

## Removal of PCR Inhibitors in Real-time PCR for *Mycobacterium tuberculosis*

Hye Young Yun<sup>1</sup>, Han-Sung Kim<sup>1,2</sup>, Young Kyung Lee<sup>1,2</sup>, Hee Jung Kang<sup>1,2</sup>,  
Jae-Seok Kim<sup>2</sup>, Wonkeun Song<sup>2</sup>, Kyu Man Lee<sup>2</sup>

Department of Laboratory Medicine, <sup>1</sup>Hallym University Sacred Heart Hospital,  
<sup>2</sup>Hallym University College of Medicine, Chuncheon, Korea

**Background:** The inhibition rates for nucleic acid tests of *Mycobacterium tuberculosis* have been reported to range from less than 1% to more than 10%. Specimen dilution, boiling, addition of bovine serum albumin (BSA), and a silica membrane can be used to override amplification inhibitors in nucleic acid tests of *M. tuberculosis*. The inhibition rate for real-time PCR of *M. tuberculosis* (COBAS TaqMan MTB test; Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) and effective strategies to override PCR inhibitors were investigated in this study.

**Methods:** The inhibition rate for COBAS TaqMan MTB test was investigated in 980 clinical specimens. The effectiveness of PCR inhibitor removal by repeated run, dilution, boiling, addition of BSA, and use of silica membrane were evaluated in the inhibited specimens.

**Results:** Inhibitory substances were present in 4.1% of specimens (40/980). Among 40 inhibited specimens, inhibitory substances were removed in 12 (30%), 30 (75%), 27 (67.5%), 25 (62.5%) and 12 (30%) specimens with repeated run, dilution, addition of RBS, boiling and use of silica membrane, respectively.

**Conclusion:** The overall inhibition rate for the COBAS TaqMan MTB test was 4.1%. Dilution, boiling and addition of BSA were shown to be more effective than repeated run and use of silica membrane for removal of PCR inhibitors. A combination of two methods might be useful and should be studied in the future. (Korean J Clin Microbiol 2011;14:97-102)

**Key Words:** *Mycobacterium tuberculosis*, Real-time PCR, Inhibitors

### 서 론

결핵은 호흡기로 전파되는 국내에 만연한 전염병으로 해마다 3만 명 이상의 새로운 환자가 발생하고 있다[1]. 결핵균 검사에서 전통적인 배양 방법은 결과를 얻기까지 수주 이상이 소요되고, 항산균 도말 검경은 민감도가 낮고 폐결핵 이외의 결핵을 검사하는데는 제한점을 가지고 있는 반면, PCR을 비롯한 핵산 검사법은 민감하고 신속하게 결핵균을 검출할 수 있어서 최근 유용한 검사로 이용되고 있다[2,3].

결핵균 검사를 위한 검체와 전처리 과정에 사용되는 시약 등에는 핵산 증폭을 저해, 억제할 수 있는 여러 가지 물질이 있을 수 있고, 이러한 억제 물질의 빈도는 검체, 검체의 전처리 및 핵산 추출 방법, 검사 방법에 따라서 1% 미만에서 10% 이상까지 다양한 빈도로 보고되고 있다[2-5].

최근 상품화된 결핵균 핵산 검사용 kit는 증폭 반응을 억제하

는 물질의 유무를 확인할 수 있는 내부 정도관리 물질(internal control)을 포함하고 있는 제품이 다수이다. 이러한 제품을 사용할 경우 과거에는 음성으로 보고되었던 PCR 반응 억제 사례들을 검출할 수 있는 장점이 있으나, 증폭 반응이 억제된 경우 이를 해결하기 위한 추가적인 검사가 필요하다.

COBAS TaqMan MTB test (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)는 국내에서 가장 많이 사용되고 있는 상품화된 결핵균 핵산검사 제품으로 2008년 대한임상검사정도관리협회의 진단유전학분과 신빙도 조사에 따르면, 조사에 참여한 의료기관의 42.9%가 이 제품을 사용하고 있다[6]. COBAS TaqMan MTB test는 real-time PCR법으로 결핵균 핵산을 검사하는 제품으로 내부 정도관리 물질을 포함하고 있어서, PCR이 억제되는 사례들을 검출할 수 있다.

