

□ 원 저 □

내원시 항산균도말검사상 음성인 환자에서 실시한 PCR검사방법의 유용성에 대한 연구

국립의료원 흉부내과

김창선, 손형대, 박미란, 서지영, 조동일, 류남수

= Abstract =

The Usefulness of PCR Study in AFB Smear Negative Patients on Admission

CS Kim, M.D., HD Son, M.D., MR Park, M.D., JY Seo, M.D., DI Cho, M.D., NS Rhee, M.D.

Department of Chest Medicine, National Medical Center, Seoul, Korea

Background : PCR technique is useful in diagnosis of pulmonary tuberculosis. But, its sensitivity and specificity is some different among several studies. Our aim is compare our PCR results with other's previous PCR results in AFB smear negative patients.

Methods : PCR were performed in patients that their disease were suspected as active pulmonary tuberculosis and that their initial serial sputum AFB smear results were negative. Total number of patients studied by PCR technique was 177. Also, we analyzed the data only in patients whose bronchial washing fluid AFB smear was negative. And the primer had been used was IS 6110.

Results :

In our retrograde study, the number of patients who are diagnosed as having active pulmonary tuberculosis, inactive pulmonary tuberculosis and nontuberculous pulmonary disease was 99, 28, 50, respectively.

In the sputum study, the sensitivity of PCR is 41.5% (27 PCR positive cases/65 active TBc cases). And the sensitivity of TB culture is 53.8% (35 TB culture positive cases/65 active TBc cases).

In the bronchial washing specimen study, the sensitivity of PCR is 53.8% (21 PCR positive cases/39 active TBc cases). And the sensitivity of TB culture is 43.6% (17 TB culture positive cases/39 active TBc cases).

The specificity of PCR in our study is 94.9%. (74 PCR negative cases/78 inactive TBc or nontuberculous cases)

In the cases of patients who were never taken anti-TBc medication, the sensitivity of PCR (45.6% — 25 positive cases/55 cases) is some lower than culture (58.2% — 32 positive cases/55 cases).

In the cases of patients who had been taken anti-TBC medication, the sensitivity of PCR (60% — 18 positive cases/30 cases) is some superior than culture (50% — 15 positive cases/30 cases).

Conclusion : We think that PCR results in cases of sputum AFB smear negative patients is nearly same as culture. And PCR is especially useful in patients who had been taken anti-TBC medication on admission.

Key words : Negative AFB smear, PCR, Tuberculosis

서 론

최근 세계적으로 결핵의 중요성이 다시 강조되고 있는 시점에서, 실험실적인 진단방법으로서 많은 병원에서 객담 항산균도말검사와 객담배양검사에 의존하고 있다. 하지만 이러한 방법은 내원시 항산균도말검사상 음성인 환자에 있어서 비결핵환자와의 감별을 요할때 배양결과가 나올 때까지 많은 시간이 소요된다는 점에 있어서 아직까지 커다란 문제점으로 남아있다. 그래서 최근에는 원하는 DNA의 일부를 측정할 수 있는 PCR을 반복 복제할 수 있는 새로운 방법으로서 중합효소 연쇄반응 (Polymerase chain reaction) 이 소개되었고¹⁾, 근래에 들어서는 특이 primer에 대한 연구 보완결과 결핵균의 한 개체에 여러 번 반복하여 존재하는 특이 insertion sequence를 이용하여 높은 민감도를 얻어내기에 이르렀으며^{2~4)}, 이는 현재 많은 병원에서 실제 임상에 이용되고 있다. 하지만 이에 대한 연구에 있어서 Clarridge 등⁵⁾은 PCR의 민감도는 83.5%, 특이도는 99.0%로 보고하고 있고, Schluger 등⁶⁾은 각각 100%, 70%로 보고하고 있으며, 국내의 박문환 등⁷⁾의 연구에 의하면 민감도는 80.6% ~ 88.5%, 특이도는 77.0%로 보고하여, 여러 보고자에 따라 민감도와 특이도 등에서 차이가 있고 위양성과 위음성의 결과에 있어서도 많은 차이가 있다고 하겠다. 이에 저자들은 지금까지의 연구자들에 의해 발표된 PCR의 민감도와 특이도 등과 본원에서의 내원시 항산균도말검사상 음성인 환자를 대상으로한 PCR검사의 결과와 비교해보고 그 차이를 알아보고, 또한 결핵진단에 있어서 PCR의 진단적 가치와 유용성을 찾아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1994년 9월부터 1996년 2월까지 본원 흉부내과에 활동성 결핵 의심 하에 입원하거나 또는 비결핵질환으로 입원하였으나 결핵의 복합감염 여부가 의심스러웠던 환자들을 대상으로 객담항산균도말검사를 실시하였고, 이 검사에서 음성으로 나타난 환자를 대상으로 결핵균 PCR 검사를 실시하였는데 모두 187명에서 PCR 검사가 실시되었다. 하지만 1차 또는 2차까지의 객담항산균도말검사에서는 음성이었으나 연이어 실시한 2차 또는 3차 객담항산균도말검사에서 양성으로 나타났던 10명의 경우는 객담항산균도말검사상 음성인 환자를 대상으로 하는 본 연구에 어긋나므로 PCR 검사결과에 관계없이 본대상에서 제외하였으므로 총 177명이 연구대상이 되었다.

