

## 다중 중합효소 연쇄반응을 이용한 반코마이신 내성 장구균의 신속 검출

연세대학교 보건과학대학 임상병리학과, 울산대학교 의과대학 내과학교실\*

김종배<sup>†</sup> · 김근희 · 송혜원 · 박성언 · 엄용빈 · 박상욱 · 김양수\* · 박수진\*

국문초록: 일반적으로 임상검사실에서 vancomycin resistant enterococci (VRE)를 검출하는 일은 어렵고, 시간이 많이 들며, 검체처리 비용도 많이 든다. 따라서 본 실험은 임상검체에서 분리된 세균으로부터 VRE를 신속하게 확인하고, 진단하기 위한 방법으로 다중 중합효소 연쇄반응을 확립하였다. 본 실험에 사용된 primer는 장구균에 특이한 유전자인 *vanA*, *vanB*, *vanC-1*, *vanC-2/3* 각각의 염기서열을 기초로 primer를 제작하고, 다중 중합효소 연쇄반응을 실시하여 임상검체로부터 분리된 VRE 유전자의 type 및 분포율을 조사하고자 하였다. 국내에서 분리된 75주의 장구균을 대상으로 다중 중합효소 연쇄반응을 실시한 결과 36주의 분리균에서 vancomycin에 대해 높은 저항성을 보이는 *vanA* 유전자를 가진 것으로 나타났다. 그리고 18주에서는 vancomycin에 낮은 저항성을 내성을 보이는 *vanC-1* 또는 *vanC-2/3* 유전자를 보유한 것으로 나타났다. 따라서 본 실험에서 확립한 다중 중합효소 연쇄반응 기법은 신속한 VRE 진단 방법으로 이용할 수 있을 것이다.

### 서 론

*Enterococcus* spp.는 그람양성 구균으로 Lancefield group D streptococcus로 분류되었던 세균이며<sup>4</sup>, 장내에 분포하고 있는 정상세균총 중의 한 가지 속(genus)으로서, 비교적 낮은 병원성을 가지고 있다고 알려져 있지만 최근의 보고에 의하면 원내감염 환자에서 세 번째로 많이 분리되는 균종이다<sup>5</sup>. 이들은 요로감염, 심내막염, 복막염, 창상감염 등을 일으키며, 드물게는 뇌막염을 유발하기도 한다.

일반적으로 장구균은 대부분의 항생물질에 대해 내부적 저항성을 지니고 있어 aminoglycoside와 penicillin에 대하여 높은 내성을 나타내므로 장구균으로 인한 감염증 치료에 vancomycin이 유일한 치료제로 사용되고 있다<sup>8</sup>. 하지만 vancomycin에 대한 내성균주가 1988년 영국에서 최초로 분리된 이

후로 유럽 여러 나라와 미국에서도 계속 분리되고 있다<sup>6,16</sup>. 또한 미국내 병원에서 vancomycin에 내성을 나타낸 장구균에 의한 원내감염률이 1989년에 0.3%이었던 것이 1993년에는 7.9%로 20배가 넘는 증가율을 나타내어 vancomycin resistant enterococcus (VRE)의 심각성이 제기되고 있다<sup>9</sup>.

VRE는  $\beta$ -lactam계 및 aminoglycoside계 항생물질에 대하여 높은 내성을 가지고 있으며, vancomycin 내성 유전자가 *S. aureus*와 같은 병원성이 높은 그람양성 병원체로 전이한다는 사실이 밝혀지면서 그 문제성에 심각함을 더하고 있다<sup>10</sup>. VRE의 표현형은 vancomycin과 teicoplanin에 대한 내성 정도에 따라 세 가지로 구분한다. VanA type은 획득내성으로 vancomycin과 teicoplanin 모두 높은 저항성을 나타낸다. VanB type은 획득내성이지만 vancomycin에 중간 정도의 내성인 반면, teicoplanin에는 감수성을 나타낸다<sup>6,8,9</sup>. 이들 VRE 유전자는 내성균종으로부터 변형, 획득되었으며 *S. aureus*와 같은 다른 균종에 내성을 전파할 가능성을 지니고 있다. VanC type은 자체내성으로 vancomycin에 대해 낮은 정도의 내성만을 나타낸다<sup>10,11</sup>. VRE 표현형과 관련된 유전자는 *vanA*, *vanB*, *vanC-1*, *vanC-2*,

\* 논문접수: 1999년 4월 27일

수정접수: 1999년 6월 3일

\*\* 이 연구는 1998년도 연세대학교 매지학술연구소의 연구비 지원에 의해 이루어졌음.

