

## 항산균 배양에서 BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 System과 Ogawa 배지 병용의 평가

배은신<sup>1</sup> · 임지훈<sup>1</sup> · 김성원<sup>1</sup> · 윤남섭<sup>1</sup> · 성흥섭<sup>1</sup> · 김미나<sup>1</sup> · 심태선<sup>2</sup>

울산의대 서울아산병원 진단검사의학과<sup>1</sup>, 호흡기내과<sup>2</sup>

### Evaluation of Combination of BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 System and Ogawa Media for Mycobacterial Culture

Eunsin Bae, M.D.<sup>1</sup>, Ji Hoon Im, M.D.<sup>1</sup>, Sung Won Kim, M.T.<sup>1</sup>, Nam-Surp Yoon, M.T.<sup>1</sup>, Heungsup Sung, M.D.<sup>1</sup>, Mi-Na Kim, M.D.<sup>1</sup>, and Tae Sun Shim, M.D.<sup>2</sup>

Departments of Laboratory Medicine<sup>1</sup>, and Division of Pulmonary and Critical Care Medicine<sup>2</sup>, University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, Seoul, Korea

**Background :** The combined use of liquid media and solid media is recommended for mycobacterial culture. We evaluated diagnostic performance of combination of BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT; Becton Dickinson, USA) and 2% Ogawa media (Korean Institute of Tuberculosis, Korea) for recovery of mycobacteria.

**Methods :** In September 2007, 1,764 specimens from 1,059 patients were cultured with MGIT and Ogawa. Acid fast bacilli (AFB) smear was fluorochrome-stained. The isolates were identified into *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and nontuberculous mycobacteria (NTM) with PCR using Seeplex TB Detection Kit (Seegene, Korea). Recovery rate, time to detection (TTD), contamination rate, mixed growth rate and species distribution were analyzed.

**Results :** Two hundred thirty-five specimens (13.3%) from 165 patients (15.6%) were positive for mycobacterial culture. Recovery rates of mycobacteria from the group using both media, MGIT only, and Ogawa only were 13.3%, 12.1%, and 7.8%, respectively. While MGIT recovered 98.9% of MTB and 79.7% of NTM, Ogawa recovered 65.9% of MTB and 54.1% of NTM. TTDs of total mycobacteria/MTB/NTM in MGIT and Ogawa were 10.6/11.4/9.7 days and 31/29/33 days, respectively. MGIT TTDs of total mycobacteria/MTB/NTM from AFB-positive specimens were significantly shorter than those of AFB-negative specimens; 8.2/9.5/4.4 days vs 11.6/12.7/10.7 days. Contamination and mixed growth rate of MGIT were 9.6% and 3.7%. Primary culture of Ogawa recovered 1 MTB and 1 NTM among the 170 MGIT-contaminated specimens and 38 mycobacteria among 66 specimens that showed mixed cultures of MGIT.

**Conclusions :** MGIT warrants sensitive and rapid isolation of mycobacteria. However, the combination of MGIT and Ogawa is more desirable to recover mycobacteria in the case of contaminations or mixed cultures. (*Korean J Lab Med* 2008;28:299-306)

**Key Words :** BACTEC MGIT 960 system, Ogawa media, *Mycobacterium tuberculosis*, Nontuberculous mycobacteria, AFB smear

접 수 : 2008년 3월 28일      접수번호 : KJLM2125  
수정본접수 : 2008년 5월 20일  
게재승인일 : 2008년 5월 20일  
교 신 저 자 : 김 미 나  
우 138-736 서울시 송파구 풍납2동 388-1  
서울아산병원 진단검사의학과  
전화 : 02-3010-4511, Fax : 02-478-0884  
E-mail : mnkim@amc.seoul.kr

## 서 론

한국은 2007년 결핵 신환 발병률이 인구 10만 명당 71.6명이 고 노령층과 20대의 신환 발병률이 높아서 여전히 후진국형 결핵 감염 양상을 보이고 있다[질병관리본부, 2007 결핵환자 신고현황 연보]. 또한 비결핵항산균은 HIV 감염의 확산과 더불어 세계적으로 문제가 되고 있는데, 국내에서는 면역적격자의 감염률도 증가하고 있다[1-3]. 결핵 및 비결핵항산균 감염의 진단에 있어 신속하고 정확한 항산균 배양이 필수적이며 이를 위해 미국질병관리본부와 세계보건기구는 액체배지를 이용한 항산균 배양을 권고하고 있다[4, 5]. 그러나 액체배지는 오염률이 높은 단점이 있어서 액체배지와 고체배지를 병용하는 것이 이상적이다[6]. 국내 임상검사실은 20여 년 전 항산균 배양검사에 액체배지를 도입하였으나 아직 대부분의 검사기관들은 Ogawa 배지를 이용한 단독 배양법을 이용하고 있으며, 액체배지를 이용하는 기관도 고체배지를 병용하지는 않고 있다[7, 8]. 국내에서 액체배지가 검출률을 높이고 검출시간을 단축한다는 여러 연구보고가 있지만[9-11], 액체와 고체배지를 병용했을 때 효과를 평가한 논문은 2001-2002년에 이루어진 일개 연구가 있을

뿐이고[11], 3차 의료기관에서 평가는 없었다.

연구자들은 Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 system (MGIT; Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)과 Ogawa 배지(결핵연구원, 서울, 대한민국)를 병용할 때 진단적 유용성을 분석하여 항산균 배양에서 적절한 시스템을 구축하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 대상

2007년 9월 21일에서 10월 15일 사이에 서울아산병원 외래와 입원 환자로부터 항산균 배양검사가 의뢰된 1,059명의 환자의 1,764검체를 대상으로 하였다. 검체는 농 44건, 호흡기검체 1,683건, 간농양 3건, 조직검사 절편 34건이었다.

