

Microplate를 이용한 장구균 동정법

어 영 · 황규열 · 장인호 · 윤갑준 · 이경원* · 이형환**

연세대학교 원주의과대학 진단검사의학과, 연세대학교 의과대학 진단검사의학과*, 건국대학교 생명과학과**

Identification of *Enterococcus* Species Using a Microplate

Young Uh, Gyu Yul Hwang, In Ho Jang, Kap Jun Yoon, Kyungwon Lee*, and Hyung-Hoan Lee**

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju,

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul*,

Department of Biological Sciences, Konkuk University, Seoul, Korea**

Background : The aim of the study was to develop an accurate, convenient, and easy microplate system for the identification of enterococcal species from clinical specimens.

Methods : The microplate identification method was composed of twelve biochemical tests and identification programs. The tests comprised in microplate were initially screened by a two-tube method, NaCl-esculin hydrolysis and pyrrolidonyl- β -naphthylamide test; arginine dihydrolase, acid production from mannitol, sorbitol, sucrose, arabinose, raffinose, methyl- α -D-glucopyranoside, and ribose in the microplate; and pigment production and hemolytic pattern in blood agar plate. The performance of the microplate for identifying enterococci to the species level was evaluated in comparison with conventional reference tests and commercial kits.

Results : Among the 111 clinical isolates of *Enterococcus* species, the microplate system correctly identified 100% to genus level, and 91.0% to species level. All of *E. casseliflavus*, *E. durans*, and *E. hirae* were correctly identified by the microplate. The diagnostic sensitivity and specificity for identification of *Enterococcus* species were as follows: 100% and 96.7% in *E. faecium*, 93.5% and 100% in *E. faecalis*, 100% and 97.2% in *E. raffinosus*, and 33.3% and 98.1% in both *E. avium* and *E. gallinarum*.

Conclusions : It is concluded that the microplate method offers a simple, cost-effective, rapid, and accurate identification system for the identification of most clinical isolates of *Enterococcus* species.

Key Words : *Enterococcus*, Identification, Microplate

서 론

세균 동정을 위해서는 전통적인 방법과 상품화된 제품을 이용하는 방법이 있다. 최근에는 분자생물학적 방법들이 균종 동정에 이용되기 시작하였으나[1], 흔히 분리되는 균종에는 통상적으로 이용되지는 않는다. 장구균은 병원성이 낮은 균종으로 인식하였을 뿐만 아니라 감별동정하기가 어려

위 과거에는 균속수준으로만 동정하였으나, 임상검체에서의 분리빈도가 높아지고 균종별로 항균제감수성 양상에 차이가 많기 때문에 장구균 감염증을 적절히 치료하기 위해서는 정확한 균종 동정이 필요하게 되었다. 그러나, 실제로 장구균의 전통적 방법에 의한 균종 수준에서의 동정이 가능하게 된 것은 1989년 Facklam 및 Collins가 장구균의 균종별 동정 방법을 발표한 이후로서[2], 그 이후로 일부 검사실에서 장구균의 간략 동정법을 사용하기 시작하였다[3]. 그러나 Facklam 및 Collins의 장구균 동정법[2]은 생화학 시험 종목수가 다소 많고 시약의 가격이 비싼 점이 있으며 결과판정 시간이 오래 소요되므로 일반 검사실에서 통상적으로 사용하기에는 어려움이 있다. 이에 많은 검사실에서는

교신저자 : 어 영

우) 220-701 강원도 원주시 일산동 162

원주기독병원 진단검사의학과

전화 : (033)741-1592, FAX : (033)731-0506

E-mail : u931018@wonju.yonsei.ac.kr

상표화된 동정 제품을 이용하지만 제품의 가격이 비싸며, 장구균의 균종별 생화학 성상에 대한 자료가 적고, 균종간 생화학적 성상이 유사한 경우가 많기 때문에 동정 데이터베이스가 없거나 부실한 경우에는 정확한 동정이 안되는 경우가 있다(4-7). 따라서 일부 검사실에서는 Facklam 및 Collins의 장구균 동정법(2)을 변형한 방법 또는 선별 시험후 균종군별로 추가시험을 시행하는 방법을 사용하기도 한다(3,8-10).

