MALDI-TOF 질량분석기반 식중독균 판별법

Discrimination of the Food Borne Bacteria by MALDI-TOF MS

하미영[1*], 최은정[1], 손은정[1], 양준영[2], 최은경[2], 인용하[2], 박형순[2], 김양선[2]

Miyoung Ha[1*], Eun-Jung Choi[1], Eun-Jeong Son[1], Junyoung Yang[2], Eun-Kyeong Choi[2], Yongha In[2], Hyoung-Soon Park[2], and Yangsun Kim[2]

[1]농협중앙회 식품연구원, [2]아스타(주)

[1]Nonghyup Food Research Institute, 114-8 Centraltown-ro, Suwon, 16506, Korea
[2]ASTA Inc. AICT, 11, 145 Gwanggyo-ro, Suwon, 16229, Korea

서 론

농수축산 분야, 식품의 가공 유통에서의 위생시설 검사, 토양과 수자원의 위생검사 등 다양한 분야에서 국민의 건강과 위생 수준의 향상을 위해 신속 정확한 식중독균 검사법의 필요성이 대두되고 있다. 또한, 발효식품이나 미생물을 이용한 건강기능식품 개발 등과 같은 미생물 산업이 발전함에 따라 정확한 균종의 배양과 분류에 대한 수요가 더욱 증가하고 있다.

미생물을 동정하는 방법은 크게 두 가지로 나눌 수 있는데, 발현형적 방법(phenotypic method)과 계통분류학적 방법(phylogenetic analysis method)이 있다. 식품 미생물을 동정하는 일반적인 방법은 확인하고자 하는 미생물에 적합한 온도와 산소 등이 유지되는 환경에서 균 특이적 선택배지를 사용하여 박테리아를 분리한 후 균의 형태, 운동성, 그램 염색 등과 같은 형태학적인 특성을 파악하고, 혈청학적 성상 등 생화학적 분석에 의해서 최종 확인하는 발현형 검사를 이용한다[1]. 상업적으로 개발된 키트를 이용한 자동 생화학 분석장치를 사용하더라도 최소 3 ~ 16시간의 분석시간이 소요될 뿐만 아니라[2] 생화학 분석을 위한 배양이 필요하기 때문에 시간과 비용 소모가 많다. 따라서 생화학특성을 활용한 전통적인 검출방법 개발에 대한 연구는 점차 줄어들고, 면역학적 방법이나 분자생물학적 기법을 이용한 식중독균의 신속 검출법 개발이 증가하고 있다[3-8]. 계통분류학적 방법 중 16S rRNA 유전자 염기서열 분석이 가장 많이 사용되는데, 모든 원핵생물은 이 유전자를 포함하고 돌연변이를 거의 허용하지 않아 서열이 변하지 않는다는 특징을 가지고 있기 때문이다. 그러나 이 방법은 전문적인 기술을 요하고 많은 양의 고순도 DNA와 RNA를 필요로 하기 때문에[3] 일상적인 미생물 확인시험으로는 적당하지 않다.

질량분석법에 의한 미생물 동정은 1975년 Anhalt와 Fenselau[4]에 의해 처음 시도되었고, 박테리아 셀의 단백질을 직접 분석하여 미생물을 구별하는 MALDI-TOF MS

* Corresponding author: Miyoung Ha
Nonghyup Food Research Institute 9th Floor, 114-8 Centraltown-ro, Suwon, 16506, Korea
Tel: 82-31-8021-7052 Fax: 82-31-8021-7019 E-mail: hamisukwon@hanmail.net

를 기반으로 하는 미생물 동정법은 Claydon, Holland, Krishnamurthy[5-8]에 의해 구축되었다. 단백질 및 펩타이드 동정에 널리 사용되고 있는 고감도 MALDI-TOF 질량분석기술은 레이저를 이용해 각각의 식중독균을 이루는 독특한 단백질 패턴을 분석하여 각 패턴을 데이터베이스와 비교함으로써 미생물을 구별한다. 추가적인 배양없이 선택배지 상의 콜로니를 직접 분석하고, 시료 전처리가 매우 간단하며 1분 이내로 분석되므로 매우 신속할 뿐 아니라 90% 이상의 정확성[9]을 가지고 있어 진단의학분야[10-13]에 기(旣) 적용되었다. 또한 약 200여종의 진균 및 박테리아 검사에 있어서는 2013년 미국 FDA 승인을 받아 박테리아 감염여부 진단 및 치료에 활용되고 있다[37].

따라서 본고에서는 최근 활발하게 평가[14,15]되고 있는 MALDI-TOF MS를 이용한 새로운 미생물 동정법을 소개하고, 식품 안전을 위하여 일상적으로 검사하는 미생물 확인시험에 적용 가능성을 고찰하고자 한다.

본 론

MALDI-TOF MS 분석의 원리

MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of Flight Mass Spectrometry)는 1980년대에 단백질, DNA등과 같은 생체고분자 물질의 분석을 위하여 개발되었다[16]. MALDI 프로세스에서는 생체 고분자의 열적, 화학적 분해없이 분자구조를 유지하면서 원래의 고체상태로부터 그대로 기체상태의 이온화가 이루어진다[4,5,7,8]. 휘발성이 적거나 잘 녹지 않은 시료의 분석이 가능하며 컬럼을 사용하지 않으므로 기체/액체크로마토그래피 질량분석에 비해 상대적으로 다루기가 쉽고[7,8] 이온화 과정에서 분자구조가 깨지지 않아 측정되는 분석물질의 분자량 정보를 제공한다. 단백질과 펩타이드 분석을 중심으로 생명분야 연구를 주도하고, 프로테오믹스(Proteomics)라는 신학문을 탄생시킨 MALDI-TOF MS는 합성고분자 분석, 항원-항체 반응, DNA-DNA hybridization, 탄수화물 분석, 지질 분석,

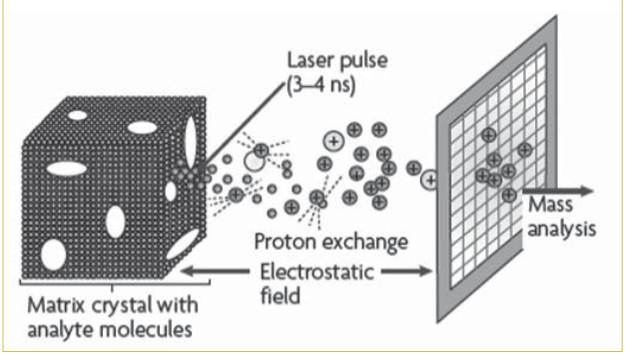

그림 1. Matrix assisted laser desorption ionization (MALDI)의 원리[17]

미생물 분석 등 다방면에 활용되고 있다.

