

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2020년 6월 18일 (18.06.2020)



(10) 국제공개번호

WO 2020/122427 A1

- (51) 국제특허분류:
G01N 33/68 (2006.01) G01N 27/62 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2019/015063
- (22) 국제출원일: 2019년 11월 7일 (07.11.2019)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2018-0158385 2018년 12월 10일 (10.12.2018) KR
- (71) 출원인: 한림대학교 산학협력단 (INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, HALLYM UNIVERSITY) [KR/KR]; 24252 강원도 춘천시 한림대학길 1, Gangwon-do (KR).
- (72) 발명자: 김재석 (KIM, Jae Seok); 05571 서울시 송파구 올림픽로4길 42, 3동 505호, Seoul (KR). 김정민 (KIM, Jung Min); 52696 경상남도 진주시 진양호로328번길 4, Gyeongsangnam-do (KR).
- (74) 대리인: 리앤목 특허법인 (Y.P.LEE, MOCK & PARTNERS); 06292 서울시 강남구 언주로 30길 13 대림아크로텔 12층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,

CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

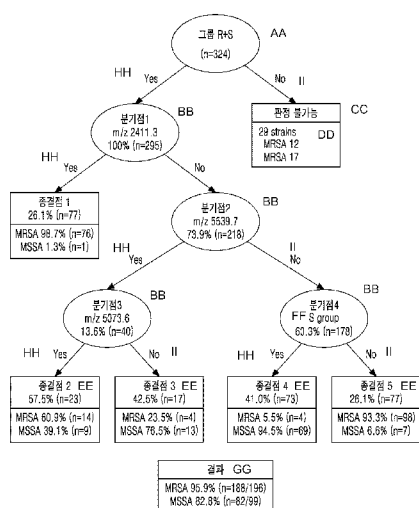
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(54) Title: METHOD FOR IDENTIFICATION OF METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS BY USING MALDI-TOF MASS SPECTROMETER

(54) 발명의 명칭: 말디-토프 질량분석기를 이용한 메티실린-내성 황색포도구균 균류의 동정방법



AA ... Group R+S
BB ... Branch point
CC ... Decision impossible
DD ... Strains
EE ... End point
FF ... S group
GG ... Result
HH ... Yes
II ... No

(57) Abstract: The present invention provides a method for rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by using a MALDI-TOF mass spectrometer without performing an antibiotic resistance assay. Provided are an identification method in which selection is made of samples having two or three high sensitivity values of MASA-specific mass-to-charge ratios, with the exclusion of samples having Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA)-specific mass-to-charge ratios therefrom, and an identification method in which samples with mass-to-charge ratio values are stepwise selected and groups are utilized.

(57) 요약서: 본 발명은 메티실린 내성 황색포도구균(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA)을 항생제 내성검사 수행 없이 말디-토프 질량분석기를 이용하여, 신속하게 동정하는 방법을 제공한다. MRSA- 특이 질량전하비율 값 중 민감도가 높은 값 2 개 또는 3 개를 포함하는 시료를 선별하고, 이 중에서 메티실린 감수성 황색포도구균(Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*: MSSA) 특이 질량전하비율 값을 갖는 시료를 제외하는 동정 방법과, 단계적으로 질량전하비율 값을 갖는 시료를 선별하고, 그룹을 이용하는 동정 방법을 제공한다.

WO 2020/122427 A1

명세서

발명의 명칭: 말디-토프 질량분석기를 이용한 메티실린-내성 황색포도구균 균류의 동정방법

기술분야

- [1] 본 발명은 메티실린 내성 황색포도구균(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA)을 항생제 내성검사 수행 없이 질량분석기, 바람직하게는 말디-토프 질량분석기(Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometer; MALDI-TOF MS)를 이용하여 신속하게 동정하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 황색포도구균은 인체에 질병을 발생시킬 수 있는 가장 대표적인 병원균주로 인간의 피부에 상재하는 균이다. 황색포도구균은 그람(Gram) 양성균으로서, 군집을 형성하는 형태의 구균(coccus)에 속한다. 아포는 형성하지 않으며, 조건 혐기성균(Facultative anaerobes)으로 분류된다.
- [3] 1961년 메티실린 내성인 황색포도구균이 발견된 후, 메티실린 내성 황색포도구균(MRSA) 감염은 임상에서 크게 증가하였다. MRSA는 *mecA* (methicillin resistance determinant A) 유전자를 외부로부터 획득하여 베타 락탐(β -lactam) 계열 항균제와 친화력이 떨어지는 penicillin-binding protein 2a(PBP2a)를 발현시켜 항균제 작용이 억제된다. 최근 보고에 의하면 메티실린 내성이 PBP2a에 국한되지 않고 여러 기전이 관여 하는 것이 밝혀졌지만, 여전히 *mecA* 유전자와 PBP2a가 중요시 되고 있다. 임상에서 메티실린 내성 여부를 검사하는 방법으로 자동화 기계에 의한 생화학적 검사 혹은 PCR을 통한 *mecA* 유전자 검출이 주로 이용되고 있다.
- [4] 한편, 질량 분석기(Mass spectrometer)를 통한 단백질 분석을 이용한 미생물의 동정은 신속하고 정확성이 필요한 미생물 동정에 적합하다. 질량 분석기는 기본적으로 이온화 부분, 분석기 부분, 검출기의 세 부분으로 이루어져 있는데, 사용하는 이온화 부분, 분석기부분의 종류에 따라 질량 분석기를 구분할 수 있다.
- [5] 말디-토프 질량 분석기를 이용한 질량 분석법은 최근 임상검사실에서 미생물 동정 검사방법으로 보편화되고 있다. 말디-토프 질량 분석기를 이용한 미생물 동정은 복잡한 전처리 없이 균체를 직접적으로 분석함으로써 동정에 소요되는 시간은 한 균종 당 불과 5분 정도이다. 말디-토프 질량 분석기는 2,000에서 20,000 Da 사이의 질량 범위 내에서 서로 다른 패턴의 세균 펩타이드 혹은 단백질 스펙트럼으로 균을 동정한다. 메티실린 내성이 PBP2a 단백질에 기인하므로 직접적으로 이를 검출할 수 있다면 정확한 검사를 수행할 수 있겠지만, 76 kDa의 큰 질량 때문에 말디-토프 질량 분석기를 이용한 직접적인 검출이 어렵다.