<sup>†</sup> 별책요청저자

그리고 *vanC*-3으로 분류되며, *vanC*-2와 *vanC*-3은 gene sequence의 유사성으로 때문에 *vanC*-2/3 gene으로 일컬어진다<sup>13)</sup>.

VRE는 국내에서도 이미 임상 가검물에서 분리된 바 있어 1992년 vancomycin 내성 *E. durans* 1주, 1995년에 *E. casseliflavus* 4주, *E. faecalis* 2주 및 *E. faecium* 3주가 분리보고 되었다<sup>15,16)</sup>. 현재 VRE에 대한 분리보고가 늘어나고 있는 추세이며 원내감염균으로 그 중요성이 높아지고 있지만, 우리 나라 환자에서 분리된 *Enterococcus* spp.는 통상적으로 그 균종까지 동정하지 않으며 항생물질에 대한 감수성 시험도 몇 가지 항생물질에 대해서만 디스크법으로 시험하고 있다<sup>17)</sup>.

본 연구에서는 표준균주를 이용하여 모든 표현형의 VRE 검출을 위한 다중 중합효소 연쇄반응 기법을 확립하고, 임상검체에서 분리된 VRE를 대상으로 다중 중합효소 연쇄반응을 이용하여 그 내성형을 확인하였다. 이와 동시에 vancomycin에 대한 최소 억제 농도 (minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정하여 다중 중합효소 연쇄반응의 결과와 비교검토 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. VRE 표준균주

VRE 표준균주 (Table 1)는 Dr. Cockerill (Mayo Clinic, Rochester, MN, U.S.A.)로부터 분양 받아 본 실험에서 대조균주로 사용하였다.

### 2. 임상검체에서 VRE 분리 및 동정

본 실험에 사용한 국내분리 vancomycin 내성 장구균은 서울 시내 소재 2개소의 종합병원 (C 및 K 병원)과 원주 시내 소재 종합병원 (W 병원)의 임상병리과에서 입원 및 외래 환자의 검체로부터

1997년 9월부터 1998년 12월 사이에 분리하여 통상적인 생화학적 세균 동정 방법에 따라 장구균으로 동정된 것을 이용하였다.

### 3. 항생물질 감수성 시험

Vancomycin에 대한 감수성 검사는 한천 회석법을 이용하였다. 즉, Mueller-Hinton agar를 기저배지로 하여 vancomycin의 최종 농도가 1~128 µg/ml이 되도록 배지를 제조하였다. 시험 세균을 blood broth에 접종하여 배양한 후 각 농도의 항생물질이 첨가된 배지에 접종한 후 35°C에 18시간 배양한 다음 증식 여부를 판독하여 최소 억제 농도 (MIC)를 판독하였다. Teicoplanin에 대한 감수성 시험은 디스크 확산법을 이용하여 실시하였다. Blood broth에서 배양한 시험 세균을 Mueller-Hinton agar에 풀고루 도말 접종한 후 teicoplanin 디스크 (30 µg/disk)를 배지 표면에 놓고 35°C에 18시간 배양한 후 생성된 증식억제대의 지름을 측정하였다.

### 4. Oligonucleotide primers의 제작

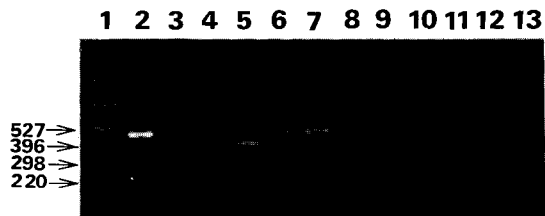
VRE 검출을 위한 다중 중합효소 연쇄반응에 이용할 oligonucleotide primers를 제작하기 위하여 GenBank database (NIH, U.S.A.)에 보관중인 vancomycin 내성 유전자의 염기배열 순서를 참조하였다. *vanA* 유전자의 경우 X56895, *vanB* 유전자의 경우 U00456, U35369, Z83305, *vanC-1* 유전자의 경우 M75132, *vanC-2/3* 유전자의 경우 L29638 등의 accession number에 해당하는 유전자 염기배열 순서를 기초로, 각각의 primer를 Oligo software (National Biosciences, Plymouth, Minn.)를 이용하여 제작하였다. 각각의 oligonucleotide primer 쌍의 특이도를 표준균주에서 추출한 DNA를 이용한 PCR을 실시함으로써 조사하였으며, 각각의 oligonucleotide primer set에 의한 증폭 DNA의 크기는 Table