결핵균 핵산 검사에서 핵산 증폭이 억제된 경우 검체의 희석[5,7], 중탕[8], bovine serum albumin (BSA) 첨가[9], silica membrane 사용[4] 등의 방법으로 억제 물질을 제거할 수 있는 것으로 알려져 있다. 아직 COBAS TaqMan MTB test에서 PCR 억제물질의 빈도나 억제 물질 제거 방법의 효과에 대한 보고는 없다.

Received 10 March, 2011, Revised 1 June, 2011

Accepted 3 August, 2011

Correspondence: Han-Sung Kim, Department of Laboratory Medicine, Hallym University Sacred Heart Hospital, 896 Pyeongchon-dong, Anyang 431-070, Korea. (Tel) 82-31-380-3932, (Fax) 82-31-380-3934, (E-mail) kimhan@hallym.ac.kr

연구자는 real-time PCR법을 이용한 결핵균 핵산 검사인 COBAS TaqMan MTB test에서 PCR이 억제되는 빈도를 파악하고, 억제 물질을 제거할 수 있는 효율적인 방법을 찾고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 검체

2009년 6월 1일부터 2010년 3월 31일까지 10개월간 결핵균 PCR 검사를 실시한 총 980검체를 대상으로 하였다. 검체는 객담 등 호흡기 검체가 561예, 흉막액이 191예, 소변이 74예, 뇌척수액이 58예였고 복막투석액, 복수, 활액, 농 등 기타 검체가 96예였다. 호흡기 검체는 전처리 후 원침하여 농축한 검체를, 다른 체액은 농축한 검체를 이용하여 PCR을 실시하였다.

### 2. 호흡기 검체 전처리

검체와 동량의 4% NaOH를 멸균된 50 mL screw cap centrifuge tube에 넣고 30초간 흔들어 혼합한 후 20분 동안 실온(20-25°C)에 두었다가 혼합액에 멸균 증류수를 50 mL 눈금까지 넣어 희석시켰다. 이것을 잘 혼합 후 3,000×g에서 5분간 냉장 원심분리 하였다. 상층액을 제거한 후 침사층을 진탕하였다.

### 3. 결핵균 PCR

결핵균 PCR은 COBAS TaqMan MTB test를 사용하여, 제조사의 지침에 따라 검사를 시행하였다. 검체 농축액 100  $\mu$ L를 COBAS TaqMan MTB 시약에 포함된 세척액(wash solution) 500  $\mu$ L와 혼합하여 10분간(12,500×g) 원침한 후 상층액을 제거하였다. 가라앉은 침사층에 용해액(lysis reagent) 100  $\mu$ L를 첨가하여 진탕하여 혼합한 후, 60°C에서 45분간 가온하였고, 중화액(neutralization reagent) 100  $\mu$ L를 첨가하여 핵산 추출을 완료하였다. 추출된 핵산 부유액 50  $\mu$ L를 결핵균 검출을 위한 시발체, dNTP mixture, 내부 정도관리 물질, DNA polymerase가 들어있는 mastermix 50  $\mu$ L와 혼합하였고, COBAS TaqMan48 thermal cycler (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)를 이용하여 PCR 반응을 실시하였다. 매 검사 시 검체와 함께 제조사가 제공한 양성 정도관리 물질(positive control)과 음성 정도관리 물질(negative control)을 함께 검사하였다. 내부 정도관리 물질이 증폭되며 결핵균에 특이적인 PCR 반응산물이 증폭된 경우를 양성, 내부 정도관리 물질만 증폭된 경우를 음성으로 판정하였고, 내부 정도관리 물질이 증폭되지 않은 경우 PCR 억제 물질이 있는 것으로 판정하였다.

### 4. PCR 억제물질을 제거하기 위한 추가 검사

PCR이 억제되었던 사례는 재검, 희석, 중탕, BSA 첨가와 silica membrane을 사용하는 방법을 이용하여 PCR 억제물질

제거 효과를 평가하였다. 재검은 추출한 핵산을 이용하여 동일한 방법으로 다시 PCR을 시행하였고, 희석하는 방법은 추출한 핵산을 1 : 10으로 희석하여 PCR을 시행하였다. BSA 첨가법은 전처리가 끝난 검체에 BSA를 0.025% 농도가 되도록 첨가한 후 핵산 추출과 PCR을 시행하였다. 중탕은 전처리가 끝난 검체 100  $\mu$ L를 100°C에서 10분간 중탕한 후 핵산추출과 PCR을 시행하였다. Silica membrane을 이용하는 방법은 추출한 핵산을 silica membrane (High Pure Viral Nucleic Acid Kit; Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)에 여과한 후 PCR을 시행하였다.

