

Application of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry to Screen the Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing ST131 *Escherichia coli* Strains

Young Ah Kim¹, Dongeun Yong², Yong Ha In³, Hyung Soon Park³, Kyungwon Lee²

¹Department of Laboratory Medicine, National Health Insurance Service Ilsan Hospital, Goyang,

²Department of Laboratory Medicine and Research Institute of Bacterial Resistance, Yonsei University College of Medicine, ³R&D Center, ASTA Inc, Suwon, Korea

Background: Sequence type 131 (ST131) O25b serogroup *Escherichia coli*, producing CTX-M type extended-spectrum β -lactamase (ESBL), is a major clone involved in worldwide pandemic spread in both community- and healthcare-associated infections. Recently, matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) has become a routine tool for the identification of bacteria in many laboratories. This study aimed to assess the performance of MALDI-TOF MS for the screening of ESBL-producing *E. coli* ST131 in a rapid, inexpensive, and simple way.

Methods: A total 26 clinical *E. coli*, isolated from blood between 2013 and 2014, were used. The characteristics are ST131-O25b ESBL producers (n=6), ST131-O16 ESBL producers (n=4), non-ST131 ESBL producers (n=11), and non-ST131 non-ESBL producers (n=5). Specific biomarker peaks to distinguish the ST131 clonal group from others were investigated by MicroIDSys (ASTA, South Korea) and ASTA Tinker-

bell 2.0 software.

Results: A peak at 9,713 m/z peak is useful to screen for ST131 *E. coli*, regardless of serogroup O25 or O16, showing a sensitivity of 100%, specificity of 56.2%, positive predictive value of 58.8%, and negative predictive value of 100% when using a relative intensity cutoff of 15%.

Conclusion: We can screen for ST131 *E. coli* using MicroIDSys (ASTA), MALDI-TOF MS in a rapid, inexpensive, and simple way. However, other confirmatory tests are needed to confirm ST131 *E. coli* due to the low specificity of this method. (*Ann Clin Microbiol* 2016;19:65-69)

Key Words: *Escherichia coli*, Extended-spectrum β -lactamase, Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, Sequence type 131, Serogroup O16, Serogroup O25b

INTRODUCTION

2000년 이후 우리나라와 세계 각국에서 CTX-M형의 기질확장성 베타락타메이즈(extended-spectrum β -lactamase, ESBL)를 생성하는 *Escherichia coli*가 병원환경뿐 아니라 지역사회에도 폭발적으로 증가하였는데[1], 이는 여러 항균제에 다제내성을 보이며 고병독성인 sequence type 131 (ST131) *E. coli*와 관련이 있다고 보고되었다[2]. ST131 *E. coli*는 우리나라를 비롯한 전세계에 널리 퍼져 있는 고병원성의 다제내성 clone으로

이들을 신속하고 간편하게 검출하는 것은 병원감염과 지역사회 감염의 전파를 막는 데 매우 유용하다. 특히 최근에는 다제내성 특징과는 별개로 ST131-H30 *E. coli* subclone이 지속적인 감염, 새로운 감염 혹은 장기간의 병원 입원 같은 나쁜 예후와 관련이 있다는 보고가 있어[3], 임상적으로도 ST131-H30 *E. coli* 검출이 의미가 있다.

ST131은 Achtman 방식의 multilocus sequence typing (MLST)을 통해 결정하며, 사용하는 housekeeping gene에 차이가 있지만 유사한 방법인 Pasteur 방식의 MLST도 많이 사용된다[4,5].

Received 18 July, 2016, Revised 29 August, 2016, Accepted 30 August, 2016

Correspondence: Dongeun Yong, Department of Laboratory Medicine and Research Institute of Bacterial Resistance, Yonsei University College of Medicine, 50 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Korea. (Tel) 82-2-2228-2442, (Fax) 82-2-364-1583, (E-mail) deyong@yuhs.ac

© The Korean Society of Clinical Microbiology.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

