

독소 A음성, 독소 B양성 *Clostridium difficile* 변이주에 관한 연구

신보문 · 곽은영

인제의대 상계백병원 진단검사의학과

Characterization of a Toxin A-Negative, Toxin B-Positive Variant Strain of *Clostridium difficile*

Bo-Moon Shin, M.D. and Eun-Young Kuak, M.T.

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. Recently, we have frequently experienced culture positive, toxin A enzyme immunoassay negative strains. Therefore, we evaluated the strains with several PCR primer sets to characterize them.

Methods : A total of 351 stool specimens were examined for toxin A using enzyme linked fluorescent immunoassay (ELFA) and also cultured for *C. difficile* using cycloserine cefoxitine fructose agar incubated under anaerobic conditions. Spore stain and Vitek ANA identification card (BioMerieux, France) were used for identification of *C. difficile*. We amplified toxin A and toxin B genes in 81 isolates using primers NK1- NK2, NK3-NK2, NK9- NK11, and NK104-NK105.

Results : The concordance rate between ELFA and culture was 65.2% (229/351). PCR for the toxin A gene using NK1-NK2, NK3-NK2 and for the toxin B gene using NK104-NK105 showed almost the same results. However, toxin A gene PCR using NK9-NK11 showed that 45.7% (37/81) of the evaluated strains were toxin A (-)/toxin B(+) variant strains; thus, the corrected sensitivity and specificity of the ELFA based on the PCR results for toxin A and B genes were 65.6% and 100%, respectively.

Conclusions : The low sensitivity of the ELFA results for toxin A was due to the toxin A(-)/toxin B(+) variants of *C. difficile*, suggesting that the prevalence of the variant strains could be higher in Korea than was expected. (*Korean J Lab Med* 2006;26:27-31)

Key Words : *Clostridium difficile*, Variant, Toxin A, toxin B, Enzyme immunoassay, PCR

서 론

Clostridium difficile (*C. difficile*)은 위막성 대장염이나 항생제 연관 설사 등 병원 감염을 일으키는 원인균 중의 하나로 정확한 진단이 중요하다[1, 2]. 그러나 균의 배양은 48-72시간의 긴 시간을 요하며, *C. difficile* 균주가 분리되었다 할지라도 독소 비

생성 균주를 감별하지 못하는 단점이 있다. 또한 세포독성검사는 세포 배양 등의 난이도가 높은 기술을 요하므로 *C. difficile* 감염의 진단은 효소면역법을 이용한 독소(독소 A 혹은 독소 B)검사를 하거나 라텍스 응집법을 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 *C. difficile* 균주의 23-80% 정도에서 세포독성검사 양성이나 나왔다고 보고했으며[9-11], 변검체에서 효소면역법으로 독소 A를 검출한 연구에 따르면 9.8-26.2%의 검출률 및 임상상 혹은 세균배양을 기준시 80%정도의 일치율을 나타내었다[11, 12]. *C. difficile* 균주에서 독소 B를 중합효소연쇄반응법으로 검출한 연구에서는 81.2%의 양성률을 보고하였다[13]. 따라서 국내 *C.*

접 수 : 2005년 10월 17일 접수번호 : KJLM1895
수정본접수 : 2005년 12월 27일
게재승인일 : 2006년 2월 2일
교신저자 : 신 보 문
우 139-707 서울시 노원구 상계7동 761-1
상계백병원 진단검사의학과
전화 : 02-950-1227, Fax : 02-950-1224
E-mail : bmshin@unitel.co.kr

difficile 분리 균주들도 독소를 생성하는 균주들이 다수일 것으로 여겨지는데 최근 저자들은 *C. difficile* 감염이 의심되는 환자들에서 세균배양에서는 양성이나 효소면역법상 독소 A가 음성인 경우가 자주 관찰되어, 효소면역법을 이용한 독소 A 검사와 *C. difficile* 배양 및 중합효소연쇄반응법을 이용한 독소 A, B 유전자검사를 시행하여 효소면역법에서 독소 A 음성인 *C. difficile* 균주의 특성을 분석해보고자 하였다.