본 연구에서는 이전의 장구균의 간략 동정법(10)을 개선한 microplate 동정법의 유용성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 동정 시험의 구성과 검사 방법

Microplate를 이용한 동정법은 장구균 선별시험인 pyrrolidonyl-β-naphthylamide (PYR) 시험과 NaCl-esculin 가수분해 시험, microplate에서 시험하는 mannitol, sorbitol, arabinose, raffinose, sucrose, methyl-α-D-glucopyranoside (MGP)와 ribose의 7가지 당분해 시험과 arginine dihydrolase (ADH) 시험, 사람혈액천배지에서의 노란 색소 형성과 용혈성 시험으로 모두 12가지 동정시험으로 구성하였다. 장구균의 microplate 동정법에 사용된 시험 중 신속선별 시험인 NaCl-esculin 가수분해와 PYR 시험은 액체배지를 사용하였고(11), ADH 시험과 7가지의 당분해 시험은 전통적 방법대로 pH와 당농도를 맞춘 배지를 제조한 후 멸균된 U shaped 96 well microwell plate (Nunc, Denmark)에 200 μL를 무균적으로 분주하여 고체배지를 만들었고, 노란 색소 시험과 용혈성 시험은 혈액천배지를 사용하였다.

장구균의 microplate 배지의 집락 접종은 평판배지에서 장구균이 순수 분리될 경우에는 4개의 microplate well에 한번에 접종할 수 있는 4지 접종 칩을 사용하였고, 평판배지에 집락이 섞여 있을 경우에는 일반적인 접종 칩을 이용하여 접종하였다.

2. 동정프로그램의 개발

장구균의 균종 동정방법은 동정확률법 (%ID)을 이용하였다. 동정프로그램은 C-언어와 visual basic을 이용하여 개발하였고, 동정확률법은 Koneman 등(12)의 방법을 이용하여 균종별 생화학반응 양성률이 0이면 0.001을 곱하여 확률을 산출하도록 프로그램을 구성하였고, 감별동정이 어려운 균종이 분리되었을 때의 추가시험에 대한 comment file을 작성하여 화면에 표시되도록 하였으며, 검사자가 균종별 생화학 시험에 대한 자료를 실시간으로 비교할 수 있도록 하였다. Microplate 동정법에 포함된 균종은 *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. faecalis*, *E. flavescens*, *E.*

faecium, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. malodoratus*, *E. mundtii*, *E. saccharolyticus*, *E. raffinosus*, *E. sulfureus*, *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus bovis* I, *Streptococcus bovis* II 및 *Vagococcus fluvialis*의 20균종이다.

3. Microplate 동정법의 평가

1) 표준균주의 비교

Microplate 장구균 동정법의 정확도를 평가하기 위하여 *E. malodoratus* ATCC 43197, *E. raffinosus* ATCC 49427, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecalis* ATCC 51299, *E. faecium* ATCC 19434, *E. faecium* ATCC 35667, *E. casseliflavus* ATCC 25788, *E. gallinarum* ATCC 49753, *E. durans* ATCC 19472, *E. hirae* ATCC 9790, *E. sulfureus* ATCC 49903, *E. flavescens* ATCC 49997의 12개의 표준균주를 대상으로 microplate 동정법을 평가하였다.

2) 임상분리주의 동정력 평가

2002년 10월동안 대변을 포함한 임상검체에서 연속하여 분리된 장구균 111주를 대상으로 microplate 장구균 동정법과 API Strep 20과 API rapid ID 32 Strep (bio-Mérieux, France)을 동시에 시험한 후 각 동정법에서 시험하는 생화학 성상과 균동정명을 비교하였다. 생화학 시험의 양성과 음성의 기준은 3종류의 동정법에서 2종류 이상이 양성이거나 음성인 경우를 각각 양성으로 정하였다. 최종 동정명은 3가지 동정법에서 균종명이 일치하면 최종 동정명으로 하였고, 3가지 동정법에서 불일치를 보일 때에는 운동성 시험, sorbose 당분해 시험, tellurite 내성 시험