PCR을 이용한 방법으로는 *E. coli* phylogenetic group을 *chuA*, *yjaA* 및 TspE4.C2 DNA 조각의 triplex PCR profiles을 이용하여 결정하는 방법이 있는데, 대부분의 ST131 *E. coli*가 속하는 B2 group은 *chuA*와 *yjaA*에 둘 다 양성을 보인다[6]. 그 외에도 ST131 *E. coli*가 주로 serogroup (O25b)에 속하는 것을 이용한 PCR이 소개되었다[7]. 최근에는 ST131 *E. coli* 중에 기존에 잘 알려져 있던 serogroup O25 외에 O16이 있다는 것이 알려졌고, 이 ST131 O16 *E. coli*은 trimethoprim-sulfamethoxazole에 내성을 보이고 fluoroquinolone에는 감수성을 보이는 등 ST131 O25 *E. coli*와 다른 항균제 내성양상을 보이는 것이 알려지면서, O25와 O16을 동시에 검출하는 PCR법이 개발되었다[8]. 또 지금까지 알려진 ST131의 특징인 *fimH30*과의 연관성 외에 좀 더 광범위한 항균제 내성을 보이는 새로운 아형 *H30-Rx*가 존재함이 새로 알려지면서 이를 검출하는 PCR법도 개발되었다[9]. 그러나 시간, 비용, 노력이 많이 드는 MLST법은 물론이고, 좀 더 신속하고 간편하다고 하는 PCR법을 이용한 ST131 *E. coli* 검출 방법도 통상적인 검사로 포함하여 사용하기는 비용 및 시간적 면에서 많은 한계가 있다.

최근 검사실에서는 matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)를 통상 미생물 동정법으로 많이 도입하여 쉽게 이용하고 있다. 이 MALDI-TOF MS를 이용한다면 통상적인 업무 흐름에서 균동정과 함께 확인 할 수 있어서 빠르고, 간편하며, 비용 효과적으로 ST131 *E. coli*를 검출할 수 있어 감염관리에 실제적인 도움이 되리라 생각한다. 이에 본 연구에서는 최근 국내에서 개발된 MALDI-TOF MS인 MicroIDSys (ASTA, Suwon, South Korea)를 이용하여, 지금까지 잘 알려진 ST131-O25 *E. coli* clone 뿐 아니라 최근 소개된 새로운 clonal group인 ST131-O16 *E. coli* clone도 포함하여 통상적인 미생물 검사업무에서 ST131 *E. coli*을 선별하고자 하였다.

MATERIALS AND METHODS

2013년에서 2014년까지 세브란스병원 혈액배양에서 분리된 *E. coli* 26주를 대상으로 하였다. 세균의 동정은 VITEK 2 Gram-negative (GN) Identification card (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)과 MALDI Biotyper MALDI-TOF MS (Bruker Daltonik, Bremen, Germany) 및 MicroIDSys (ASTA)을 이용하였다. 항균제 감수성은 VITEK AST2 N212 card (bioMérieux)을 이용하여 시험 후 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 지침에 따라 해석하였고[10], ESBL 생성이 의심되는 경우 PCR-sequencing 법으로 CTX-M, SHV, TEM의 ESBL 유전자형을 결정하였다[11]. ST131 O25b와 O16의 특정 단일염기다형성을 검출하는 PCR로 ST131-O25b와 ST131-O16을 검출하였다[8]. ESBL 유전자형이 확인된 균주는 Pasteur 방식의

MLST를 시행하였고[4], O25b와 O16 PCR이 양성인 경우 Achtman 방식의 MLST를 추가하여 ST131을 확인하였다[5].

MALDI-TOF MS로 ST131 *E. coli*을 선별하기 위해서 대상 26주를 ethanol-formic acid 추출법을 사용하여 전처리 후 MicroIDSys (ASTA)를 이용하여 MALDI-TOF MS 분석을 시행하였다. Ethanol-formic acid 추출법은 제조사의 추천에 따라 다음과 같은 과정으로 시행하였다. 1) Eppendorf 튜브에 증류수 300 μ L를 넣는다. 2) 시험균주의 단일 집락을 약 10 mg 정도 되게 넣고 충분히 섞어 혼탁액을 만든다. 3) 100% ethanol을 900 μ L 첨가 후 vortexing한다. 4) 13,000 rpm에서 2분간 원심분리 후 상층액을 제거한다. 5) 2분간 상온에서 건조하여 ethanol을 제거한다. 6) 70% formic acid를 20 μ L 첨가 후 vortexing하여 충분히 혼합한다. 7) 동량의 acetonitrile 20 μ L를 첨가 후 1분간 vortexing한다. 8) 13,000 rpm에서 2분간 원심분리 후 상층액 1 μ L를 target plate에 도말 후 상온에서 건조한다. 9) 매트릭스 용액(50% acetonitrile, 2.5% trifluoroacetic acid에 포화된 α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) 1 μ L를 도포 후 상온 건조하여 펩티드의 특성을 분석한다.