MALDI-TOF 질량분석법은 크게 세 단계로 이루어진다. 분석물질이 이온화할 수 있도록 시료에 매트릭스라는 저분자의 유기화합물을 혼합하여 고체상태의 결정을 형성시킨다. 여기에 짧은 주기의 강한 펄스 레이저를 조사하여 결정화된 시료-매트릭스 혼합물로부터 이온을 방출시킨다[17](그림 1). 조사된 레이저 에너지는 결정화된 매트릭스를 통해 시료를 이온화시키기 때문에 매트릭스의 선정 및 시료와 매트릭스의 비율 등의 최적화가 실험결과에 매우 중요한 영향을 미친다. 단백질 분석에는 2,5-dihydroxybenzoic acid(DHB), a-cyano-4-hydroxycinnamic acid(CHCA), 또는 3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamic acid (sinapinic acid, SA)등의 매트릭스가 주로 사용된다. 형성된 이온은 electric field에서 같은 에너지를 받고 가속화 되고 field free 지역에서 가벼운 이온은 먼저, 무거운 이온은 나중에 검출되는 원리(time of fight, TOF)에 의해 이온의 비행시간을 측정하여 분석물질의 질량을 분석한다[18](그림 2).

MALDI-TOF 질량분석기반 미생물 동정

MALDI-TOF 질량분석기반 미생물 동정법은 미생물 시료를 직접 또는 추출하여 얻은 단백질의 패턴을 측정하고 미생물 고유의 단백질 패턴 데이터베이스와 비교분석하여 미생물을 동정하는 방법이다. 미생물 동정에 사용되

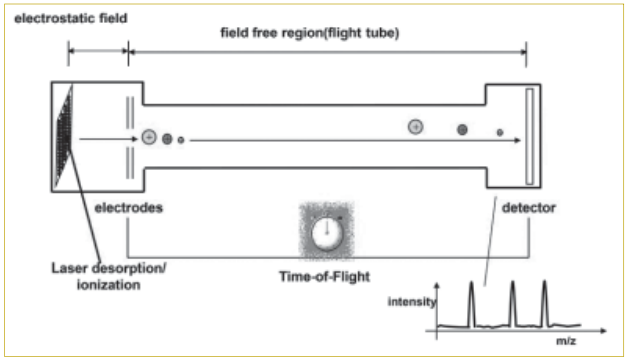

그림 2. MALDI-TOF(time of flight) 분석의 모식도[18]

는 대부분의 바이오마커는 세포 단백질의 20% 이상을 차지하는 ribosomal 단백질이다[19,20]. Ribosomal 단백질은 영양분 부족이나 저온 스트레스 조건에서 변화되기 때문에 질량분석을 이용한 미생물동정의 오인을 피하기 위해서는 저온 보관에 노출되지 않은 fresh한 시료를 사용하거나 즉시 질량 분석을 하지 못하는 경우에는 70% 에탄올에 보관해야 한다[18].

미생물 동정을 위한 MALDI-TOF 질량 분석 과정은 시료 준비, MALDI-TOF 스펙트라 획득, 데이터 분석의 3단계로 이루어진다(그림 3). 시료 준비과정은 MALDI-TOF 질량분석의 재현성 있는 결과를 얻는데 매우 중요한 부분이다. 배양된 미생물 콜로니를 MALDI 시료 플레이트에 도말하여 실온 건조한 후 그 위에 매트릭스를 도포하여 실온 건조시켜 균일한 크리스탈을 형성시킨다. 매트릭스 용액은 아세토니트릴, 메탄올과 같은 유기용매에 trifluoroacetic acid, formic acid등과 같은 강한 유기산을 첨가물로 사용하여 제조하는데, 강한 유기산은 MALDI TOF 분석에서 protonation 이온화를 도와주어 감도를 높이는 역할을 한다[21]. 또한 미생물 콜로니를 직접 분석할 경우에는 박테리아 셀의 파괴를 높여 미생물의 단백질이 잘 추출되게 하므로, 시료를 도말 한 후 매트릭스를 도포하기 전에 강한 유기산을 처리하는 것이 미생물 동정을 위한 재현성 있는 단백질 패턴을 얻는데 도움이 된다[22]. 그램 양성 박테리아는 peptidoglycan으로 구성된 murein layer를 가지고 있어 세포벽이 두꺼우므로 일반적인 시료 준비 방법으로는 단백질의 추출이 충분하지 않다. 따라서, 콜로니를 직접 분석하는 방법보다는 박테리아 세포에서 단백질을 추출하여 사용하는 전처리 방법이 적용되고 있다[23].

MALDI-TOF 질량 분석은 2 ~ 20 kDa 범위에서 스펙트라를 얻는다. 박테리아의 지놈에 의해서 코딩되는 주요 단백질이 4 ~ 15 kDa이고, Swissprot에 등록되어 있는 원핵생물의 단백질 분포가 15 kDa이하에서 가장 많을 뿐 아니라 보고된 문헌에 의하면 intact 박테리아 셀에서 검출된 바이오마커의 대부분이 15 kDa이하이기 때문에 미생물 동정 데이터베이스는 2 ~ 20 kDa 범위에서 구축되어 있다[22].

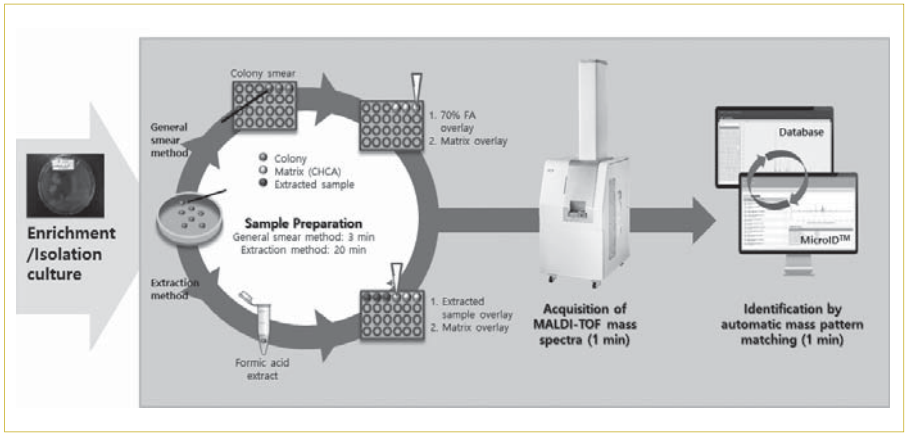

그림 3. MALDI-TOF 질량분석을 이용한 미생물 동정 방법

획득한 MALDI-TOF 질량 스펙트럼은 데이터베이스와 비교분석하여 동정을 하게 되는데, 데이터베이스는 크게 두 가지의 방법으로 구축할 수 있다. 지놈과 단백질 데이터베이스를 이용하는 방법과 다중 스펙트라의 mass peak (m/z)와 peak intensity에 근거한 통계적인 방법을 이용한다[22]. 두 방법 모두 장단점이 있는데, 지놈과 단백질 데이

표 1. 미생물 동정방법에 따른 소요시간, 비용, 실험자의 숙련도 수준 비교[26]