### 5. 통계

재검, 희석, BSA 첨가, 끓임, silica membrane을 이용한 경우의 PCR 억제 물질 제거율 비교에는 카이제곱검정(chi-square test)을 이용하였고, *P*값이 0.05 미만인 경우 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. PCR 반응 억제 빈도

총 980사례 중 40예(4.1%)에서 PCR이 억제되었다. 억제 빈도는 호흡기 검체에서 3.2% (18/561), 비호흡기 검체에서 5.3% (22/419)였다. 비호흡기 검체 중 억제 빈도는 흉막액에서 8.9% (17/191), 소변에서 6.8% (5/74)였고, 다른 비호흡기 검체에서는 PCR 반응이 억제되지 않았다(Table 1). 소변의 경우 남성 검체가 42예, 여성 검체가 32예였는데, PCR 반응이 억제된 5예가 모두 여성 검체였다.

### 2. 억제물질 제거 효과

PCR이 억제된 40예 중 재검 시 12예(30%), 1 : 10 희석 시 30예(75%), BSA 첨가 시 27예(67.5%), 중탕한 경우 25예(62.5%), silica membrane을 이용한 경우 12예(30%)에서 PCR 억제 현상이 소실되었다. 40예 중 35예(87.5%)에서 한 가지 방법 이상에서 PCR 억제 현상이 소실된 반면, 5예(12.5%)는 모든 방법을

Table 1. PCR inhibition rates according to specimen types

Specimen group	No. of specimen	No. (%) with inhibition
Respiratory tract*	561	18 (3.2)
Pleural fluid	191	17 (8.9)
Urine	74	5 (6.8)
CSF	58	0 (0.0)
Other	96	0 (0.0)
Total	980	40 (4.1)

\*Includes sputa (n=459), bronchial washing (n=1), and tracheal aspirates (n=1).

**Table 2.** Resolution rate of PCR inhibition among 40 inhibited specimens by the methods to remove inhibitors

Specimen type	No. of specimen	No. (%) of resolution at repeat with the method				
		None	Dilution*	BSA <sup>†</sup>	Boiling	Silica membrane
Sputum	18	7 (38.9)	12 (66.7)	10 (55.6)	11 (61.1)	5 (27.8)
Pleural fluid	17	3 (17.6)	14 (83.5)	14 (83.5)	14 (83.5)	7 (41.2)
Urine	5	2 (40.0)	4 (80.0)	3 (60.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Total	40	12 (30.0)	30 (75.0)	27 (67.5)	25 (62.5)	12 (30)

\*1 : 10 dilution, <sup>†</sup>0.025% bovine serum albumin.

이용하여도 지속적으로 PCR이 억제되는 양상을 보였다. 억제 물질을 제거할 수 있었던 35예 중 34예는 결핵균 PCR 음성 결과를 보였고, 1예는 양성 결과를 보였다.

객담 검체는 18예 중 재검 시 7예(38.9%), 1 : 10 희석 시 12예(66.7%), BSA 첨가 시 10예(55.6%), 중탕한 경우 11예(61.1%), silica membrane을 이용한 경우 5예(27.8%)에서 PCR 억제 현상이 소실되었다. 흉막액 검체는 17예 중 재검 시 3예(17.6%), 1 : 10 희석 시 14예(83.5%), BSA 첨가 시 14예(83.5%), 중탕한 경우 14예(83.5%), silica membrane을 이용한 경우 7예(41.2%)에서 PCR 억제 현상이 소실되었다. 소변 검체 5예 중 중탕한 경우와 silica membrane을 이용한 경우 억제 물질 제거 효과가 있었던 사례가 없었고, 재검 시 2예(40%), 1 : 10 희석 시 4예(80%), BSA 첨가 시 3예(60%)에서 PCR 억제 현상이 소실되었다(Table 2, 3).

희석, BSA 첨가, 중탕하는 방법이 단순 재검이나 silica membrane을 이용한 방법에 비하여 PCR 억제 물질을 통계적으로 유의하게 더 효과적으로 제거할 수 있었다( $P < 0.005$ ). 희석, BSA 첨가, 중탕하는 방법의 PCR 억제 물질 제거율을 비교한 결과 이들 방법들 사이에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

희석, BSA 첨가, 중탕하는 방법 중 2가지 방법을 조합하여 이용할 경우, 희석과 BSA 첨가를 조합할 경우 33예(82.5%), 희석과 중탕하는 방법을 조합할 경우 34예(85.0%), BSA 첨가와 중탕하는 방법을 조합할 경우 29예(72.5%)에서 PCR 억제 물질을 제거할 수 있었다.

