



# 카바페넴 분해효소 생성 장내세균목의 검사실학적 진단법

김남희<sup>1,2</sup> · 홍기호<sup>3</sup> · 박정수<sup>2,4</sup> · 노경호<sup>5</sup> · 신 수<sup>1,2</sup>

서울특별시 보라매병원 진단검사의학과<sup>1</sup>, 서울대학교 의과대학 진단검사의학교실<sup>2</sup>, 연세대학교 의과대학 세브란스병원 진단검사의학과<sup>3</sup>, 분당서울대학교병원 진단검사의학과<sup>4</sup>, 국민건강보험 일산병원 진단검사의학과<sup>5</sup>

## Laboratory Diagnosis of Carbapenemase-producing Enterobacterales

Namhee Kim<sup>1,2</sup>, Ki Ho Hong<sup>3</sup>, Jeong Su Park<sup>2,4</sup>, Kyong Ho Roh<sup>5</sup>, Sue Shin<sup>1,2</sup>

Department of Laboratory Medicine, Seoul Metropolitan Government Boramae Hospital<sup>1</sup>, Department of Laboratory Medicine, Seoul National University College of Medicine<sup>2</sup>, Department of Laboratory Medicine, Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine<sup>3</sup>, Seoul, Department of Laboratory Medicine, Seoul National University Bundang Hospital<sup>4</sup>, Seongnam, Department of Laboratory Medicine, National Health Insurance Service, Ilsan Hospital<sup>5</sup>, Goyang, Korea

Received May 3, 2023  
 Revised May 24, 2023  
 Accepted May 24, 2023

Corresponding author:

Namhee Kim

E-mail: nhkim@snu.ac.kr

ORCID:

<https://orcid.org/0000-0002-9851-1727>

Carbapenem-resistant enterobacterales (CREs) are pathogens of special concern in healthcare-associated infections. Enterobacterales become resistant to carbapenems through several mechanisms, including carbapenemase enzyme production. Enterobacterales that produce carbapenemase are known as carbapenemase-producing enterobacterales (CPEs). Genes encoding carbapenemase are usually found on plasmids that can transmit horizontally between strains, which could explain the rapid spread of carbapenem resistance. Timely and accurate laboratory tests of CPE are necessary to prevent and treat these infections. Various phenotypic tests, such as the modified Hodge test, modified carbapenem inactivation method (mCIM) with or without EDTA-CIM (eCIM), chromogenic agar test, carba NP, immunoassay, mass spectrometry, and molecular tests are available. In this study, we discussed the importance of CRE and CPE control in the COVID-19 pandemic era and summarized several laboratory CPE detection methods currently utilized in clinical microbiology laboratories.

**Key Words:** Carbapenem-resistant Enterobacterales, Carbapenemase-producing Enterobacterales, Laboratory diagnosis, Phenotypic test, Molecular test

### Introduction

항생제 내성은, 미생물이 항생제에 노출되어도 항생제에 저항하여 생존할 수 있는 약물 저항성을 의미한다. 이는 미생물이 항생제의 공격에 살아남기 위한 일종의 생존 전략이다. 주요 항생제 내성균 감염자들은 비감염자 및 감수성균 감염자에 비해 질병 예후가 나쁘며, 내성균은 의료 비용을 포함한 사회 전반의 질병 부담을 증가시킨다[1,2]. 따라서 항생제 내성균의 출현과 확산을 억제하기 위해 감염 전문가들을 중심으로, 국가차원의 항생제 사용 관리와 적극적인 체계적인 의료기관 감염관리가 시행되고 있다.

2023년 4월 현재, 항생제 내성균 중 위험성이 높다고 판단되는 6종의 항생제 내성균(반코마이신 내성 황색포도알균, VRSA; 카바페넴 내성 장내세균속균종, CRE; 반코마이신 내성 장알균, VRE; 메티실린 내성 황색포도알균, MRSA; 다제 내성 녹농균, MRPA; 다제 내성 아시네토박터바우마니균, MRAB) 감염증은 감염병의 예방 및 관리에 관한 법률(감염병예방법)에 2급 또는 4급 법정감염병으로 정의되어 있고, 보건 의료기관이나 관련 단체들은 예방 사업을 수행하며 해당 감염병의 실태·역학조사에 성실히 임하도록 규정되어 있다[3].