Method		Delay (mins)	Cost[a] (€)	Level of training
Manual	Gram staining	6	0.6	Medium to high
	API system identification (bioMèrieux)	1080–2880	4.6–6.0	Medium
	Antibiotic susceptibility test	1080–2880	6.6–7.4	Medium
Phoenix system (BD Diagnostics)	Identification and susceptibility test	300–1200	12.65	Medium
Vitek system (bioMèrieux)	Identification	300–480	5.9–8.23	Medium
	Identification and susceptibility test	300–480	10.38–12.71	
MALDI-TOF MS		6–8.5	1.43	Low to medium

[a] Costs have been tabulated based on December 2008 price list of the providers in France

터베이스를 이용하는 방법의 장점은 미생물의 유전자 염기서열이 대부분 완성되어 있어 유전자의 translation으로 부터 얻어지는 이론적인 단백질 데이터베이스를 구축할 수 있다. 또한 NCBI와 같은 open database도 많이 있어 이를 이용한 미생물 동정 데이터베이스를 실험 없이 바로 구축 할 수 있다. 그러나, 실제 시료에서는 PTM (Post translational modification)이 있을 수 있기 때문에 스펙트라 매칭이 잘 안 되는 경우가 있다. 예를 들어, 실제 살아있는 미생물세포의 일반적인 PTM에는 N-terminal Met이 제거되는 경우가 빈번히 있기 때문에 실제 데이터에서는 131 Da의 차이가 발생하므로 매칭이 되지 않을 수 있다[24]. 다중 스펙트라를 이용한 통계적인 방법은 실험결과를 바탕으로 한 것이어서 MALDI-TOF 질량 분석에서 오는 재현성이 늘 이슈가 되는 부분이다. 그러나 Wunschel 등(2005)은 표준화된 MALDI-TOF 질량 분석 방법을 제공하면 실험실 간에도 재현성 있는 결과를 얻기 때문에 다른 기기의 박테리아 라이브러리를 이용하더라도 미생물 동정이 가능할 수 있다고 보고하고 있다[25]. 일일이 균주를 테스트해서 라이브러리를 구축해야 한다는 번거로움이 있을 수 있지만, 다르게 생각하면 연구자의 목적에 부합한 새로운 데이터베이스를 구축할 수 있다는 장점이 될 수 있다. 현재 사용되고 임상에서 사용되고 있는 미생물동정법은 후자의 방법이다.

표 2. MALDI-TOF 질량분석을 이용한 미생물 동정법의 차별성

	자동 생화학 분석법	질량분석법
적용 가능 범위	박테리아	박테리아, 효모, 곰팡이
프로세스	증균/선택배지 확인시험을 위한 배양 그람염색, 생화학시험	증균/선택배지 콜로니직접 분석
분석시간	최소 3~16시간	1분 미만
분석량	30~60개/run	96~384개/run
데이터 베이스	Vitek: 560여종	Vitek MS: IVD[1] 750, FLD[2] 1300여종 Bruker Biotyper: 2400여종 ASTA MicroID: 2600여종
데이터 베이스 확장여부	Closed database이나 SRF[3]기능으로 DB추가 가능	Open database
실험방법의 표준화	균별로 카드 선택, 탁도 상이	동일한 시약, 동일한 실험방법 사용
실험데이터 관리	불가능	가능

[1] Clinically relevant species database

[2] Broad research database for microorganisms

[3] Supplemental React File

MALDI-TOF 질량분석기반 식중독균 동정의 평가

MALDI-TOF 질량분석기반 미생물 동정법은 다른 상업용 동정시스템에 비하여 낮은 숙련도, 적은 분석 비용,

그리고 신속한 동정이 가능하다고 Seng 등(2009)[26]은 보고 하였다(표 1). 또한, 자동생화학 분석법에 비해 표 2와 같은 차별성을 갖는다. 식품에서 분리한 식중독균의 동정에 MALDI-TOF 질량분석을 이용한 보고는 없지만, 임상시료에서 분리된 식중독균의 동정에 대해서는 신속하고 신뢰할 만한 방법임을 평가한 많은 연구[26~36]가 있다.

식중독균인 *Clostridium perfringens*와 *Clostridium botulinum*을 포함한 31 여종의 *Clostridium* 64 균주를 구별하는데, 단 하나의 콜로니로 분석이 가능할 뿐 아니라 16S rDNA sequence가 1.5%의 차이만을 가지고 있는 매우 유사한 박테리아 *C. septicum*과 *C. chavoei*를 정확히 구별할 수 있다고 보고하고 있다[27](Grosse-Herrenthey 등, 2008). Parisi 등(2008)은 Linear Discriminant Analysis (LDA), Soft Independent Modelling of Class Analogy (SIMCA) 등의 통계 기법을 사용한 데이터분석 알고리즘을 적용하여 다양한 실험조건(배양조건과 배양시간)에서도 병원균인 *E. coli* O15:H7와 비병원균인 *E. coli* MC1061의 구별이 가능함을 보여주었다[28]. *Listeria monocytogenes*의 판별뿐 아니라 실제 질병을 일으키는 혈청형도 구별할 수 있어 식품가공시설과 병원에서 생물학적 위험을 모니터링하고 전염병을 추적하는데 MALDI-TOF 질량분석은 유용한 방법이라고 보고하였다[29]. Szabados 등(2010)은 황색포도상구균(*S. aureus*) 612 균주와 20여종의 *Stapylococci* 412 균주에 대해 MALDI-TOF 질량분석의 동정률을 확인하였을 때 거의 100%의 정확도를 나타내었고, 자동생화학 분석장치 (VITEK2, bioMérieux), DNA Sequencing 등의 다른 동정법보다 분석시간이 빠르다고 보고하였다[30]. Sparbier 등(2012)[31]은 이틀 내에 4,847개의 임상시료를 분석하여 살모넬라 (*Salmonella* spp.) 검출 유무를 확인하였고, 장염비브리오균 (*V. parahaemolyticus*)와 밀접하게 연관되어 있는 *Vibrio* spp.를 구별하는 질량분석용 바이오마커를 발굴하였다[32,33]. *C. jejuni*와 *C. coli*를 포함한 *Campylobacter* spp. 동정에 대한 정확성이 상용되는 생화학분석보다 높고, DNA sequencing 결과와 거의 일치한다고 Bessède 등(2011)은 보고하였다[34]. Wieser 등(2012)은 약 1200여 개의 시료에 대해 MALDI-TOF 질량분석기반 미생물 동정을 수행하였고 그 정확성은 97%였으며, BD사의 Phoenix 시스템과 bioMérieux사의 API 키트를 이용한 생화학분석에 비해 0.5% 높은 결과를 얻었다[36].