- [6] 일부 MRSA가 질량전하비율(m/z) 값 2415을 갖는 PSM-mec 단백질을 발현하여 말디-토프 질량 분석기로 동정이 가능하지만 이는 전체 MRSA의 약 36% 밖에 동정할 수 없는 문제점이 있다. 따라서 나머지 64%의 MRSA를 동정할 수 있는 방법의 연구가 필요하다.
- [7] 이에 본 발명자들은 단일 MRSA-특이 질량전하비율 값을 이용한 동정방법이 아닌, 하기와 같이 이를 조합하고 선별하여 동정하는 방법과, 단계적으로 질량전하비율 값을 이용하여 선별하고, 그룹을 나누어 동정하는 방법의 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 일 양상은 메티실린-내성 황색포도구균(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA) 균류의 동정 방법으로서, 시료를 타겟 플레이트 위에 점적하는 단계; 매트릭스 용액을 상기 타겟 플레이트에 처리한 후 건조시켜 질량분석기(Mass Spectrometer : MS)로 분석하는 단계; 및 상기 시료의 질량전하비율(m/z) 값에서 하나 이상의 MRSA-특이 질량전하비율 값을 확인하는 단계를 포함하는 MRSA 동정 방법을 제공하는 것이다.
- [9] 다른 일 양상은 시료의 질량전하비율(m/z) 값이 2415(PSM-mec)를 포함하는지 확인하는 단계를 포함하는 MRSA 동정 방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [10] 일 양상은 메티실린-내성 황색포도구균 균류의 동정 방법으로서, 시료를 타겟 플레이트 위에 점적하는 단계; 매트릭스 용액을 상기 타겟 플레이트에 처리한 후 건조시켜 질량분석기(MS)로 분석하는 단계; 및 상기 시료의 질량전하비율(m/z) 값에서 1975, 2116, 2134, 2205, 2275, 2415, 2593, 2877, 3891, 4607, 6593, 및 9217로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 MRSA-특이 질량전하비율 값을 확인하는 단계를 포함하는 MRSA 동정 방법을 제공한다.
- [11] 용어 'MRSA'는 베타 락탐 (β -lactam) 항생제에 내성을 갖는 황색포도구균을 의미한다. 항생제 내성이란 미생물이 항생제에 노출되어도 생존할 수 있는 약제 내성을 의미한다.
- [12] 용어 '동정'이란 대상 미생물의 종을 판별하여 어떠한 특성이 있고 어디에 속하는지를 알아내는 것이다.
- [13] 상기 질량 분석기는 말디-토프 질량 분석기를 포함하는 것일 수 있다. 말디-토프 질량 분석기는 지지체를 이용하여 고체 시료를 이온화하는 원리에 의하여 시료를 이온화시킬 수 있다. 분석기는 ESI또는 LDI를 통해 이온화된 펩타이드를 질량 분석기 안에 가두고 질량을 측정하는 역할을 하며 토프 (time of flight mass analyzer: TOF) 방식을 통해 질량을 측정할 수 있다.
- [14] 용어 내지 단위 '질량전하비율 값(m/z)'은 모든 질량분석기에 쓰이는 이론적 부분으로써, 뉴턴의 제2 열역학 법칙과 로렌츠의 역학 법칙에 근거한다. 이 두

- 이론으로부터 주어진 전기장과 자기장에 대해, 이온의 운동이 그 이온의 질량과 전하량에 의해 결정되는데, 이러한 질량과 전하량의 비를 의미한다.
- [15] 질량전하비율 값을 확인한다는 것은 질량 분석기를 통해서 검출된 시료의 질량전하비율 값과 동정 목적이 되는 군류의 특이 질량전하비율 값을 상호 비교하는 것을 의미한다.
- [16] 질량전하비율은 그 오차범위(m/z)가 ± 4 , ± 3 , ± 2.5 , ± 2 , ± 1.5 , ± 0.5 , ± 0.1 , 및 ± 0.01 이내일 수 있다.
- [17] MRSA-특이 질량전하비율 값(m/z)은 1975, 2116, 2134, 2205, 2275, 2415, 2593, 2877, 3891, 4607, 6593, 및 9217일 수 있다. 상기 특이 질량전하비율 값은 소수 첫째 자리에서 반올림하여 결정된 것일 수 있다. 예를 들면, 2415는 2415.3에서 반올림된 것일 수 있다.
- [18] 용어 '시료'는 시험, 검사, 및 분석 등의 대상이 되는 물질이나 생물을 의미한다.
- [19] 상기 방법에서 시료를 타겟 플레이트 위에 점적하는 단계는 아무런 전처리 없이 타겟 플레이트 위에 직접 점적하는 단계를 포함할 수 있다.
- [20] 상기 방법은 상기 시료의 점적 이후, 상기 플레이트를 건조시키고, 이에 한정되는 것은 아니지만 트리플루오로 아세트산(trifluoro acetic acid: TFA)을 추가하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 다시 상기 플레이트를 건조시키는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [21] 상기 방법은 시료의 질량전하비율 값이 상기 MRSA-특이 질량전하비율 값으로 확인된 경우, 상기 시료는 MRSA 군류를 포함하는 것으로 결정하는 것일 수 있다.
- [22] 상기 방법은 시료의 질량전하비율 값에서 1975, 2116, 2134, 2205, 2275, 2415, 2593, 2877, 3891, 4607, 6593, 및 9217로 이루어지는 군으로부터 선택된 둘 이상의 MRSA-특이 질량전하비율 값을 확인하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [23] 상기 방법에서 선택되는 둘 이상의 MRSA-특이 질량전하비율 값은 1975, 2116, 2134, 2205, 2275, 2415, 2593, 2877, 3891, 4607, 6593, 및 9217로 이루어지는 군 중에서 민감도가 높은 질량전하비율 값일 수 있다.
- [24] 용어 '민감도(sensitivity)'란 시료에 MRSA를 포함하고 있을 경우, 검사 결과상 포함하는 것으로 나올 확률을 의미한다.
- [25] 용어 '특이도(specificity)'란 시료에 MRSA를 포함하고 있지 않을 경우, 검사 결과상 포함하지 않는 것으로 나올 확률을 의미한다.
- [26] 상기 방법은 상기 시료의 질량전하비율 값이 상기 MRSA-특이 질량전하비율 값 중 1975와 2275, 1975와 2415, 및 1975, 2275 및 2415 중 어느 하나를 포함하는 것으로 확인된 경우, 상기 시료는 MRSA 군류를 포함하는 것으로 결정하는 것일 수 있다.
- [27] 상기 방법은 상기 시료에서 2085, 2193, 2233, 2303, 2340, 2631, 2669, 2748, 2767, 3035, 및 5507로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 메티실린 감수성 황색포도구균 (MSSA) 특이 질량전하비율 값을 확인하는 단계를 더 포함할 수