### 2. 항산균 도말염색 및 배양

50 mL 원추형 시험관에 5 mL 검체와 동량의 5% NaOH-

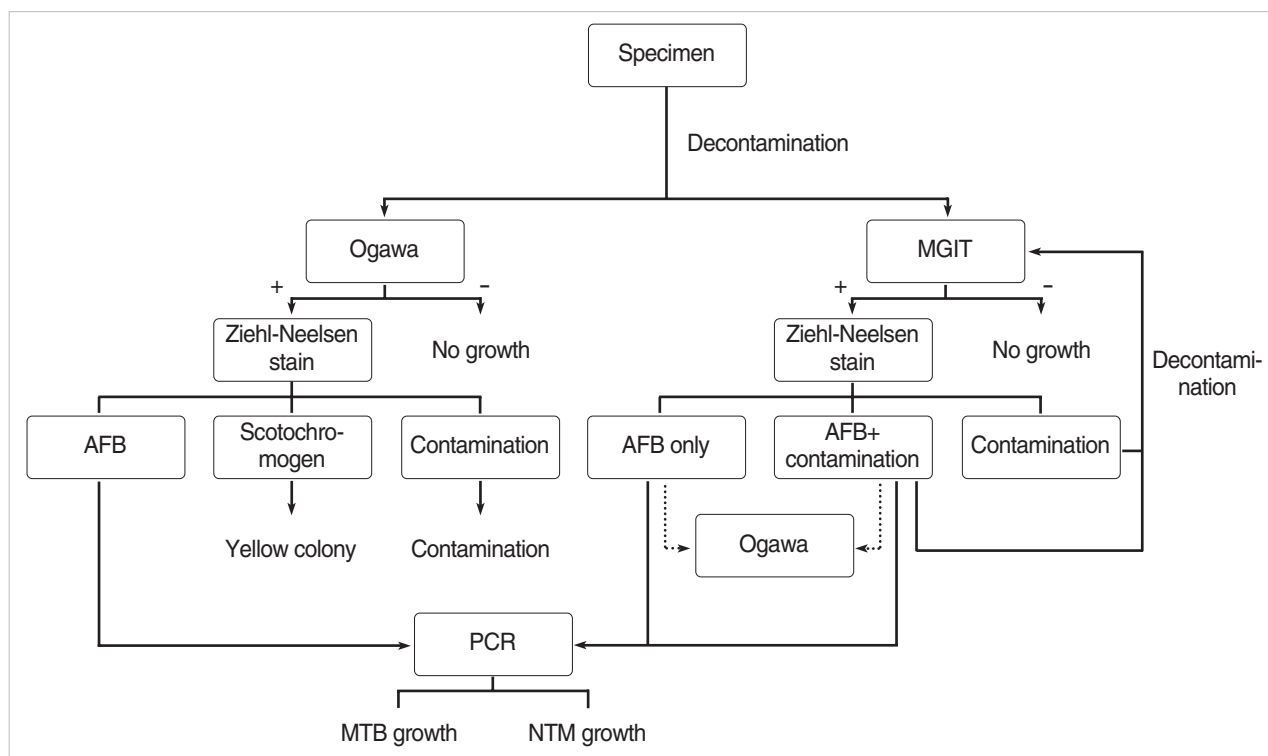


Fig. 1. Processing scheme of mycobacterial culture in this study.

Abbreviations: MGIT, Mycobacteria Growth Indicator Tube; AFB, acid fast bacilli; MTB, *Mycobacterium tuberculosis*; NTM, nontuberculous mycobacteria.

*N*-acetyl-L-cysteine 용액을 섞어 진탕한 후 실온에 15분간 두어 액화와 탈오염을 시켰다. 여기에 인산완충액(0.067 M, pH 6.8)을 50 mL 눈금까지 채워 중화한 후 4°C, 3,000 g에서 15 분간 원침하여 1 mL 정도를 남겼다[6]. 침사액을 부유한 후 2% Ogawa 배지(결핵연구원)에 0.2 mL, MGIT 배지(Becton Dickinson)에 0.5 mL씩 접종하였다(Fig. 1). 남은 침사액으로 항산균 도말 슬라이드를 만들었다. Ogawa 배지는 2주까지 CO<sub>2</sub> 배양기에서, 그 이후 대기조성 배양기에서 37°C로 8주까지 배양하면서 매주 육안 판독하여 항산균에 해당하는 집락이 관찰되면 동정을 시행하였다. MGIT 배지는 제조자의 지침에 따라 당일 PANTA (Becton Dickinson)를 보충하여 접종하였으며 MGIT 960 system (Becton Dickinson)에서 6주간 배양하였다. 양성신호를 보이면 양성 배양병으로부터 도말을 만들어 Ziehl-Neelsen 염색을 실시하였다. 검체의 항산균 도말은 auramine-rhodamine 형광 염색을 하여 미국질병관리본부 기준에 따라  $\pm$  이상을 양성으로 판정하였다[6].

MGIT 배양액 도말에서 항산균이 보이면 균침사로 동정을 시도했고 Ogawa 배지에 계대배양하였다. 항산균과 오염균이 함께 관찰되면 양성 배양병의 검체를 모두 취해 탈오염 과정을 반복한 후 다시 MGIT와 Ogawa 배지에 접종하여 배양하였다. 오염균만 보이면 같은 방법으로 탈오염 과정을 반복하여 MGIT에 재접종하였다[1] (Fig. 1).