2. 방법

가. 검체채취

1) 객담항산균도말검사

내원시 활동성결핵이 의심되거나 비결핵질환 (기관지 확장증, 폐암, 폐렴등)으로 입원하였으나 결핵의 복합 감염이 의심되었던 환자를 대상으로 객담항산균도말검사를 실시하였으며, 검사횟수는 3회를 원칙으로 하였으나 객담이 부족하여 3회를 모두 실시할 수 없었던 경우는 최소 2차까지는 실시되었다.

2) 객담결핵균 PCR 검사

객담항산균도말검사의 검체채취방법과 동일하게 실시되었으며 횡수는 1회 실시되었다.

3) 객담결핵균배양검사

객담항산균도말검사의 채취되었던 검체를 그대로 배양검사에 이용하였으며, 모든 도말검사검체를 배양검사하였으므로 횡수는 도말 검사와 동일하였다.

4) 기관지내시경세척액을 이용한 항산균도말검사, 결핵균 PCR 검사, 결핵균배양검사

객담배출이 어려웠던 경우, 객담배출이 잘되어도 기관지결핵이 의심되었던 경우, 폐암이나 폐렴 등의 비결핵질환의 합병여부 등의 검사, 치료목적의 기관지 분비물 제거 등을 위하여 기관지내시경검사가 시행되었으며 이와 동시에 검체채취가 시행되었다. 먼저 내시경에 필요한 전처치와 4% lidocaine oral spray로 5~10분정도 국소마취를 한후 내시경검사를 하였으며 환자에 따라서 술기 도중에 2~3cc 정도의 2% lidocaine 이 추가로 이용되었으며 생리식염수 20~30cc 정도를 이용하여 bronchial washing 을 실시하여 채취하였으며 검사횡수는 1회를 원칙으로 하였다.

5) 흉막삼출액을 이용한 항산균도말검사, 결핵균 PCR 검사, 결핵균배양검사

흉막삼출액을 주소로 내원한 경우는 흉막천자를 이용하여 채취한 검체를 이용하였으며 검사횡수는 각각 1회를 원칙으로 하였다.

나. 검사방법

1) 항산균도말검사

염색법은 carbol-fuchsin을 이용한 Ziehl-Neelsen 법이 이용되었다.

2) 결핵균PCR 검사

결핵균 양성대조로 *M. tuberculosis* (ATCC 27294),

M. bovis (ATCC 29312) 균주가 사용되었고, 음성대조로 *M. intracellulare* (ATCC 13950), *M. avium* (ATCC 19074)가 사용되었다. PCR primer는 392 DNA/RNA 합성기 (Applied Biosystem. U.S.A.)를 이용하여 합성되었으며, *M. tuberculosis*와 *M. bovis*에 10~16번 반복 존재하는 것으로 알려진 IS6110 유전자부위에서 선택되었다. 결핵균 DNA 추출을 위하여 boiling방법과 silica법이 사용되었고, PCR반응은 94℃에서 1분 30초, 62℃에서 1분 30초, 72℃에서 2분으로 35회 반복되었다. PCR 반응의 확인을 위하여 증폭된 DNA에 2ul 의 loading buffer(0.25% bromophenol blue, 0.25% xylene cyanol)을 넣은다음 2% agarose gel에 100 volt에서 30분 전기영동 시킨후, ethium bromide로 염색하여, 324bp 크기의 DNA band를 확인하였다.