ST131-O16, ST131-O25, non-ST131 균간의 특이 peak는 상대강도(relative intensity)를 이용한 기준치에 따라 peak의 중복적 사용을 허용하면서 해당균 peak의 양성률(positive rate)이 최대값이면서 비교 대상균 peak의 양성률이 최소값이 되는 조건 값을 적용하여 분석하였다.

RESULTS

실험에 사용된 혈액에서 분리된 *E. coli* 26주는 MicroIDSys (ASTA)에서 평균 209 score와 표준편차 17.9 score로 모두 *E. coli*로 동정되었으며, 기존의 VITEK 2 Gram-negative (GN) Identification card (bioMérieux)과 MALDI Biotyper MALDI-TOF MS (Bruker Daltonik)을 이용한 방법과 모두 일치하였다. *E. coli* 26주의 특징은 ST131 *E. coli*는 총 10주로 이 중 4주는 O16이었고 나머지 6주는 O25이었다(Table 1). ST131 *E. coli*는 모두 CTX-M형의 ESBL을 생성하고, ESBL 유전형으로는 CTX-M-15 (5주) 및 CTX-M-14 (4주)가 대부분을 차지하였다. Non-ST131 *E. coli*는 모두 16주였으며, 이 중 ESBL 생성 주가 11주로, ESBL 유전형으로는 역시 CTX-M-15 (6주)와 CTX-M-14 (3주)가 대부분이었다. Non-ST131 *E. coli*는 PST (Pasteur sequence type)가 PST2 (1주), PST3 (1주), PST8 (2주), PST13 (1주), PST39 (1주), PST44 (1주), PST53 (1주), PST253 (1주), PST478 (1주), PST594 (1주)로 다양하였다.

ST131-O16 (4주), ST131-O25 (6주) 및 non-ST131 *E. coli* (16주)의 특이 peak의 분석은 Table 2와 같았다. 통상적인 검사실에서 O16과 O25를 모두 포함하는 ST131 *E. coli*를 선별하기 위한 특정 peak로는 9,713 m/z가 적합하였고, Fig. 1과 같이 기

Table 1. Characteristics of the 26 *Escherichia coli* isolates, included in this study

Group	N	ESBL (n)	MLST	
			PST (n)	ST (n)
Non-ST131-ESBL	11	CTX-M-1 (1), CTX-M-14 (3), CTX-M-15 (6), CTX-M-27 (1)	PST2 (1), PST3 (1), PST8 (2), PST13 (1), PST39 (1), PST44 (1), PST53 (1), PST253 (1), PST478 (1), PST594 (1)	
Non-ST131-NonESBL	5	None		
ST131-O16-ESBL	4	CTX-M-14 (2), CTX-M-15 (1), CTX-M-27 (1)	PST506 (4)	ST131 (4)
ST131-O25-ESBL	6	CTX-M-14 (2), CTX-M-15 (4)	PST43 (6)	ST131 (6)
Total	26			

Abbreviations: n, number; ESBL, extended-spectrum β -lactamase; MLST, multilocus sequence typing; PST, Pasteur method; ST, Achtman method.

Table 2. The peaks for the detection of ST131 *Escherichia coli* and their performances

m/z	Cutoff (Relative intensity)	Positive rate (%)			Marker for:
		Non-ST131	ST131-O16	ST131-O25	
3,580	9	31.3	100.0	16.7	ST131-O16
3,935	6	43.8	100.0	33.3	ST131-O16
5,382	60	31.3	100.0	16.7	ST131-O16
6,256	36	31.3	100.0	16.7	ST131-O16
6,316	25	37.5	100.0	16.7	ST131-O16
6,506	6	37.5	100.0	33.3	ST131-O16
7,159	6	43.8	100.0	16.7	ST131-O16
8,350	5	37.5	50.0	100.0	ST131-O25
8,993	7	43.8	100.0	33.3	ST131-O16
9,536	17	37.5	100.0	50.0	ST131-O16
9,713	15	43.8	100.0	100.0	ST131-O16 & O25

Cutoff 0.15=relative intensity 15%.