MGIT 양성검출시간은 MGIT 장비로부터 양성인 날을 기준으로 하였고 Ogawa 배지의 검출시간은 판독일을 기준으로 하였다.

### 3. 항산균 동정

Ogawa와 MGIT에서 양성인 검체에서 항산균염색을 실시하여 항산균이 관찰되면 결핵균과 비결핵항산균을 특이적으로 증폭하는 PCR을 실시하였다. 배지에서 자란 집락은 백금으로 따서 핵산을 추출하고 Seeplex TB Detection (씨젠, 서울, 대한민국) 키트를 사용하여 제조사의 권장에 따라 PCR을 실시하였다. MGIT에서 항산균 양성일 때 잡균 오염과 상관없이 액체배지를 400  $\mu$ L 정도 취해 12,000 rpm에서 1분간 원침한 침사액으로 위와 동일한 방법으로 핵산을 추출하고 PCR을 실시하였다. MGIT 양성이고 항산균도말 양성인 검체는 당일 Ogawa 배지에 계대배양하여 비결핵항산균 종동정이나 감수성 검사가 의뢰되면 이 집락을 이용하였다. 항산균 도말 Ogawa 배지에서 항산균 도말 양성균이 암발색집락으로 자라면 “yellow colony”로 보고하였다. 비결핵항산균은 동정이 의뢰되면 Myco-ID (M&D,

원주, 대한민국)를 이용하여 제조사의 권장에 따라 *rpoB* 유전자의 다형성 부위를 증폭하고 *MspI* 제한효소 처리 후 제한산을 분석하여 종동정하였다.

### 4. 통계

검출률과 검출시간에 대해 Fisher's exact test로 통계적 유의성을 검정하였다.  $P < 0.05$ 일 때 유의한 차이가 있다고 해석하였다.

## 결 과

총 1,059 환자의 1,764검체를 대상으로 하였을 때, 165명 환자(15.6%)의 235검체(13.3%)에서 항산균 배양 양성이고 결핵균 양성이 91검체(5.2%), 비결핵항산균 양성이 144검체(8.2%)였다. 호흡기검체의 양성 배양률은 13.7% (231/1,683), 기타검체의 양성 배양률은 4.9% (4/81)로 호흡기검체의 양성 배양률이 높았다( $P < 0.01$ ).

### 1. 배양 결과

1,764검체 중 항산균 도말 양성인 53검체(3.0%)였다(Table 1). 항산균 도말 양성 검체에서 MGIT과 Ogawa에서 모두 배양

**Table 1.** Distribution of the AFB culture results based on MGIT and Ogawa according to direct smear results

Direct smear result	AFB culture result		N (%) specimens
	MGIT	Ogawa	
AFB positive	Positive	Positive	36 (67.9)
	Positive	Negative	8 (15.1)
	Positive	Contamination	2 (3.8)
	Negative	Positive	4 (7.5)
	Negative	Negative	3 (5.7)
	Negative	Contamination	0 (0.0)
	Subtotal		53 (100.0)
AFB negative	Positive	Positive	79 (4.6)
	Positive	Negative	73 (4.3)
	Positive	Contamination	14 (0.8)
	Negative	Positive	18 (1.1)
	Negative	Negative	1,359 (79.3)
	Contamination	Positive	1 (0.1)
	Contamination	Negative	34 (2.0)
	Contamination	Contamination	133 (7.8)
	Subtotal		1,711 (100.0)

Abbreviations: MGIT, Mycobacteria Growth Indicator Tube; AFB, acid fast bacilli.

Table 2. Recovery rate of MGIT and Ogawa

Culture system	N (%) positive cultures for		
	MTB	NTM	All mycobacteria
MGIT and Ogawa	59 (64.8)	56 (38.9)	115 (48.9)
MGIT only	31 (34.1)	66 (45.8)	97 (41.3)
Ogawa only	1 (1.1)	22 (15.3)	23 (9.8)
Total	91 (100.0)	144 (100.0)	235 (100.0)

Abbreviations: MGIT, Mycobacteria Growth Indicator Tube; MTB, *Mycobacterium tuberculosis*; NTM, nontuberculous mycobacteria.

양성은 36검체(67.9%)였으며, MGIT에서만 배양 양성은 10검체(18.9%), Ogawa에서만 배양 양성은 4검체(7.5%)였으며, 배양 음성은 3검체(5.7%)였다. 항산균 도말 음성인 1,711검체 중 MGIT과 Ogawa에서 모두 배양 양성은 79검체(4.6%)였으며, MGIT에서만 배양 양성은 87검체(5.1%), Ogawa에서만 양성은 18검체(1.2%)였다. Ogawa에서만 배양된 균은 PCR에서 각 1건씩 결핵균과 비결핵항산균으로 동정되었고, 나머지 16건은 “yellow colony”로 보고되었다[2].