3) 결핵균배양검사

4% NaOH를 검체와 혼합하여 균등화시키고 3000rpm 으로 10분간 원심분리 시킨 뒤 상층액은 버리고 침사를 이용하여 3% Ogawa배지에 접종시키는 방법을 사용하였다.

다. 환자의 질병에 대한 진단방법

상기 대상자 177명을 대상으로 후향적으로 조사하여 결핵배양검사에 양성으로 나타난 경우, 기관지내시경 조직검사를 통하여 결핵으로 판명된 경우, 흉막조직검사를 통하여 결핵으로 진단된 경우, 확진을 내리지는 못하였으나 항결핵약제 투약에 의해 결핵의 전형적인 치료경과를 보이는 경우는 활동성결핵으로 판정하였다. 과거 결핵으로 진단받고 치료가 끝난 환자이거나 결핵의 후유증 (결핵으로 인한 만성폐쇄성폐질환, 결핵으로 인한 기관지확장증등) 을 가지고 있는 환자에서 결핵재발의 유사증상을 가지고 내원하였으나 추적 관찰된 단순흉부X-선사진상 전혀 변화가 없었던 경우이거나 일시적인 증상으로 판명된 경우에서 실시된 연속된 결핵배양검사상에서 계속 음성으로 나타나는

경우는 비활동성결핵으로 판정하였다. 결핵의 어떠한 증거도 찾아내지 못하고 치료경과가 결핵과는 전혀 다른 양상을 보이는 경우, 비결핵폐질환으로 판명되고 결핵의 증거가 없는 경우는 비결핵폐질환으로 판정하였다.

결 과

1. 나이, 성별

대상자 177명중에서 남자는 99명, 여자는 78명이었다. 나이별로는 19세까지가 5명, 20세에서 29세사이 40명, 30세에서 39세사이 30명, 40세에서 49세사이 24명, 50세에서 59세사이 33명, 60세에서 69세사이 26명, 70세이상 19명이었다. 남자의 평균나이는 46.5세 였으며, 여자의 평균나이는 41.4세였다(Table 1).

2. 진단결과

후향적조사결과로 활동성결핵으로 진단된경우는 모두 99명이었고 이중 4명은 비결핵폐질환이 동반되어 있는 경우였다(3명은 폐렴, 1명은 폐암), 그리고 비활동성결핵으로 진단된 경우가 28명이었으며 이중 16명은 비결핵폐질환과 동반되어 있는 경우였다, 또한

Table 1. 나이, 성별 비교

Age	Male	Female	Total
-19	3	2	5
20-29	20	20	40
30-39	17	13	30
40-49	14	10	24
50-59	23	10	33
60-69	14	12	26
70-	8	11	19
Total	90	78	177

순수한 비결핵폐질환으로 진단된 경우가 50명이었다.

활동성결핵으로 진단받은 99명중 폐결핵이 80명 (이중 19명은 결핵성능막염 동반, 12명은 기관지결핵 동반) 이었고, 기관지결핵환자가 14명, 결핵성능막염환자가 32명 (이중 폐에 병변 없이 순수하게 결핵성능막염만 가지고 있는 경우가 13명) 이었고, 속립성결핵환자가 2명이었다. 순수한 비결핵폐질환으로 진단된 50명중 폐암이 16명, 폐렴이 21명, 기관지확장증이 3명, 그외 10명이었다(Table 2).