MALDI-TOF 질량분석기반 식중독균 동정의 도전

현재 국내에서 식품의 안전한 관리를 위해 식품위생법에 따라 관리되고 있는 미생물의 시험법은 대장균군(Coliform bacteria), 대장균(*Escherichia coli*), 살모넬라(*Salmonella* spp.), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 장염비브리오(*Vibrio parahaemolyticus*), 클로스트리듐 퍼프리젠스(*Clostridium perfringens*), 리스테리아 모노사이토젠스(*Listeria monocytogenes*), 여시니아 엔테로콜리티카(*Yersinia enterocolitica*), 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 캠필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*), 캠필로박터 콜리(*Campylobacter coli*), 엔테로박터 사카자키(*Enterobacter sakazakii*), 장출혈성 대장균(*Enterohemorrhagic E. coli*), 클로스트리듐 보툴리늄(*Clostridium botulinum*), 탄저균(*Bacillus anthracis*), 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*), 브루셀라균(*Brucella*)이 있다. MALDI-TOF 질량분석으로 이들 종(species)을 동정하기 위해서는 이 종들을 포함하는 속(genus) 까지 데이터베이스로 갖추어져 있어야 정확한 분석을 할 수 있다. 식중독균을 동정하기 위한 미생물 데이터베이스를 구축하기 위해서는 약 888 종에 대한 단백질 질량스펙트럼의 정보가 필요하며, 국내에서 분양 가능한 미생물 300 종에 대해 우선 구축하여 검증해 볼 수 있다(표 3).

MALDI-TOF 질량분석기반 미생물 동정은 진단의학분야에서 사용이 증가하고 있고 종래의 생화학분석법을 대체하고 있다. MALDI-TOF 질량분석기반 미생물 동정은 ribosomal protein 스펙트라의 차이에 의해 구별되기