- 있다.
- [28] 상기 MSSA-특이 질량전하비율 값(m/z)은 2085, 2193, 2233, 2303, 2340, 2631, 2669, 2748, 2767, 3035, 및 5507일 수 있다. 상기 특이 질량전하비율 값은 소수 첫째 자리에서 반올림하여 결정된 것일 수 있다.
- [29] '메티실린 감수성 황색포도구균'이란 베타 락탐 항생제에 감수성을 나타내는 황색포도구균을 의미한다. 항생제 감수성이란 어떤 병원균이 특정 항생제에 의해 죽거나 억제되는 정도를 의미한다.
- [30] 상기 방법은 시료의 질량전하비율 값이 상기 MRSA-특이 질량전하비율 값 중 1975, 2275 및 2415을 포함하고, 상기 시료가 MSSA-특이 질량전하비율 값 2631을 포함하지 않는 것으로 확인된 경우, 상기 시료는 MRSA 균류를 포함하는 것으로 결정하는 것일 수 있다.
- [31] 다른 일 양상은 메티실린-내성 황색포도구균 균류의 동정 방법으로서, 시료를 타겟 플레이트 위에 점적하는 단계; 매트릭스 용액을 상기 타겟 플레이트에 처리한 후 건조시켜 질량분석기로 분석하는 단계; 및 상기 시료의 질량전하비율(m/z) 값이 1975, 2116, 2134, 2205, 2275, 2415, 2593, 2877, 3891, 4607, 6593, 및 9217로 이루어지는 MRSA-특이 질량전하비율 값 중 2415을 포함하는지 확인하는 단계를 포함하는 MRSA 동정 방법을 제공한다.
- [32] 상기 방법은 시료가 MRSA-특이 질량전하비율 값 2415을 포함하는 것으로 확인된 경우, 상기 시료는 MRSA 균류를 포함하는 것으로 결정하는 것일 수 있다.
- [33] 상기 방법은 시료가 MRSA-특이 질량전하비율 값 2415을 포함하지 않는 것으로 확인된 경우, 상기 시료의 질량전하비율 값이 MRSA-특이 질량전하비율 값 중 5539을 포함하는지 확인하는 단계를 더 포함하는 것일 수 있다.
- [34] 상기 방법은 상기 시료가 MRSA-특이 질량전하비율 값 중 5539를 포함하는 것으로 확인된 경우, 상기 시료가 MRSA-특이 질량전하비율 값 중 5073을 포함하는지 확인하는 단계를 더 포함하는 것일 수 있다.
- [35] 상기 방법은 상기 시료가 MRSA-특이 질량전하비율 값 중 5073을 포함하는 것으로 확인된 경우, 상기 시료는 MRSA 균류를 포함하는 것으로 결정하는 것일 수 있다.
- [36] 상기 방법은 상기 시료가 MRSA-특이 질량전하비율 값 중 5073을 포함하는 것으로 확인된 경우, 상기 시료는 MRSA 균류를 포함하는 것으로 결정하고, 상기 MRSA 균류는 MRSA SCCmec type IV를 포함하는 것일 수 있다.
- [37] 상기 MRSA SCCmec type IV 균류는 MRSA에 속하는 균류로서, MRSA의 다양한 분류 형태 중 하나에 속할 수 있다. 대한민국에서 발견되는 대부분의 MRSA는 SCCmec type II일 수 있다. 지역사회 감염의 경우 SCCmec type IV일 수 있다. 상기 MRSA SCCmec type IV는 다른 타입의 MRSA에 비하여 다양한 항생제에 감수성을 가질 수 있다.
- [38] 상기 방법은 시료가 MRSA-특이 질량전하비율 값 중 5539는 포함하지만,

5073을 포함하지 않는 것으로 확인된 경우, 상기 시료는 MRSA 균류를 포함하지 않는 것으로 결정하는 것일 수 있다.

- [39] 상기 방법은 시료가 MRSA-특이 질량전하비율 값 중 2415와 5539를 포함하지 않는 것으로 확인된 경우, 상기 시료에서 2085, 2193, 2233, 2303, 2340, 2631, 2767, 3035, 및 5507로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 MSSA-특이 질량전하비율 값을 확인하는 단계를 더 포함하는 것일 수 있다.

- [40] 상기 방법은 상기 시료가 상기 MSSA-특이 질량전하비율 값을 포함하지 않는 것으로 확인된 경우, 상기 시료는 MRSA 균류를 포함하는 것으로 결정하는 것일 수 있다.

- [41] 상기 방법은 상기 시료가 상기 MSSA-특이 질량전하비율 값을 포함하는 것으로 확인된 경우, 상기 시료는 MRSA 균류를 포함하지 않는 것으로 결정하는 것일 수 있다.