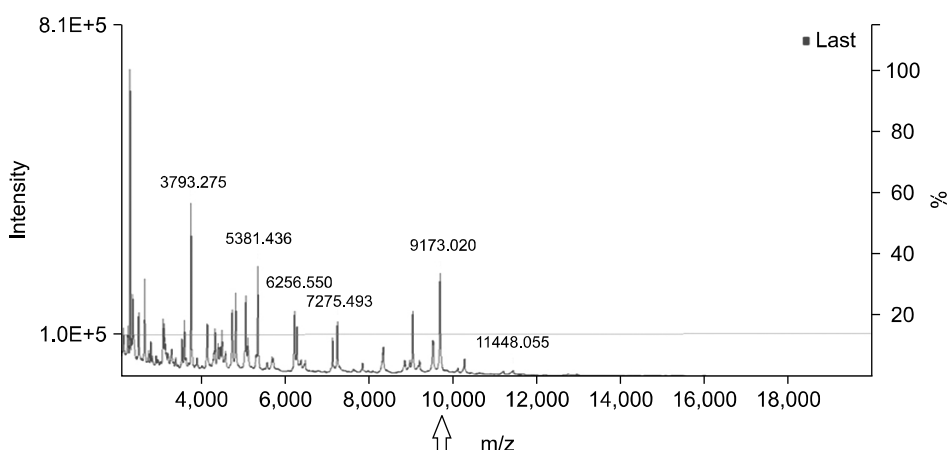


Fig. 1. Visual inspection of 9,713 m/z for ST131 *E. coli* with relative intensity 15% (cutoff). Test performance: sensitivity 100%, specificity 56.2%, positive-predictive value 58.8%, and negative-predictive value 100%.

준치로 상대강도 15%를 적용하였을 때 양성률이 non-ST131 *E. coli*에서 43.8%이고 ST131 *E. coli*에서는 serogroup O25와 O16 모두 100%였다. 민감도는 100%, 특이도 56.2%, 양성예측도 58.8%, 음성예측도 100%의 검사능을 보였다.

DISCUSSION

국외에서도 MALDI-TOF MS를 이용한 ST131 *E. coli* 검출에 관한 보고들이 있는데[12-17], Matsumura 등[15]의 연구에서

MALDI Biotyper (Bruker Daltonics)을 이용하여 9,720 m/z의 peak가 ST131과 다른 ST군을 민감도 97.0%와 특이도 91.5%로 구분함을 보고하였다. 같은 연구자들이 VITEK MS PlusMALDI system (bioMérieux)을 이용하여서도 9,714 m/z의 peak가 ST131 (O25b와 O16 모두 포함)과 다른 ST군을 19.9% 상대강도를 기준으로 적용했을 때 민감도 83.6%와 특이도 92.7%로 구분함을 보고하였다[16]. 본 연구에서는 MicroIDSys (ASTA)를 이용하여 9,713 m/z에서 ST131 (O25b와 O16 모두 포함)과 다른 ST군을 100%의 민감도 56.2%의 특이도로 구분하였는데 이는 기존 연구와 비교하여 특이도가 낮았다. 이러한 차이를 보이는 것은 본 연구에 사용된 균주의 수가 기존 연구에 비해 적어서 이러한 결과를 얻었을 가능성이 있다. 이는 시료 준비 단계에서 발생하는 변동성이, 특징적인 peak 크기에 큰 영향을 주는 것이 MALDI-TOF MS의 일반적인 특징인데 이를 보완할 수 있는 데이터 수의 확보가 추가로 필요할 것으로 생각된다. 9,713 m/z와 관련된 단백질의 성상은 잘 알려져 있지 않으나 Lafolie 등[17]의 연구에서는 9,713 m/z의 peak가 ST131의 주요 특징인 phylogroup B2과 연관이 있는 것으로 보고하였다.