표 3. 식품공전 상의 미생물 확인시험을 위한 MALDI-TOF 질량 스펙트럼 데이터베이스 구축이 필요한 미생물 목록

Coliform bacteria (50)	*Salmonella* (2)	*V. aerogenes*	*V. pacinii*	*C. bryantii*	*C. hungatei*	*C. psychrophilum*	*C. vincentii*
Citrobacter (12)	*S. bongori*	*V. aestivus*	*V. parahaemolyticus*	*C. butyricum*	*C. hydrogeniformans*	*C. puniceum*	*C. viride*
C. amalonaticus	*S. enterica*	*V. aestuarianus*	*V. pectenicida*	*C. cadaveris*	*C. hydroxybenzoicum*	*C. purinilyticum*	*C. xylanolyticum*
C. braakii	*Staphylococcus* (50)	*V. agarivorans*	*V. penaeicida*	*C. caenicola*	*C. hylemonae*	*C. putrefaciens*	*C. xylanovorans*
C. diversus	*S. agnetis*	*V. albensis*	*V. pomeroyi*	*C. caminithermale*	*C. indolis*	*C. putrificum*	*Yersinia* (18)
C. farmeri	*S. arlettae*	*V. alfacsensis*	*V. ponticus*	*C. carboxidivorans*	*C. innocuum*	*C. quercicolum*	*Y. aldovae*
C. freundii	*S. aureus*	*V. alginolyticus*	*V. proteolyticus*	*C. carnis*	*C. intestinale*	*C. quinii*	*Y. aleksiciae*
C. gillenii	*S. auricularis*	*V. anguillarum*	*V. rotiferianus*	*C. cavendishii*	*C. irregulare*	*C. ramosum*	*Y. bercovieri*
C. koseri	*S. capitis*	*V. areninigrae*	*V. rubor*	*C. celatum*	*C. isatidis*	*C. rectum*	*Y. enterocolitica*
C. murliniae	*S. caprae*	*V. artabrorum*	*V. rumoiensis*	*C. celerecrescens*	*C. jejuense*	*C. roseum*	*Y. entomophaga*
C. rodentium	*S. carnosus*	*V. atlanticus*	*V. salmonicida*	*C. cellobioparum*	*C. josui*	*C. saccharobutylicum*	*Y. frederiksenii*
C. sedlakii	*S. caseolyticus*	*V. atypicus*	*V. scophthalmi*	*C. cellulofermentans*	*C. kluyveri*	*C. saccharogumia*	*Y. intermedia*
C. werkmanii	*S. chromogenes*	*V. azureus*	*V. splendidus*	*C. cellulolyticum*	*C. lactatifermentans*	*C. saccharolyticum*	*Y. kristensenii*
C. youngae	*S. cohnii*	*V. brasiliensis*	*V. superstes*	*C. cellulosi*	*C. lacusfryxellense*	*C. saccharoperbutylacetonic*	*Y. massiliensis*
Enterobacter (24)	*S. condimenti*	*V. bubulus*	*V. tapetis*	*C. cellulovorans*	*C. laramiense*	*C. sardiniense*	*Y. mollaretii*
E. aerogenes	*S. delphini*	*V. calviensis*	*V. tasmaniensis*	*C. chartatabidum*	*C. lavalense*	*C. sartagoforme*	*Y. nurmii*
E. agglomerans	*S. devriesei*	*V. campbellii*	*V. tubiashii*	*C. chauvoei*	*C. lentocellum*	*C. scatologenes*	*Y. pekkanenii*
E. amnigenus	*S. epidermidis*	*V. casei*	*V. vulnificus*	*C. chromitireducens*	*C. lentoputrescens*	*C. schirmacherense*	*Y. pestis*
E. arachidis	*S. equorum*	*V. chagasii*	*V. wodanis*	*C. citroniae*	*C. leptum*	*C. scindens*	*Y. philomiragia*
E. asburiae	*S. felis*	*V. cholerae*	*V. xuii*	*C. clariflavum*	*C. limosum*	*C. septicum*	*Y. pseudotuberculosis*
E. cancerogenous	*S. fleurettii*	*V. cincinnatiensis*	*Clostridium* (207)	*C. clostridioforme*	*C. litorale*	*C. sordellii*	*Y. rohdei*
E. cloacae	*S. gallinarum*	*V. coralliilyticus*	*C. absonum*	*C. coccoides*	*C. lituseburense*	*C. sphenoides*	*Y. ruckeri*
E. cowanii	*S. haemolyticus*	*V. crassostreae*	*C. aceticum*	*C. cochlearium*	*C. ljungdahlii*	*C. spiroforme*	*Y. similis*
E. dissolvens	*S. hominis*	*V. cyclitrophicus*	*C. acetireducens*	*C. colicanis*	*C. lortetii*	*C. sporogenes*	*Listeria (10)*
E. gergoviae	*S. hyicus*	*V. diabolicus*	*C. acetobutylicum*	*C. colinum*	*C. lundense*	*C. sporosphaeroides*	*L. fleischmannii*
E. helveticus	*S. intermedius*	*V. diazotrophicus*	*C. acidisoli*	*C. collagenovorans*	*C. magnum*	*C. stercorarium*	*L. grayi*
E. hormaechei	*S. kloosii*	*V. ezurae*	*C. acidotolerans*	*C. colletant*	*C. malenominatum*	*C. sticklandii*	*L. innocua*
E. intermedius	*S. leei*	*V. fluvialis*	*C. acidurici*	*C. cylindrosporum*	*C. mangenotii*	*C. straminisolvens*	*L. ivanovii*
E. kobei	*S. lentus*	*V. fortis*	*C. aerotolerans*	*C. difficile*	*C. mayombei*	*C. subterminale*	*L. marthii*
E. ludwigii	*S. lugdunensis*	*V. furnissii*	*C. aestuarii*	*C. diolis*	*C. methoxybenzovorans*	*C. sufflavum*	*L. monocytogenes*
E. mori	*S. lutrae*	*V. gallicus*	*C. akagii*	*C. disporicum*	*C. methylpentosum*	*C. sulfidigenes*	*L. rocourtiae*
E. nimipressuralis	*S. massiliensis*	*V. gazogenes*	*C. aldenense*	*C. drakei*	*C. neopropionicum*	*C. symbiosum*	*L. seeligeri*
E. oryzae	*S. microti*	*V. gigantis*	*C. aldrichii*	*C. durum*	*C. nexile*	*C. tagluense*	*L. welshimeri*
E. pulveris	*S. muscae*	*V. halioticoli*	*C. algidicarnis*	*C. estertheticum*	*C. nitrophenolicum*	*C. tepidiprofundi*	*L. welshimeri*
E. pyrinus	*S. nepalensis*	*V. harveyi*	*C. algidixylanolyticum*	*C. fallax*	*C. novyi*	*C. termitidis*	*Bacillus (292)*
E. radicincitans	*S. pasteuri*	*V. hepatarius*	*C. algifaecis*	*C. felsineum*	*C. oceanicum*	*C. tertium*	*B. acidicaler*
E. sakazakii	*S. patrasii*	*V. hippocampi*	*C. algoriphilum*	*C. fervidum*	*C. orbiscindens*	*C. tetani*	*B. acidicola*
E. taylorae	*S. petterkoferi*	*V. hispanicus*	*C. alkalicellulosi*	*C. fimetarium*	*C. oroticum*	*C. tetanomorphum*	*B. acidiproducens*
E. turicensis	*S. piscifermentans*	*V. ichthyoenteri*	*C. aminophilum*	*C. formicaceticum*	*C. oxalicum*	*C. thermaceticum*	*B. acidocaldarius*
Klebsiella (5)	*S. pseudintermedius*	*V. indicus*	*C. aminovalericum*	*C. frigidicarnis*	*C. papyrosolvens*	*C. thermautotrophicum*	*B. acidoterrestris*
K. granulomatis	*S. pseudolugdunensis*	*V. kanaloae*	*C. amygdalinum*	*C. frigoris*	*C. paradoxum*	*C. thermoalcaliphilum*	*B. aeolius*
K. oxytoca	*S. pulvereri*	*V. lentus*	*C. amylolyticum*	*C. ganghwense*	*C. paraputrificum*	*C. thermobutyricum*	*B. aerius*
K. planticola (until 2001)	*S. rostri*	*V. litoralis*	*C. arbusti*	*C. gasigenes*	*C. paraputrificum*	*C. thermocellum*	*B. aerophilus*
K. pneumoniae	*S. saccharolyticus*	*V. logei*	*C. arcticum*	*C. ghonii*	*C. pascui*	*C. thermocopriae*	*B. agaradhaerens*
K. terrigena	*S. saprophyticus*	*V. mediterranei*	*C. argentinense*	*C. glycolicum*	*C. pasteurianum*	*C. thermohydrosulfuricum*	*B. agri*
Escherichia (8)	*S. schleiferi*	*V. metschnikovii*	*C. asparagiforme*	*C. glycyrrhizinilyticum*	*C. peptidivorans*	*C. thermolacticum*	*B. aidingensis*
E. albertii	*S. sciuri*	*V. mimicus*	*C. aurantibutyricum*	*C. grantii*	*C. perenne*	*C. thermopalmarium*	*B. akibai*
E. blattae	*S. simiae*	*V. mytili*	*C. baratii*	*C. haemolyticum*	*C. perfringens*	*C. thermopapyrolyticum*	*B. alcalophilus*
E. coli	*S. simulans*	*V. natriegens*	*C. barkeri*	*C. halophilum*	*C. pfennigii*	*C. thermosaccharolyticum*	*B. algicola*
E. coli O157:H7	*S. stepanovicii*	*V. navarrensis*	*C. bartlettii*	*C. hastiforme*	*C. phytofermentans*	*C. thermosuccinogenes*	*B. alginolyticus*
E. fergusonii	*S. succinus*	*V. neonatus*	*C. beijerinckii*	*C. hathewayi*	*C. piliforme*	*C. thermosulfurigenes*	*B. alkalidiazotrophicus*
E. hermannii	*S. vitulinus*	*V. neptunius*	*C. bifermentans*	*C. herbivorans*	*C. polysaccharolyticum*	*C. thiosulfatireducens*	*B. alkalinitrilicus*
E. vulneris	*S. warneri*	*V. nereis*	*C. bolteae*	*C. hiranonis*	*C. populeti*	*C. tyrobutyricum*	*B. alkalisediminis*
*Verotoxin-producing E. coli**	*S. xylosus*	*V. nigripulchritudo*	*C. bornimense*	*C. histolyticum*	*C. propionicum*	*C. ultunense*	*B. alkalitelluris*
Hafnia (1)	*Vibrio* (77)	*V. ordalii*	*C. botulinum*	*C. homopropionicum*	*C. proteoclasticum*	*C. uliginosum*	*B. altitudinis*
H. alvei	*V. adaptatus*	*V. orientalis*	*C. bowmanii*	*C. huakuii*	*C. proteolyticum*	*C. villosum*	*B. alveayuensis*