발명의 효과

- [42] 일 양상에 따른 MRSA 동정방법은 단일 MRSA-특이 질량전하비율 값을 확인하는 것이 아닌, 이를 조합한 두개 내지 세개의 질량전하비율 값을 갖는 시료를 선별하여 동정함으로써, 종래의 동정 방법 보다 민감도가 크게 상승한 동정방법을 제공한다.

- [43] 다른 양상에 따른 MRSA 동정방법은 단일 MRSA-특이 질량전하비율 값을 확인하는 것이 아닌, 단계적으로 특정 질량전하비율 값을 갖는 시료를 선별하고, 그룹을 나누어 동정하는 방법의 발명을 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [44] 도 1은 그룹을 이용한 동정 방법의 개략도로서, R 그룹은 MRSA, S 그룹은 MSSA, 각 분기점은 각 기재된 질량전하비율 값의 유무를 확인하는 단계, 각 종결점은 동결 내지 결정된 MRSA와 MSSA의 비율을 나타낸다.

발명의 실시를 위한 형태

- [45] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

- [46] **참고예 1. 황색포도구균의 배양**

- [47] 본 발명에서는 황색포도구균 균혈증 환자의 혈액배양에서 분리된 황색포도구균(*Staphylococcus aureus*)을 이용한다. *mecA* 유전자 발현여부에 따라 MRSA로 확인된 208개 균주와 MSSA로 확인된 116개 균주를 각 배양하였다. 각 균주는 강동성심병원 진단검사의학과에서 분리된 균주를 사용하였으며 5%(v/v) 혈액이 첨가된 배지에서 배양하였다.

- [48] **참고예 2. MRSA 및 MSSA-특이 질량전하비율(m/z) 값 탐색**

- [49] 참고예 1.에서 배양된 MRSA 균주의 단일 집락(colony)을 이쑤시개에 묻혀 말디-토프 타겟 플레이트에 점적하였다. 점적 후, 타겟 플레이트를 상온에서

5분간 건조시켰다. 이후, 4%(v/v) 트리플루오로 아세트산(trifluoroacetic acid : TFA) 1 μ l 첨가하였다. 첨가 후 다시 상온에서 5분간 건조시켰다. 건조 후, 매트릭스용액(Matrix solution) 1 μ l를 타겟 플레이트에 점적된 단일 집락 위에 첨가하고, 다시 상온에서 5분간 건조시켰다. 이후 말디-토프 질량 분석기(Bruker사, 독일)로 분석하였다.

- [50] 각 균주의 스펙트럼을 검출하고, 바이오뉴머릭 소프트웨어(BioNumerics software, plied Maths, a BioMerieux사)로 MRSA 및 MSSA 특이적 질량전하비율의 피크(peak)를 탐색하였다.
- [51] 상기의 방법으로, 통계적으로 검출된 MRSA 및 MSSA-특이 질량전하비율(bio marker)은 아래 표 1과 같다(오차범위: ± 4 m/z 이내).

[52] [표 1]

	n = 324											Percentage (%)										Predict 1	Predict	SE	SP	PPV	NPV
		MRSA	MSSA	Rneg	Sneg	P	II	III	IV	MSSA	P	MRSA	MSSA	II	III	IV	O										
1	1974.7	109	15	99	101	0.000	105	4	0	15	0.000	52.4	12.9	66.9	16.0	0.0	12.9	R		52.4	87.1	87.9	50.5				
2	2275.1	95	18	113	98	0.000	84	10	1	18	0.000	45.7	15.5	53.5	40.0	3.8	15.5	R		45.7	84.5	84.1	46.4				
3	2411.3	76	1	132	115	0.000	52	23	1	1	0.000	36.5	0.9	33.1	92.0	3.8	0.9	R		36.5	99.1	98.7	46.6				
4	2877.1	25	8	183	108	0.144	6	13	6	8	0.000	12.0	6.9	3.8	52.0	23.1	6.9	R	MRSA	12.0	93.1	75.8	37.1				
5	3891.1	47	3	161	113	0.000	47	0	0	3	0.000	22.6	2.6	29.9	0.0	0.0	2.6	R		22.6	97.4	94.0	41.2				
6	4606.7	29	1	179	115	0.000	11	18	0	1	0.000	13.9	0.9	7.0	72.0	0.0	0.9	R		13.9	99.1	96.7	39.1				
7	6593.0	19	5	189	111	0.112	3	15	1	5	0.000	9.1	4.3	1.9	60.0	3.8	4.3	R		9.1	95.7	79.2	37.0				
8	9216.8	16	0	192	116	0.002	1	15	0	0	0.000	7.7	0.0	0.6	60.0	0.0	0.0	R		7.7	100.0	100.0	37.7				
9	2084.8	2	26	206	90	0.000	0	0	2	26	0.000	1.0	22.4	0.0	0.0	7.7	22.4	S		22.4	99.0	92.9	69.6				
10	2192.9	22	53	186	63	0.000	2	5	15	53	0.000	10.6	45.7	1.3	20.0	57.7	45.7	S		45.7	89.4	70.7	74.7				
11	2233.3	20	54	188	62	0.000	1	2	17	54	0.000	9.6	46.6	0.6	8.0	65.4	46.6	S		46.6	90.4	73.0	75.2				
12	2302.6	25	60	183	56	0.000	3	5	17	60	0.000	12.0	51.7	1.9	20.0	65.4	51.7	S	MSSA	51.7	88.0	70.6	76.6				
13	2340.5	8	23	200	93	0.000	1	0	7	23	0.000	3.8	19.8	0.6	0.0	26.9	19.8	S		19.8	96.2	74.2	68.3				
14	2630.7	24	58	184	58	0.000	2	5	17	58	0.000	11.5	50.0	1.3	20.0	65.4	50.0	S		50.0	88.5	70.7	76.0				
15	2766.9	9	14	199	102	0.009	0	0	9	14	0.000	4.3	12.1	0.0	0.0	34.6	12.1	S		12.1	95.7	60.9	66.1				
16	3034.6	4	11	204	105	0.002	0	0	4	11	0.000	1.9	9.5	0.0	0.0	15.4	9.5	S		9.5	98.1	73.3	66.0				
17	5506.9	0	7	208	109	0.001	0	0	0	7	0.005	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0	6.0	S		6.0	100.0	100.0	65.6				
18	2115.8	14	1	194	115	0.016	14	0	0	1	0.005	6.7	0.9	8.9	0.0	0.0	0.9	R	Type II	8.9	99.4	93.3	53.9				
19	2133.7	32	4	176	112	0.001	30	1	1	4	0.000	15.4	3.4	19.1	4.0	3.8	3.4	R	Type II	19.1	96.4	83.3	56.8				
20	2592.8	25	1	183	115	0.000	25	0	0	1	0.000	12.0	0.9	15.9	0.0	0.0	0.9	R	Type II	15.9	99.4	96.2	55.9				
21	2204.9	12	1	196	115	0.037	2	10	0	1	0.000	5.8	0.9	1.3	40.0	0.0	0.9	R	Type III	40.0	99.0	76.9	95.2				
22	5073.6	29	17	179	99	0.860	13	1	15	17	0.000	13.9	14.7	8.3	4.0	57.7	14.7	R	Type IV or MSSA	57.7	89.6	32.6	96.4				
23	5539.7	17	22	191	94	0.006	0	0	17	22	0.000	8.2	19.0	0.0	0.0	65.4	19.0	R	Type IV or MSSA	65.4	92.6	43.6	97.1				
24	5581.4	10	13	198	103	0.032	0	0	10	13	0.000	4.8	11.2	0.0	0.0	38.5	11.2	R	Type IV or MSSA	38.5	95.6	43.5	94.9				
25	2668.5	4	9	204	107	0.016	0	0	4	9	0.000	1.9	7.8	0.0	0.0	15.4	7.8	S	MSSA	7.8	98.1	69.2	65.6				
26	2748.4	0	5	208	111	0.006	0	0	0	5	0.028	0.0	4.3	0.0	0.0	0.0	4.3	S	MSSA	4.3	100.0	100.0	65.2				

