환자의 치료뿐 아니라 항생제 오,남용을 막는데 상당히 중요하다. *C. difficile*에 의한 항생제 연관 설사라고 판단이 되면 vancomycin 및 metronidazole 등을 사

용해야 한다. 반면 *C. difficile*이 아니거나 *C. difficile*이 분리되었더라도 toxin의 분비가 없는 균주라면 이들 항생제의 사용은 오용이 될 것이다[1,2]. *C. difficile*의 감염을 증명하기 위해서는 균배양이나 세포독성검사로 toxin의 존재 유무를 검출하는것이 표준법으로 되어있지만 균배양은 CCFA 특수 배지의 사용 및 변 검체의 사전 처리, 48-72시간의 배양시간등을 요하며 배양 양성일지라도 독소 비생성 균주를 감별 할 수 없는 단점이 있다. *C. difficile*이 분비하는 독소중 toxin A는 enterotoxin이며 toxin B는 cytotoxin으로 대개의 경우 두 독소가 모두 공존하므로 현재까지 독소 검사라 하면 세포독성검사를 시행하여 toxin B의 검출 유무로 평가해 왔다. 그러나 일반적으로 세포배양은 기술적으로 까다로운 문제가 있으므로 항원을 검출하는 LA법이나 toxin A를 검출하는 효소면역법을 사용하여 *C. difficile*의 존재 유무를 간접적으로 진단하기도 하고 혹은 독소 유무를 보완적으로 판단하고 있는 것이 일반적인 실정이다[3-8]. 연구자에 따라 다소 상이한 결과를 보이기는 하지만 일반적으로 *C. difficile* 검출을 위한 LA법과 효소면역법의 양성율(민감도)은 60-80%정도로 보고되어있다[3-8,11,12]. 그러나 본 연구에서는 검출율을 나타내는 민감도가 LA법에서 54.5%, ELFA법에서 17.8%(24.6%)로 LA법의 민감도도 그리 높지 않지만, ELFA법에서 의외로 낮은 민감도를 보여주었다. 또한 불일치를 보이는 34예의 대다수인 28예(82.4%)가 LA 양성, ELFA 음성인 것은 비특이적으로 항원을 검출해내는 LA법이 특이적으로 toxin A를 검출해내는 ELFA법에 비해 상대적으로 높은 양성율을 나타낼 수 있다는 것을 감안하더라도 낮은 양성율이라 할 수 있겠다. 따라서 이전의 보고들과 비교할 때 현저하게 낮은 양성율(민감도)을 보이는 본 연구의 ELFA 결과에 대한 해석에는 신중을 기할 필요가 있다. 이것은 단순히 ELFA법의 민감도가 낮다고 평가할 것이 아니라 이들 *C. difficile* 균주의 독성 발현 여부를 점검해 볼 여지가 있는 것이다. 즉 *C. difficile* 균주가 배양에서 분리되었다 할지라도 이들이 toxin A를 분비하

는 균종인지의 여부를 정확히 판정해야 할 필요가 있는 것이다. 이에 대한 검증 차원에서 실시한 toxin A, toxin B 유전자에 대한 PCR 결과는 본 연구의 ELFA법이 여전히 낮은 민감도를 나타내고 있음을 알 수 있다. 이러한 점은 ELFA법을 시행하기 위한 변검체를 보존했던 시간이나 검체 처리상 오류도 있을 수 있지만 모든 검사대상 변검체들을 냉장 보관상태에서 당일 4시간내 처리했으므로 검사상의 오류는 상당 부분 배제 할 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 다른 가능성을 고려해 본다면 toxin A의 유전자에 결함이 있는 *C. difficile* 균주 가능성을 고려해 볼 수 있을 것이다. Toxin A 유전자의 결함이 있는 균주의 경우 효소면역법으로는 음성결과를 보인다는 보고가 있다 [15]. 구미의 문헌을 참조하면 변형주인 toxin A(-)/toxin B (+) 균주가 0.2-3.0% 정도로 분리된다고 보고되고 있다 [15,16]. 일본에서 분리된 균주들은 이들 변형주들이 7-12.5% 정도 분리되며 대부분 보건자 등에서 분리되는 경우가 많았다[14]. 그러나 미국과 유럽의 보고에 의하면 치명적인 사례 및 epidemic 예들이 보고되고 있다[2,17]. 국내에서 직접 보고된 것은 아니지만 국내 분리주를 일부 포함한 외국의 보고에서는 한국에서의 분리주에서는 이들 toxin A(-)/toxin B(+) 변형주는 없다고 알려져 있다 [14,18]. 그러나 이는 1998년도 이전의 균주들을 대상으로 한 것이며 대상 균주의 수도 제한적이었으므로 병원 감염율이 상당히 높은 우리나라의 경우 현재의 상황은 많이 달라졌을 것으로 추정되며 각 병원마다의 실정도 다를 것으로 생각된다. 국내 보고중에도 1987년-1994년 사이에 수집된 85균주를 대상으로 toxin A와 toxin B PCR 검사를 시행한 예에서 toxin A(-)/toxin B(+)균주는 없었다는 보고가 있다[19]. 그러나 1998년도에 분리된 81균주를 대상으로 toxin A(-)/toxin B(+)의 분리율이 4.9%로 보고한 사례[20] 및 1998년-1999년 사이에 수집된 82균주 중 toxin A(-)/toxin B(+)의 양성율이 6%정도로 추정된 예[11]가 있으므로, 국내의 toxin A(-)/toxin B(+) 변이주는 2000년 이전에 출현되었을 것으로 여겨지며 현재는 이보다 높은 빈도로 변이주가 있을 것으로 추정된다. PCR법으로 본 연구의 *C. difficile* 균주의 toxin A, toxin B 유전자 유무는 구별 할 수 있었지만 변이주를 여부를 구분할 수는 없었으므로 이들 균주들이 변이주일 가능성을 배제 할 수가 없을 것이다.