본 연구의 MicroIDSys (ASTA)를 이용한 선별검사는 ClinProTools (Bruker Daltonik)같은 전용 프로그램이 필요하지 않고 통상적인 분석과정에서 사용하는 화면에 표시되는 그림에서 직관적으로 판단이 가능하여 쉽고 편리하게 적용할 수 있었다. 본 연구에서 제안하는 방법의 한 가지 단점은 ethanol-formic acid 추출법이 필요하다는 점으로, 좀 더 간편한 direct transfer 법으로는 ST131 (O25b와 O16 모두 포함)과 다른 ST군을 구별하는 의미 있는 peak를 얻을 수 없었다.

국내에서 시행한 다기관 분자역학 조사에서 최근 ciprofloxacin에 내성인 *E. coli*의 46%, cefotaxime에 내성인 *E. coli*의 60%가 ST131로 이전에 비해 매우 증가하고 있음을 보고하고 있어[18], ST131 *E. coli* 검출이 역학적으로도 매우 유용하리라 생각된다. 또 최근 검사실에서는 MALDI-TOF MS를 통상적인 미생물 동정법으로 많이 도입하고 쉽게 이용하고 있는데 이를 이용한 방법을 개발한다면 통상적인 업무 과정에서 균동정과 함께 ST131 *E. coli*를 선별할 수 있어서 빠르고, 간편하며, 비용 효과적이며 실제적인 도움이 되리라 생각한다.

결론적으로 MicroIDSys (ASTA)를 이용한 MALDI-TOF MS법은 신속하고 편리하게 ST131 *E. coli*를 선별할 수 있는 새로운 방법의 가능성이 있다. 그러나, 최종 확인을 위해서는 peak 하나만으로는 특이도가 충분치 않으므로 여러 개의 peak을 동시에 고려하는 multivariate method를 활용하는 방법이나, PCR법 등의 다른 검사가 추가로 필요하겠다. 앞으로 실제 검사실에서 적용하기 위해서, 검사실에서 분리되는 다수의 *E. coli* 균주를 대상으로 민감도, 특이도 및 실제적인 유용성을 확장하여 평가할 필요가 있다.

REFERENCES

- Cantón R, González-Alba JM, Galán JC. CTX-M enzymes: origin and diffusion. *Front Microbiol* 2012;3:110.
- Colpan A, Johnston B, Porter S, Clabots C, Anway R, Thao L, et al. *Escherichia coli* sequence type 131 (ST131) subclone H30 as an emergent multidrug-resistant pathogen among US veterans. *Clin Infect Dis* 2013;57:1256-65.
- Johnson JR, Thuras P, Johnston BD, Weissman SJ, Limaye AP, Riddell K, et al. The pandemic H30 subclone of *Escherichia coli* sequence type 131 is associated with persistent infections and adverse outcomes independent from its multidrug resistance and associations with compromised hosts. *Clin Infect Dis* 2016;62: 1529-36.
- Institute Pasteur. Institute Pasteur MLST and whole genome MLST databases. <http://bigsdweb.pasteur.fr/> [Online] (last visited on 11 May 2016).
- The University of Warwick. *Escherichia coli* MLST database. <http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Ecoli> [Online] (last visited on 11 May 2016).
- Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol* 2000;66:4555-8.
- Clermont O, Dhanji H, Upton M, Gibreel T, Fox A, Boyd D, et al. Rapid detection of the O25b-ST131 clone of *Escherichia coli* encompassing the CTX-M-15-producing strains. *J Antimicrob Chemother* 2009;64:274-7.
- Johnson JR, Clermont O, Johnston B, Clabots C, Tchesnokova V, Sokurenko E, et al. Rapid and specific detection, molecular epidemiology, and experimental virulence of the O16 subgroup within *Escherichia coli* sequence type 131. *J Clin Microbiol* 2014; 52:1358-65.
- Price LB, Johnson JR, Aziz M, Clabots C, Johnston B, Tchesnokova V, et al. The epidemic of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* ST131 is driven by a single highly pathogenic subclone, H30-Rx. *MBio* 2013;4:e00377-13.
- CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. CLSI document M100-S25. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
- Sidjabat HE, Paterson DL, Adams-Haduch JM, Ewan L, Pasculle AW, Muto CA, et al. Molecular epidemiology of CTX-M-producing *Escherichia coli* isolates at a tertiary medical center in western Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53: 4733-9.
- Tagg KA, Ginn AN, Partridge SR, Iredell JR. MALDI-TOF mass spectrometry for multilocus sequence typing of *Escherichia coli* reveals diversity among isolates carrying *bla*_{CMY-2}-like genes. *PLoS One* 2015;10:e0143446.
- Novais Â1, Sousa C, de Dios Caballero J, Fernandez-Olmos A, Lopes J, Ramos H, et al. MALDI-TOF mass spectrometry as a tool for the discrimination of high-risk *Escherichia coli* clones from phylogenetic groups B2 (ST131) and D (ST69, ST405, ST393). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33:1391-9.
- Nakamura A, Komatsu M, Kondo A, Ohno Y, Kohno H, Nakamura F, et al. Rapid detection of B2-ST131 clonal group of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* by matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry: discovery of a peculiar amino acid substitution in B2-ST131 clonal group. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015;83:

- 237-44.
15. Matsumura Y, Yamamoto M, Nagao M, Tanaka M, Machida K, Ito Y, et al. Detection of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* ST131 and ST405 clonal groups by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol* 2014;52:1034-40.
 16. Matsumura Y, Yamamoto M, Nagao M, Tanaka M, Takakura S, Ichiyama S. Detection of *Escherichia coli* sequence type 131 clonal group among extended-spectrum β -lactamase-producing *E. coli* using VITEK MS Plus matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Microbiol Methods* 2015;119:7-9.
 17. Lafolie J, Sauget M, Cabrolier N, Hocquet D, Bertrand X. Detection of *Escherichia coli* sequence type 131 by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: implications for infection control policies? *J Hosp Infect* 2015;90:208-12.
 18. Kim SY, Park YJ, Johnson JR, Yu JK, Kim YK, Kim YS. Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* sequence type 131 and its H30 and H30Rx subclones: a multicenter study from Korea. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016;84:97-101.

=국문초록=

말디토프 질량분석법을 이용한 Extended-Spectrum β -Lactamase 생성 ST131 *Escherichia coli*의 선별

¹국민건강보험공단 일산병원 진단검사의학과, ²연세대학교 의과대학 세균내성연구소 진단검사의학교실, ³아스타
김영아¹, 용동은², 인용하³, 박형순³, 이경원²

배경: Sequence type 131 (ST131) O25b serogroup *Escherichia coli*는 주로 CTX-M형 기질확장성 베타락타메이즈(extended-spectrum β -lactamase, ESBL)를 생성하는 병독성 높은 다제내성 pandemic clone이다. 최근 많은 검사실에 matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)이 널리 보급되고 있는데 이를 이용하여 통상적인 검사과정에서 쉽고 빠르게 ST131 *E. coli*를 선별하는 검사법을 개발하고자 한다.

방법: 대상 균주는 2013-2014년 세브란스병원 혈액배양 분리 *E. coli* 26주로 ST131-O25b ESBL 생성 *E. coli* (6주), ST131-O16 ESBL 생성 *E. coli* (4주), non-ST131 ESBL 생성 *E. coli* (11주), 및 ESBL을 생성하지 않고 ST131이 아닌 *E. coli* (5주)이다. 모든 균주는 ethanol-formic acid extraction법으로 전처리 후 MicroIDSys (ASTA, South Korea)로 측정하여 ST131에 특징적인 특이 peak를 분석하였다.

결과: 9,713 m/z의 peak가 serogroup O25과 O16에 상관 없이 ST131 *E. coli*를 선별하는데 유용하였고, 민감도 100%, 특이도 56.2%, 양성예측도 58.8% 및 음성예측도 100%를 보였다.

결론: MicroIDSys (ASTA)를 이용한 MALDI-TOF MS법은 신속하고 편리하게 ST131 *E. coli*를 선별할 수 있는 새로운 방법의 가능성이 있지만, 특이도가 충분치 않아 최종 확인을 위해서는 PCR법 등의 다른 검사가 추가로 필요하겠다. [*Ann Clin Microbiol* 2016;19:65-69]

교신저자 : 용동은, 03722, 서울시 서대문구 연세로 50
연세대학교 의과대학 세균내성연구소 진단검사의학교실
Tel: 02-2228-2442, Fax: 02-364-1583
E-mail: deyong@yuhs.ac