3. 객담검체를 이용한 검사 결과

객담항산균도말검사, 객담결핵균PCR 검사, 객담결핵균배양검사를 동시에 시행하였던 환자군에서 객담항산균도말검사상 음성이었던 환자 65명중에서 객담PCR검사상 양성인 경우가 27명으로 41.5% 였고, 객담결핵균배양검사상 양성인 경우가 35명으로 53.8% 로 나타나 두검사방법의 양성률 차이에 대한 통계학적 의의는 없었으나 ($p=0.160$, Pearson's chi-

Table 2. 진단결과

Diagnosis	No. of PTs	Total
활동성 결핵		
폐결핵	49	99
폐결핵 + 기관지결핵	12	
폐결핵 + 결핵성능막염	19	
기관지결핵	2	
결핵성능막염	13	
속립성결핵	2	
비활동성 결핵	28	
비결핵 폐질환		
폐암	16	50
폐렴	21	
기관지확장증	3	
그외	10	
Total		177

Table 3. 객담검체를 이용한 검사결과

Sputum AFB smear*	Sputum PCR ⁺	Sputum TBCT ⁺	No. of PTs
—	+	+	20명
—	+	—	7명
—	—	+	15명
—	—	—	23명
p=0.160			total 65명

*Sputum AFB smear : Sputum Acid Fast Bacilli smear

⁺Sputum PCR : Sputum Polymerase Chain Reaction

*Sputum TBCT : Sputum Tuberculous Bacilli Culture

square test, by SAS), 배양검사의 양성률이 높은 결과를 보였다. 또한 결핵균PCR 검사의 결핵균배양검사에 대한 양성예측률은 57.1%로 나타났다(Table 3).

4. 기관지세척액을 이용한 검사 결과

기관지세척액을 이용한 항산균도말검사, 결핵균PCR 검사, 결핵균배양검사를 동시에 시행하였던 환자군에서 기관지세척액항산균도말검사상 음성이었던 환자 39명중에서 기관지세척액 결핵균PCR 검사상 양성인 경우가 21명으로 53.8%였고, 기관지세척액 결핵균 배양검사상 양성인 경우가 17명으로 43.6%로 나타나 통계학적 의미는 없었으나 ($p=0.365$), PCR 검사의 양성률이 높은 경향을 보여주었다. 또한 기관지세척액 결핵균PCR 검사의 결핵균배양검사에 대한 양성예측률은 70.5%였다(Table 4).

5. 객담항산균도말검사상 음성인 경우 타검사방법의 양성률

객담 항산균도말검사-PCR 검사-배양검사와 기관지세척액 항산균도말검사-PCR 검사-배양검사를 모두 동시에 시행한 환자군에서 객담항산균도말검사상 음성

Table 4. 기관지세척액을 이용한 검사결과

BFS AFB smear*	BFS PCR ⁺	BFS TBCT ⁺	No. of PTs
—	+	+	12명
—	+	—	9명
—	—	+	5명
—	—	—	13명
p=0.365			total 39명

*BFS AFB smear : Bronchofiberscopic Acid Fast Bacilli smear

⁺BFS PCR : Bronchofiberscopic Polymerase Chain Reaction

*BFS TBCT : Bronchofiberscopic Tuberculous bacilli culture

인 환자 17명에서 타검사상 양성으로 나온 경우는 순서대로 기관지세척액결핵균PCR 검사가 11명(64.7%), 객담결핵균배양검사가 10명(58.8%), 기관지세척액결핵균배양검사가 9명(52.9%), 객담결핵균PCR 검사가 5명(29.4%), 기관지내시경항산균도말검사가 1명(5%)으로 나타났다. 마지막 도말검사를 제외한 상위 4가지 검사방법에 따른 양성률의 순차성에 대한 통계학적 유의성은 없었으나 ($p=0.180$, Pearson's chi-square test, by SAS), PCR 검사에 있어서는 통계학적으로 유의하게($p=0.039$) 기관지세척액을 이용한 검사가 객담을 이용한 경우보다 양성률이 높았다.

6. 항결핵제 투약의 경험이 없이 내원한 경우의 PCR 과 배양검사의 성적 비교

본원에 내원하기전에 항결핵제를 투약받지 않았던 환자군에서 객담항산균도말검사상 음성인 경우 결핵균PCR 검사(객담 또는 기관지세척액)와 결핵균배양검사(객담 또는 기관지세척액)를 시행한 55명중에서 PCR에서 양성인 경우가 25명으로 45.6%였고, 배양 검사에서 양성인 경우가 32명으로 58.2%였다(Table 4).

