

# MicroScan과 Phoenix 자동화 기기의 Extended-Spectrum $\beta$ -Lactamase-생성 *Escherichia coli*와 *Klebsiella pneumoniae* 검출능 비교

## Comparison of MicroScan and Phoenix Automated Systems for Detection of Extended-Spectrum $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*

진원영<sup>1</sup> · 장숙진<sup>1,2</sup> · 김영숙<sup>3</sup> · 박 건<sup>1</sup> · 문대수<sup>1</sup> · 박영진<sup>1</sup>

Won Young Jin, M.D.<sup>1</sup>, Sook Jin Jang, M.D.<sup>1,2</sup>, Young Sook Kim, M.D.<sup>3</sup>, Geon Park, M.D.<sup>1</sup>, Dae Soo Moon, M.D.<sup>1</sup>, Young Jin Park, M.D.<sup>1</sup>

조선대학교병원 진단검사의학과<sup>1</sup>, 조선대학교 내성세포연구센터<sup>2</sup>, 조선대학교병원 영상의학과<sup>3</sup>

Department of Laboratory Medicine<sup>1</sup>, Chosun University College of Medicine, Gwangju; Research Center for Resistant Cells<sup>2</sup>, Chosun University, Gwangju; Department of Diagnostic Radiology<sup>3</sup>, Chosun University College of Medicine, Gwangju, Korea

The aim of this study was to evaluate the performances of MicroScan (Siemens Healthcare, USA) and Phoenix (Becton Dickinson Diagnostic Systems, USA) automated systems for the detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. ESBL-producers were detected from 18 *E. coli* strains and 26 *K. pneumoniae* strains using MicroScan, Phoenix, and double-disk synergy test (DDST). The ESBL types were determined by PCR direct sequencing. ESBL genes were detected in 38 (86.4%) of the 44 test strains. The sensitivities of MicroScan, Phoenix, and DDST were 94.6%, 79%, and 89.5%, respectively. Both MicroScan and Phoenix provided acceptable results for the examination of clinical isolates.

**Key Words:** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, MicroScan, Phoenix, Double-disk synergy test

Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) 생성균주에 의한 감염 환자의 치료와 이들 내성균의 확산을 막기 위해 ESBL 생성균주를 검출하는 것은 임상적으로 중요하다[1]. 이 연구의 목적은 MicroScan (Siemens Healthcare, Sacramento, CA, USA)과 Phoenix (Becton Dickinson Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA) 미생물 자동화 검사기기의 국내 ESBL 생성균주의 검출능을 평가하는 데 있다.

**Corresponding author:** Sook Jin Jang, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Chosun University Hospital, 588 Seoseok-dong, Dong-gu, Gwangju 501-717, Korea  
Tel: +82-10-9614-8853, Fax: +82-62-232-2063, E-mail: sjbjang@chosun.ac.kr

Received: October 13, 2011

Revision received: October 16, 2011

Accepted: October 17, 2011

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2012, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

대상균주는 조선대학교병원 미생물검사실에 세균배양검사가 의뢰된 환자 검체로부터 배양된 *E. coli*와 *K. pneumoniae* 균주 중 VITEK 2검사기기로 검사하여 ESBL 양성으로 나왔던 *E. coli* 18주와 *K. pneumoniae* 26주이었다. 이들 균주들을 MicroScan과 Phoenix 검사기기로 해당 제조사의 지침에 따라 항균제감수성 검사를 시행할 때 MicroScan은 Neg Combo 44 card (Siemens Healthcare)를 사용하였고 Phoenix는 NMIC card (Becton Dickinson Diagnostic Systems)를 사용하였다. 동시에 Jarlier 등의 방법에 따라 double-disk synergy test (DDST)도 시행하여 검출능을 비교하였다[3]. 검사한 균주의 ESBL 결과 보고양식은 MicroScan 검사기기에서는 양성과 음성 및 “Possible ESBL-perform ESBL confirmation test to distinguish AmpC from ESBL (PEAmpC)”의 세 가지 유형으로 결과가 보고되었다. MicroScan의 ESBL 검출능 산정 시 양성과 PEAmpC 결과를 모두 양성 결과로 간주하여 계산하였다. Phoenix에서도 ESBL 생성 균주로 판독된 균주와 ESBL 생성 가능성이 있으나 확인 검사가 필요하다고 해석된 균주를 모두 양성으로 보고했다.