이 중 CRE는 2010년 12월부터 표본감시체제로 관리되



다 2017년 6월부터 전수감시체계로 전환되었고, 2020년부터는 위험도와 전파가능성을 고려하여 VRSA와 함께 2급 감염병으로 정의되었다. 따라서 발생 또는 유행시 24시간 이내 신고 및 격리가 필요하며, 감염증 환자 또는 병원체보유자들에게는 표준주의와 함께 접촉주의가 권고된다[4,5]. CRE는 내성기전에 따라 카바페넴 분해효소(carbapenemase)를 생성하는 카바페넴 분해효소 생성 장내세균목(CPE)과 카바페넴 분해효소가 아닌 광범위 베타락탐 분해효소(ESBL) 또는 AmpC 베타락탐 분해효소 생성과 포린(porin) 소실 등 여러 내성기전이 복합되어 있는 장내세균목(non-CP CRE)으로 분류할 수 있다[1,2]. 명칭과 관련하여, 국내에서는 아직 장내세균속군종(*Enterobacteriaceae*)이라는 명칭을 사용하나[3], 2016년 미생물 분류체계의 일부 속(genus)의 분산 재배치에 따라, 국제적으로 장내세균목(Enterobacterales, order)으로 명칭이 변경된 추세이다[6,7]. 이에 따라 2022년 7월 질병관리청에서는 카바페넴 내성 장내세균속군종 감염증을 카바페넴 내성 장내세균목 감염증으로 개정하고자 하는 입법예고를 하였기에[8], 본 종설에서는 CRE는 카바페넴 내성 장내세균목(carbapenem-resistant Enterobacterales), CPE는 카바페넴 분해효소 생성 장내세균목(carbapenemase-producing Enterobacterales)으로 통일하여 표기하고자 한다. CPE는 CRE 중에서도 더욱 주의 깊게 관리되어야 하는데, 그 이유는 카바페넴 분해효소를 암호화하는 유전자가 플라스미드에도 위치하여, 다른 세균으로 내성 유전자를 쉽게 전달할 수 있기 때문이다. 따라서 현재 의료기관에서 CRE가 분리되면 CRE 신고와 함께 균주에 대해 CPE 검사를 시행하고, CPE 감염증 신고서를 작성토록 한다[5]. 단, 신고의 순서가 CRE 균주 확인 후 카바페넴 분해효소 확인이므로, CPE이지만 통상 항생제 감수성 시험에서 카바페넴에 내성을 보이지 않는 경우, 신고 대상에서 제외될 수 있다.

최근 문제는, 코로나19 팬데믹을 거치며 CRE가 폭발적으로 증가하였다는 점이다. 국내 CRE 감염건수는 2019년 15,369건에서 2021년 23,311건으로 증가하였으며, CRE 중 CPE 비율은 57.8%에서 63.4%로 증가하였다[9,10]. 이는 단순 바이러스 감염증에 항생제를 남용한 점, 코로나19 감염증 악화에 따른 2차 세균 감염 환자가 증가하여 항생제 사용량이 증가한 점, 의료진의 피로 누적에 따라 다른 감염병과 감염관리 문제에 소홀한 점 등이 원인으로 꼽힌다[11,12]. 이처럼 CRE와 CPE의 증가로 의료기관 감염관리 필요성이 증가한 상황에서, 검사실적 진단은 중요한 위

치를 차지한다. 본 지면을 통해 현재 국내 검사실에서 시행하는 CPE 검사법에 대해 정리하고, 향후 CPE 검사의 방향에 대해 이야기하고자 한다.

## Main Body

CPE 검사(Table 1)는 크게 표현형 검사법과 유전형 검사법으로 나뉜다. 여기서 표현형이란 유전형에 대비되는 개념으로, 유전 정보의 발현이 외부적으로 표현된 것을 통틀어 의미한다. 모든 CPE 검사는 카바페넴 분해효소를 확인하는 것이 주목표로, 많은 의료기관에서는 표현형 검사법을 선별검사로 하고, 선별검사에서 양성일 경우 유전형 검사법을 확진검사로 사용하고 있다.

### 1. CPE 표현형 검사법

#### 1) 카바페넴계열 항생제별 최소억제농도(MIC) 수치 패턴 분석

CRE는 카바페넴 계열 항생제인 이미페넴, 메로페넴, 도리페넴, 또는 일타페넴 중 한 가지 이상 항생제에 내성을 나타내는 장내세균목을 의미한다. 국내 검사실에서는 항생제 감수성, 내성 판정에 주로 CLSI M100 지침을 사용하며, 33판 지침에서 명시하는 장내세균목의 카바페넴 계열 항생제 감수성, 내성 기준은 Table 2 [13]와 같다.

다수의 연구에 따르면, CPE에서의 카바페넴 계열 항생제 MIC 수치가 non-CP CRE보다 높으며(고도 내성), 일타파넴 단독 내성 CRE의 경우 CPE보다 non-CP CRE일 확률이 높다고 알려져 있다[14,15]. 따라서 추가 검사 없이 기존 균주의 통상 항생제 감수성 시험 결과로 CPE 혹은 non-CP CRE를 추정해 볼 수 있는데, 이 방법은 경향성에 의거한 방법이므로 선별력이 낮다.