재료 및 방법

항생제 연관 설사증 및 기타 원인에 의한 설사를 주소로 하여 2004년 1월부터 9월 사이에 *C. difficile* 배양검사가 의뢰되었던 351예의 설사변을 1차 대상으로 하여 cycloserine cefoxitin fructose agar (CCFA) 배지에 접종하여 72시간 혐기성 배양을 시행하였다. 의심되는 균주를 분리하여 아포염색(spore stain) 및 Vitek ANA 혐기성세균 동정카드(Bio Merieux, France)를 이용하여 동정을 하였다. 같은 검체를 냉장보관 후 4시간 이내 효소면역법을 이용한 독소 A 검사를 시행하였다. 독소 A의 검출은 Enzyme Linked Fluorescent Immunoassay (ELFA)를 원리로 하는 VIDAS *C. difficile* 독소 A II assay (CDA 2)를 이용하였으며 제품 설명서에 근거하여, relative fluorescence value (RFV)가 1.0 이상이면 양성, 0.4 이상-1.0 미만이면 equivocal, 0.4 미만이면 음성으로 판정하였다. 중합효소연쇄반응을 이용한 독소 A 및 독소 B 검사는 Kato의 방법[14]을 변형하여 사용하였으며, 중복

되지 않은 단일 환자 군에서 분리된 *C. difficile* 81균주를 대상으로 하였다. 독소 A 유전자 검출은 NK1 (GGACATGGTAAAGATGAATTC)-NK2 (CCCAATAGAAGATTCAATATT-AAGCTT) 및 NK3 (GCAAGAAAAGAACTTCTGGCTA-CTCAGGT)-NK2 시발체를 이용하여 증폭시킨 후 NK1-NK2는 546 bp, NK3-NK2는 204 bp의 밴드가 관찰되면 양성으로 판정하였다. NK9 (CCACCAGCTGCAGCCATA)-NK11 (TGATGCTAATAATGAATCAAAATGGTAAC) 시발체를 사용한 독소 A 유전자의 검출은 증폭 후 1,200 bp에서 밴드가 관찰된 경우 독소 A 양성으로, 700 bp를 나타낸 경우 독소 A에 결함을 지닌 variant 독소 A로, 1,200 bp, 700 bp 모두에 음성인 경우는 독소 A 유전자가 없는 경우로 판정하였다. 독소 B는 NK104 (GTGTAGCAATGAAAGTCCAAGTTTACGC)-K105 (CACTTAGCTCTTTGATTGCTGCACC) 시발체를 사용하여 증폭시켜 전기영동 후 340 bp의 밴드가 관찰되면 양성으로 판정하였다.

결 과

351검체 중 151검체(43.0%)에서 *C. difficile*이 분리되었으며, 이 중 29균주(19.2%)가 독소 A 면역검사 양성이었고 3균주(2.0%)는 독소 A 결과가 equivocal이었다. 배양 음성인 200검체는 모두 독소 A 면역검사 음성으로, 두 검사간의 일치율은 65.2% (229/351)였다. 중합효소연쇄반응을 이용한 독소 A 및 독소 B 유전자검사는 NK1-NK2, NK3-NK2, NK104-NK105 상호간에는 100% 일치한 결과를 보였으며 양성률은 88.9% (72/81)였다. NK1-NK2, NK3-NK2, NK104-NK105 시발체들을 사용한 중합효소연쇄반응법에 대한 ELFA법의 민감도 및 특이도는 각각 29.1% (21/72), 100% (9/9)였다. 그러나 NK9-NK11은 다른 결과를 보였다. 81균주 중 32균주(39.5%)만이 1,200 bp의 정상 밴드를 나타내었고, 37균주(45.7%)는 700 bp의 변종(variant) 밴드를, 12균주(14.8%)는 음성이었다(Fig. 1). NK9-NK11 결과를 근거로 변이주를 제외할 경우, ELFA법의 민감도 및 특이도는 각각 65.6% (21/32) 및 100% (12/12)였다(Table 1). ELFA equivocal이었던 3예 중 2예가 중합효소연쇄반응검사에서도 1,200 bp