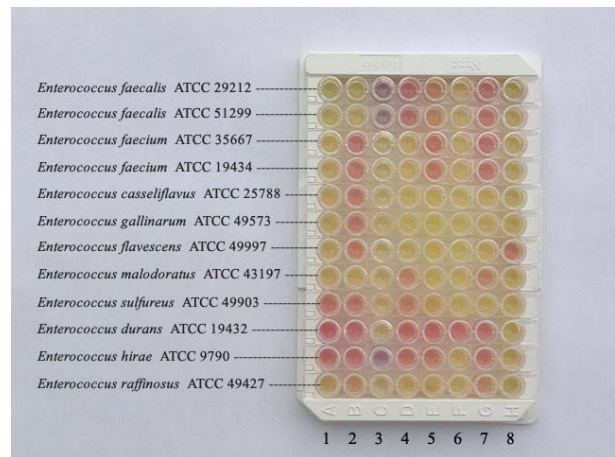


Fig. 1. Biochemical reactions of ATCC strains of *Enterococcus* species by microplate identification method using direct colony inoculation (Lane 1, mannitol; lane 2, sorbitol; lane 3, arginine dihydrolase; lane 4, arabinose; lane 5, raffinose; lane 6, sucrose; lane 7, methyl-α-D-glucopyranoside; lane 8, ribose).

험을 추가하였으며, microplate 법과 상품화된 동정 제품에서 생화학 성상의 불일치를 보이는 균종은 전통적인 생화학 시험 결과를 기준으로 하되, 전통적인 방법으로 감별되지 않는 균주는 두가지 동정법에서 일치하는 생화학 시험 결과를 기준으로 균종명을 결정하였고, 이 같은 기준으로도 균종을 감별하기 어려운 경우는 *Enterococcus species*로 분류하였다.

결 과

1. 표준균주

12균종의 장구균 표준균주의 microplate 법에서의 생화

학 성상은 육안으로 쉽게 구분이 되었고 동정정도 정확하였다(Fig. 1).

2. 임상분리주

Microplate 법과 API 20 Strep 및 API rapid ID 32 Strep의 esculin 가수분해, PYR 시험, mannitol과 ribose 시험은 모두 동일한 결과를 보였으며, sorbitol, ADH, arabinose, raffinose와 sucrose 시험은 일부 균종에서 불일치를 보였다. sorbitol 시험의 microplate 법과 API rapid ID 32 Strep 및 API 20 Strep과의 일치율은 90.1%와 93.7%이었고, sorbitol 시험의 microplate 법, API 20 Strep과 API rapid ID 32 Strep의 위양성률은

Table 1. Comparison of biochemical reactions of *Enterococcus* species between microplate identification method and API system

Biochemical tests	Biochemical reactions by identification methods			No. of isolates
	Microplate	API 32 Strep	API 20 Strep	
Bile esculin	+	NT	+	111
PYR	+	+	+	111
Ribose	+	+	+	111
Mannitol	+	+	+	96
Sorbitol	-	-	-	15
	-	-	-	65
	+	+	+	31
	+	-	+	7
	+	+	-	4
Arginine dihydrolase	+	-	-	3
	-	+	-	1
	-	-	-	10
	+	+	+	59
	-	+	+	41
Arabinose	-	-	+	1
	-	-	-	37
	+	+	+	69
	+	-	+	4
Raffinose	-	+	-	1
	-	-	-	77
	+	+	+	22
	+	-	-	11
Sucrose	+	-	+	1
	-	-	NT	12
	-	+	NT	1
	+	-	NT	1
	+	+	NT	97

Abbreviations: NT, not tested; PYR, pyrrolidonyl-β-naphthylamide.

Table 2. Comparison of identification results between microplate identification method and API 20 Strep for 111 *Enterococcus* species from clinical specimen

Microplate ID method	No. of organisms identified by API 20 Strep						Total
	EAV	EDU	EFA	EFM	EGA	LAC	
EAV	1						1
ECA				6	1		7
EDU		1					1
EFA			28			1	29
EFM	2	8		40	4		54
EGA					1		1
EHI		5					5
EMA	1		2	2			5
ERA	6			1	1		8
Total	10	14	30	49	7	1	111

Abbreviations: EAV, *E. avium*; ECA, *E. casseliflavus*; EDU, *E. durans*; EFA, *E. faecalis*; EFM, *E. faecium*; EGA, *E. gallinarum*; EHI, *E. hirae*; EMA, *E. malodoratus*; ERA, *E. raffinosus*; LAC, *Lactococcus lactis*.