#### 2) Modified Hodge 시험(MHT)

카바페넴 계열 항생제에 감수성인 지시균주 *E.coli* ATCC® 25922를 Mueller-Hinton 고체배지(agar)에 고르게 접종하고, 배지 중앙에 카바페넴 항생제 디스크를 놓고, 검사하고자 하는 균주를 항생제 디스크로부터 배지 바깥쪽으로 직선 접종한 후, 35±2°C 대기환경(ambient air)에서 18-24시간(overnight) 배양하는 방법이다. 만일 검사하고자 하는 균주가 카바페넴 분해효소를 생성할 경우, 직선 접종선을 따라 지시균주 *E.coli* ATCC® 25922가 항생제 디스크 억제대 안쪽까지 성장하게 된다[16]. 이는

**Table 1.** CPE tests in the clinical microbiology laboratory

Category	Method	Explanation	Strengths* & limitations <sup>†</sup>	Time required
Phenotypic	MHT	Measuring carbapenem disk activity in the presence or absence of carbapenemase	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ No need for a special reagent and medium</li> <li>● Requires overnight incubation</li> <li>● Difficult to detect certain carbapenemase types</li> <li>● Decreased objectivity in results interpretation</li> </ul>	18-24 h
	mCIM with/without eCIM	Measuring carbapenem disk activity in the presence or absence of carbapenemase and its inhibitor	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ No need for a special reagent and medium</li> <li>● Requires additional incubated steps (broth culture with carbapenem disk) and overnight incubation</li> </ul>	≥4 h + 18-24 h
	Chromogenic agar	Incubation in a selective medium supplemented with antibiotics and chromogenics	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Easy to perform</li> <li>● Requires overnight incubation</li> <li>● Relatively low selectivity to detect carbapenemase-producing organisms</li> </ul>	18-24 h
	Carba NP	Using pH color indicators to determine carbapenem hydrolysis	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Rapid</li> <li>● Requires special reagents or kits</li> <li>● Difficult to detect certain carbapenemase types</li> </ul>	30 min-2 h
	Immunoassay	Using antigen-antibody reaction for detecting enzyme carbapenemase	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Rapid</li> <li>● Requires special kits</li> <li>● Detects only the carbapenemase type included in the kit</li> </ul>	15 min
	Mass spectrometry	Detecting carbapenem and/or carbapenem degradation products	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Rapid</li> <li>● Requires special equipment</li> <li>● No established method yet</li> </ul>	≥2 h (var)+ 10 min
	Molecular	PCR	Detecting nucleic acid (genetic material)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ High sensitivity</li> <li>○ Possible to use direct specimens such as rectal swabs</li> </ul>
Microarray Sequencing		encoding carbapenemase	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Requires special technicians, equipment, and kits</li> <li>● Commercial kit: easy to use, but detects only carbapenemase type included in the kit</li> </ul>	

\*○, Strength. †●, limitation.

Abbreviations: MHT, modified Hodge test; mCIM, modified carbapenem inactivation method; eCIM, EDTA-modified carbapenem inactivation method; var, variable.

**Table 2.** Zone diameter and MIC breakpoints of carbapenems for Enterobacterales based on CLSI M100-ED33:2023

Antimicrobial agent	Zone diameter breakpoints (mm)				MIC breakpoints (µg/mL)		
	Disk content	S	I	R	S	I	R
Imipenem	10 µg	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4
Meropenem	10 µg	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4
Doripenem	10 µg	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4
Ertapenem	10 µg	≥22	19-21	≤18	≤0.5	1	≥2

Abbreviations: CLSI, The Clinical & Laboratory Standards Institute; MIC, minimum inhibitory concentration; S, susceptible; I, intermediate; R, resistant.

초기에 개발된 CPE 표현형 검사법 중에 하나로, 국내에서 가장 흔한 KPC형에서는 선별력이 매우 높고 경제적인 방법이라 과거 검사실에서 흔히 사용하였으나, 판독이 객관적이지 않고, NDM형 검출에서 50% 안팎의 낮은 민감도를 보이며, ESBL 혹은 AmpC 베타락탐 분해효소와 포린 소실의 기전을 갖는 non-CP CRE 균에도 위양성율이 높아, 2018년 이후 CLSI 권고방식에서 제외되었다[17-19].

### 3) 카바페넴 분해효소 억제제 이용 시험(CIT)

CIT는 카바페넴 분해효소의 제외(in vitro) 억제제를 추가하여 카바페넴 분해효소의 활성을 억제하는 원리를 이용한 검사이다. Ambler class A 세린(serine) 카바페넴 분해효소(예: KPC, GES형 등)의 억제제는 phenylboronic acid (PBA), Ambler class B 메탈로-베타락탐 분해효소 (metallo-β-lactamases, MBL) (예: NDM, VIM, IMP형

등)의 억제제는 EDTA와 dipicolinic acid임을 활용한다 (Table 3). 기본 카바페넴 항생제 디스크와 억제제와 일정 시간 반응시킨 항생제 디스크 억제대 간의 차이를 통해 카바페넴 분해효소 여부 및 Ambler class까지 확인하는 방법이나, 판독의 객관성이 떨어지고 ESBL 혹은 AmpC 베타락탐 분해효소와 포린 소실의 기전을 갖는 non-CP CRE 균에 위양성율이 높은 단점이 있어 현재는 거의 사용하지 않는다[16].