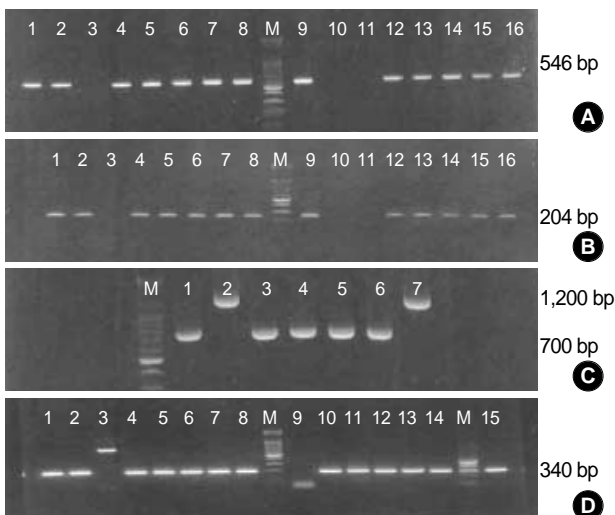


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of PCR products of *C. difficile* strains. Primer pairs: NK1-NK2(A), NK3-NK2(B) and NK9-NK11(C) for toxin A genes, and NK104-NK105(D) for toxin B gene. The size marker used was a 100-bp ladder. (A) and (B) showed identical PCR results, but (C) disclosed different results in that only 2 cases (lane 2 & 7) showed 1200 bp bands and the other 5 cases showed 700 bp bands representing variant strains. (D) represented most of the *C. difficile* strains (except lane 3 and 9) that had toxin B genes.

Table 1. Results of ELFA tests based on toxin A gene PCR using NK9-NK11primers

		<i>C. difficile</i> toxin A			Total
		positive	variant*	negative	
ELFA	(+)	21 (65.6%)	1 (2.7%)	0	22 (27.2%)
	Equivocal	2 (6.3%)	1 (2.7%)	0	3 (3.7%)
	(-)	9 (28.1%)	35 (94.6%)	12 (100%)	56 (67.9%)
Total		32 (100%)	37 (100%)	12 (100%)	81 (100%)

**C. difficile* toxin A, variant was toxin A gene, showing atypical 700 bp in PCR using NK9-NK11 primers.

Abbreviation: ELFA, enzyme linked fluorescent assay.

양성이었으므로 이를 ELFA양성 범주로 포함할 경우 ELFA법의 민감도는 71.9% (23/32)로 향상되었다.