## 2. 검출률 및 비결핵항산균 동정결과

항산균의 검출률은 두 배지 모두 사용 시 13.3% (235/1764), MGIT에서 12.1% (212/1,764), Ogawa에서 7.8% (138/1,764)로, 두 배지를 모두 사용한 경우 검출률이 가장 높았으나 MGIT만 사용한 경우에 비해 통계적으로 유의한 차이는 없었고, Ogawa 보다는 검출률이 높았다( $P<0.01$ ). 항산균 배양 양성인 총 235검체 중에서 결핵균은 91건(38.7%), 비결핵항산균은 144건(61.3%)이었다(Table 2). 결핵균이 분리된 총 91검체 중에서 59건(64.8%)은 MGIT과 Ogawa에서 모두 배양되었으며 31건(34.1%)은 MGIT에서만, 1건(1.1%)은 Ogawa에서만 배양되었다. 비결핵항산균이 배양된 144검체 중에서 56건(38.9%)은 MGIT과 Ogawa에서 모두 배양되었으며 66건(45.8%)은 MGIT에서만, 22건(15.3%)은 Ogawa에서만 배양되었다[3]. 비결핵항산균 중 80검체는 중 수준까지 동정을 하였으며 *Mycobacterium intracellulare* 35건, *M. avium* 16건, *M. abscessus* 13건, *M. fortuitum* 6건, *M. gordonae* 5건, *M. szulgai* 3건, *M. celatum* 1건, *M. kansasii* 1건이었다.

## 3. 검출시간

항산균의 평균검출시간은 MGIT에서 10.6일이었고, Ogawa는 31일로 MGIT의 평균검출시간이 유의하게 짧았다( $P<0.01$ )

Table 3. Time to detection of mycobacteria in Ogawa and MGIT

AFB smear	Mycobacteria	N isolates	Days to detection of mycobacteria (range)	
			MGIT	Ogawa
AFB (+)	MTB	32	9.5 (3.7-20.8)	27 (19-38)
	NTM	18	4.4 (2.7-6.6)	31 (20-56)
	All mycobacteria	50	8.2 (2.7-20.8)	28 (19-56)
AFB (-)	MTB	59	12.7 (7.6-19.0)	30 (24-44)
	NTM	126	10.7 (3.4-42.7)	34 (17-56)
	All mycobacteria	185	11.6 (3.4-42.7)	32 (17-56)
Total	MTB	91	11.4 (3.7-20.8)	29 (19-44)
	NTM	144	9.7 (2.7-42.7)	33 (17-56)
	All mycobacteria	235	10.6 (2.7-42.7)	31 (17-56)

Abbreviations: AFB, acid fast bacilli; See Table 2.

(Table 3). 이 중 결핵균의 평균검출시간은 MGIT에서 11.4일, Ogawa에서 29일이었고, 비결핵항산균 평균검출시간은 MGIT에서 9.7일, Ogawa에서 33일로 두 경우 모두 MGIT의 평균검출시간이 유의하게 짧았다( $P<0.01$ ). 항산균 도말 양성인 검체의 평균검출시간은 MGIT에서 8.2일, Ogawa에서 28일이었다. 항산균 도말 양성일 때, 결핵균의 평균검출시간은 MGIT에서 9.5일, Ogawa에서 27일, 비결핵항산균의 평균검출시간은 MGIT에서 4.4일, Ogawa에서 31일이었다. 항산균 도말 음성인 검체의 평균검출시간은 MGIT에서 11.6일, Ogawa는 32일이었다. 항산균 도말 음성일 때, 결핵균의 평균검출시간은 MGIT에서 12.7일, Ogawa에서 30일, 비결핵항산균의 평균검출시간은 MGIT에서 10.7일, Ogawa는 34일이었다. 비결핵항산균의 종별 MGIT 평균검출시간은 *M. intracellulare* 6.1일, *M. fortuitum* 6.1일, *M. kansasii* 7.1일, *M. gordonae* 8.0일, *M. abscessus* 9.2일, *M. avium* 14.3일, *M. celatum* 26.5일이었다. 이들 균종들의 Ogawa에서 검출시간은 28-56일로 MGIT 배양에 비해 14일 이상 길었다. 예를 들어 *M. avium-intracellulare*의 평균검출시간은 MGIT에서 7.4일인데 비해, Ogawa에서는 34일이었다. 항산균 도말 양성인 비결핵항산균이 분리된 18검체 중 중 수준까지 동정된 *M. intracellulare* 9건, *M. abscessus* 4건의 MGIT 평균검출시간은 각각 3.8일, 5.8일이었으며 항산균 도말 음성일 때 *M. intracellulare* 9건, *M. abscessus* 4건의 평균검출시간은 7.0일, 9.2일이었다[4].

## 4. 오염률

MGIT 오염률은 9.6% (170건)였고 Ogawa의 오염률은 8.3% (147건)였다. MGIT 배양 양성인 212검체 중에서 항산균과 오염균이 혼합배양된 검체는 66건(31.1%)으로 전체 검체의 3.7%



가 혼합배양되었다. 이 중 결핵균이 혼합 배양된 것은 31검체, 비결핵항산균이 혼합배양된 것은 35검체였다. 이들 검체를 탈오염시켜 Ogawa에 계대배양했을 때 63검체에서 항산균 집락을 얻을 수 있었다. MGIT에서 혼합 배양된 검체 중 결핵균 23건, 비결핵항산균 15건은 일차접종한 Ogawa 배지에서 집락이 분리되었다. Ogawa 계대배양에서 자라지 않은 항산균 3건은 비결핵항산균이었으며, 일차접종한 Ogawa에서도 집락을 얻을 수 없었다. 이들에 대해 MGIT 배양액에서 얻은 핵산으로 직접 중동정을 시도했을 때 *M. intracellulare* 1균주, *M. abscessus* 1균주였고, 이들 균주가 분리된 환자들은 이전에도 동일한 균이 배양된 적이 있었다. 1검체는 균종 동정에 실패하였다. MGIT에서 항산균이 순수 배양되어 재처리하지 않고 Ogawa에 계대배양한 검체들은 모두 집락을 얻을 수 있었다.