4) Modified carbapenem inactivation method (mCIM)와 EDTA-CIM (eCIM)

CIT를 보완 발전시킨 방법으로, 카바페넴 분해효소의 활성을 평가하며, CLSI M100 지침에 언급되어 있다 [13]. mCIM법은 카바페넴 항생제 디스크를 검사하고자 하는 균주의 액체배지(broth)에 넣어 배양, eCIM법은 여기에 Ambler class B 메탈로-베타락탐 분해효소(metallo-β-lactamases, MBL) 억제제인 EDTA를 추가로 첨가하여 배양하는 것으로 시작한다. 35±2℃ 대기환경에서 4 시간 가량 액체배양 후, 디스크를 액체배지에서 꺼내어 지시균주 *E.coli* ATCC® 25922가 고르게 접종된 Mueller-Hinton 고체배지 위에 올려놓고 35±2℃ 대기환경에서 18-24시간 배지를 배양하여 억제대를 측정한다. 이때 검사하고자 하는 균주가 CPE 균주이면, 액체배양 시 카바페넴 분해효소가 디스크의 카바페넴 항생제를 가수분해시켜 디스크 기능을 떨어뜨리므로, mCIM법의 디스크 억제대가 생기지 않거나 좁게 나타나고, non-CP CRE 균주일 경우 디스크 기능이 유지되어, mCIM법의 디스크 억제대가 넓게 나타난다. CPE 균주가 Ambler class B 메탈로-베타락탐 분해효소 생성 CPE라면 EDTA로 카바페넴 분해효소 활성이 억제되어 디스크의 카바페넴 항생제를 가수분해시키지 못하므로, eCIM법 디스크 기능이 유지되어 디스크의 억제대가 넓게 나타난다. 반면, Ambler class B 계열이 아닌 Amber class A 혹은 class D (세린 카바페넴 분해효소 생성) CPE라면, EDTA로 카바페넴 분해효소 활성이 억제되지 못하므로, 카바페넴 분해효소가 eCIM법 디스크의 카

바페넴 항생제를 가수분해시켜 디스크 억제대가 생기지 않거나 좁게 나타난다[13,20,21].

대만의 한 연구에 따르면, CPE 균주 105주와 non-CP CRE 균주 90주 대상으로 mCIM과 eCIM법 검사를 시행하였더니, 유전형 검사 결과를 기준으로 mCIM법은 100%의 민감도와 특이도를 보였다. 또한 mCIM과 eCIM을 조합하여 Ambler class B CPE 분리하는 방법은 89.3%의 민감도와 98.7%의 특이도를 보였다[20]. 미국의 연구에선, CPE 균주 41주를 포함하여 총 75 균주를 이용하여 평가하였으며, Ambler class B CPE에 대해 100% 민감도와 특이도를 보였다[21]. 이처럼 mCIM과 eCIM법은 class B 메탈로-베타락탐 분해효소 생성균을 확인하는 데 우월한 성능을 보여주지만 디스크를 액체배지에 배양하는 과정이 있어 번거롭고 검사 시간이 길며, 억제대 판독이 객관적이지 않다는 단점이 있다. 그리고, CPE보다는 VIM형 *Pseudomonas aeruginosa*와 OXA-48-like형 *Acinetobacter baumannii*에서 검출이 더 잘 되는 경향성을 보이기도 한다[22].

자동화된 균동정 및 감수성 검사 기기 Phoenix™의 CPO detection panel NMIC-500, NMIC/ID-504 (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)는 CRE가 분리되면 CPE 여부, 나아가 Ambler class까지 확인할 수 있는데, 여러 기술이 접목되어 있으나 기본적으로는 mCIM법 원리를 바탕으로 한다[23,24]. 국내의 한 기관 연구에서, CPE 균주 47주, non-CP-CRE 균주 52주, 그리고 카바페넴 항생제 감수성 장내세균 136주를 이용하여 Phoenix™ CPO detection panel을 평가한 결과, 카바페넴 분해효소 검출 민감도는 97.9%에 이르나, non-CP-CRE의 위양성율이 높아 낮은 특이도를 나타내었다. 또한 Amber class별로 유전형 검사법과의 양성일치율/음성일치율을 확인하였는데, class A는 100%/78.6%, class B는 100%/100%, class D는 80%/60%를 기록하였다[23]. 미국의 다기관 평가에서는, CPE 균주 343주를 포함한 장내세균 균주 1,099주에 대해 Phoenix™ CPO detection panel과 유전형 검사 간의 양성일치율과 음성일치율이 각각 98.5%와 97.2%임을 보였고, Amber class별

Table 3. Classification of carbapenemase according to Ambler classification

Ambler classification	Structure of function	Examples	Representative inhibitors
Class A	Serine carbapenemases	KPC, SME, IMI, NMC, GES	CLA, PBA, tazobactam
Class B	Metallo-β-lactamases	NDM, VIM, IMP, GIM, SIM, SPM	Metal-chelating agents (EDTA, Dipicolinic acid)
Class D	Serine carbapenemases	OXA	CLA, PBA : variable in vitro NaCl

Abbreviations: CLA, clavulanic acid; PBA, phenylboronic acid; EDTA, ethylene diamine tetra-acetic acid.

로 나누어 살펴보면 class A는 95.3%/94.6%, class B는 94.0%/96.4%, class D는 95.0%/99.0%였다[24].