Table 5. 항결핵제 투약 없이 내원한 경우

Medication	Sp. AFB smear	PCR(Sp*. or BFS)	TBCT(Sp. or BFS)	No. of PTs
—	—	+	+	20명
—	—	+	—	5명
—	—	—	+	12명
—	—	—	—	18명
p=0.182				total 55명

*Sp. : SputumTable

Table 6. 항결핵제 투약 도중 내원한 경우

Medication	Sp. AFB smear	PCR (Sp.* or BFS)	TBCT (Sp. or BFS)	No. of PTS
+	—	+	+	13명
+	—	+	—	5명
+	—	—	+	2명
+	—	—	—	10명
p=0.436				total 30명

*Sp. : Sputum

7. 항결핵제 투약 도중 내원한 경우의 PCR과 배양검사의 성적 비교

본원에 내원하기전에 항결핵제를 투약받아 오던 환자군에서 객담항산균도말검사상 음성인 경우 결핵균 PCR검사(객담 또는 기관지세척액)와 결핵균배양검사(객담 또는 기관지세척액)를 시행한 30명중에서 PCR에서 양성인 경우가 18명으로 60%였고, 배양 검사에서 양성인 경우가 15명으로 50%였다(Table 5).

8. 흉막삼출액을 이용한 검사결과

결핵성 흉막삼출액이 의심되어 흉막천자를 시행한 환자군에서 객담에서 항산균도말검사상 음성이거나 객담배출이 어려워 검사를 못했던 환자 17명을 대상으로 흉막삼출액 항산균도말검사-결핵균PCR검사-결

핵균배양검사를 실시하였다. 후향적조사로 늑막생검 결과, 객담배양결과, 기관지조직검사, 치유과정 등의 분석을 통해 결핵성늑막염으로 진단된 경우가 12명, 비활동성결핵으로 진단된 경우가 1명, 비결핵폐질환으로 진단된 경우가 4명이었다. 결핵성늑막염으로 진단된 12명중에서 흉막삼출액 항산균도말검사는 모두 음성이었고, PCR검사가 2명(16.7%)이 양성, 배양검사가 1명에서 양성으로 나타났다. 비활동성결핵 환자와 비결핵폐질환 환자에서 상기 세가지 검사는 모두 음성이었다.

9. 비활동성결핵환자에서의 PCR검사 결과

비활동성결핵으로 진단된 28명의 환자에서 실시된 결핵균PCR검사상 기관지세척액을 이용한 검사에서 2명이 양성으로 나타났다.

10. 비결핵폐질환에서의 PCR검사 결과

비결핵폐질환으로 진단된 50명의 환자에서 실시된 결핵균PCR 검사상 객담을 이용한 검사에서 2명에서 양성으로 나타났다.

11. 활동성결핵환자에서 결핵의 양상에 따른 PCR검사와 배양검사결과의 비교

결핵의 병변 크기에 따른 두검사 방법의 양성률 비교를 해보면, 객담을 가지고 검사한 경우에는, 경증(minimal) 폐결핵환자에서 결핵균PCR검사와 배양검사를 동시에 시행한 환자 23명중에서 PCR검사가 양성인 경우는 9명(39.1%), 배양검사가 양성인 경우는 12명(52.2%)이었다. 중등증(moderate) 폐결핵환자에서는 19명중 PCR검사가 양성인 경우는 12명(63.2%), 배양검사가 양성인 경우는 15명(65.2%)이었다. 중증(Far-advanced) 폐결핵환자에서는 8명중 PCR검사가 양성인 경우는 3명(37.5%), 배양검사가 양성인 경우는 4명(50%)이었다. 기관지세척액을 가지고 검사한 경우에는, 경증폐결핵환자에서 결핵균PCR검사와 배양검사를 동시에 시행한 환자 17명중 PCR검사가 양성인 경우는 12명(70.6%), 배양검사가 양성인 경우는 9명(52.9%)이었다. 중등증폐결핵환자에서는 11명중 PCR검사가 양성인 경

우는 6명(54.5%), 배양검사가 양성인 경우는 5명(45.5%) 이었고, 중증폐결핵환자에서는 4명중 PCR검사가 양성인 경우는 3명(75%), 배양검사가 양성인 경우는 3명(75%) 이었다.