Table 1. Reference strains of vancomycin resistant enterococci used in this study

Microorganism	Strain	Genotype of vancomycin resistance	MIC (µg/ml) against	
			vancomycin	teicoplanin
<i>E. faecium</i>	B7641	<i>vanA</i>	≥256	≥16
<i>E. faecium</i>	JB1	<i>vanB</i>	≥256	≥8
<i>E. gallinarum</i>	GS	<i>vanC-1</i>	≥4	≤8
<i>E. casseliflavus</i>	ATCC 25788	<i>vanC-2</i>	≥4	≤8

**Table 2.** Oligonucleotide primers used in multiplex PCR for the detection of VRE

Target gene	PCR product size (bps)	Oligonucleotide	
		Pair	Sequence (5' to 3')
<i>vanA</i>	460	AM1	AAAAAGGCTCTGAAAACGCA
		AM2	AGCCAGTTCCTTTGCCTTCA
<i>vanB</i>	219	B1	GAATGTGCTGGTATCCCC
		B2	GTTTACTTTGGTTACGCC
<i>vanC-1</i>	270	C1F	ACTAACAATAGCTTCCCC
		C1R	ACTTCATATTTTCAGCGGG
<i>vanC-2/3</i>	388	C2F	CCTTTACTTATTGTTCCGC
		C2R	TCTTGATAGGATAAGCCG



**Fig. 1.** Agarose gel electrophoresis of amplicons generated by multiplex PCR with VRE reference strains and other microorganisms. Lane 1, molecular weight marker of pBH20 digested with *Hinf*I; lane 2, *E. faecium* B7641 (*vanA*); lane 3, *E. faecium* JB1 (*vanB*); lane 4, *E. gallinarum* GS (*vanC-1*); lane 5, *E. casseliflavus* ATCC 25788 (*vanC-2*); lane 6, DNA mixture of *vanA*, *vanB*, *VanC-1*, and *vanC-2*; lanes 7 to 9, VRE isolates (*vanA*, *vanC-1*, *vanC-2*, respectively); lane 10, vancomycin-resistant *S. aureus* Mu50; lane 11, *B. afzelii* Y18; lane 12, *E. coli* ATCC 25922; lane 13, *M. smegmatis*.

2에 나타내었다.

#### 5. 다중 중합효소 연쇄반응 (multiplex polymerase chain reaction)

다중 중합효소 연쇄반응은 각각의 enterococcus 검체에서 boiling lysis 방법으로 추출한 DNA 2 µl에 dATP, dGTP, dTTP, dCTP를 각각 2.5 mM이 되도록 혼합한 dNTP를 2 µl 넣은 후, 10X buffer (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl) 2.5 µl, 25 mM MgCl<sub>2</sub> 2 µl, *Taq* DNA polymerase 0.325 U을 첨가하고 primer set (20 pmol/µl)를 van AM1/AM2, van B1/B2는

각각 50 pmol, van C1F/C1R, van C2F/C2R는 각각 75 pmol이 되도록 넣은 후, 최종 반응하는 양이 25 µl이 되도록 멸균 증류수를 첨가하여 thermal cycler (Hybaid Limited, U.K.)에서 표적 DNA의 증폭을 시도하였다. 이때 사용한 다중 중합효소 연쇄반응의 시간과 온도 조건으로는 94°C에서 2분 30초간 최초 denaturation 이후, 94°C에서 45초 동안 denaturation, 46°C에서 1분 동안 annealing, 72°C에서 1분 30초 동안 extension하는 과정을 35회 반복하였으며, 마지막 extension은 72°C에서 15분간 지속하여 유지함으로써 완전한 extension이 이루어지도록 하였다. 다중 중합효소 연쇄반응이 끝난 후 생성된 DNA 증폭산물은 0.5 µg/ml의 ethidium bromide를 첨가한 2% agarose gel에 전기영동하여 ultraviolet trans-illuminator로 각각의 DNA band를 비교 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 다중 중합효소 연쇄반응