[53] 그 결과, 상기 표 1에서 보는 바와 같이, MRSA-특이 질량전하비율(m/z) 값은 1975(1974.7), 2116 (2115.8, type II), 2134 (2133.7, type II), 2205(2204.9), 2275(2275.1), 2415(2411.3), 2593 (2592.8, type II), 2877(2877.1), 3891(3891.1),

4607(4606.7), 6593(6593.0), 및 9217(9216.8)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 값을 확인하였고, 각 측정 값은 오차범위(± 4) 이내였다.

- [54] 또한, MSSA-특이 질량전하비율 (m/z) 값은 2085(2084.8), 2193(2192.9), 2233(2233.3), 2303(2302.6), 2340(2340.5), 2631(2630.7), 2669(2668.5), 2748(2748.4), 2767(2766.9), 3035(3034.6), 및 5507(5506.9)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 값을 확인하였다. 각 측정 값은 오차범위(± 4) 이내였다.

[55] 실시예 1. 질량전하비율의 조합을 이용한 MRSA의 동정방법

- [56] 상기 표 1에서 제시하는 질량전하비율 값 중, 민감도가 높다고 판단되는 MRSA-특이 질량전하비율 값 2개 또는 3개를 갖는 군주를 선별하였다. 즉, 질량전하비율 1975(민감도 52.4%)와 2275(민감도 45.7%)를 포함하는 군주, 1975와 2415(민감도 36.5%)를 포함하는 군주, 1975, 2275 및 2415를 포함하는 군주를 선택하였다. 이 중, MSSA-특이 질량전하비율 값 중 특이도가 가장 높은 2085(특이도 99%)를 포함하는 군주를 선별하여 이를 제외하고 선별하였다. 선별된 군주의 군류와 개수, 민감도, 특이도, 양성예측률 및 음성예측률을 산정하였다. 같은 방법으로, MSSA-특이 질량전하비율 값 중 민감도가 높은 2631을 갖는 군주를 제외한 후, 다시 군주의 군류와 개수, 민감도, 특이도 양성예측률 및 음성예측률을 산정하였다. 결과는 하기 표 2와 같다.

[57] [표2]

peak	R	S	SE	SP	PPV	NPV
1975+, 2275+	146	29	70	75	83	58
1975+, 2275+, 2631-	142	15	68	87	90	60
1975+, 2415+	149	15	72	87	91	63
1975+, 2415+, 2085-	149	10	72	91	94	64
1975+, 2415+, 2275+, 2631-	162	15	78	87	92	69

- [58] (R: MRSA, S: MSSA, SE: 민감도(sensitivity), SP: 특이도(specificity), PPV: 양성 예측률(positive predict value), NPV: 음성 예측률(negative predict value))

- [59] 상기 결과에 의하면, MRSA-특이 질량전하비율 값 중 1975, 2275, 및 2415을 갖는 시료에서, MSSA-특이 질량전하비율 값 2631을 갖는 시료를 제외한 경우, 전체 MRSA 208개의 군주 중 162개의 군주를 MRSA를 동정할 수 있음을 알 수 있다. 즉, 78%의 민감도로 MRSA를 검출할 수 있고, 단일 질량전하비율 값으로만 동정할 경우에 비하여 상당히 증가하였다.

[60] 비교예 1. 단일 질량전하비율만 갖는 군주에서 제외한 경우,

- [61] 상기 표 1에서 제시하는 질량전하비율 값 중, 민감도가 가장 높다고 판단되는 질량전하비율 값 1975를 갖는 군주를 선택하고, 이 중, MSSA-특이 질량전하비율

값 2085(2084.8), 2233(2233.3), 2631(2630.7), 및 2303(2302.6)를 갖는 균주를 제외하여 선별한다. 선별된 균주의 균류, 민감도, 특이도, 양성예측률 및 음성예측률은 하기 표 3과 같다.