고 찰

*C. difficile*은 설사를 유발하는 중요한 병원 내 감염균으로 항생제 사용이 많은 우리나라의 경우 *C. difficile*의 원내 감염이 많을 것으로 추정되며, 항생제 연관 설사나 항생제 연관 대장염뿐 아니라 위막성 대장염까지 초래하는 *C. difficile*을 정확히 진단하는 것은 환자의 치료뿐 아니라 항생제 오용 및 남용을 막는데 상당히 중요하다. *C. difficile*에 의한 항생제 연관 설사라고 판단이 되면 metronidazole이 1차 치료약제로 사용하고 vancomycin을 대체 약제로 사용하기도 한다. 반면 *C. difficile*이 아니거나 *C. difficile*이 분리되었더라도 독소의 분비가 없는 균주라면 이들 항생제의 사용은 오용이 될 것이며, 더 나아가 vancomycin의 오용은 vancomycin resistant enterococci 등의 출현을 증가시키는 결과를 초래하게 될 것이다[1, 2, 15]. *C. difficile*의 감염을 증명하기 위해서는 균배양이나 세포독성검사로 독소의 존재 유무를 검출하는 것이 표준법으로 되어있지만 균배양은 CCFA 특수 배지의 사용 및 변 검체의 사전 처리, 48-72시간의 배양시간 등을 요하며 배양 양성일지라도 독소 비생성 균주를 감별할 수 없는 단점이 있다. *C. difficile*이 분비하는 독소 중 독소 A는 enterotoxin이며 독소 B는 cytotoxin으로 대개의 경우 두 독소가 모두 공존하므로 이전까지는 독소검사라 하면 세포독성검사를 시행하여 독소 B의 검출 유무로 평가해왔다. 그러나 일반적으로 세포배양은 기술적으로 까다로운 문제가 있으므로 항원을 검출하는 LA법이나 독소 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 보이지만 일반적으로 *C. difficile* 독소검출을 위한 효소면역법의 양성률(민감도)은 60-80% 정도로 보고되어있다[3-8, 11, 12]. 그러나 본 연구에서 배양을 기준으로 했을 때 ELFA법의 민감도가 19.2%로, 임상상 혹은 세균배양을 기준시 80% 정도의 일치율을 보이는 기존의 검사 결과들과는 현저하게 다른 결과를 보여 이에 대한 해석에 신중을 기할 필요가 있었다. 즉 본 병원의 분리된 균주들이 대부분 독소 비생성 균주들이나, ELFA법의 민감도가 본 병원에서 낮은 것인지 혹은 이들 *C. difficile* 균주의 독성 발현 여부가 기존의 보고된 균주들과 차이점이 있는지 여부를 점검해 볼 필요가 있었다. 일차적으로 이들 균주 중 일부를 중합효소연쇄반응법을 사용하여 독소 A 및 독소 B 유전자 검출을 시도한 연구에서는 독소 A 유전자 검출을 위한 시발체를 NK3-NK2만을 사용하였고, 독소 B는 본 연구와 동일한 NK104-105를 사용하였는데 배양상의 성적과 큰 차이가 없었다[16]. 따라서 이때 독소 A의 유전자에 결함이 있는 *C. difficile* 균주의 가능성을 고려해 실험 대상 균주수를 증가시키고 독소 A 시발체의 중