## 고 찰

본 연구에서 액체와 고체배지의 배양결과를 종합했을 때 항산균 배양 양성률이 13.3%였고 환자 수로는 15.6%였다. 이는 국내에서 이루어진 다른 연구에서 10.7-12%인 것과 비교할 때 높은 편이다[9-11]. 이들 연구에서는 양성 건수의 대부분이 결핵균이 분리된 경우로 결핵균 배양양성률이 8.9-10.4% 정도였던 것에 비하면 본 연구에서는 5.2%로 낮고, 비결핵항산균이 전체 양성 중 61.3%를 차지하여 비결핵항산균의 높은 분리율 때문에 전체 양성률이 높아졌다고 볼 수 있다. 이는 본 연구기관이 3차 병원으로 이전의 연구기관에 비해 순수한 결핵감염 진단을 위해 내원하는 경우가 적고, 심각한 기저질환을 가진 환자가 많아서 결핵감염자 빈도는 낮고 비결핵항산균 감염자의 빈도가 높을 가능성이 있다.

MGIT과 Ogawa 배지의 양성결과를 통합해서 볼 때 MGIT의 양성검출률은 90.2%, Ogawa의 양성검출률은 41.7%로 이전 연구와 비슷하며[9-11] MGIT이 훨씬 민감하여, 이전 연구에서처럼[9-15] MGIT을 추가함으로써 민감도를 향상시킬 수 있었다. 특히 결핵균은 MGIT에서 전체 양성 검체의 98.9%를 검출하여 MGIT 단독 배양만으로도 민감도가 충분할 것으로 생각되었다. 결핵균 검출에서 이전 연구들은 고체배지를 병용할 때 검출률을 높인다고 보고한데[14-17] 비해 고체배지로 인해 1.1%만을 더 검출할 수 있었던 것은 이 연구에서 사용한 고체배지의 민감도가 낮았기 때문일 수 있다. 2% Ogawa 배지와 MGIT 배지를 평가한 다른 논문에서도 결핵균이 Ogawa에서만 배양된 경우는 2.7%, 3% Ogawa를 사용했던 연구에서는 1.9%에 불과하였다는 보고가 있어서 양성검출률에 있어서 Ogawa의 기여도

는 매우 낮았다[11, 18]. Ogawa 배지는 NaOH 탈오염 후 중화하지 않고 바로 접종할 수 있도록 고안된 배지로 과도하게 오염률이 낮은 반면, 민감도는 떨어진다고[19]. 고체배지와 액체배지를 병용하는 배양시스템의 효율성을 높이기 위해서는 향후 고체배지 배양을 개선하는 연구가 필요할 것이다.

비결핵항산균은 MGIT에서만 양성인 검체가 45.8%로서 MGIT이 비결핵항산균의 양성률을 크게 높인다는 이전 연구와 비슷한 결과를 보인다[12, 13]. 흔히 오염균으로 간주되어왔던 비결핵항산균은 사람에서 다양한 만성 감염을 일으킨다고 보고되었고[2, 20-22], 최근 지속적으로 증가하는 추세이다[3, 20-22]. Ogawa에서만 검출된 22건의 비결핵항산균 중 16건은 “yellow colony”로 대부분 오염균으로 판단되는데 비해, MGIT에서 검출된 나머지 비결핵항산균은 *M. intracellulare*, *M. abscessus*, *M. avium*, *M. kansasii* 등이 전체의 81.3%를 차지하여 국내에서 비결핵항산균 폐질환의 중요한 원인균들로 보고된 균종이 대부분이었다[6, 21-24]. 따라서 본 연구에서 분리된 비결핵항산균은 오염균이기보다는 병원균일 가능성이 높다. 비결핵항산균 감염은 대부분 만성적이면서 장기간의 치료를 필요로 하고, 결핵과는 항균제감수성양상이 다르고, 항균제내성이 높은 균종이 있어서 배양해서 균을 분리 동정하는 것이 치료에 결정적인 영향을 준다[6].

항산균도말 양성일 때는 MGIT과 Ogawa에서 항산균이 동시에 배양된 경우가 67.9%로, 항산균도말 음성일 때에 비해 높지만, MGIT에서만 양성인 경우가 18.9%, Ogawa만 양성인 경우는 7.5%였다. 항산균도말 음성인 검체 중 항산균이 배양된 185건에서 MGIT과 Ogawa에서 동시에 배양된 경우는 42.7%에 불과하고, MGIT만 양성인 경우는 47.0%, Ogawa만 양성인 경우는 10.3%였다. 따라서 항산균도말 음성인 경우 MGIT 배양에 의한 민감도 향상효과가 높았다는 것을 알 수 있다. 이전 연구들에서도 항산균도말 양성일 때와 음성일 때 MGIT을 사용하면 배양 민감도가 각각 1.1-6.8%, 16.5-21.9% 증가하여 항산균도말 음성일 때 MGIT으로 인해 민감도가 향상되는 효과가 더 컸다[9, 14].