대상균주들의 ESBL 유전자형을 알아보기 위해 ESBL (CTX, SHV, PER 및 TEM형) 및 AmpC  $\beta$ -lactamase 유전자(DHA, CMY-1 및 CMY-2)에 대한 중합효소연쇄반응을 시행할 때의 시발체는 이전

문헌을 참고하였으며[2], 양성인 균주들에 대해 Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (PE Applied Biosystems, Foster, CA, USA) 와 ABI PRISM 3730 DNA analyzer (PE Applied Biosystems)를 이

**Table 1.** Characterization of ESBL-producing clinical isolates (N=44) and results of ESBL detection performed using MicroScan, Phoenix, and DDST

$\beta$ -lactamases	Bacterial strain	Species	Types of $\beta$ -lactamases	Type of AmpC $\beta$ -lactamase	Results of ESBL detection		
					MicroScan	Phoenix	DDST
ESBLs	E19	ECO	CTX-M-14, SHV-2a	-	+	-	+
	E21	ECO	CTX-M-14, SHV-2a	-	+	+	+
	E23	ECO	CTX-M-15, SHV-12	-	+	+	+
	E1	ECO	CTX-M-14	-	+	+	-
	E5	ECO	CTX-M-14	-	+	+	+
	E20	ECO	CTX-M-14	-	+	+	+
	E24	ECO	CTX-M-14	-	+	+	+
	E41	ECO	CTX-M-14	-	+	+	+
	E7	ECO	CTX-M-15	-	+	+	+
	E12	ECO	CTX-M-15	-	+	+	+
	E15	ECO	CTX-M-15	-	+	+	+
	E37	ECO	CTX-M-15	-	+	+	+
	E40	ECO	CTX-M-15	-	+	+	+
	E42	ECO	CTX-M-15	-	+	+	+
	E43	ECO	CTX-M-15	-	+	+	+
	E14	ECO	SHV-2a	-	-	-	+
	K7	KPN	CTX-M-14, PER-1, SHV-12	-	+	+	+
	K12	KPN	CTX-M-14, SHV-12	DHA-1	PEAmpC*	+	+
	K17	KPN	CTX-M-14, SHV-12	DHA-1	PEAmpC*	-	+
	K37	KPN	CTX-M-14, SHV-12	DHA-1	PEAmpC*	+	+
	K44	KPN	CTX-M-14, SHV-12	-	+	+	+
	K36	KPN	CTX-M-15, SHV-12	DHA-1	PEAmpC*	+	-
	K39	KPN	CTX-M-15, SHV-12	-	+	+	-
	K8	KPN	CTX-M-14, SHV-1	-	+	+	-
	K32	KPN	CTX-M-14, SHV-1	-	PEAmpC*	+	+
	K21	KPN	CTX-M-14, SHV-1	-	+	+	+
	K23	KPN	CTX-M-14, SHV-11	-	+	+	+
	K10	KPN	CTX-M-14, SHV-11	-	-	+	+
	K11	KPN	CTX-M-14, SHV-11	DHA-1	PEAmpC*	-	+
	K14	KPN	CTX-M-14, SHV-11	DHA-1	PEAmpC*	-	+
	K25	KPN	CTX-M-14, SHV-11	DHA-1	PEAmpC*	+	+
	K1	KPN	CTX-M-14, SHV-11	-	NT	-	+
	K41	KPN	CTX-M-15, SHV-1	DHA-1	PEAmpC*	+	+
	K13	KPN	SHV-12, TEM-1	DHA-1	PEAmpC*	+	+
	K18	KPN	SHV-12, TEM-1	DHA-1	PEAmpC*	+	+
	K2	KPN	SHV-12	DHA-1	PEAmpC*	+	+
	K3	KPN	SHV-12	DHA-1	PEAmpC*	-	+
	K27	KPN	SHV-12	DHA-1	PEAmpC*	-	+
Non-ESBLs	E13	ECO	SHV-11	-	+	+	+
	E34	ECO	TEM-1	CMY-2	-	-	-
	K22	KPN	SHV-1	DHA-1	PEAmpC*	+	+
	K19	KPN	SHV-11	DHA-1	-	-	+
	K20	KPN	SHV-11	DHA-1	PEAmpC*	+	+
	K26	KPN	SHV-11	DHA-1	PEAmpC*	-	-

\*Possible ESBL: confirmation test required to distinguish AmpC from ESBL.