[62] [표3]

peak	R	S	SE	SP	PPV	NPV
1975+	109	15	52	87	88	51
1975+, 2085-	109	10	52	91	92	52
1975+, 2233-	108	9	52	92	92	52
1975+, 2631-	106	7	51	94	94	52
1975+, 2303-	106	8	51	93	93	51

[63] 상기 표 3에서 알 수 있는 바와 같이, 민감도가 가장 높은 질량전하비율 값 1975를 갖는 균주 중, MSSA-특이 질량전하비율을 가진 균주를 제외한 경우, 특이도는 90 이상으로 높아졌지만 민감도는 52로 동일하거나 51로 소폭 감소하였다.

[64] 즉, 실시예 1의 동정방법에 의할 경우, 민감도가 상당히 증가될 수 있다는 점을 나타낸다.

[65] 실시예 2. 그룹을 이용한 동정 방법

[66] 324개의 균주 (MRSA 208개, MSSA 116개) 중 표 1에서 19개(R 그룹 1번 내지 8번; S 그룹 9번 내지 17번, 22번, 및 23번)의 질량전하비율 값 중 어느 하나의 값도 검출되지 않는 균주 29개를 판정 불가능으로서 배제하였다. 상기 19개의 질량전하비율 값 중 하나 이상이 검출되는 나머지 295개 균류 중, 질량전하비율 값 2415(2411.3)이 있는 77개의 균류를 동정하였다(중결점 1: MRSA 균주 76개, MSSA 균주 1개).

[67] 질량전하비율 값 2415가 없는 나머지 218 균주 중, MRSA(SCCmec type IV)를 구별하고자, MRSA(SCCmec type IV)에 민감도와 특이도가 높은 질량전하비율 값 5539(5539.7)이 검출된 균주 40개를 선별하였다. 선별된 균류 중 MRSA(SCCmec type IV)를 한번 더 구별하기 위해 MRSA(SCCmec type IV)에 대해 민감도와 특이도가 높은 질량전하비율 값 5073(5073.6)이 검출된 균주 23개를 선별하여 동정하였다(중결점 2: MRSA 균주 14개, MSSA 균주 9개). 질량전하비율 값 5539는 검출되지만 5073은 검출되지 않는 17개의 균주를 MSSA로 동정하였다(중결점 3, MRSA 균주 4개, MSSA 균주 13개).

[68] 질량전하비율 값 5539가 검출되지 않은 균주 178개에서 MSSA-특이 질량전하비율 값 9개 (표 1에서 9번 내지 17번; S 그룹) 중 어느 하나라도 검출된 균주 73개는 MSSA로 동정하였다(중결점 4: MRSA 균주 4개, MSSA 균주 69개). 반면, 상기 9개 중 어느 하나도 검출되지 않은 균주 105개는 MRSA로 동정하였다(중결점 5: MRSA 98개, MSSA 균주 7개). 위와 같이 동정한 결과,

MRSA 동정의 민감도는 전체 MRSA 196개 중 188개가 동정하여 95.9%, MSSA 동정의 민감도는 99개 중 82개를 동정하여 82.8%의 민감도를 보였다.

[69] 상술한 동정방법은 도 1에서 개략적으로 나타낸다.

[70]

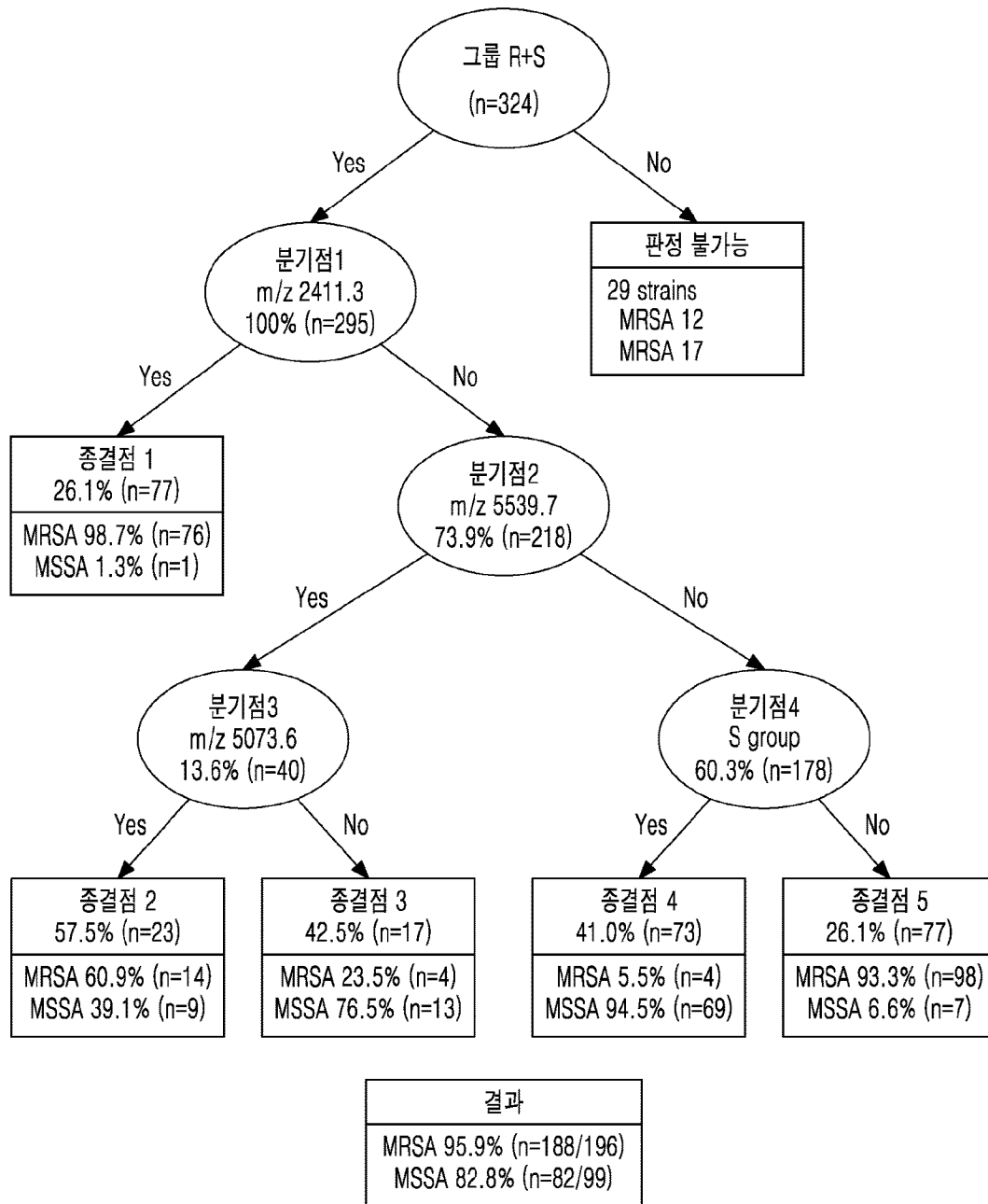
[71]