항산균의 평균검출시간은 MGIT에서 10.6일, Ogawa에서 31일로 20일 정도가 단축되었다(Table 3). 결핵균 평균검출시간은 MGIT에서 11.4일, Ogawa에서 29일, 비결핵항산균 평균검출시간은 MGIT에서 9.7일, Ogawa에서 33일로 이는 이전 연구 결과에서 결핵균과 비결핵항산균의 MGIT의 평균검출시간/Ogawa의 평균검출시간이 각각 11.5-12.8일/22.8-31일, 8.8-10.0일/24.4-37일인 것과 비슷하다[9-11]. 항산균 도말 양성일 때와 음성일 때 결핵균 평균검출시간이 MGIT에서 9.5일, 12.7

일, Ogawa에서 27일, 30일로 MGIT을 사용함으로써 결핵균을 17.3일 정도 조기검출을 할 수 있었고, 도말 양성일 때 3일 정도 더 빨리 검출되었다. 본 연구에서 항산균도말 음성이고 결핵균 배양 양성인 검체는 64.8%나 되기 때문에 신속한 배양결과는 조기진단을 가능하게 함으로써 치료에 영향을 줄 수 있다. 항산균도말 양성일 때와 음성일 때 비결핵항산균 평균검출시간은 MGIT에서 4.4일, 10.7일, Ogawa에서 31일, 34일로 결핵균 배양 양성일 때보다 더 큰 차이를 보였고, 이들은 주로 *M. intracellulare*, *M. abscessus* 등으로 병원균일 가능성이 높은 균종이었다. 특히 *M. avium-intracellulare*의 평균검출시간은 MGIT에서 7.4일이었고, 항산균도말 양성검체는 3.8일로 신속균을 포함한 다른 비결핵항산균에 비해서 빠르다. MGIT과 BACTEC 460 TB 시스템을 평가한 한 보고에서도 MGIT에서 *M. avium-intracellulare*의 평균검출시간은 12.7일, 항산균도말 양성검체는 5.8일이고, 다른 비결핵항산균은 20.9일 12.8일로 *M. avium-intracellulare*이 다른 비결핵항산균보다 빨랐다[25]. 다른 보고에서도 *M. avium-intracellulare*의 평균검출시간은 5.94일, 항산균도말 양성검체는 5.25일로, 도말 양성인 다른 비결핵항산균이 9일인 것에 비해 훨씬 빨라[15] MGIT 시스템이 *M. avium-intracellulare*을 신속히 배양하는 시스템인 것을 알 수 있다. 1997년 미국흉부학회에서 제시한 비결핵항산균 폐감염의 진단 기준은 항산균 도말 양성인 감염과 집락화를 감별할 수 있는 중요한 기준이다[26], 2007년 기준은 도말 양성기준을 삭제하였지만[22]. 도말 양성인 여전히 비결핵항산균 배양 시 감염과 집락화를 감별하는 중요한 기준이다. 국내에서는 결핵유병률이 높기 때문에 항산균 폐감염이 의심되는 환자에서 처음으로 항산균 도말 양성결과를 얻으면 통상 결핵에 준한 항결핵제치료를 바로 시작하게 된다[27]. 최근 항산균 도말 양성인 검체에서 비결핵항산균의 양성률이 증가하는 추세를 고려할 때[3] 도말 양성인 비결핵항산균을 4-5일 내에 신속히 분리 동정하는 것은 초기에 비결핵항산균에 의한 폐감염을 진단함으로써, 부적절한 치료를 중단하고, 적절한 치료를 시작하는 결정적인 계기가 될 것이다.

본 연구에서 MGIT 배양의 오염률은 9.6%였다. 일반적으로 항산균배양에서 적절한 오염률로 제시하는 3-5%[6]에 비해서는 훨씬 높다. 하지만 이전의 연구에서 BACTEC MGIT 960의 오염률이 7.9-29%로 보고된 것에 비교할 때[9, 12, 13, 16, 17, 28], 본 연구의 오염률이 높지는 않다. Saiton 등[19]의 연구에서 MGIT의 오염률이 20%를 넘어 검출률이 고체배지보다도 낮았다고 보고하여 오염률이 액체배지 배양의 수행능에 중요한 결정인자로 작용함을 알 수 있다. 통상 액체배지는 고체배지에

비해 오염률이 높을 수 밖에 없다[6]. 본 연구에서는 5% NaOH를 사용했는데 오염률을 낮추기 위해 NaOH 농도를 더 이상 높이는 것은 항산균의 검출률을 떨어뜨릴 위험이 있다. 이 등[10]은 탈오염 시 각각 4%, 6%, 8% NaOH를 사용하였을 때 검출률은 각각 8.1%, 10.8%, 4.0%, 오염률은 각각 16.2%, 8%, 9.3%로 6% NaOH를 사용할 때 검출률과 오염률을 가장 효과적으로 조절할 수 있다고 보고했고, 최 등[9]은 4% NaOH에 비해 6% NaOH를 사용하면 오염률은 감소하지만 고체배지의 결핵균 검출률이 현저히 감소되었다고 보고하였다. 이 연구에서 MGIT 배양이 오염이 되었던 170건을 탈오염시켜 MGIT에 재배양해도 항산균은 한 건도 검출할 수 없어서, 탈오염-재배양은 효과적이지 않았다. 이 중 결핵균 1주와 비결핵항산균 1주가 일차접종한 Ogawa 배지에서만 검출되었다. 또한 MGIT 양성 검체의 34%가 혼합 배양이었는데 이 중 74%에서는 일차접종한 Ogawa에 집락을 얻을 수 있어서, MGIT이 혼합 배양되는 경우에도 동정과 감수성 등 추가검사를 위해 Ogawa 배양이 결정적인 역할을 하였다. Ito 등[18]은 MGIT이 오염되었을 때 결핵균을 분리한 15검체 중 46.7%는 일차접종한 Ogawa에서 균을 얻었고, 73.3%는 재처리해서 접종한 MGIT에 균을 얻어서 둘 사이에 통계적으로 차이가 없었다고 하였다. 따라서 액체배지가 오염되었을 때 탈오염시켜 재배양하는 것보다 MGIT과 Ogawa를 병용함으로써 MGIT이 오염되는 경우를 보완하는 것이 검사실 인력과 비용을 절감할 수 있는 실제적인 방법일 것으로 생각하였다.