Abbreviations: ESBL, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase; ECO, *E. coli*; KPN, *K. pneumoniae*; DDST, double-disk synergy test; NT, not tested.

용한 염기서열분석으로 유전형을 확인하였다[2].

분자생물학적 시험 결과 총 44균주 중 *E. coli* 16주와 *K. pneumoniae* 22주가 ESBL 생성 균주였고 이들이 보유한 유전자형은 CTX-M-14, CTX-M-15, SHV-2a, SHV-12 및 PER-1형이었다(Table 1). MicroScan과 Phoenix, DDST의 ESBL 검출 민감도는 각각 94.6%와 79%, 89.5%이었다. MicroScan과 Phoenix, DDST의 양성예측도는 각각 89.7%와 90.9%, 89.5%이었다. 결측치가 없는 43주를 대상으로 각 검사 간의 일치율을 살펴보면 MicroScan과 Phoenix 간에는 81.1%, MicroScan과 DDST 간에도 81.1%, Phoenix와 DDST 간에는 72.1%의 일치율을 보였다. MicroScan에서 PEAmC로 결과가 보고된 17주의 *K. pneumoniae* 균주들은 ESBL 또는 AmpC  $\beta$ -lactamase (DHA-1)를 가지고 있거나 양자를 보유한 균주들이었다(Table 1).

*Enterobacteriaceae*를 대상으로 ESBL 검출능을 비교한 Wiegand 등의 연구에서 검사한 *Enterobacteriaceae* 전체 균종에 대한 MicroScan과 Phoenix의 민감도는 각각 84%와 99%였다[4]. 그 중 *E. coli*와 *K. pneumoniae* 균종에 대한 결과만 따로 살펴 보면 Wiegand 등의 연구에서는 *K. pneumoniae*에 대한 MicroScan과 Phoenix의 민감도가 각각 95.7%, 100%였으며 *E. coli*에 대해서는 둘다 100%의 민감도를 보였다[4]. 저자들의 연구에서는 *K. pneumoniae*에 대한 MicroScan과 Phoenix의 민감도가 95.2%와 72.7%, *E. coli*에 대한 민감도가 93.8%와 87.5%로서 MicroScan이 Phoenix보다 약간 높은 민감도를 나타냈다. 본 연구는 *E. coli*와 *K. pneumoniae*의 두 균종만을 대상으로 하였으나 Wiegand 등의 연구에는 다양한 균종으로 대대위 연구를 했다는 점과 대상균주의 특성과 유전자형의 분포 차이 등에 의해 이런 차이가 나왔을 가능성이 있다고 생각된다. Snyder 등이 임상분리주 9균주로 MicroScan과 Phoenix의 ESBL 생성균 검출능을 비교했을 때 ESBL 양성균 1주에 대해서는 둘다 정확한 결과를 냈으나, ESBL 음성으로 확인된 6주 중 6주가 MicroScan에 의해, 1주가 Phoenix에 의해 위양성으로 나왔다[5]. 또, 이미 ESBL 양성임이 밝혀진 시험균주 10균주에 대해 두 기기를 비교하였을 때 MicroScan은 10균주 모두 ESBL 생성 가능성이 있으므로 확인 검사를 하도록 보고하였으나 Phoenix는 4균주를 음성으로 보고한 결과는[5] MicroScan이 Phoenix보다 더 높은 민감도를 보인 이 연구 결과와 유사하였다. *E. coli*와 *K. pneumoniae* 균주로 Phoenix의 ESBL 검출능을 조사한 이전 연구들을 보면 그 민감도가 17주로 검사 시 89%였고[6] 510주로 검사 시 각각 100%였다[7]. Stürenburg 등[8]도 34주의 ESBL 생성균이 Phoenix로 모두 검출되었다고 보고하였다. 본 연구에서 Phoenix의 검출 민감도는 79%로 타 연구결과에 비해 다소 낮게 나온 것으로 여겨졌다. 이런 결과의 차이가 발생한 원인은 정확히 알 수 없었으나 대상 균주들의 특성이 달랐을 가능성은 있다고 본다.