결핵의 공동유무에 따른 두검사 방법의 양성률 비교를 해보면, 객담검체를 가지고 검사한 경우에 공동이 있는 경우는 9명중 PCR검사 양성인 7명(77.8%), 배양검사 양성인 7명(77.8%) 이었고, 공동이 없는 경우는 55명중 PCR검사 양성인 20명(36.4%), 배양검사 양성인 28명(50.9%) 이었다. 기관지세척액을 가지고 검사한 경우에 공동이 있는 경우는 6명중 PCR검사 양성인 2명(33.3%), 배양검사 양성인 3명(50%) 이었다. 공동이 없는 경우는 36명중 PCR검사 양성인 22명(61.1%), 배양검사 양성인 16명(44.4%) 이었다.

기관지결핵의 유무에 따른 두검사 방법의 양성률을 비교해보면, 객담검체를 가지고 검사한 경우에는 기관지결핵이 있는 경우는 5명중 PCR검사가 양성인 4명(80.0%), 배양검사 양성인 5명(100%) 이었다. 기관지결핵이 없는 경우는 60명중 PCR검사가 양성인 23명(38.3%), 배양검사 양성인 30명(50.0%)이었다. 기관지세척액을 가지고 검사한 경우에는 기관지결핵이 있는 경우 13명중 PCR검사 양성인 8명(61.5%), 배양검사 양성인 9명(69.2%) 이었고, 기관지결핵이 없는 경우 29명중 PCR검사 양성인 16명(55.2%)

Table 7. 결핵의 양상에 따른 두검사방법의 양성률 비교

결핵의 양상	객 담			기관지 세척액		
	PCR	배양검사	Total	PCR	배양검사	Total
경증폐결핵	9(39.1%)	12(52.2%)	23	12(70.6%)	9(52.9%)	17
중등증폐결핵	12(63.2%)	15(65.2%)	19	6(54.5%)	5(45.5%)	11
중증폐결핵	3(37.5%)	4(50.0%)	8	3(75.0%)	3(75.0%)	4
공동결핵	7(77.8%)	7(77.8%)	9	2(33.3%)	3(50.0%)	6
비공동결핵	20(36.4%)	28(50.9%)	55	22(61.1%)	16(44.4%)	36
기관지결핵	4(80.0%)	5(100%)	5	8(61.5%)	9(69.2%)	13
비기관지결핵	23(38.3%)	30(50.0%)	60	16(55.2%)	10(34.5%)	29

%), 배양검사 양성인 10명(34.5%)이었다(Table 7).

고 찰

결핵의 조기진단에 대한 중요성은 결핵의 전염방지의 측면에서 강조되고 있으며, 조기진단이 늦어져서 중증 폐결핵이상의 상태로 발전된다면 이는 향후 상당한 후유증이 남을 소지가 많다는 점에서도 또한 강조되어야 한다. 물론, 객담도말검사와 단순흉부X-선 사진을 통한 검사만으로도 이러한 경우를 상당히 감소시킬 수 있지만, 비특이적인 흉부X-선 소견을 보이면서 객담도말검사상 음성이거나 시행할 수 없는 환자의 경우는 최종진단을 결핵균 배양검사에 의존할 수 밖에 없는 실정이다. 비록 배양검사가 도말검사보다 이론상으로는 330배의 감수성을 가지고 있다고⁸⁾는 하나 결과를 얻기까지는 4주 이상의 시간이 소요되는 단점이 있다. 그래서 최근까지 수많은 방법의 조기진단기술이 발전되어 왔으나 실제 임상에 널리 이용되도록 획기적이었던 방법은 없었다. 그러나 최근 집중적인 연구가 이루어지고 있는 PCR 방법이 높은 민감도와 특이도를 가지는 조기진단방법으로 발전이 거듭되어 최근에는 많은 병원에서 실제 임상에 이용하고 있다. 초기에 64KD mycobacterial antigen을 이용한 primer가⁹⁾ 개발된 이후 수종의 특이 primer가 추가로 개발되었다. 하지만 이에대한 민감도와 특이도는 연구자에 따라 차이를 보여 Forbes 등¹⁰⁾은 객담도말음성이지만 배양양성이었던 환자를 대상으로 시행한 PCR검사의 민감도는 97.7%, 특이도는 87.2%, PCR의 배양검사양성에 대한 예측율은 75%라고 발표하였고, KY Yuen 등¹¹⁾의 보고에 의하면 M. tuberculosis의 38 Kilodalton protein을 encoding 하는 genome의 부위에서 추출된 primer를 이용하여 결핵균 배양양성이었던 환자 41명 전원에서 PCR양성을 보였으며, 내원전부터 치료를 해오던 6명의 경우는 배양이 음성이었으나 이중 5명이 PCR양성을 보였다고 보고하였으며 객담도말음성이나 배양양성인 63명중에서 58명