청구범위

- [청구항 1] 메티실린-내성 황색포도구균(*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*: MRSA) 군류의 동정 방법으로서,
시료를 타겟 플레이트 위에 점적하는 단계;
매트릭스 용액을 상기 타겟 플레이트에 처리한 후 건조시켜 말디-토프 질량 분석기(Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight Mass Spectrometer: MALDI-TOF MS)로 분석하는 단계;
상기 시료의 질량전하비율(m/z) 값에서 1975 및 2275, 또는 1975 및 2415의 MRSA-특이 질량전하비율 값을 검출하는 단계; 및
상기 MRSA-특이 질량전하비율 값이 검출되는 경우 상기 시료는 MRSA 군류를 포함하는 것으로 결정하는 단계를 포함하는 MRSA 동정 방법.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서, 상기 시료의 질량전하비율 값에서 2116, 2134, 2205, 2593, 2877, 3891, 4607, 6593, 및 9217로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 MRSA-특이 질량전하비율 값을 검출하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서, 상기 시료에서 2085, 2193, 2233, 2303, 2340, 2631, 2669, 2748, 2767, 3035, 및 5507로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 메티실린 감수성 황색포도구균 (*Methicillin-sensitive Staphylococcus aureus*: MSSA) 특이 질량전하비율 값을 확인하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.
- [청구항 4] 청구항 5에 있어서, 상기 시료의 질량전하비율 값이 상기 MRSA-특이 질량전하비율 값 중 1975, 2275 및 2415을 포함하고, 상기 시료가 MSSA-특이 질량전하비율 값 2631을 포함하지 않는 것으로 확인된 경우, 상기 시료는 MRSA 군류를 포함하는 것으로 결정하는 것인 방법.
- [청구항 5] 메티실린-내성 황색포도구균(*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*: MRSA) 군류의 동정 방법으로서,
시료를 타겟 플레이트 위에 점적하는 단계;
매트릭스 용액을 상기 타겟 플레이트에 처리한 후 건조시켜 MALDI-TOF MS로 분석하는 단계;
상기 시료의 질량전하비율(m/z) 값에서 2415의 질량전하비율 값을 포함하지 않는 시료를 선별하는 단계; 및
상기 시료의 질량전하비율(m/z) 값에서 5539 및 5073의 질량전하비율 값을 검출하거나, 또는
상기 시료의 질량전하비율(m/z) 값에서 5539, 2085, 2193, 2233, 2303, 2340, 2631, 2767, 3035, 및 5507 값이 검출되지 않는 경우,
상기 시료는 MRSA 군류를 포함하는 것으로 결정하는 단계를 포함하는 MRSA 군류의 동정 방법.

- [청구항 6] 메티실린-감수성 황색포도구균(Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*: MSSA) 균류의 동정 방법으로서,
시료를 타겟 플레이트 위에 점적하는 단계;
매트릭스 용액을 상기 타겟 플레이트에 처리한 후 건조시켜 MALDI-TOF MS로 분석하는 단계;
상기 시료의 질량전하비율(m/z) 값에서 2415의 질량전하비율 값을 포함하지 않는 시료를 선별하는 단계; 및
상기 시료의 질량전하비율(m/z) 값에서 5539의 질량전하비율 값을 포함하지만, 5073의 질량전하비율 값을 검출하거나, 또는
상기 시료의 질량전하비율(m/z) 값에서 5539의 질량전하비율 값을 포함하지 않으나, 2085, 2193, 2233, 2303, 2340, 2631, 2767, 3035, 및 5507로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 질량전하비율 값을 포함하는 경우,
상기 시료는 MSSA 균류를 포함하는 것으로 결정하는 단계를 포함하는 MSSA 균류의 동정 방법.

[도 1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/015063

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/68(2006.01)i, G01N 27/62(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 33/68; C12N 1/00; C12Q 1/00; C12Q 1/04; C12Q 1/18; G01N 27/62; G01N 27/64

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above

Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: MRSA(methicillin resistant staphylococcus aureus), MALDI-TOF, m/z

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2017-501721 A (BRUKER DALTONIK GMBH.) 19 January 2017 See paragraphs [0018], [0020], [0021]; claims 1, 15.	1-6
A	ØSTERGAARD, C. et al. Rapid first-line discrimination of methicillin resistant Staphylococcus aureus strains using MALDI-TOF MS. International Journal of Medical Microbiology. 2015, vol. 305, pages 828-847 See abstract; pages 2, 7, 8; tables 1, 2.	1-6
A	JP 2015-502529 A (BIOMERIEUX et al.) 22 January 2015 See the entire document.	1-6
A	KR 10-2000-0035935 A (THE MANCHESTER METROPOLITAN UNIVERSITY) 26 June 2000 See the entire document.	1-6
A	US 2008-0009029 A1 (GOVORUN, V. M. et al.) 10 January 2008 See the entire document.	1-6
PX	KR 10-2028564 B1 (INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, HALLYM UNIVERSITY) 04 October 2019 See the entire document. ※ The above document is the registered document for the priority of the present international application.	1-6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