결론적으로 항산균 배양에서 MGIT을 Ogawa와 병용함으로써 민감도를 높이고 검출시간을 단축할 수 있었다. 특히 비결핵항산균에 의한 감염의 진단을 크게 향상시킬 수 있을 것으로 판단하였다 Ogawa 배지는 MGIT에서 오염이 되었을 때와 항산균이 잡균과 혼합 배양될 때 보완적인 역할을 할 수 있어서 MGIT과 Ogawa를 병용하는 것이 효과적일 것으로 판단하였다. 본 검사실에서는 항산균 배양에 MGIT과 Ogawa를 병용하면서 두 배지에서 배양결과를 각각 보고하고, MGIT 양성인 경우 동정과 감수성검사를 위해 Ogawa에 계대배양하는 시스템을 구축하였다. 또한 MGIT이 오염되면 액체배지 오염으로 보고한 후 Ogawa 판독결과를 추후 보고하기로 하였다.

## 요 약

**배경 :** 항산균의 신속하고 민감한 동정을 위하여 액체배지와 고체배지를 병용하여 배양하도록 권장된다. 본 연구자들은 BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT; Becton Dickinson, USA)와 Ogawa 배지(2%, 결핵연구원, 대한민국

국)를 병행했을 때 항산균 배양 성적에 미치는 영향을 분석하고자 하였다.

**방법** : 2007년 9월에 서울아산병원 외래에 내원했거나 입원한 1,059명의 환자로부터 항산균 배양검사가 의뢰된 1,764검체를 MGIT와 Ogawa에서 배양하였다. 항산균 도말은 형광염색을 하였다. 분리된 항산균은 Seeplex TB Detection Kit (씨젠, 대한민국)를 이용한 PCR 검사로 결핵균과 비결핵항산균으로 동정하였다. 검출률, 검출 소요시간, 오염률, 항산균의 중 분포 등을 분석하였다.

**결과** : 165명 환자(15.6%)의 235검체(13.3%)로부터 항산균이 배양되었다. 두 배지 병용, MGIT 단독, Ogawa 단독 배양을 시행한 경우 항산균의 검출률은 각각 13.3%, 12.1%, 7.8%였고, 전체 양성검체 중 MGIT은 결핵균의 98.9%, 비결핵항산균의 79.7%를, Ogawa에서는 결핵균의 65.9%, 비결핵항산균의 54.1%를 검출하였다. MGIT과 Ogawa에서 전체 항산균/결핵균/비결핵항산균의 평균검출시간은 각각 10.6일/11.4일/9.7일과 31일/29일/33일이었다. MGIT에서 이 검출 시간은 항산균 도말 양성일 때 8.2일/9.5일/4.4일로 항산균 도말 음성일 때 11.6일/12.7일/10.7일보다 유의하게 단축되었다. MGIT의 오염률과 혼합 배양률은 각각 9.6%와 3.7%였다. MGIT에서 오염된 170검체 중 결핵균 1건과 비결핵항산균 1건이 분리되었고, MGIT에서 혼합 배양된 66검체 중 38검체는 일차접종한 Ogawa에서 검출되었다.

**결론** : MGIT은 항산균 배양의 민감도를 높이고 검출시간을 단축시킨다. 그러나 Ogawa는 MGIT이 오염되었을 때 보완적인 역할을 할 수 있으므로 MGIT과 Ogawa를 병용하는 것이 더 바람직하다고 판단하였다.

## 참고문헌

- Lee HY, Kim MN, Shim TS, Bai GH, Pai CH. Nontuberculous mycobacterial pulmonary infection in immunocompetent patients. *Tuberc Respir Dis* 2002;53:173-82. (이효원, 김미나, 심태선, 배길한, 배직현. 면역적격자에서 비결핵마이코박테리아의 폐 감염. 결핵 및 호흡기 질환 2002;53:173-82.)
- Koh WJ, Kwon OJ, Lee KS. Nontuberculous mycobacterial pulmonary diseases in immunocompetent patients. *Korean J Radiol* 2002;3:145-57.
- Koh WJ, Kwon OJ, Yu CM, Jeon K, Suh GY, Chung MP, et al. Recovery rate of nontuberculous mycobacteria from acid-fast-bacilli smear-positive sputum specimens. *Tuberc Respir Dis* 2003;54:22-32. (고원중, 권오정, 유창민, 전경만, 서지영, 정만표 등. 항산균 도말양성 객담에서 비결핵성 마이코박테리아의 분리 비율. 결핵 및 호흡기 질환 2003;54:22-32.)
- Bird BR, Denniston MM, Huebner RE, Good RC. Changing practices in mycobacteriology: a follow-up survey of state and territorial public health laboratories. *J Clin Microbiol* 1996;34:554-9.
- World Health Organization. Global Tuberculosis Control Surveillance, Planning, Financing, WHO Report 2007, WHO/HTM/TB/2007.376. World Health Organization 2007.
- Pfyffer GE. *Mycobacterium*: general characteristics, laboratory detection, and staining procedures. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover MC. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM press, 2007: 543-572.
- Kim MN, Lee SH, Yang SE, Pai CH. Mycobacterial testing in hospital laboratories in Korea: results of a survey of 40 university or tertiary-care hospitals. *Korean J Clin Pathol* 1999;19:86-91. (김미나, 이선화, 양성은, 배직현. 국내 3차 및 대학병원에서의 결핵균 검사 실태조사. 대한임상병리학학회지 1999;19:86-91.)
- Chang CH, Park TS, Kim MN, Lee NY, Lee HJ, Suh JT. Survey on changes in mycobacterial testing practices in Korean laboratories. *Korean J Clin Microbiol* 2001;4:108-14. (장철훈, 박태성, 김미나, 이남용, 이희주, 서진태. 국내 결핵균 검사 기관의 결핵균 검사 실태의 변화. 대한임상미생물학회지 2001;4:108-14.)
- Choi YM and Lee MH. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for the recovery of mycobacteria. *Korean J Clin Pathol* 2000;20:56-61. (최윤미 및 이명희. 결핵균 배양기기 BACTEC MGIT 960 System의 평가. 대한임상병리학학회지 2000;20:56-61.)
- Yi JY, Kim JP, Shin JH, Suh SP, Ryang DW. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* using BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) 960 system-comparison with BACTEC 460 TB system and ogawa media. *Korean J Clin Pathol* 2000;20:384-91. (이지연, 김종필, 신종희, 서순팔, 양동욱. BACTEC MGIT 960 System을 이용한 결핵균의 검출-BACTEC 460 TB system 및 Ogawa 배지와 비교. 대한임상병리학학회지 2000;20:384-91.)
- Joung US, Jeong J, Lee SH, Kim SR. Comparison of mycobacterial culture by Mycobacterium Growth Indicator Tube and Ogawa media. *Korean J Clin Microbiol* 2004;7:135-8. (정희석, 정윤성, 이선호, 김성률. Mycobacterium Growth Indicator Tube와 Ogawa 배지에서의 Mycobacteria 배양성적에 대한 비교. 대한임상미생물학회지 2004;7:135-8.)
- Hanna BA, Ebrahimzadeh A, Elliott LB, Morgan MA, Novak SM, Rusch-Gerdes S. Multicenter evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for recovery of mycobacteria. *J Clin Microbiol* 1999;37:748-52.