B. alvei	*B. dipsosauri*	*B. itronensis*	*B. okuhidensis*	*B. solimangrovi*	*C. helveticus*	*M. conspicuum*	*M. neoaurum*
B. amyloliquefaciens	*B. drentensis*	*B. jeotgali*	*B. oleronius*	*B. solisalsi*	*C. hominis*	*M. cookii*	*M. neworleansense*
B. amyloliticus	*B. edaphicus*	*B. kaustophilus*	*B. oryzaecorticis*	*B. songklensis*	*C. hyointestinalis*	*M. cosmeticum*	*M. nonchromogenicum*
B. andreesenii	*B. ehimensis*	*B. kobensis*	*B. oshimensis*	*B. sonorensis*	*C. hyointestinalis*	*M. diernhoferi*	*M. novocastrense*
B. aneurinilyticus	*B. eiseniae*	*B. kochii*	*B. pabuli*	*B. sphaericus*	*C. insulaenigrae*	*M. doricum*	*M. obuense*
B. anthracis	*B. enclensis*	*B. kokeshiiformis*	*B. pakistanensis*	*B. sporothermodurans*	*C. jejuni*	*M. duvalii*	*M. orygis*
B. aquimaris	*B. endophyticus*	*B. koreensis*	*B. pallidus*	*B. stearothermophilus*	*C. lanienae*	*M. elephantis*	*M. palustre*
B. arenosi	*B. endoradicis*	*B. korlensis*	*B. panacisoli*	*B. stratosphericus*	*C. lari*	*M. fallax*	*M. parafortuitum*
B. arseniciselenatis	*B. farraginis*	*B. kribbensis*	*B. panaciterrae*	*B. subterraneus*	*C. mucosalis*	*M. farcinogenes*	*M. parascrofulaceum*
B. arsenicus	*B. fastidiosus*	*B. krulwichiae*	*B. pantothenticus*	*B. subtilis*	*C. mustelae*	*M. flavescens*	*M. parmense*
B. arvi	*B. fengqiuensis*	*B. laevolacticus*	*B. parabrevis*	*B. taeanensis*	*C. nitrofigilis*	*M. florentinum*	*M. peregrinum*
B. aryabhattai	*B. firmus*	*B. larvae*	*B. paraflexus*	*B. tequilensis*	*C. peloridis*	*M. fluoroanthenivorans*	*M. phlei*
B. asahii	*B. flexus*	*B. laterosporus*	*B. pasteurii*	*B. thermantarcticus*	*C. pylori*	*M. fortuitum*	*M. phocaicum*
B. atrophaeus	*B. foraminis*	*B. lautus*	*B. patagoniensis*	*B. thermoaerophilus*	*C. rectus*	*M. frederiksbergense*	*M. pinnipedii*
B. aurantiacus	*B. fordii*	*B. lehensis*	*B. peoriae*	*B. thermoamylovorans*	*C. showae*	*M. gadium*	*M. porcinum*
B. axarquiensis	*B. formosus*	*B. lentimorbus*	*B. persepolensis*	*B. thermocatenulatus*	*C. sputorum*	*M. gadium*	*M. poriferae*
B. azotofixans	*B. fortis*	*B. lentus*	*B. persicus*	*B. thermocloacae*	*C. subantarcticus*	*M. gastri*	*M. pseudoshottsii*
B. azotoformans	*B. fumarioli*	*B. licheniformis*	*B. pervagus*	*B. thermocopriae*	*C. upsaliensis*	*M. genavense*	*M. psychrotolerans*
B. badius	*B. funiculus*	*B. ligniniphilus*	*B. plakortidis*	*B. thermodenitrificans*	*C. ureolyticus*	*M. gilvum*	*M. pulveris*
B. barbaricus	*B. fusiformis*	*B. litoralis*	*B. pocheonensis*	*B. thermoglucosidasius*	*C. volucris*	*M. goodii*	*M. pyrenivorans*
B. bataviensis	*B. galactophilus*	*B. locisalis*	*B. polygoni*	*B. thermolactis*	*Mycobacterium* (139)	*M. gordonae*	*M. rhodesiae*
B. beijingensis	*B. galactosidilyticus*	*B. luciferensis*	*B. polymyxa*	*B. thermoleovorans*	*M. abscessus*	*M. haemophilum*	*M. saskatchewanense*
B. benzoevorans	*B. galliciensis*	*B. luteolus*	*B. popilliae*	*B. thermophilus*	*M. africanum*	*M. hassiacum*	*M. scrofulaceum*
B. beringensis	*B. gelatini*	*B. luteus*	*B. pseudalcaliphilus*	*B. thermoruber*	*M. agri*	*M. heckeshornense*	*M. senegalense*
B. berkeleyi	*B. gibsonii*	*B. macauensis*	*B. pseudofirmus*	*B. thermosphaericus*	*M. aichiense*	*M. heidelbergense*	*M. seoulense*
B. beveridgei	*B. ginsengi*	*B. macerans*	*B. pseudomycoides*	*B. thiaminolyticus*	*M. alvei*	*M. hiberniae*	*M. septicum*
B. bogoriensis	*B. ginsengihumi*	*B. macquariensis*	*B. psychrodurans*	*B. thioparans*	*M. arosiense*	*M. hodleri*	*M. shimoidei*
B. boroniphilus	*B. ginsengisoli*	*B. macyae*	*B. psychrophilus*	*B. thuringiensis*	*M. arupense*	*M. holsaticum*	*M. shottsii*
B. borstelensis	*B. globisporus*	*B. malacitensis*	*B. psychrosaccharolyticus*	*B. tianshenii*	*M. asiaticum*	*M. houstonense*	*M. simiae*
B. brevis Migula	*B. glucanolyticus*	*B. mannanilyticus*	*B. psychrotolerans*	*B. trypoxylicola*	*M. aubagnense*	*M. immunogenum*	*M. smegmatis*
B. butanolivorans	*B. gordonae*	*B. marinus*	*B. pulvifaciens*	*B. tusciae*	*M. asorum*	*M. indicus pranii*	*M. sphagni*
B. canaveralius	*B. gottheilii*	*B. marisflavi*	*B. pumilus*	*B. validus*	*M. austroafricanum*	*M. interjectum*	*M. suricattae*
B. carboniphilus	*B. graminis*	*B. marismortui*	*B. purgationiresistens*	*B. vallismortis*	*M. avium*	*M. intermedium*	*M. szulgai*
B. cecembensis	*B. halmapalus*	*B. marmarensis*	*B. pycnus*	*B. vedderi*	*M. avium hominissuis*	*M. intracellulare*	*M. terrae*
B. cellulosilyticus	*B. haloalkaliphilus*	*B. massiliensis*	*B. qingdaonensis*	*B. velezensis*	*M. avium paratuberculosis*	*M. kansasii*	*M. thermoresistibile*
B. centrosporus	*B. halochares*	*B. megaterium*	*B. qingshengii*	*B. vietnamensis*	*M. avium silvaticum*	*M. komossense*	*M. tokaiense*
B. cereus	*B. halodenitrificans*	*B. mesonae*	*B. reuszeri*	*B. vireti*	*M. boenickei*	*M. kubicae*	*M. triplex*
B. chagannorensis	*B. halodurans*	*B. methanolicus*	*B. rhizosphaerae*	*B. vulcani*	*M. bohemicum*	*M. kumamotonense*	*M. triviale*
B. chitinolyticus	*B. halophilus*	*B. methylotrophicus*	*B. rigui*	*B. wakoensis*	*M. bolletii*	*M. lacus*	*M. tuberculosis*
B. chondroitinus	*B. halosaccharovorans*	*B. migulanus*	*B. riris*	*B. weihenstephanensis*	*M. botniense*	*M. lentiflavum*	*M. tusciae*
B. choshinensis	*B. hemicellulosilyticus*	*B. mojavensis*	*B. safensis*	*B. xiamenensis*	*M. bovis*	*M. leprae*	*M. ulcerans*
B. chungangensis	*B. hemicentroti*	*B. mucilaginosus*	*B. salarius*	*B. xiaoxiensis*	*M. bovis BCG*	*M. lepraemurium*	*M. vaccae*
B. cibi	*B. herbersteinensis*	*B. muralis*	*B. salexigens*	*B. zhanjiangensis*	*M. branderi*	*M. lepromatosis*	*M. vanbaalenii*
B. circulans	*B. horikoshii*	*B. murimartini*	*B. saliphilus*	*Campylobacter* (33)	*M. brisbanense*	*M. liflandii*	*M. wolinskyi*
B. clarkii	*B. horneckiae*	*B. mycoides*	*B. schlegelii*	*C. avium*	*M. brumae*	*M. madagascariense*	*M. xenopi*
B. clausii	*B. horti*	*B. naganoensis*	*B. sediminis*	*C. butzleri*	*M. canariasense*	*M. magaritense*	*M. yongonense*
B. coagulans	*B. huizhouensis*	*B. nanhaiensis*	*B. selenatarsenatis*	*C. canadensis*	*M. canetti*	*M. malmoense*	*Brucella* (10)
B. coahuilensis	*B. humi*	*B. nanhaiseditminis*	*B. selenitireducens*	*C. cinaedi*	*M. caprae*	*M. marinum*	*B. abortus*
B. cohnii	*B. hwajinpoensis*	*B. nealsonii*	*B. seohaeanensis*	*C. coli*	*M. celatum*	*M. massiliense*	*B. canis*
B. composti	*B. idriensis*	*B. neidei*	*B. shacheensis*	*C. concisus*	*M. chelonae*	*M. microti*	*B. ceti*
B. curdlanolyticus	*B. indicus*	*B. neizhouensis*	*B. shackletonii*	*C. corcagiensis*	*M. chimaera*	*M. monacense*	*B. inopinata*
B. cycloheptanicus	*B. infantis*	*B. niabensis*	*B. siamensis*	*C. cryaerophilus*	*M. chitae*	*M. montefiorense*	*B. melitensis*
B. cytotoxicus	*B. infernus*	*B. niacini*	*B. silvestris*	*C. cuniculorum*	*M. chlorophenolicum*	*M. moriokaense*	*B. microti*
B. daliensis	*B. insolitus*	*B. novalis*	*B. simplex*	*C. curvus*	*M. chubuense*	*M. mucogenicum*	*B. neotomae*
B. decisifrondis	*B. invictae*	*B. oceanisediminis*	*B. sinesalis*	*C. fennelliae*	*M. colombiense*	*M. mungi*	*B. ovis*
B. decolorationis	*B. iranensis*	*B. odysseyi*	*B. smithii*	*C. fetus*	*M. conceptionense*	*M. murale*	*B. pinnipedialis*
B. deserti	*B. isabeliae*	*B. okhensis*	*B. soli*	*C. gracilis*	*M. confluentis*	*M. nebraskense*	*B. suis*