VRE 표준균주 (B7641, JB1, GS, ATCC 25788)로부터 추출한 각각의 DNA와 이들을 혼합한 DNA를 시료로 하여 VRE 검출을 위한 다중 중합효소 연쇄반응을 시행하였다. 이 결과 primer 제작 과정에서 예상했던 460 bp (*vanA*), 219 bp (*vanB*), 270 bp (*vanC-1*), 388 bp (*vanC-2/3*)의 PCR 증폭 DNA 생성물 모두를 확인할 수 있었다. 그러나 *Enterococcus* spp. 표준균주 이외의 세균에서는 해당부위에서의 DNA 증폭산물이 확인되지 않았다 (Fig. 1).

한편 임상검체에서 분리동정한 *Enterococcus* spp.를 37°C에서 18시간 배양한 다음 boiling lysis 방법으로 DNA를 추출하고 위와 동일한 조건에서 다중 중합효소 연쇄반응을 실시하였다. 이 결과 본 실험에 사용한 총 75주의 *Enterococcus* spp. 분리균주 중 36균주에서 460 bp, 14균주에서 270 bp, 4균주에서 388 bp의 PCR로 증폭된 DNA band를 관찰하여 각각 *vanA*, *vanC-1*, *vanC-2/3* 유전자를 가지고 있음을 확인할 수 있었으나, *vanB* 유전자를 보유한 분리균주는 확인되지 않았다.

## 2. 항생물질 감수성 시험과 PCR 결과의 비교 분석

본 연구에서 확립한 VRE 검출용 다중 중합효소 연쇄반응의 결과와 전통적인 항생물질 감수성 시험과의 결과를 비교 분석하기 위하여 vancomycin과 teicoplanin에 대한 항생물질 감수성 시험을 실시하였다.

한천회석법으로 실험한 *Enterococcus* spp.의 vancomycin에 대한 최소 억제 농도 (MIC)는 38균주에서 128 µg/ml 이상, 1균주에서 32 µg/ml 이상, 4균주에서 16 µg/ml인 것으로 나타났다. 이와 같은 vancomycin에 대한 MIC와 다중 중합효소 연쇄반응 결과를 비교해 보면 PCR 결과 *vanA* 양성으로 나타난 36균주 모두 MIC가 128 µg/ml 이상이었던 데 비하여, *vanC-1* 유전자 양성균주는 vancomycin MIC가 11주에서 8 µg/ml, 3주에서는 16 µg/ml이었으며, *vanC-2/3* 유전자 양성으로 확인된 4균주는 MIC가 4~16 µg/ml을 나타내었다. 한편 PCR 결과 음성을 나타낸 21균주는 vancomycin에 대한 MIC가 2~16 µg/ml의 범위에 속하였으나, MIC가 32 µg/ml인 균주가 1주, 128 µg/ml인 균주가 2주도 multiplex PCR 음성인 세균에 포함되어 있었다.

## 고 찰

미생물 배양 및 동정에 오랜 시간을 필요로 하는 생화학적 방법을 이용한 동정 과정을 생략하고, 국내에서 점차로 그 중요성이 커지고 있는 VRE를 신속하게 검출하기 위한 다중 중합효소 연쇄반응 방법을 확립하였다. 그리고 이 기법을 이용하여 국내에서 분리한 *Enterococcus* spp. 분리균주를 대상으로 *vanA*, *vanB*, *vanC-1*, *vanC-2/3* 유전자를 보유한 VRE를 유전자 수준에서 검출하였으며, 이 결

과를 기존의 항생물질 감수성 시험 결과와 비교 분석하였다.

자체 제작한 primer set를 이용한 multiplex PCR 결과 VRE 표준균주 *E. faecium* B7641, *E. faecium* JB1, *E. gallinarum* GS, *E. casseliflavus* ATCC 25788 각각의 DNA 및 이들 균주로부터 추출한 DNA를 혼합한 시료에서 primer 제작시 예상되었던 460 bp, 219 bp, 270 bp, 388 bp의 PCR 증폭 DNA band를 확인할 수 있었다. 그러나 *van* 유전자를 보유하지 않은 다른 대조균주에서는 PCR 증폭산물을 확인할 수 없었다. 이와 같은 결과는 Patel 등<sup>11)</sup>이 합성 제작한 primer를 이용하여 표준균주 DNA를 다중 중합효소 연쇄반응을 실시한 결과와 유사한 것으로 판단되었다.