따라서 단순히 검출율만을 비교하여 본다면 LA법이 ELFA법에 비해 상대적으로 민감도도 높고 검사법도 간편하여 사용에 용이할 것이나 현재 우리나라에서 toxin A를 분비하는 균주 및 toxin A(-)/toxin B(+)균주의 유병율이 어느정도인지, 각 병원의 toxin A의 분리율은 어느 정도인지에 대한 정확한 평가가 없으므로 본 연구에서 나타난 효소면역법(ELFA)의 낮은 민감도(검출율)를 정확한 역학적 근거없이 단순히 산술 비교하여 저평가 할 수는 없으며, 오히려 우리나라에서의 toxin A(-)/toxin B(+) 변이주의 고빈도 출현 가능성을 시사한다고 할 수 있을

것이다.

참 고 문 헌

1. Bartlett JG. Antibiotic-Associated Diarrhea. N Engl J Med 2002;346:334-9.
2. Wilkins TD and Lysterly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. J Clin Microbiol 2003;41:531-4.
3. Shanholtzer CJ, Willard KE, Holter JJ, Olson MM, Gerding DN, Peterson LR. Comparison of the Vidas *Clostridium difficile* toxin A immunoassay with *C.difficile* culture and cytotoxin and latex tests. J Clin Microbiol 1992; 30:1837-40.
4. Staneck JL, Weckbach LS, Allen SD, Siders JA, Gilligan PH, Coppitt G, et al. Multicenter evaluation of four methods for *Clostridium difficile* detection: Immunocard *C. difficile*, Cytotoxin Assay, Culture and Latex Agglutination. J Clin Microbiol 1996;34:2718-21.
5. Fedorko D, Engler HD, O' Shaughnessy EM, Williams EC, Reichelderer CJ, Smith WI. Evaluation of two rapid assays for detection of *Clostridium difficile* Toxin A in stool specimens. J Clin Microbiol 1999;37:3044-7.
6. Peterson LR, Olson MM, Shanholtzer CJ, Gerding DN. Results of a prospective, 18-month clinical evaluation of culture, cytotoxin testing, and culturette brand (CDT) latex testing in the diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Diag Microbiol Infect Dis 1988;10:85-91.
7. Kelly MT, Champagne SG, Sherlock CH, Noble MA, Freeman HJ, Smith JA. Commercial latex agglutination test for detection of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. J Clin Microbiol 1987;25:1244-7.
8. Lysterly DM, Neville LM, Evans DT, Fill J, Allen S. Multi-center evaluation of the *Clostridium difficile* TOX A/B test. J Clin Microbiol 1998;36:184-90.
9. Shin BM and Kim EC. SDS-PAGE profiles of *Clostridium difficile* isolated from patients and hospital environments. Korean J Clin Pathol 1992;12:223-32
10. Lee HJ and Chung Y. Toxin test and quantitative culture of stool for the diagnosis of *Clostridium difficile* associated diseases. Korean J Clin Pathol 1993;13:461-6.
11. Kang JO, Chae JD, Eom JI, Han D, Park PW, Park IK, et al. Comparison of *Clostridium difficile* toxin A immunoassay with cytotoxicity assay. Korean J Clin Microbiol 2000;3:43-7.
12. Lee SH and Pai JH. Clinical significance of VIDAS *Clostridium difficile* Toxin A immunoassay. Korean J Clin Pathol 1996;16:563-9.