결과를 요약하면, ESBL 생성균주를 대상으로 한 MicroScan과 Phoenix 검사기기의 검출능은 다소 차이가 있었으나 전반적으로 우수한 성적을 보였다. 그러나 이 연구에서 검사한 대상 균주의 종류와 균주 수, 특히 음성 대조균주 수가 적고 모든 ESBL 유전자형을 검출하지 않았기 때문에 정확한 의미의 민감도와 특이도 계산이 되지 않았을 가능성이 있다.

## 요 약

이 연구의 목적은 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)을 생성하는 *Escherichia coli*와 *Klebsiella pneumoniae*를 검출하는데 있어 MicroScan (Siemens Healthcare, USA)과 Phoenix (Becton Dickinson Diagnostic Systems, USA) 검사기기의 수행능을 평가하는 데 있다. *E. coli* 18주와 *K. pneumoniae* 26주를 대상으로 MicroScan과 Phoenix, double-disk synergy test (DDST)를 이용하여 ESBL 생성주를 검출하였고 이들이 생성하는 ESBL형을 중합효소 연쇄반응 직접 염기순서분석법으로 검사하였다. ESBL 유전자는 검사한 44주 중 38 (86.4%)주에서 검출되었다. MicroScan과 Phoenix, DDST의 ESBL 검출 민감도는 각각 94.6%와 79%, 89.5%이었다. MicroScan과 Phoenix 검사기기는 둘다 임상분리주의 ESBL 검출에 적합하다고 여겨졌다.

## 감사의 글

본 연구는 2009년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 내성세 포연구센터를 통해서 한국연구재단의 지원을 받아 수행되었습니다(R13-2003-009). 이 연구를 위해 검사 kit와 기술적 도움을 제공해 준 Siemens Healthcare 및 BD Diagnostic systems에 감사사를 표합니다.

## 참고문헌

1. Ko SY, Chung JW, Song AJ, Yoon NS, Sung H, Kim MN. Evaluation of the MicroScan NegCombo panel Type 44 for detection of extended-spectrum beta-lactamase among clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella species*, and *Proteus mirabilis*. Korean J Lab Med 2009;29: 35-40.
2. Li XM, Jang SJ, Bae IK, Park G, Kim YS, Shin JH, et al. Frequency of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) and AmpC  $\beta$ -lactamase genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* over a three-year period in a university hospital in Korea. Korean J Lab Med 2010;30:616-23.
3. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spec-

- trum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis 1988;10:867-78.
4. Wiegand I, Geiss HK, Mack D, Stürenburg E, Seifert H. Detection of extended-spectrum beta-lactamases among *Enterobacteriaceae* by use of semiautomated microbiology systems and manual detection procedures. J Clin Microbiol 2007;45:1167-74.
  5. Snyder JW, Munier GK, Johnson CL. Direct comparison of the BD phoenix system with the MicroScan WalkAway system for identification and antimicrobial susceptibility testing of *Enterobacteriaceae* and nonfermentative gram-negative organisms. J Clin Microbiol 2008;46:2327-33.
  6. Leverstein-van Hall MA, Fluit AC, Paauw A, Box AT, Brisse S, Verhoef J. Evaluation of the Etest ESBL and the BD Phoenix, VITEK 1, and VITEK 2 automated instruments for detection of extended-spectrum beta-lactamases in multiresistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. J Clin Microbiol 2002;40:3703-11.
  7. Sanguinetti M, Posteraro B, Spanu T, Ciccaglione D, Romano L, Fiori B, et al. Characterization of clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from Italy by the BD Phoenix extended-spectrum beta-lactamase detection method. J Clin Microbiol 2003;41:1463-8.
  8. Stürenburg E, Sobottka I, Feucht HH, Mack D, Laufs R. Comparison of BDPhoenix and VITEK2 automated antimicrobial susceptibility test systems for extended-spectrum beta-lactamase detection in *Escherichia coli* and *Klebsiella* species clinical isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2003;45:29-34.