본 실험에서 확립한 multiplex PCR 기법을 실제로 임상에서 분리한 장구균 중 VRE 가능성이 높은 것으로 추정되는 vancomycin에 대한 MIC가 2 µg/ml 이상인 *Enterococcus* spp.를 대상으로 시행하였다. VRE 분리균주를 37°C에서 18시간 배양하여 boiling lysis 방법으로 DNA를 추출하여 multiplex PCR을 실시한 결과, 본 실험에 사용한 총 75주의 *Enterococcus* spp. 중 36균주 (48%)에서 460 bp, 14균주 (18.7%)에서 270 bp, 4균주 (5.3%)에서 388 bp의 PCR로 증폭된 *vanA*, *vanC-1*, *vanC-2/3* DNA band를 확인할 수 있었다. 그러나 *vanB* 유전자를 보유한 *Enterococcus* spp.는 확인되지 않았으며, 이와 같은 국내의 VRE 검출률 (72%)은 Patel 등<sup>11)</sup>의 VRE 검출 양성률 63%에 비하여 다소 높은 것으로 나타났다.

한편 항생물질 감수성 검사 결과와 *van* 유전자 보유 여부와의 상관관계를 비교 조사한 결과, *vanA* 유전자를 보유한 36균주 모두가 vancomycin에 대하여 MIC  $\geq$  128 µg/ml인 것으로 나타났으며, *vanC-1* 유전자 양성인 14균주의 vancomycin MIC는 8~16 µg/ml, *vanC-2/3* 유전자 양성이었던 4균주의 MIC가 4~16 µg/ml을 나타내었다. 그러나 multiplex PCR 결과 음성을 나타낸 21균주 중 18주는 vancomycin에 대한 MIC가 2~16 µg/ml의 범위에 속하는 것으로 밝혀졌다. 이와 같은 결과는 VRE 균주가 보유한 *van* 유전자의 종류에 따른 vancomycin 저항성에 대한 외국의 보고들<sup>9,11,13,14)</sup>과 일치하는 것으로 나타났다. 그러나 한천회석법의 vancomycin 저항성 판단 기준인 MIC 32 µg/ml 이상인 VRE 균주가 1주, 128 µg/ml인 균주가 2주가 본 실험에서의 multiplex PCR 결과 음성으로 나타났

다. 이와 같은 VRE 균주는 본 실험의 multiplex PCR에 포함하지 않았던 *vanD*<sup>12)</sup>와 같은 새로운 유전자형 (genotype)을 보유한 균주이거나 또는 *van* 유전자의 돌연변이 균주일 가능성이 높을 것으로 생각되며, 앞으로 이에 관한 보다 체계적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

이상의 결과를 요약하여 볼 때 본 실험에서 확립한 multiplex PCR 방법은 임상 검사실에서 VRE 균주를 신속하게 검출하는 방법으로 응용 가능성이 매우 높은 것으로 판단되며, 이와 같은 vancomycin 저항성에 대한 역학적인 조사를 수행함으로써 항생물질 저항성 균주의 검출 및 오염원 관리에도 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