13. Yong D, Lee HM, Ryu JH, Roh KH, Kim WH, Lee KW, et al. Evaluation of quantitative culture of *Clostridium difficile* from fecal specimens for the diagnosis of *C. difficile*-associated disease. Korean J Clin Microbiol 2002;2:124-8.
14. Kato H, Kato N, Watanabe K, Iwai N, Nakamura H, Yamamoto T, et al. Identification of toxin A negative, toxin B positive *Clostridium difficile* by PCR. J Clin Microbiol 1998;36:2178-82.
15. Barbut F, Lalande V, Burghoffer B, Thien HV, Grimprel E, Petit JC. Prevalence and genetic characterization of toxin A variant strains of *Clostridium difficile* among adults and children with diarrhea in France. J Clin Microbiol 2002;40:2079-83.
16. Brazier JS, Stubbs SLJ, Duerden BI. Prevalence of toxin A-negative/toxin B-positive *Clostridium difficile* strains. J Hospital Infect 1992;42:248-9.
17. Alfa MJ, Kabani A, Lysterly D, Moncrief S, Neville LM, Al-Barrack A, et al. Characterization of a toxin A-negative, toxin B-positive strain of *Clostridium difficile* responsible for a nosocomial outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. J Clin Microbiol 2000;38:2706-14.
18. Rupnik M, Kato N, Grabnar M, Kato H. New types of toxin A-negative, toxin B-Positive strains among *Clostridium difficile* isolates from Asia. J Clin Microbiol 2003;41:1118-25.
19. Lee HM, Kim YA, Park KI, Lee KW, Chung Y. Detection of toxin B gene of *Clostridium difficile* by polymerase chain reaction from clinical isolates. Korean J Clin Microbiol 1999;2:77-81.
20. Chung Y, Chung GT, Seong WK, Oh HB. Molecular analysis of *Clostridium difficile* isolates by arbitrarily primed-polymerase chain reaction and polymerase chain reaction-ribotyping. Korean J Infect Dis 2002;34:167-75.

Comparison of Toxin A Enzyme Linked Fluorescence Assay and Latex Agglutination based on *Clostridium difficile* culture and Toxin A and B PCR assay

Bo-Moon Shin, and Eun-Joo Lee

Department of Laboratory Medicine, Sanggye Paik Hospital, Inje University, Seoul, Korea

Background: *Clostridium difficile* is one of the most important pathogens responsible for nosocomial diarrhea; therefore, we compared the efficacy of laboratory tests for diagnosing *C. difficile* diarrhea.

Methods: We evaluated 107 stool specimens using a latex agglutination test (LA) (BD CDT, Cultu-rette CDT, Becton, Dickison and Company, USA) and an enzyme linked fluorescent immunoassay (ELFA) (VIDAS *C. difficile* Toxin A II, Bio-Merieux sa, Marcy-l' Etoile, France). Stool specimens were cultured using cycloserine cefoxitine fructose agar in anaerobic condition. For identification of *C. difficile*, spore stain and Vitek ANA identification card (Bio-Merieux sa) were used. Toxin A and toxin B genes were analysed by PCRs using primers NK3-NK2 and NK104N-K105 respectively.

Results: The concordance rate between LA and ELFA was 68.2%. Based on the culture results, the sensitivity/specificity of LA and ELFA were 54.8%/100% and 17.8%/100%, respectively. The positive rates of toxin A and B genes were both 90.4% (66/73). Based on the results of PCR assays for toxin A and B genes, the sensitivity/specificity of LA and ELFA were 37.9%/85.7% and 19.7%/100%, respectively.

Conclusion: Based on *C. difficile* culture and toxin A and B gene PCR results, the sensitivity of LA was apparently higher than that of ELFA. However, it should not be simply estimated that ELFA has lower capability for detecting toxin A of *C. difficile* because the possibility of emerging variant strains of *C. difficile* could not be ruled out. The prevalence of toxigenic strains of *C. difficile* including variant strains should be studied in Korea. (*Korean J Clin Microbiol* 2005;8(2):130-135)

Keywords: *Clostridium difficile*, Toxin A, Toxin B, Latex agglutination, Enzyme immunoassay, PCR

Address reprint requests to : Bo-Moon Shin M.D., Department of Laboratory Medicine, Sanggye Paik Hospital, Sanggye 7 Dong, 761-1, Nowon Ku, Seoul 139-707, Korea.
Tel. +82-2-950-1227 Fax. +82-2-950-1224 E-mail: bmshin@unitel.co.kr