#### 5) 발색 배지(Chromogenic agar)

원하는 균주만 선택적으로 배양되며, 특이효소에 의한 분해과정 차이를 이용하여 균종에 따라 특징적인 발색 집락을 형성하는 원리를 이용한다[25].  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  대기환경에서 18-24시간 배양했을 때, 배양된 집락의 성상만으로 간편하게 균종과 CPE 여부를 알 수 있어 편리하다는 장점이 있다. 시판된 발색 배지에 따라 다소 편차가 있으나 80-100%의 선별력을 보이며, 약한 내성을 띤 즉, 카바페넴 항생제 MIC값이 높지 않은 CPE에서 위음성률이 높은 편이고, 일부 시판 배지는 CRE를 타겟으로 하여, non-CP CRE 균주가 함께 배양되기도 한다[26,27].

#### 6) Carba NP

Normann과 Poirel 등이 개발한 carba NP 검사법은 카바페넴 분해효소가 카바페넴 항생제를 가수분해하며 산성(acidic) 물질을 만들어 내는 특성을 이용한 방법이다. 생성된 산성 물질이 일으키는 pH 변화를 30분에서 2시간 내에 시각적으로 관찰할 수 있으며 CLSI M100 지침에 카바페넴 분해효소의 활성을 보는 방법 중 하나로 언급되어 있다[13]. 본 검사원리를 상품화한 RAPIDEC® CARBA NP (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) 제품은 최근 국내 검사실에서 CPE 표현형 검사로 자주 쓰이고 있다. 유럽의 연구에 따르면, 카바페넴 분해효소 생성 균주 95주를 포함한 총 장내세균 150주를 대상으로 RAPIDEC® CARBA NP 검사를 시행하였을 때, 99%의 민감도와 100% 특이도를 기록하였다[28]. 국내 연구에서는, 카바페넴 감수성 ESBL 생성 균주 100주와 CPE 균주 59주를 이용하여 RAPIDEC® CARBA NP 제품을 평가하였는데, 89.8% 민감도와 100% 특이도를 보였다[29]. 이처럼 carba NP 법은 전반적으로 높은 민감도와 특이도를 갖지만, 일부 OXA-48-like와 GES형 검출에서 낮은 선별력을 보이기도 하며, 균의 신선도와 배지성분이 검사결과에 교란을 주어, 배양이 72시간 경과된 균이거나 MacConkey, BCP, CLED, Drigalski 배지에 배양된 균이라면 Mueller-Hinton 혹은 BAP 배지 계대 배양이 필요하므로, 전체 검사기간이 연장될 수 있다[22].

#### 7) 면역측정법

측면 유동 면역검사(lateral flow immunoassay, LFIA)

법을 이용하여 카바페넴 분해효소를 검출하는 면역 제품이 개발되었다. 최근 국내 검사실에서 사용하기 시작한 NG-Test Carba5 (NGBiotech, Guipry, France, 이하 Carba5)는 NDM, KPC, IMP, VIM, OXA-48-like형의 주요 카바페넴 분해효소를 면역크로마토그래피법으로 15분 만에 빠르게 검출하고 분류할 수 있다[22]. 미국 다기관 연구에서, 검사실에서 흔히 사용되는 고체배지인 BAP, MacConkey, Mueller-Hinton 배지에 자란 집락으로 Carba5를 평가했을 때 유전형 검사법을 포함한 다른 검사법과의 양성일치율(positive percent agreement) 98.9-100%, 음성일치율(negative percent agreement) 95.2-100%를 기록하였다[30]. 또한 국내 한 연구에 따르면, CPE 균주 82주를 포함한 총 CRE 균주 147주를 대상으로 Carba5 성능을 평가해 보았을 때, 유전형 검사 결과와 비교하여 민감도 100%, 특이도 97%를 기록하였다[31]. 이처럼 Carba5는 높은 선별력을 보이며, 간편하고 빠른 검사이기 때문에 임상미생물 검사실에서 유용히 쓰일 수 있으나, 제품에 포함되어 있지 않은 GES, IMI, SME형 등의 카바페넴 분해효소의 검출이 불가능하므로 위음성 결과를 주의해야 한다.

#### 8) 질량분석, MALDI-TOF 검사법

MALDI-TOF는 예전부터 임상화학검사실의 단백질 기반 시료분석에서 사용되는 방법으로, 미생물 검사실에 도입되어 신속한 미생물 동정에 흔히 사용되고 있다. 레이저를 사용하여 시료를 이온화하고, 이온화된 산물을 검출기에 도달하게 하면, 질량과 전하의 비율(m/z)에 따라 그래프가 생성되는데, 그래프 모양에 따라 시료의 특성을 관찰할 수 있으며, 일반 미생물 동정의 경우 시료처리에서부터 질량분석이 간편하고, 소요시간이 10분 안팎으로 매우 빠르다는 장점이 있으나 고가의 전용 장비가 필요하다. 해당 기술을 이용해 다양한 방법으로 연구가 진행중이며, 이 중 한 가지 방법은 검사하고자 하는 균주와 카바페넴 항생제를 액체배지에 섞어 2-4시간 배양한 다음, 배양 산물을 MALDI-TOF로 분석하는 방법이다. 이때, 카바페넴 분해효소를 생성하는 CPE의 경우 카바페넴을 가수분해시키기 때문에 가수분해 부산물의 질량을 측정할 수 있다. 또한 배양 시 카바페넴 분해효소 억제제(PBA, EDTA 등)를 함께 넣으면 가수분해 부산물 유무로, 억제제에 의한 분해효소 활성 여부를 확인할 수 있으므로, Ambler class 분류도 가능하다[22]. 유럽의 연구에서, 카바페넴 분해효소 생성 균주 120주를 포함한 총 175 균주를 세 종류의 MALDI-