### 참 고 문 헌

- 1) 김수현, 김세찬, 구석봉, 신종희, 서순팔, 양동욱 (1995): vancomycin 내성 Enterococci 감염 4예. 대한임상병리학회지, **15**(부록 2): S265.
- 2) 박지원, 김양리, 신완식, 강문원, 한경자, 심상인 (1992): vancomycin 내성 Enterococci에 대한 감수성 검사. 감염, **24**: 133-137.
- 3) 박희숙, 정혜경, 이형환 (1992): 임상검체에서 분리된 Enterococcus 균종의 항균제 감수성. 대한미생물학회지, **27**: 103-114.
- 4) Andrew FW and Horder JJ (1906): A study of the streptococcus pathogenic for man. *Lancet*, **2**: 798-813.
- 5) Centers for Disease Control and Prevention (1997): Nosocomial enterococci resistant to vancomycin-United States. *MMWR*, **46**(33): 765-766.
- 6) LeClercq R, Perlot E, Duval J, and Courvalin P (1988): Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med*, **319**: 157-161.
- 7) LeClercq R, Dutka-Malen D, Duval J, and Courvalin P (1992): Vancomycin resistance gene *vanC* is specific to *Enterococcus gallinarum*. *Antimicrob Agents Chemother*, **36**: 2005-2008.
- 8) Nachamkin I, Axelrod P, Talbot GH, Fischer SH, Wennersten CB, Moellering RC Jr, and MacGregor RR (1988): Multiple high-level-amino-glycoside-resistant enterococci isolated from patients in a university hospital. *J Clin Microbiol*, **26**: 1287-1291.
- 9) Navarro F and Courvalin P (1994): Analysis of genes encoding D-alanine: D-alanine ligase-related enzymes in *Enterococcus casseliflavus* and *Enterococcus flavescens*. *Antimicrob Agents Chemother*, **38**: 1788-1793.
- 10) Noble WC, Virani Z, and Cree RG (1992): Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS News Lett*, **72**: 195-198.
- 11) Patel R, UHL JR, Kohner P, Hopkins MK, and Cockerill III FR (1997): Multiplex PCR detection of *vanA*, *vanB*, *vanC-I*, and *vanC-2/3* genes in Enterococci. *J Clin Microbiol*, **35**(3): 703-707.
- 12) Perichon B, Reynolds P, Courvalin P (1997): *VanD*-type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4339. *Antimicrob Agents Chemother*, **41**: 2016-2018.
- 13) Quintiliani R, Evers S, and Courvalin P (1993): The *vanB* gene confers various levels of self-transferable resistance to vancomycin in enterococci. *J Infect Dis*, **167**: 1220-1223.
- 14) Satake S, Clark N, Rimland D, Nolte FS, and Tenover FC (1997): Detection of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples by PCR. *J Clin Microbiol*, **35**(9): 2325-2330.
- 15) Schaberg DR, Culver DH, and Gaynes RP (1991): Major trends in the microbial etiology of nosocomial infections. *Am J Med*, **91**(Suppl. 3B): 72S-75S.
- 16) Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, and George JC (1988): Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet*, **i**: 57-58.
- 17) Uttley AH, George RC, Naidoo J, Woodford N, Johnson AP, Collins AH, Gilgillan AJ, Fitch LE, and Heptonstall J (1989): High-level vancomycin-resistant enterococci causing hospital infections. *Epidemiol Infect*, **103**: 173-181.

=Abstract=

**Rapid Detection of Vancomycin Resistant Enterococci Using  
Multiplex Polymerase Chain Reactions**

**Jong-Bae Kim<sup>†</sup>, Geun-Hee Kim, Hye-Wone Song, Sung-Un Park, Yong-Bin Eom,  
Sang-Wook Park, Yang Soo Kim\* and Soo Jin Park\***

*Department of Medical Technology, College of Health Science, Yonsei University,  
Wonju, 220-710; Department of Internal Medicine\*, University of  
Ulsan College of Medicine, Seoul, 138-040, Republic of Korea*

It is generally difficult, time-consuming, and expensive for the clinical laboratory to detect vancomycin resistant enterococci (VRE). The aim of this study was to develop and evaluate the multiplex polymerase chain reaction (PCR) assay system as a diagnostic tool for the rapid detection of VRE from clinical samples and/or for the identification of VRE from the bacterial strains isolated from clinical specimens. Specific primers, designed from the nucleotide sequences respectively encoding the *vanA*, *vanB*, *vanC-1*, *vanC-2/3* genes in enterococci, were coupled in a multiplex PCR assay system. With this multiplex PCR assay system, we investigated the incidence rates and types of VRE isolated from clinical samples. A total of 75 strains of enterococci were isolated in 3 general hospitals in Korea. Of these isolates, 36 strains showed a pattern of high-level vancomycin resistance which associated with *vanA* gene, whereas 18 strains showed low-level vancomycin resistance associated with *vanC-1* or *vanC-2/3* gene. Thus, multiplex PCR assay method established in this study could be applied for the rapid detection of VRE.

**Key Words:** Vancomycin resistant enterococci (VRE), Multiplex PCR

[Korean J. Biomed. Lab. Sci., 5(1): 95-100, June, 1999]

---

<sup>†</sup> Corresponding author