* 병원성대장균 {장출혈성대장균(enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC), 장독소형대장균(enterotoxigenic *E. coli*, ETEC), 장병원성대장균(enteropathogenic *E. coli*, EPEC), 장침입성대장균(enteroinvasive *E. coli*, EIEC), 장흡착성대장균(enteroaggregative *E. coli*, EAEC)}

굵은 글씨: 국내 분양 가능한 미생물. 회색바탕 셀: 식품 안전관리를 위해 검사하는 미생물

때문에 16S rDNA sequence와 밀접한 관련이 있다. 즉, 이질균 (*Shigella* spp.)와 대장균 (*E. coli*), 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*)와 바실러스 서렌저스 (*Bacillus thuringiensis*) 등과 같이 ribosomal protein sequence의 동질성이 높은 경우에는 구별이 어렵다. 따라서, 동질성이 높은 박테리아를 구별하기 위한 MALDI-TOF 질량분석 연구가 앞으로의 도전분야이다.

결 론

식품의 안전성을 위협하는 식중독균 등 위해미생물이 다양하게 존재하기 때문에, 신속하고 정확한 미생물동정법은 식품산업에서 매우 중요하다. 현재, 생화학적 특성을 이용한 동정법이 주로 사용되고 있으나, 식품의 교역증대로 기하급수적으로 늘어나는 식품 검사량에 대비해 보다 빠르고 정확한 동정법이 요구되고 있다. 지금까지 살펴본 MALDI-TOF 질량분석기반 미생물 동정법은 초기 장비구축 비용이 고가이지만, 단시간에 많은 양의 데이터를 얻고 그 데이터를 통해서 미생물 종(species)을 정확하게 분석할 수 있다는 점에서 매우 효율적이다. MALDI-TOF 질량분석에서 미생물 동정을 하지 못한 경우의 대부분은 관련 미생물에 대한 정보가 데이터베이스에 존재하지 않기 때문이므로 사용 목적에 적합한 데이터베이스의 구축과 함께 데이터베이스의 매칭을 위한 알고리즘 개발 및 응용이 필요하다. 이 같은 과정을 통해 식품산업에서도 MALDI-TOF 질량분석기반 미생물 동정법은 효과적이고 정확한 미생물 확인 기술로서 자리매김을 할 수 있을 것이다.

감사의 글

이 논문은 2015년도 정부(미래창조부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(NRF-2015R1C1A1A02037599)에 의해 이루어진 것입니다.

참고 문헌

1. Carroll, K. C. and Weinstein, M. P. Manual and automated systems for detection and identification of microorganisms. In: Manual of clinical microbiology. 9th ed., Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A. (ed). Washington D.C., American Society for Microbiology, 192-217 (2007)

2. Kim, H. W., Ham, J-S., Seol, K-H., Han, S., Park, B. Y., and Oh, M-H. MALDI-TOF MS System for the identification of microorganisms in milk and dairy products. *Korean J. Dairy Sci. Technol*. 30(2): 131-137 (2012)

3. Stackebrandt, E., Goebel, B. M. A place for DNA-DNA ressoaciation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 44(4): 846-849 (1994)

4. Anhalt, J. P. and Fenselau, C. Identification of bacteria using mass spectrometry. *Anal. Chem.* 47: 219-225 (1975)

5. Claydon, M. A., Davey, S. N., Edwards-Jones, V., and Gordon, D. B. The rapid identification of intact microorganisms using mass spectrometry. *Nature biotechnology* 14: 1584-1586 (1996)

6. Holland, R. D., Wilkes, J. G., Ralli, F., Sutherland, J. B., Persons, C. C., Voorhees, K. J., and Lay, Jr., J. O. Rapid Identification of Intact Whole Bacteria Based on Spectral Patterns using Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization with Time-of-flight Mass Spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 10: 1227-1232 (1996)

7. Krishnamurthy, T., Ross, P. L., and Rajamani, U. Detection of Pathogenic and Non-pathogenic Bacteria by Matrix-assisted Laser Desorptiod Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 10: 883-888 (1996)