TOF 제품으로 실험해본 결과, 95-100% 민감도와 98.2-100% 특이도를 보여, MALDI-TOF를 이용한 CPE 검사법은 실험실에서 유용하게 쓰일 수 검사임을 확인하였으나 [32], 아직 충분히 검증되지 않고 데이터가 부족하여 국내 임상 미생물 실험실에서 상용화되지는 않았다.

## 2. CPE 유전형 검사법

유전형 검사는 주로 증합효소연쇄반응(PCR)과 염기서열 분석을 기반으로 한다. CPE 유전형은 다양하며, 지역·국가별로 주요 유전형 분포가 다른데, 국내에는 KPC형이 압도적으로 많고, NDM, OXA-48-like, VIM, IMP, GES형이 뒤따른다[9,10]. 유전형 검사는 예민도와 특이도가 높고, 직장 도말과 대변 등 직접 검체로도 검사가 가능하므로, 배양과정이 반드시 필요하지 않아 빠르다는 장점이 있으나, 숙련된 검사자와 고가의 장비가 필요하고 검사비용이 높기 때문에 모든 임상미생물검사실에 적용하는 데에는 제약이 있다[33-35]. 많은 경우 자체 개발법(laboratory developed test)를 사용해왔으나 Xpert<sup>®</sup> Carba-R (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA), BD MAX<sup>™</sup> CPO (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA), PANA RealTyper<sup>™</sup> CRE kit (파나진, 대전, 대한민국) 등 주요 검출 유전형으로 구성된 상용화 multiplex PCR 진단제품들이 국내 허가를 득해 현재 검사실에서 사용되고 있다. 단 상용화 제품들에선, 제품에 비포함된 유전형일 경우 카바페넴 분해효소의 검출이 불가능하므로 위음성 결과가 나올 수 있음에 주의하며, 확진을 위해 추가적인 염기서열 분석이 필요할 수도 있다.

## 3. 건강보험 요양급여와 관련된 사항

카바페넴 분해효소를 확인하는 다양한 검사법들은 건강보험 요양급여에도 명시되어 있는데, 2023년 2월 건강보험요양급여 항목에 등재되어 있는 내용을 요약하면 다음과 같다[36].

일반적인 배양 및 동정(코드 D5820)에는 상대가치 점수 167.95점, 약제 감수성검사 디스크확산법(코드 D5841)에는 107.44점, MIC법(코드 D5843)에는 205.72가 산정된다. 카바페넴 분해효소 생성 그람 간균의 보균 고위험자 및 감염 의심환자의 검체에서 균주가 분리되었을 때, 균주를 이용하여 MHT (코드 D5842)를 시행 시 112.94점, 카바페넴 분해효소에 의한 항생제의 가수분해 여부를 정성적

으로 확인하는 비색법(colorimetry, 코드 D5844)과 형광법(코드 D5846) 검사를 시행 시 각각 122.45점, 카바페넴 분해효소 KPC, NDM, VIM, IMP, 또는 OXA-48형을 정성 검출하는 면역검사(코드 D1587) 시행 시 310.09점의 상대가치 점수가 추가 부여된다. CPE 유전형 검사법은 핵산증폭-다중그룹1 (코드 D6851) 혹은 핵산증폭-약제내성 그룹1 (코드 D5913)에 포함된다. 다중그룹1의 대상은 카바페넴 항생제에 내성인 CRE 보균 또는 감염이 의심되는 경우이며, 다중검사 시약을 이용하여 동시에 카바페넴 분해효소 KPC, NDM, VIM, IMP-1, 또는 OXA-48을 검사할 때 상대가치 점수 708.36점이 부여된다. 본 검사는 카바페넴 분해효소를 정성 검출하는 면역검사와 동일목적의 검사이므로 중복시행은 인정되지 않는다. 약제내성그룹1의 대상은 CRE 감염환자나 카바페넴 분해효소 표현형 선별검사서 양성을 보였을 때, 카바페넴 분해효소 KPC, NDM, VIM, 또는 IMP 유전형을 확인하기 위해 시행하는 경우이며, 이들의 염기서열 부분을 핵산증폭 및 전기영동하면(유전자 각각 산정) 상대가치 점수 507.62점이 부여된다.

## Conclusion

이처럼 CPE 검사법은 다양하며, 검사법마다 특성이 다르다. 적극적인 감염관리를 위해서 CRE 감염 고위험 환자와 ICU 입실 환자들에겐 선별검사로 배양법 기반이 아닌 직접 검체를 이용한 CPE 유전형 검사를 추천하나, 현장에서 CPE 검사를 도입할 때엔 해당 의료기관의 성격, 환자 분포, 기관 내 유행양상, 보험 수가 인정 범위 등 여러 요소를 종합 고려해 선택하여야 하므로, 관련 업무 종사자들의 소통과 합의가 중요하다[37].