Table 3. Comparison of identification results between microplate identification method and API 32 Strep for 111 *Enterococcus* species from clinical specimen

Microplate ID method	No. of organisms identified by API 32 Strep								Total
	EAV	ECA	EDU	EFA	EFM	EGA	EHI	LGA	
EAV	1								1
ECA		7							7
EDU			1						1
EFA				29					29
EFM	3	1			17	33			54
EGA						1			1
EHI							5		5
EMA	1			4					5
ERA	5					2		1	8
Total	10	8	1	33	17	36	5	1	111

Abbreviations: EAV, *E. avium*; ECA, *E. casseliflavus*; EDU, *E. durans*; EFA, *E. faecalis*; EFM, *E. faecium*; EGA, *E. gallinarum*; EHI, *E. hirae*; EMA, *E. malodoratus*; ERA, *E. raffinosus*; LGA, *Lactococcus garvieae*.

각각 2.7%, 0%와 0.9%였으며 위음성률은 0%, 6.3%와 3.6%였다. Microplate 법의 ADH 시험의 위음성률은 36.9%로 높았고 위양성은 없었다. API rapid ID 32 Strep의 arabinose 위음성률은 3.6%였고 위양성률은 0.9%였다(Table 1).

Microplate 동정법과 상품화된 동정법인 API rapid ID 32 Strep 및 API 32 Strep의 균종수준에서의 동정 일치율은 각각 64.0%(Table 2)와 55.0%(Table 3)이었으며, API rapid ID 32 Strep과 API 20 Strep의 균종수준에서의 동정 일치율은 56.8%였다(Table 4).

Microplate 동정법은 장구균 균속까지는 100%를 동정할 수 있었고 균종수준에서는 91.0%를 정확히 동정할 수

있었으며, 균종별로 *E. casseliflavus*, *E. durans*와 *E. hirae*는 100%를 동정하였고, *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. raffinosus*의 동정 예민도는 100%, 93.5%와 100%였고 동정 특이도는 96.7%, 100%와 97.2%였으며, *E. avium*과 *E. gallinarum*의 동정 예민도는 33.3%였고 특이도는 98.1%였다. 반면에 API 20 Strep과 API rapid ID 32 Strep은 장구균 균속까지 각각 68.4%와 60.4%에서 동정명이 일치하였다(Table 5).

고 찰

그람양성구균인 장구균은 소화기관이나 여성 생식기에

Table 4. Comparison of identification results between API rapid 32 Strep and API 20 Strep for 111 *Enterococcus* species from clinical specimen

Enterococcus species by API 20 strep	No. of <i>Enterococcus</i> species identified by API 32 Strep								Total
	EAV	ECA	EDU	EFA	EFM	EGA	EHI	LGA	
EAV	9							1	10
EDU		1	1			7	5		14
EFA				30					30
EFM	1	6		2	17	23			49
EGA		1				6			7
LAC				1					1
Total	10	8	1	33	17	36	5	1	111

Abbreviations: EAV, *E. avium*; ECA, *E. casseliflavus*; EDU, *E. durans*; EFA, *E. faecalis*; EFM, *E. faecium*; EGA, *E. gallinarum*; EHI, *E. hirae*; LGA, *Lactococcus garvieae*. EMA, *E. malodoratus*; LAC, *Lactococcus lactis*.