## 고 찰

결핵균 핵산 검사에서 위음성을 나타낼 수 있는 원인으로는 증폭반응 억제 물질, 검체 내에 결핵균이 균일하게 분포하지 않아서 검사에 사용한 검체에 결핵균이 포함되지 않은 경우, 검체 내에 결핵균의 수가 매우 적은 경우, 부적절한 핵산 추출 방법 등이 있다[8,10]. 이 중 증폭반응 억제 물질에 의한 위음성은 내부 정도관리 물질이 포함된 상품화된 제품을 이용하면 거의 대부분 검출할 수 있는 것으로 알려져 있다[10].

결핵균 핵산 검사에서 혈색소(hemoglobin), 요소(urea), nuclease와 protease 등의 효소, 여러 가지 약물과 그 대사 물질, phenol, sodium dodecyl sulfate 등이 증폭반응을 억제할 수 있는 것으로 알려져 있으나, 그 정확한 기전이 밝혀져 있지 않은 경우가 많다[8,10,11]. 억제 물질의 빈도는 검사 방법, 검체 등의 영향을 받는데, 기존의 보고에서는 호흡기 검체에 비하여 비호흡기 검체에서 억제 물질의 빈도가 더 높은 것으로 보고되었다[4,10,12]. 이번 연구에서 COBAS TaqMan MTB test의 억제 물질의 빈도는 호흡기 검체에서 3.2%, 비호흡기 검체에서 5.2%, 전체적으로는 4.1%로 나타났다. 소변의 경우 남성 검체에서는 증폭반응이 억제된 사례가 없었던 반면, 여성 검체에서는 15.6%의 빈도로 억제 물질이 있었다. 생리 중이거나 질분비물이 과다한 여성에서 소변 검체가 오염되어 이러한 영향이 있었던 것으로 생각할 수 있다[13].

COBAS TaqMan MTB test에서 PCR 억제 현상이 있는 경우 이러한 억제 물질이 불안정할 수 있으므로, 제조사는 재검을 권장하고 있다. 단순 재검은 시행하기가 용이하고, 일부 PCR 억제 현상을 해결할 수 있었으나, 다른 방법에 비하여 효과가 높지 않았다. Roche Diagnostics사의 이전 제품인 Amplicor MTB test에서 silica membrane을 이용할 경우 PCR 억제 물질의 91% (75/82)를 제거할 수 있다는 연구 결과가 있었으나[4], 이번 연구 결과에서는 30%에서만 PCR 억제 물질을 제거할 수 있어서 그 효과가 크지 않았다. 기존의 silica membrane을 이용한 연구는 비호흡기 검체가 호흡기 검체에 비하여 많았던 점과 사용한 시약에 차이가 있었던 점 등이 연구 결과에 영향을 주었을 가능성을 고려할 수 있다.

1 : 10 희석, BSA 첨가, 중탕하는 방법은 비교적 효과적으로 PCR 억제 물질을 제거할 수 있었다. 희석법은 특히 RNA를 증폭하는 방법인 Gen-Probe MTD assay에서 매우 효과적인 것으로 보고되었는데[7,14], 이번 연구 결과 COBAS TaqMan MTB test에서도 효과적으로 PCR 억제 물질을 제거할 수 있었다. Forbes 등은 BSA를 첨가하여 PCR 억제 현상의 대부분을 해결하였다고 보고하였고[9], 이번 연구 결과 BSA를 첨가하는 방법이 간편하고 효과적으로 PCR 억제 물질을 제거할 수 있는 방법임을 확인할 수 있었다. 검체를 중탕하는 방법은 특히 소