19 FEBRUARY 2020 (19.02.2020)

Date of mailing of the international search report

20 FEBRUARY 2020 (20.02.2020)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/015063

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 2017-501721 A	19/01/2017	CA 2934769 A1	02/07/2015
		CA 2934769 C	24/09/2019
		CN 105849567 A	10/08/2016
		CN 105849567 B	15/12/2017
		EP 3087396 A1	02/11/2016
		EP 3087396 B1	05/09/2018
		JP 6620099 B2	11/12/2019
		US 2016-0355865 A1	08/12/2016
		WO 2015-097061 A1	02/07/2015
JP 2015-502529 A	22/01/2015	CN 104039975 A	10/09/2014
		EP 2788495 A1	15/10/2014
		EP 2788495 B1	19/08/2015
		ES 2551879 T3	24/11/2015
		FR 2982367 A1	10/05/2013
		FR 2982367 B1	10/05/2013
		JP 6284883 B2	28/02/2018
		US 2015-0004644 A1	01/01/2015
		US 9382571 B2	05/07/2016
KR 10-2000-0035935 A	26/06/2000	WO 2013-068685 A1	16/05/2013
		AU 4024597 A	19/03/1998
		BR 9711448 A	18/01/2000
		CA 2264535 A1	05/03/1998
		CN 1234906 A	10/11/1999
		EP 0922295 A1	16/06/1999
		JP 2001-502164 A	20/02/2001
		TR 9900780 T2	21/07/1999
		WO 98-09314 A1	05/03/1998
US 2008-0009029 A1	10/01/2008	DE 102006021493 A1	15/11/2007
		DE 102006021493 B4	01/04/2010
		GB 2438066 A	14/11/2007
		GB 2438066 B	16/03/2011
		US 2012-0264162 A1	18/10/2012
		US 2014-0106396 A1	17/04/2014
		US 2015-0233940 A1	20/08/2015
		US 8293496 B2	23/10/2012
		US 8580535 B2	12/11/2013
KR 10-2028564 B1	04/10/2019	US 9051594 B2	09/06/2015
		US 9897613 B2	20/02/2018
		None	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 33/68(2006.01)i, G01N 27/62(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 33/68; C12N 1/00; C12Q 1/00; C12Q 1/04; C12Q 1/18; G01N 27/62; G01N 27/64

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 메티실린내성 황색포도구균(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), 말디토프질량분석(MALDI-TOF), 질량전하비율(m/z)**C. 관련 문헌**

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	JP 2017-501721 A (BRUKER DALTONIK GMBH) 2017.01.19 단락 [0018], [0020], [0021]; 청구항 1, 15	1-6
A	ØSTERGAARD, C. 등, "Rapid first-line discrimination of methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i> strains using MALDI-TOF MS", International Journal of Medical Microbiology, 2015, 305권, 페이지 828-847 초록; 페이지 2, 7, 8; 표 1, 2	1-6
A	JP 2015-502529 A (BIOMERIEUX 등) 2015.01.22 전체 문헌	1-6
A	KR 10-2000-0035935 A (더 맨체스터 메트로폴리탄 유니버시티) 2000.06.26 전체 문헌	1-6
A	US 2008-0009029 A1 (GOVORUN, V. M. 등) 2008.01.10 전체 문헌	1-6
PX	KR 10-2028564 B1 (한림대학교 산학협력단) 2019.10.04 전체 문헌 ※ 위 문헌은 본 국제출원의 우선권 출원의 등록공보임	1-6

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후 “X”에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2020년 02월 19일 (19.02.2020)

국제조사보고서 발송일

2020년 02월 20일 (20.02.2020)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

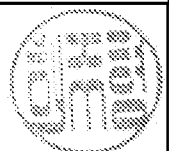
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2017-501721 A	2017/01/19	CA 2934769 A1 CA 2934769 C CN 105849567 A CN 105849567 B EP 3087396 A1 EP 3087396 B1 JP 6620099 B2 US 2016-0355865 A1 WO 2015-097061 A1	2015/07/02 2019/09/24 2016/08/10 2017/12/15 2016/11/02 2018/09/05 2019/12/11 2016/12/08 2015/07/02
JP 2015-502529 A	2015/01/22	CN 104039975 A EP 2788495 A1 EP 2788495 B1 ES 2551879 T3 FR 2982367 A1 FR 2982367 B1 JP 6284883 B2 US 2015-0004644 A1 US 9382571 B2 WO 2013-068685 A1	2014/09/10 2014/10/15 2015/08/19 2015/11/24 2013/05/10 2013/05/10 2018/02/28 2015/01/01 2016/07/05 2013/05/16
KR 10-2000-0035935 A	2000/06/26	AU 4024597 A BR 9711448 A CA 2264535 A1 CN 1234906 A EP 0922295 A1 JP 2001-502164 A TR 9900780 T2 WO 98-09314 A1	1998/03/19 2000/01/18 1998/03/05 1999/11/10 1999/06/16 2001/02/20 1999/07/21 1998/03/05
US 2008-0009029 A1	2008/01/10	DE 102006021493 A1 DE 102006021493 B4 GB 2438066 A GB 2438066 B US 2012-0264162 A1 US 2014-0106396 A1 US 2015-0233940 A1 US 8293496 B2 US 8580535 B2 US 9051594 B2 US 9897613 B2	2007/11/15 2010/04/01 2007/11/14 2011/03/16 2012/10/18 2014/04/17 2015/08/20 2012/10/23 2013/11/12 2015/06/09 2018/02/20
KR 10-2028564 B1	2019/10/04	없음	