Table 5. The performance of microplate identification method for identifying enterococci to the species level

<i>Enterococcus</i> species (No.)	Identification results of <i>Enterococcus</i> species according to ID methods								
	Microplate ID method			API 20 Strep			API rapid 32 Strep		
	Correct No.(%)	Incorrect No. ID		Correct No.(%)	Incorrect No. ID		Correct No.(%)	Incorrect No. ID	
EFM (52)	52 (100)	0	-	40 (77)	8	EDU 4 EGA	17 (33)	33	EGA EAV ECA
EFA (31)	29 (94)	2	EMA	30 (97)	1	LAC	31 (100)	0	-
ECA (7)	7 (100)	0	-	0 (0)	6	EFM 1 EGA	7 (100)	0	-
EHI (5)	5 (100)	0	-	0 (0)	5	EDU	5 (100)	0	-
ERA (5)	5 (100)	0	-	0 (0)	5	EAV	0 (0)	5	EAV
EAV (3)	1 (33)	2	EFM	3 (100)	0	-	3 (100)	0	-
EGA (3)	1 (33)	2	ERA	2 (67)	1	EFM	3 (100)	0	-
EDU (1)	1 (100)	0	-	1 (100)	0	-	1 (100)	0	-
ENT (4)	0 (0)	4	-	0 (0)	4	-	0 (0)	4	-
Total	101 (91)	10	-	76 (68)	35	-	67 (60)	44	-

Abbreviations: ID, Identification; EFM, *E. faecium*; EDU, *E. durans*; EGA, *E. gallinarum*; EAV, *E. avium*; ECA, *E. casseliflavus*; EFA, *E. faecalis*; EMA, *E. malodoratus*; LAC, *Lactococcus lactis*; EHI, *E. hirae*; ERA, *E. raffinosus*.

정상 상재균으로 존재하지만 심내막염, 요로 감염, 창상 감염, 복강내 감염 등을 일으키며, 최근 병원 감염의 주요 원인으로 부상하고 있다[13]. 또한 장구균은 흔히 사용하는 항균제에 대하여 자연 내성을 보이며, 패혈증, 심내막염, 뇌막염, 면역기능저하환자에서의 감염 등과 같이 위중한 감염이 있을 때에는 ampicillin 또는 glycopeptide 항균제와 aminoglycoside 계열의 약물을 병행하여 투여해야 한다 [13]. 최근 문제시되고 있는 vancomycin 내성 장구균도 균종별로 병원감염관리 방침이 다르다. 그러므로 임상검체에서 장구균의 신속한 동정과 항균제감수성시험은 미생물검사실의 중요한 업무의 하나이다.

장구균의 집락 형태는 다른 catalase 음성 그람양성구균과 유사하며 혈액천배지의 용혈성도 α , β 및 γ 로 다양하므로 집락 성상만으로는 장구균을 다른 연쇄구균과 감별할 수 없다. 임상 검체에서 분리된 catalase 음성 그람양성구균의 동정은 상품화된 동정 제품을 이용하면 편리하지만 검사 비용이 많이 들므로 전통적 방법을 이용하여 선별 동정을 한 후 그 결과에 따라 추가시험을 시행할 수 있다.

선별시험에서 장구균으로 판정되면 균종수준까지 동정해야 한다. 장구균을 균종수준까지 동정하기 위해서는 10가지 정도의 전통적인 생화학 시험을 추가로 시행하거나 상품화된 동정 제품 또는 각 장구균에 특이한 시발제를 이용한

polymerase chain reaction 법[14,15]을 사용하면 가능하다. 그러나 임상검체에서 분리되는 모든 장구균의 동정을 위하여 분자생물학적 동정법을 사용하는 것은 비효율적이다.