다양한 연구와 경험의 축적으로, CPE 유전형 검사의 중요성은 높아지고 있다. 표현형과 유전형 검사 간의 불일치 사례가 보고되며, 한 환자에서 여러 유전형이 동시에 관찰될 수 있으며, 감염이 반복되어 발생하거나 분리된 균주의 감수성양상에 변화가 있을 시 기존과 다른 유전형이 확인될 수 있기에, 일회성 검사가 아닌 반복적인 유전형 검사가 필요한 경우도 있다[38]. 최근 미국과 유럽에서는 CRE와 CPE를 포함한 다제내성 그람음성균에 대해 새로운 항생제들(ceftolozane-tazobactam, ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam, imipenem-relebactam, aztreonam-avibactam, cefiderocol 등)이 승인되어 사용 중이다. 새로운 항생제들은 Ambler class 및 CPE 유전

형에 따라 항균력이 다르므로, 빠르고 정확한 유전형 검사의 필요성이 더욱 높아졌다[39,40]. 아직 국내에서는 상기의 새로운 항생제들이 도입되지 않았거나 도입되었더라도 보험 적용의 문제로 사용되지 못하고 있으나, 추후 사용 가능하게 되면, CPE 유전형 검사가 감염관리와 역학조사 목적뿐만 아니라 CPE 감염증 환자의 효과적인 치료를 위한 필수 검사가 될 가능성이 있다.

본 종설을 통해 감염관리 업무에 종사하는 의료진이 항생제 내성 검사법의 성격과 장단점에 대해 깊게 이해하고, 적절한 검사법을 현장에 도입케 하며, 검사결과를 올바르게 해석할 수 있는 데에 도움이 되길 기대한다.

## References

- Iredell J, Brown J, Tagg K. Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications. *BMJ* 2016;352:h6420.
- Suay-García B, Pérez-Gracia MT. Present and future of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) infections. *Antibiotics (Basel)* 2019;8:122.
- Korean Law Information Center. Infectious Disease Control and Prevention Act, No.18893. <https://www.law.go.kr/LSW/eng/engLsSc.do?menuId=2&section=lawNm&query=18893&x=0&y=0> (Updated on 10 June 2022).
- Kim YH, Kwon D, Lee D. Reorganization of national notifiable infectious diseases classification system. *Public Health Wkly Rep* 2020;13:2-7.
- KDCA. 2022 Healthcare-associated infectious disease management guideline. [https://www.kdca.go.kr/filepath/boardSyview.es?bid=0019&list\\_no=719403&seq=1](https://www.kdca.go.kr/filepath/boardSyview.es?bid=0019&list_no=719403&seq=1) (Updated on 28 April 2022).
- Adeolu M, Alnajjar S, Naushad S, S Gupta R. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: proposal for Enterobacteriales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2016;66:5575-99.
- Oren A, Garrity GM. Notification that new names of prokaryotes, new combinations and new taxonomic opinions have appeared in volume 66, part 11, of the IJSEM. *Int J Syst Evol Microbiol* 2017;67:179-82.
- KDCA. Notice of amendment of the Infectious Disease Control and Prevention Act. <https://opinion.lawmaking.go.kr/gcom/ogLmPp/69053?mappingLbicId=&announceType=> (Updated on 14 July 2022).
- Lee E, Lee S, Yoon S, Lee Y. Number of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections in Republic of Korea (2018-2020). *Public Health Wkly Rep* 2021;14:2765-72.
- Jeong H, Hyun J, Lee Y. Characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) in the Republic of Korea, 2021. *Public Health Wkly Rep* 2022;15:2354-63.
- Ayoub Moubareck C, Hammoudi Halat D. The collateral effects of COVID-19 pandemic on the status of carbapenemase-producing pathogens. *Front Cell Infect Microbiol* 2022;12:823626.
- Pascale R, Bussini L, Gaibani P, Bovo F, Fornaro G, Lombardo D, et al. Carbapenem-resistant bacteria in an intensive care unit during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: a multicenter before-and-after cross-sectional study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2022;43:461-6.
- CLSI. M100 33rd ed. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/> (Updated on 3 March 2023).
- Tamma PD, Huang Y, Opene BN, Simner PJ. Determining the optimal carbapenem MIC that distinguishes carbapenemase-producing and non-carbapenemase-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:6425-9.
- Adelman MW, Bower CW, Grass JE, Ansari UA, Soda EA, See I, et al. Distinctive features of ertapenem-monoresistant carbapenem-resistant enterobacteriales in the United States: a cohort study. *Open Forum Infect Dis* 2021;9:ofab643.
- KDCA. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae CPE diagnosis guideline. [http://www.icdc.incheon.kr/\\_lib/fileDownload.php?idx=675](http://www.icdc.incheon.kr/_lib/fileDownload.php?idx=675) (Updated on 15 December 2014).
- Cury AP, Andreazzi D, Maffucci M, Caiaffa-Junior HH, Rossi F. The modified Hodge test is a useful tool for ruling out *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase. *Clinics (Sao Paulo)* 2012;67:1427-31.
- Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 2012;50:477-9.
- Ribeiro VB, Linhares AR, Zavascki AP, Barth AL. Performance of quantification of modified Hodge test: an evaluation with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing Enterobacteriaceae isolates. *Biomed Res Int* 2014;2014:139305.
- Tsai YM, Wang S, Chiu HC, Kao CY, Wen LL. Combination of modified carbapenem inactivation method (mCIM) and EDTA-CIM (eCIM) for phenotypic detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *BMC Microbiol* 2020;20:315.
- Sfeir MM, Hayden JA, Fauntleroy KA, Mazur C, Johnson JK, Simner PJ, et al. EDTA-modified carbapenem inactivation method: a phenotypic method for detecting metallo- $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *J*