류를 추가하여 비교하게 된 본 연구의 독소 A 유전자에 대한 중합효소연쇄반응 결과는 기존의 국내 보고들과는 아주 다른 양상을 나타내었다. 즉 현재까지의 국내 보고와는 달리 독소 A음성/독소 B양성인 변이주가 45.7%로, 예상을 뛰어넘는 변이주의 발생이 있었다. 독소 A 유전자의 결함이 있는 균주의 경우 효소면역법으로는 음성 결과를 보인다는 보고대로[17-20] 본 연구의 ELFA법의 낮은 양성률은 변형주인 독소 A음성/독소 B양성 균주의 빈발에 의한 것이었다. 따라서 중합효소연쇄반응법을 기준으로 ELFA법의 민감도 및 특이도를 재산정한 결과 각각 65.6% 및 100%였고, ELFA상 equivocal 결과를 나타낸 3예 중 독소 A PCR 결과에서 1,200 bp를 나타낸 2예를 양성으로 판정할 경우 민감도는 71.9%로 향상되어 기존의 보고들과 유사한 성적을 나타내었다. 구미의 문헌을 참조하면 변형주인 독소 A음성/독소 B양성인 균주가 0.2-3.0% 정도로 분리된다고 보고되었으며[17, 20], 일본에서는 이들 변형주들이 7-12.5% 정도 분리되었으며 대부분 보건자 등에서 분리되는 경우가 많았다[14]. 그러나 미국과 유럽의 보고에서는 치명적인 사례 및 유행 예들이 있었다[2, 21]. 국내에서 직접 보고된 것은 아니지만 국내 분리주를 일부 포함한 외국의 연구 결과에서는 한국의 분리주에서는 이들 독소 A음성/독소 B양성 변형주는 없다고 알려져 있다[14, 22]. 그러나 이는 1998년도 이전의 균주들을 대상으로 한 것이며 대상 균주의 수도 제한적이었으므로 병원 감염률이 상당히 높은 우리나라의 경우 현재의 상황은 많이 달라졌을 것으로 추정된다. 국내 보고 중에도 1987-1994년 사이에 수집된 85균주를 대상으로 독소 A와 독소 B 중합효소연쇄반응검사를 시행한 예에서 독소 A음성/독소 B양성 균주는 없었다는 보고가 있다[23]. 그러나 1998년도에 분리된 81균주를 대상으로 독소 A음성/독소 B양성의 분리율이 4.9%로 보고한 사례[24] 및 1998-1999년 사이에 수집된 82균주 중 독소 A음성/독소 B양성의 양성률이 6% 정도로 추정된 예[11]가 있으므로, 국내의 독소 A음성/독소 B양성 변이주는 2000년 이전에 출현되었을 것으로 여겨지며 비록 일개 병원에서 분리된 균주들을 대상으로 하였지만 본 연구는 국내의 독소 A음성/독소 B양성 변이주의 고빈도 출현 가능성을 강하게 시사하고 있으며, 다른 여러 병원에도 *C. difficile* 변이주의 빈도가 예상보다 높을 것으로 추정된다. 따라서 향후 우리나라에서의 독소 A음성/독소 B양성 변이주 분포에 대한 역학적 연구 및 임상적 의의를 밝히는 연구가 필요하다고 사료된다.

요 약

서론 : *Clostridium difficile* (*C. difficile*)은 병원 감염을 일으키는 원인균 중의 하나로 독소 생성 여부에 관한 정확한 진단이 중요하다. 최근 본원에서 *C. difficile* 배양 양성률에 비해 독소 A 효소면역법 양성률이 너무 낮아 그 원인을 밝히고자 *C. difficile* 배양 및 여러 종류의 시발체를 이용한 독소 A, B에 대한 중합효

소연쇄반응검사를 시행하였다.

재료 및 방법 : *C. difficile* 배양검사가 의뢰되었던 351예의 설사변을 대상으로 혐기성 배양을 시행하였으며, 같은 검체로 효소면역법을 이용한 독소 A 검사를 시행하였다. 독소 A의 검출은 VIDAS *C. difficile* Toxin A II assay를 사용하였다. 독소 A 및 B 유전자를 검출하기 위한 PCR검사는 배양에서 분리된 *C. difficile* 81균주를 대상으로 시행하였다.

결과 : 배양과 ELFA법의 독소 A 효소면역검사 결과 일치율은 65.2% (229/351)였다. PCR법을 이용한 독소 A 및 독소 B 유전자검사에서 NK9-NK11 시발체를 이용한 독소 A 유전자검사에서 독소 A 변이주가 45.7%임을 밝혀냈다. 따라서 이들 변이주가 독소 A ELFA법의 낮은 양성률을 보인 원인임을 규명했으며 교정된 ELFA법의 예민도 및 특이도는 각각 65.6% (21/32) 및 100% (12/12)였다.

결론 : 배양에 비해 *C. difficile* 독소 A ELFA법의 낮은 예민도는 변이주(독소 A음성/독소 B양성)에 의한 것임이 밝혀졌고, 이는 국내의 독소 A음성/독소 B양성 변이주의 고빈도 출현 가능성을 강하게 시사한다고 사료된다.