따라서 본 연구에서는 이전에 개발하여 사용하고 있던 장구균 간략동정법[10]의 문제점을 개선하고자 하였다. 즉, 전통적 방법에 의한 장구균 간략동정법은 동정시험수가 8가지로 적기 때문에 *E. cecorum*, *E. columbae*와 *E. saccharoliticus*를 동정할 수 없으며, *E. hirae*와 *E. durans*를 감별할 수 없었고, 장구균과 유사한 생화학 성상을 보이는 *Lactococcus*와 *Streptococcus bovis*에 대한 동정 database가 없으며, 동정방식이 동정코드목록에 근거하므로 비정형 생화학 성상을 가진 균주는 상품화된 제품으로 다시 동정해야 하는 문제점이 있었다. 이에 장구균의 감별 동정의 정확성을 높이기 위하여 기존의 간략동정법[10]에 mannitol, sorbitol, sucrose, ribose 시험을 추가하였고, tellurite 시험은 생화학 성상의 반응이 뚜렷하지 않아 제외하였으며, 장구균 선별시험은 기존의 연구[11]를 바탕으로 NaCl-esculin 가수분해 시험과 PYR 시험을 사용하였다. 또한, 장구균 간략동정법[10]은 시험관 배지를 이용한 동정방법이므로 배지제조에 시간이 많이 소요되고 배지량이 많이 필요할 뿐만 아니라 모든 시험관 배지에 균주를 따로 접종해야 하므로 동정과정에서 복잡하고 집중 시간이 오래 걸리는 단점이 있었다. Microplate를 이용한 장구균의 동정법은 배지제조가 간단하며 배지량이 적기 때문에 보관 공간이 작은 장점이 있으며 한번 제조하면 1달동안 사용할 수 있으므로 배지제조에 소요되는 업무량을 줄일 수 있었다. Microplate를 이용한 동정법은 적은 양의 균액으로도 전통적 시험관법보다 색 변화가 뚜렷하였는데 이는 배지량이 적고 microplate의 두께가 얇아 판독이 쉬운 것이 원인으로 생각되었다.

Microplate 장구균 동정법을 2가지 종류의 상품화된 동정제품과 비교해 보면, API 20 Strep은 *E. avium*, *E. durans*, *E. faecalis*, *E. faecium*과 *E. gallinarum*의 5가지 장구균에 대한 동정 database만을 가지고 있으므로 *E. avium*과 유사한 생화학 성상을 보이는 *E. raffinosus*의 동정이 불가능하고, methyl- α -D glucopyranoside 시험과 sucrose 시험이 없으므로 *E. faecium*과 *E. gallinarum*으로 동정된 균종을 대상으로 *E. casseliflavus*와의 감별을 위한 추가시험을 해야 하는 단점이 있고, *E. hirae*는 모두 *E. durans*로 동정되는 문제점이 있었다. 또한 mannitol 음성인 비정형 *E. faecium*은 API 20 strep에서 *E. durans*로 동정되는 경우가 많았다. API rapid ID 32 Strep도 8가지 장구균에 대한 동정 database만 있으며, *E. faecium*을 *E. gallinarum*으로 동정되는 경우가 많았다. 반면에 microplate 동정법은 장구균의 균종수준의 동정 정확도가 91.0%로 매우 높았으며, 균종별로는 *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. faecium*, *E.*

faecalis, *E. raffinosus*의 대부분을 정확히 동정할 수 있었다. 그러나 *E. avium*의 일부 균주는 오동정의 가능성이 있었다. Shewmaker 등[16]에 의하면 *E. avium*은 *Globicatella sanguinis*, *Aerococcus viridans* 및 *Streptococcus uberis*와 생화학 성상이 유사하여 감별 동정의 어려움을 보고하였는데, 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 microplate 동정법에 sorbose 당분해 시험을 추가할 필요성이 있었다.

요 약

배 경: 본 연구에서는 임상검체에서 분리되는 장구균을 사용이 편리하면서도 정확하고 신속하게 동정할 수 있는 microplate 동정법을 개발하고자 하였다.

방 법: 새로 개발한 microplate를 이용한 장구균의 동정법은 12개의 생화학 시험과 동정프로그램으로 구성하였다. 생화학 시험은 두개의 시험관배지에서 시험하는 신속선별시험인 NaCl-esculin 가수분해 시험과 PYR 시험, microplate에서 시험하는 arginine dihydrolase 시험, mannitol, sorbitol, arabinose, raffinose, sucrose, methyl- α -D-glucopyranoside 및 ribose 당분해시험과 혈액한천배지에서 시험하는 색소시험과 용혈성 시험으로 구성하였다. 동정 프로그램은 visual basic과 C 언어를 이용하여 개발하였다. Microplate를 이용한 장구균 동정법의 균종수준에서의 동정력은 전통적인 참고방법과 상품화된 제품을 이용하여 평가하였다.