**Table 3.** Repeated PCR results of 40 inhibited specimens with strategies to remove inhibitors

Specimen type	None	Dilution*	BSA <sup>†</sup>	Boiling	Silica membrane
Sputum	I	I	I	I	I
Sputum	I	I	I	I	I
Sputum	I	I	I	I	I
Sputum	I	I	I	I	I
Sputum	I	N	I	I	I
Sputum	I	N	I	I	I
Sputum	N	N	N	I	I
Sputum	N	N	I	N	I
Sputum	I	N	N	N	I
Sputum	I	N	N	N	I
Sputum	I	N	N	N	I
Sputum	N	N	N	N	I
Sputum	N	N	N	N	I
Sputum	I	I	I	N	N
Sputum	I	I	N	N	N
Sputum	N	N	N	N	N
Sputum	N	N	N	N	N
Sputum	P	P	P	P	P
Pleural fluid	I	I	N	N	N
Pleural fluid	I	N	I	I	I
Pleural fluid	N	N	I	I	I
Pleural fluid	I	I	N	N	I
Pleural fluid	I	N	N	N	I
Pleural fluid	I	N	N	N	I
Pleural fluid	I	N	N	N	I
Pleural fluid	I	N	N	N	I
Pleural fluid	I	N	N	N	I
Pleural fluid	N	N	N	N	I
Pleural fluid	I	I	I	I	N
Pleural fluid	I	N	N	N	N
Pleural fluid	I	N	N	N	N
Pleural fluid	I	N	N	N	N
Pleural fluid	I	N	N	N	N
Pleural fluid	I	N	N	N	N
Pleural fluid	N	N	N	N	N
Pleural fluid	I	N	N	N	I
Urine	I	I	I	I	I
Urine	I	N	I	I	I
Urine	I	N	N	I	I
Urine	N	N	N	I	I
Urine	N	N	N	I	I

\*1 : 10 dilution, <sup>†</sup>0.025% bovine serum albumin.

Abbreviations: I, inhibition; N, negative; P, positive.

변 검체에서 효과적으로 PCR 억제 물질을 제거할 수 있는 방법으로 보고되었으나[8], 이번 연구에서는 객담과 흉막액 검체에서는 PCR 억제 물질을 제거할 수 있었으나, 소변 검체에서는 효과가 없었다. 이번 연구에서 PCR 억제 현상이 있었던 소변 검체가 5검체에 불과하였으므로, 이에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.

PCR 억제 물질 제거는 2가지 방법을 조합할 경우 효과가 증대되었다. 이번 연구에서 PCR 억제 물질이 있었던 40예 중 억제 현상을 해결할 수 있었던 경우가 35예였는데, 희석과 BSA 첨가를 조합할 경우 33예에서, 희석과 중탕하는 방법을 조합할 경우 34예에서 PCR 억제 물질을 제거할 수 있어서, 해결할 수

있었던 사례의 거의 대부분은 이 2가지 방법의 조합으로 PCR 억제 물질을 제거할 수 있었다. 비용과 업무량을 고려하여 2가지 방법을 조합하여 이용하는 것을 고려할 수 있을 것으로 생각한다.

이번 연구 결과 COBAS TaqMan MTB test에서 PCR 억제 물질의 빈도는 4.1%였고, 희석, BSA 첨가, 중탕하는 방법을 이용할 경우 각각 75%, 67.5%, 62.5%의 사례에서 PCR 억제 물질을 제거할 수 있었다. 단순 재검이나 silica membrane을 이용한 방법은 희석, BSA 첨가, 중탕하는 방법에 비하여 억제 물질을 제거하는 효과가 부족하였다.

## 감사의 글

이 연구는 2009년도 대한임상미생물학회 연구비 지원을 받아서 수행되었음.