8. Krishnamurthy, T. and Ross, P. L. Rapid Identification of Bacteria by Direct Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometric Analysis of Whole Cells. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 10: 1992-1996 (1996)

9. Kazuyuki Sogawa, Masaharu Watanabe, Kenichi Sato, Syunsuke Segawa, Chisato Ishii, Akiko Miyabe,

Syot Murata, Tomoko Saito, Fumio Nomura, Use of the MALDI BioTyper system with MALDI-TOF mass spectrometry for rapid identification of microorganisms. *Anal. Bioanal. Chem.* 400: 1905-1911 (2011)

10. Anderson Fernandes Santos, Rodrigo Cayô, Lygia Schandert, and Ana Cristina Gales Evaluation of MALDI-TOF MS in the microbiology laboratory. *SJ Bras Patol Med Lab*. 49(3): 191-197 (2013)

11. Elena De Carolis, Antonietta Vella, Luisa Vaccaro, Riccardo Torelli, Teresa Spanu, Barbara Fiori, Brunella Posteraro, Maurizio Sanguinetti, Application of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *J Infect Dev Ctries* 8(9):1081-1088 (2014)

12. Ashutosh Panda, Sravya Kurapati, Jyotish C. Samantaray, Alagiri Srinivasan, and Shehla Khalil MALDI-TOF mass spectrometry proteomic based identification of clinical bacterial isolates. *Indian J Med Res* 140: 770-777 (2014)

13. 김택수, 이경훈, 홍윤지, 황상미, 박정수, 박경운, 송정한, 김의종, MALDI-TOF MS의 임상검사실 내 적용과 미생물검사의 패러다임 변화. *Lab Med Online* 5(4): 176-187 (2015)

14. TeKippe, E. M. and Burnham, C.-A. D. Evaluation of the Bruker Biotyper and VITEK MS MALDI-TOF MS systems for the identification of unusual and/or difficult-to-identify microorganisms isolated form clinical specimens. *Eur J. Clin. Microbiol. Infect Dis.* 33: 2163-2171 (2014)

15. Lee, W., Kim, M., Yong, D., Jeong, S. H., Lee, K., and Chong, Y. Evaluation of VITEK Mass Spectrometry (MS), a MALDI-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight MS System for Identification of Anaerobic Bacteria. *Ann Lab Med.* 35: 69-75 (2015)

16. Karas, M and Hillenkamp, F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10000 daltons. *Anal. Chem.* 60: 2299-2303 (1988)

17. Sauer, S. and Kliem, M. Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria. *Nature Reviews: Microbiology* 8: 74-82 (2010)

18. Pavlovic M., Huber, I., Konrad, R. and Busch, U. Application of MALDI-TOF MS for the identification of food borne bacteria. *The Open Microbiology Journal* 7: 135-141 (2013)

19. Bremer, H. and Dennis, P. P. In Escherichia coli and Salmonella. Neidhardt F. D., Ed., ASM Press, Washington, DC, 1: 167-182 (1996)

20. Ryzhov, V. and Fenselau, C. Characterization of the protein subset desorbed by MALDI from whole bacterial cells. *Anal. Chem.* 73: 746-750 (2001)

21. Evason, D. J., Claydon, M. A. and Gordon, D. B. Effects of ion mode and matrix additives in the identification of bacteria by intact cell mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 14: 669 - 672 (2000)

22. Fenselau, C. and Demire, P. A. Characterization of intact microorganisms by MALDI mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews* 20: 157-171 (2001)

23. Alatoom, A. A., Cunningham, S. A., Ihde, S. M., Mandrekar, J., and Patel, R. Comparison of direct colony method versus extraction method for identification of Gram-positive Cocci by use of Bruker Biotyper matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 49: 2868-2873 (2011)

24. Demirev, P. A., Lin, J. S., Pineda, F. J., and Fenselau, C. Bioinformatics and mass spectrometry for microorganism identification: Proteome-wide post-translational modifications and database search algorithms for characterization of intact *H. pylori*. *Anal. Chem.* 73: 4566-4573 (2001)

25. Wunschel, S. C., Jarman, K. H., Petersen, C. E., Valentine, N. B., and Wahl, K. L. Bacterial analysis by MALDI-TOF mass spectrometry: An inter-iaboratory comparison. *J Am Soc Mass Spectrom* 16: 456 - 462 (2005)

26. Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F, Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis.* 49: 543-551 (2009)

27. Grosse-Herrenthey, A., Maier, T., Gessler, F., Schaumann, R., Böhnel, H., Kostrzewa, M., Kruger, M. Challenging the problem of clostridial identification with matrix-assisted laser desorption and ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *Anaerobe* 14: 242-249 (2008)

28. Parisi, D., Magilulo, M., Nanni, P., Casale, M., Forina,

M., Roda, A. Analysis and classification of bacteria by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry and a chemometric approach. *Anal. Bioanal. Chem.* 391: 2127-2134 (2008)

29. Barbuddhe, S. B., Maier, T., Schwarz, G., Kostrzewa, M., Hof, H., Domann, E., Chakraborty, T., and Hain, T. Rapid identification and typing of *Listereia* species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 74(17): 5402-5407 (2008)

30. Szabados, F., Woloszyn, J., Richter, C., Kaase, M. and Gatermann, S. Identification of molecularly defined *Staphylococcus aureus* strains using matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry and the Biotyper 2.0 database. *Journal of Medical Microbiology* 59: 787-790 (2010)

31. Sparbier, K., Weller, U., Boogen, C., Kostrewa, M. Rapid detection of *Salmonella* sp. by means of a combination of selective enrichment broth and MALDI-TOF MS. *Eur J. Clin. Microbiol. Infect Dis.* 31: 767-773 (2012)

32. Dieckmann, R., Strauch, E., Alter, T. Rapid identification and characterization of *Vibrio* species using whole-cell MALDI-TOF mass spectrometry. *J. Appl. Microbiol.* 109: 199-211 (2010)

33. Hazen, T. H., Martinez, R. J., Chen, Y. Rapid identification of *Vibrio parahaemolyticus* by whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 6745-6756 (2009)

34. Bessède, E., Solecki, O., Sifré, E., Labadi, L., Mégraud, F. Identification of *Campylobacter* species and related organisms by matrix assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *Clin. Microbiol. Infect.* 17: 1735-1739 (2011)

35. Bizzini, A., Durussel, C., Bille, J., Greub, G., Prod'hom, G. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains. *J. Clin. Microbiol.* 48: 1549-1554 (2010)

36. Wieser, A., Schneider, L., Jung, J. Schubert, S. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 93: 965-974 (2012)

37. http://www.biomerieux.com/en/biomerieux-announces-us-fda-clearance- vitekr-ms-revolutionary-technology-which-reduces-microbial

38. Bang, H-J., Lee, S-H., Kim, Y-S., Kim, S-P., Lee, W., and Ha, S-D. International trends of official analytical methods for food microorganisms and the principles of detection methods. Safe food 10(3): 42-51 (2015)