결 과: 임상검체에서 분리된 111균주의 장구균 중에서 microplate를 이용한 장구균 동정법은 장구균 균속까지는 100%를 동정할 수 있었고 균종수준에서는 91.0%를 정확히 동정할 수 있었으며, 균종별로 *E. casseliflavus*, *E. durans*와 *E. hirae*는 100%를 정확히 동정할 수 있었고, *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. raffinosus*의 동정 예민도는 100%, 93.5%와 100%였고 동정 특이도는 96.7%, 100%와 97.2%였으며, *E. avium*과 *E. gallinarum*의 동정 예민도는 33.3%였고 특이도는 98.1%였다. 반면에 API 20 Strep과 API rapid 32 Strep kit는 장구균 균속까지 각각 68.4%와 60.4%를 정확히 동정하였다.

결 론: Microplate 장구균 동정법은 임상검체에서 분리되는 대부분의 장구균을 신속하고 정확하게 동정할 수 있었으며, 검사소요비용이 저렴하면서도 사용이 편리한 동정법으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Donabedian S, Chow JW, Shlaes DM, Green M, Zervos MJ. DNA hybridization and contour-clamped homogeneous electric field electrophoresis for identification of enterococci

- to the species level. J Clin Microbiol 1995;33:141-5.
2. Facklam RR, Collins MD. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. J Clin Microbiol 1989;27:731-4.
 3. 정윤섭, 김영옥, 권오현. 임상검체에서 분리되는 *Enterococcus*의 균종동정을 위한 간이 감별법의 고안. 임상병리와 정도관리 1991;13:229-36.
 4. 신중희 및 양동욱. Aminoglycoside 고도내성 enterococci의 빈도 및 임상적 특성. 대한임상병리학회지 1993;13:419-27.
 5. 홍기숙, 강은숙, 이미애. Vancomycin 내성 enterococci의 빈도 조사 및 중합효소연쇄반응을 이용한 유전자형의 분석. 대한임상병리학회지 1998;18:372-8.
 6. Ruoff KL, de la Meza L, Murtagh MJ, Spargo JD, Ferraro MJ. Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. J Clin Microbiol 1990;28:435-7.
 7. Sader HS, Biedenbach D, Jones RN. Evaluation of Vitek and API 20S for species identification of enterococci. Diagn Microbiol Infect Dis 1995;22:315-9.
 8. Buschelman BJ, Bale MJ, Jones RN. Species identification and determination of high-level resistance among enterococci: comparison study of sterile body fluid isolates, 1985-1991. Diagn Microbiol Infect Dis 1993;16:119-22.
 9. 김명숙, 김선희, 강지연, 용동은, 이경원, 정윤섭 등. 장구균 동정을 위한 변경된 간이 동정법의 평가. 대한임상미생물학회지 2002;5:129-36.
 10. 어 영, 장인호, 윤갑준. 장구균의 간략 동정법 개발. 대한임상병리학회지 1999;19:57-61.
 11. 박순덕, 장인호, 황규열, 어 영, 윤갑준. 장구균의 신속 선별 동정을 위한 L-pyrrolidonyl- β -naphthylamide (PYR) 시험과 NaCl-esculin 가수분해시험의 유용성 평가. 임상병리와 정도관리 1999;21:309-13.
 12. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. In: *Enterobacteriaceae*. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 4th ed. Philadelphia: J.B Lippincott, 1992;130-1.
 13. Facklam RR, Sahn DF, Teixeira LM. *Enterococcus*. In: Murray PR, ed. Manual of clinical microbiology. 6th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology 1999; 297-305.
 14. Cheng S, McCleskey FK, Gress MJ, Petroziello JM, Liu R, Namdari H, et al. A PCR assay for identification of *Enterococcus faecium*. J Clin Microbiol 1997;35:1248-50.
 15. Tyrrell GJ, Bethune RN, Willey B, Low DE. Species identification of enterococci via intergenic ribosomal PCR. J Clin Microbiol 1997;35:1054-60.
 16. Shewmaker PL, Steigerwalt AG, Shealey L, Weyant R, Facklam RR. DNA relatedness, phenotypic characteristics, and antimicrobial susceptibilities of *Globicatella sanguinis* strains. J Clin Microbiol 2001;39:4052-7.