## 참 고 문 헌

1. Korea Center for Disease Control and Prevention, Korean Institute of Tuberculosis. Annual report on the notified tuberculosis, 2008.
2. Rajalahti I, Vuorinen P, Nieminen MM, Miettinen A. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in sputum specimens by the automated Roche Cobas Amplicor *Mycobacterium tuberculosis* Test. J Clin Microbiol 1998;36:975-8.
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated guidelines for the use of nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculosis. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009;58:7-10.
4. Böddinghaus B, Wichelhaus TA, Brade V, Bittner T. Removal of PCR inhibitors by silica membranes: evaluating the Amplicor *Mycobacterium tuberculosis* kit. J Clin Microbiol 2001;39:3750-2.
5. Guerra RL, Baker JF, Alborz R, Armstrong DT, Kiehlbauch JA, Conde MB, et al. Specimen dilution improves sensitivity of the amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test for smear microscopy-positive respiratory specimens. J Clin Microbiol 2008; 46:314-6.
6. Kim SH, Ki CS, Jeon BR, Lee ST, Yoo EH, Kim JW, et al. Annual report on external quality assessment in diagnostic genetics in Korea (2008). J Lab Med Qual Assur 2009;31:161-81.
7. Pollock N, Westerling J, Sloutsky A. Specimen dilution increases the diagnostic utility of the gen-probe *Mycobacterium tuberculosis* direct test. Am J Clin Pathol 2006;126:142-7.
8. van Vollenhoven P, Heyns CF, de Beer PM, Whitaker P, van Helden PD, Victor T. Polymerase chain reaction in the diagnosis of urinary tract tuberculosis. Urol Res 1996;24:107-11.
9. Forbes BA and Hicks KE. Substances interfering with direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens by PCR: effects of bovine serum albumin. J Clin Microbiol 1996;34: 2125-8.
10. Piersimoni C and Scarparo C. Relevance of commercial amplification methods for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in clinical samples. J Clin Microbiol 2003;41:5355-65.
11. Brisson-Noel A, Aznar C, Chureau C, Nguyen S, Pierre C, Bartoli M, et al. Diagnosis of tuberculosis by DNA amplification in clinical practice evaluation. Lancet 1991;338:364-6.
12. Reischl U, Lehn N, Wolf H, Naumann L. Clinical evaluation of the automated COBAS AMPLICOR MTB assay for testing respiratory and nonrespiratory specimens. J Clin Microbiol 1998;36:2853-60.
13. Crucitti T, Van Dyck E, Tehe A, Abdellati S, Vuylsteke B, Buve A, et al. Comparison of culture and different PCR assays for detection of *Trichomonas vaginalis* in self collected vaginal swab specimens. Sex Transm Infect 2003;79:393-8.
14. Kim JY, Ferraro MJ, Branda JA. False-negative results obtained with the Gen-Probe Amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test caused by unrecognized inhibition of the amplification reaction. J Clin Microbiol 2009;47:2995-7.

=국문초록=

## 결핵균 검출을 위한 실시간 중합효소연쇄반응 검사에서 반응 억제 물질의 제거 방법

<sup>1</sup>한림대학교성심병원 진단검사의학과, <sup>2</sup>한림대학교 의과대학 진단검사의학교실

윤혜영<sup>1</sup>, 김한성<sup>1,2</sup>, 이영경<sup>1,2</sup>, 강희정<sup>1,2</sup>, 김재석<sup>2</sup>, 송원근<sup>2</sup>, 이규만<sup>2</sup>

**배경:** 결핵균 핵산 검사에서 증폭을 억제하는 물질의 빈도는 1% 미만에서 10% 이상까지 다양한 빈도로 보고되고 있다. 결핵균 핵산 검사에서 핵산 증폭이 억제된 경우 검체의 회석, 중탕, bovine serum albumin (BSA) 첨가, silica membrane 사용 등의 방법을 사용할 수 있다. 이번 연구에서는 real-time PCR법을 이용한 결핵균 핵산 검사인 COBAS TaqMan MTB test에서 PCR이 억제되는 빈도를 파악하고, 억제 물질을 제거할 수 있는 효율적인 방법을 찾고자 하였다.

**방법:** 총 980검체를 대상으로 COBAS TaqMan MTB test에서 PCR 반응 억제 빈도를 조사하였고, 재검, 회석, 중탕, BSA 첨가, silica membrane 사용 시의 PCR 억제 물질 제거 효과를 평가하였다.

**결과:** 980사례 중 40예(4.1%)에서 PCR이 억제되었다. PCR이 억제된 40예 중 재검 시 12예(30%), 1 : 10 회석 시 30예(75%), BSA 첨가 시 27예(67.5%), 중탕한 경우 25예(62.5%), silica membrane을 이용한 경우 12예(30%)에서 PCR 억제 현상이 소실되었다.

**결론:** COBAS TaqMan MTB test에서 PCR 억제 물질의 빈도는 4.1%였다. 회석, BSA 첨가, 중탕하는 방법에서 단순 재검이나 silica membrane을 이용한 방법에 비하여 억제 물질 제거율이 높았고, 두 가지 이상의 방법을 조합할 경우 효과적으로 PCR 억제 물질을 제거할 수 있을 것으로 생각한다. [대한임상미생물학회지 2011;14:97-102]

교신저자 : 김한성, 431-070, 경기도 안양시 평촌동 896  
한림대학교성심병원 진단검사의학과  
Tel: 031-380-3932, Fax: 031-380-3934  
E-mail: kimhan@hallym.ac.kr