13. Kanchana MV, Cheke D, Natyshak I, Connor B, Warner A, Martin T. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for the recovery of mycobacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;37:31-6.
14. Badak FZ, Kiska DL, Setterquist S, Hartley C, O'Connell MA, Hopfer RL. Comparison of mycobacteria growth indicator tube with BACTEC 460 for detection and recovery of mycobacteria from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1996;34:2236-9.
15. Tortoli E, Cichero P, Piersimoni C, Simonetti MT, Gesu G, Nista D. Use of BACTEC MGIT 960 for recovery of mycobacteria from clinical specimens: multicenter study. *J Clin Microbiol* 1999;37:3578-82.
16. Leitritz L, Schubert S, Bücherl B, Masch A, Heesemann J, Roggenkamp A. Evaluation of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460TB systems for recovery of mycobacteria from clinical specimens of a university hospital with low incidence of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2001;39:3764-7.
17. Cruciani M, Scarparo C, Melena M, Bosco O, Serpelloni G, Mengoli C. Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria. *J Clin Microbiol* 2004;42:2321-5.
18. Ito A and Aono A. The role of simultaneous combination culture with solid and liquid media for diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Kekkaku* 2006;81:401-5.
19. Saitoh H and Yamane N. Comparative evaluation of BACTEC MGIT 960 system with MB/BacT and egg-based media for recovery of mycobacteria. *Rinsho Biseibutshu Jinsoku Shindan Kenkyukai Shi* 2000;11:19-26.
20. Falkinham JO 3rd. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:177-215.
21. Yim JJ and Han SK. Diagnosis and treatment of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease. *J Korean Med Assoc* 2005;48: 563-70. (임재준 및 한성구. 비결핵성 마이코박테리아 폐질환의 진단과 치료. *대한의사협회지* 2005;48:563-70.)
22. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:367-416.
23. Koh WJ, Kwon OJ, Ham HS, Suh GY, Chung MP, Kim H, et al. Clinical significance of nontuberculous mycobacteria isolated from respiratory specimens. *Korean J Med* 2003;65:10-21. (고원중, 권오정, 함형식, 서지영, 정만표, 김호중 등. 호흡기 검체에서 분리된 비결핵성 마이코박테리아의 임상적 의의. *대한내과학회지* 2003;65:10-21.)
24. Choi SP, Lee BK, Min JH, Kim JH. Pathogenic classification of clinical characteristics of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease in a national tuberculous hospital. *Tuberc Respir Dis* 2005;59: 606-12. (최순필, 이봉근, 민진홍, 김진희. 일개 국립결핵병원에서 경험한 비결핵성 마이코박테리아 폐질환의 원인균과 임상상. *결핵 및 호흡기 질환* 2005;59:606-12.)
25. Somoskovi A, Song Q, Mester J, Tanner C, Hale YM, Parsons LM, et al. Use of molecular methods to identify the *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) and other mycobacterial species and to detect rifampin resistance in MTBC isolates following growth detection with the BACTEC MGIT 960 system. *J Clin Microbiol* 2003;41: 2822-6.
26. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. This official statement of the American Thoracic Society was approved by the Board of Directors, March 1997. Medical Section of the American Lung Association. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:S1-25.
27. American Thoracic Society, CDC, and Infectious Diseases Society of America. Treatment of tuberculosis. *MMWR Recomm Rep* 2003; 52:1-77.
28. Cornfield DB, Beavis KG, Greene JA, Bojak M, Bondi J. Mycobacterial growth and bacterial contamination in the mycobacteria growth indicator tube and BACTEC 460 culture systems. *J Clin Microbiol* 1997;35:2068-71.