참고문헌

- Bartlett JG. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med 2002;346:334-9.
- Wilkins TD and Lysterly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. J Clin Microbiol 2003;41:531-4.
- 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.
- 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. Clin Microbiol 1996;34:2718-21.
- 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.
- Peterson LR, Olson MM, Shanholtzer CJ, Gerding DN. Results of a prospective, 18-month clinical evaluation of culture, cytotoxin testing, and culturerette brand (CDT) latex testing in the diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Diag Microbiol Infect Dis 1988;10:85-91.
- 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.
- Lysterly DM, Neville LM, Evans DT, Fill J, Allen S, Greene W, et al. Multicenter evaluation of the *Clostridium difficile* TOX A/B test. J Clin Microbiol 1998;36:184-90.
- 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. (신보문 및 김의종. 입원환자 및 병원환경에서 분리한 *C. difficile*의 SDS-PAGE상에 관한 연구. 대한임상병리학회지 1992;12:223-32.)
- 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. (이희주 및 정윤섭. *Clostridium difficile* 질환 진단을 위한 세포독소 시험과 정량배양의 비교. 대한임상병리학회지 1993;13:461-6.)
- Kang JO, Chae JD, Eom JJ, 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. (강정욱, 채정돈, 엄정인, 한동수, 박필환, 박일규 등. *Clostridium difficile* 독소 A 면역검사와 세포독소 검사의 비교. 대한임상미생물학회지 2000;3:43-7.)
- Lee SH and Pai CH. Clinical significance of VIDAS *Clostridium difficile* toxin A immunoassay. Korean J Clin Pathol 1996;16:563-9. (이성희 및 배지현. VIDAS를 이용한 *Clostridium difficile* Toxin A 검사의 임상적 고찰. 대한임상병리학회지 1996;16:563-9.)
- Yong D, Lee HM, Ryu JH, Roh KH, Kim WH, Lee K, 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;5:124-8. (용동은, 이혁민, 류종하, 노경호, 김원호, 이경원 등. *Clostridium difficile* 감염진단을 위한 *C. difficile* 정량배양 평가. 대한임상미생물학회지 2002;5:124-8.)
- 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.
- Harris AD, Samore MH, Lipsitch M, Kaye KS, Perencevich E, Carmeli Y. Control-group selection importance in studies of antimicrobial resistance: examples applied to *Pseudomonas aeruginosa*, Enterococci, and *Escherichia coli*. Clin Infect Dis 2002;15:1558-63.
- Shin BM and Lee EJ. Comparison of toxin A enzyme linked fluorescence assay and latex agglutination based on *Clostridium difficile* culture and toxin A and B PCR assay. Korean J Clin Microbiol 2005;8:130-5. (신보문 및 이은주. *Clostridium difficile* 배양 및 Toxin A, B PCR 검사를 기준으로 한 Toxin A 면역검사 및 라텍스 응집검사의 비교 분석 및 의의. 대한임상미생물학회지 2005;8:130-5.)
- 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.
- Frey SM and Wilkins TD. Localization of two epitopes recognized

- by monoclonal antibody PCG-4 on *Clostridium difficile* toxin A. Infect Immun 1992;60:2488-92.
19. Braun V, Hundsberger T, Leukel P, Sauerborn M, von Eichel-Streiber C. Definition of the single integration site of the pathogenicity locus in *Clostridium difficile*. Gene 1996;181:29-38.
20. Brazier JS, Stubbs SLJ, Duerden BI. Prevalence of toxin A-negative/toxin B-positive *Clostridium difficile* strains. J Hospital Infect 1992;42: 248-9.
21. 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.
22. 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.
23. 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. (이혁민, 김영아, 박광일, 이경원, 정윤섭. *Clostridium difficile* 분리주에서의 중합효소 연쇄반응법을 이용한 B 독소 유전자의 검출. 대한임상생물학회지 1992;2: 77-81.)
24. 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. (정예선, 정경태, 성원근, 오희복. *Clostridium difficile* 분리 균주들에 대한 arbitrarily primed-polymerase chain reaction and polymerase chain reaction-ribotyping에 의한 분자역학적 분석방법 비교 연구. 감염 2002;34:167-75.)