- Clin Microbiol 2019;57:e01757-18.
22. Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic detection of carbapenemase-producing organisms from clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2018;56:e01140-18.
  23. Cho H, Kim JO, Choi JE, Lee H, Heo W, Cha YJ, et al. Performance evaluation of automated BD Phoenix NMIC-500 panel for carbapenemase detection in carbapenem-resistant and carbapenem-susceptible Enterobacterales. *J Microbiol Methods* 2020;177:106042.
  24. Whitley V, Kircher S, Gill T, Hindler JA, O'Rourke S, Cooper C, et al. Multicenter evaluation of the BD Phoenix CPO detect test for detection and classification of carbapenemase-producing organisms in clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2020;58:e01752-19.
  25. Perry JD. A decade of development of chromogenic culture media for clinical microbiology in an era of molecular diagnostics. *Clin Microbiol Rev* 2017;30:449-79. Erratum in: *Clin Microbiol Rev* 2017;30:vii.
  26. Wilkinson KM, Winstanley TG, Lanyon C, Cummings SP, Raza MW, Perry JD. Comparison of four chromogenic culture media for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 2012;50:3102-4.
  27. Amar M, Shalom O, Adler A. Comparative evaluation of a new commercial media, the CHROMAgar™ mSuperCARBA™, for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2017;88:20-2.
  28. Dortet L, Agathine A, Naas T, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. Evaluation of the RAPIDEC® CARBA NP, the Rapid CARB Screen® and the Carba NP test for biochemical detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* 2015;70:3014-22.
  29. Song W, Yoo G, Hwang GY, Uh Y. Evaluation of diagnostic performance of RAPIDEC CARBA NP Test for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Ann Clin Microbiol* 2016;19:59-64.
  30. Jenkins S, Ledebor NA, Westblade LF, Burnham CA, Faron ML, Bergman Y, et al. Evaluation of NG-Test Carba 5 for rapid phenotypic detection and differentiation of five common carbapenemase families: results of a multicenter clinical evaluation. *J Clin Microbiol* 2020;58:e00344-20.
  31. Lee S, Hur KH, Chung Y, Sung H, Kim MN. Evaluation of two commercial kits for rapid detection and typing of carbapenemase in carbapenem-resistant Enterobacterales. *Ann Clin Microbiol* 2021;24:45-53.
  32. Dortet L, Tandé D, de Briel D, Bernabeu S, Lasserre C, Gregorowicz G, et al. MALDI-TOF for the rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: comparison of the commercialized MBT STAR®-Carba IVD Kit with two in-house MALDI-TOF techniques and the RAPIDEC® CARBA NP. *J Antimicrob Chemother* 2018;73:2352-9.
  33. Moore NM, Cantón R, Carretto E, Peterson LR, Sautter RL, Traczewski MM. Rapid identification of five classes of carbapenem resistance genes directly from rectal swabs by use of the Xpert Carba-R Assay. *J Clin Microbiol* 2017;55:2268-75.
  34. Girlich D, Oueslati S, Bernabeu S, Langlois I, Begasse C, Arangia N, et al. Evaluation of the BD MAX Check-Points CPO Assay for the detection of carbapenemase producers directly from rectal swabs. *J Mol Diagn* 2020;22:294-300.
  35. Sawa T, Kooguchi K, Moriyama K. Molecular diversity of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *J Intensive Care* 2020;8:13.
  36. Health Insurance Review & Assessment Service. 2023 National health insurance in Korea. <https://repository.hira.or.kr/handle/2019.oak/3076> (Updated on 10 March 2023).
  37. Corless CE, Howard AM, Neal TJ. Impact of different carbapenemase-producing Enterobacterales screening strategies in a hospital setting. *Infect Prev Pract* 2020;2:100011.
  38. An J, Lai K, Ma Y, Guo L, Ye L, Luo Y, et al. Emergence of multiple carbapenemase-producing organisms in single patients: an increasing threat to treatment of infection. *J Antimicrob Chemother* 2018;73:544-6.
  39. Kang CI. Antibiotics for multidrug-resistant gram-negative bacteria. *J Korean Med Assoc* 2022;65:490-7.
  40. Garduno A, Martín-Loeches I. Efficacy and appropriateness of novel antibiotics in response to antimicrobial-resistant gram-negative bacteria in patients with sepsis in the ICU. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2022;20:513-31.