이 PCR양성으로 나타나 민감도는 92%라고 발표하였다. 하지만 본 저자들의 연구에서는 객담의 경우는 도말 음성이나 배양양성인 35명중 20명이 PCR양성으로 나타나 57.1%의 민감도를 보였고, 기관지세척액검체를 이용한 경우는 도말음성 배양양성인 17명중 12명이 PCR양성으로 나타나 70.5%의 민감도를 보이는 것으로 나타나 KY Yuen 등이나 Forbes 등의 보고보다는 민감도가 낮게 나타났다. 국내의 박문환 등⁷⁾의 연구에 의하면 IS6110을 이용한 primer를 이용하여 실시한 PCR검사로 기관지세척액을 검사하였는데 이의 민감도는 80.6%, 특이도는 77.0% 정도라고 보고하고 있다. 본원에서의 결과를 보면 내원시 객담도말검사상 음성인 환자만을 대상으로 객담을 이용한 PCR검사의 민감도는 41.5%였고, 배양검사의 민감도는 53.8%로 나타나 배양검사보다는 약간 낮은 민감도를 보이고 있다. 또한 기관지세척액을 이용한 검사시 기관지세척액 도말음성인 환자만을 대상으로 실시한 기관지세척액 PCR검사의 민감도는 53.8%였고, 기관지세척액 배양검사의 민감도는 43.6%로 나타나서 기관지세척액의 경우는 PCR검사가 배양검사보다 조금 더 좋은 민감도를 보여주었다. 이렇게 객담보다 기관지세척액에서의 배양검사결과가 더 나쁜이유는 첫째로 lidocaine의 결핵균성장억제효과¹²⁾, 둘째로 시간상의 문제로 내시경검체는 배양배지접종이 늦어져 실온에 방치된 시간이 길어졌다는 점, 셋째로 상당수의 환자에서 짧게는 2~3일, 길게는 10여일 정도까지 이미 항결핵약제가 투여된 이후 기관지내시경검사가 이루어져 상당한 결핵균 사멸이 있었을 것이라는 점, 넷째로 내시경술기상의 문제점등이 있었을 거라고 생각된다. 그리고 항결핵제 투약의 경험이 없이 본원으로 내원한 경우는 객담도말음성인 경우에 한하여 PCR검사의 민감도는 45.6%, 배양검사의 민감도는 58.2%로서 통계적 유의성은 없으나 ($p=0.182$), 배양검사의 민감도가 더 우수한 결과를 보여주었다. 그러나 항결핵제 투약도중에 본원으로 내원한 환자의 경우는 객담도말음성인 경우에 한하여 PCR검사의 민감도는 60%, 배양검사의 민감도는 50%로

통계적유의성은 없으나 ($p=0.436$), PCR검사의 민감도가 더 우수한 결과를 보여주었다. 이는 처음내원시 배양과 PCR에서 모두 양성이던 41명이 4주간의 치료이후에는 배양은 13명(32%)만 양성이고, PCR은 29명(70%)에서 양성을 보여주었던 KY Yuen의 연구결과와 같은 의미로 해석된다. 또한 Arnaud 등¹³⁾의 연구에 의하면 IS6110을 사용하여 실시한 결핵성 흉막삼출액 PCR검사에 대한 연구에 의하면, 결핵성 흉막삼출액 환자 15명중 9명에서 PCR양성으로 나타나 60%의 민감도를 보이고 65 KD mycobacterial antigen을 coding 하는 genome을 이용한 경우는 15명중 3명에서 PCR양성으로 나타나 20%의 민감도를 보였다고 한다. 또한 국내의 김선택 등¹⁴⁾의 연구에 의하면 결핵성늑막염이 확진된 7명에서는 6명이 양성으로 나타나 양성률은 85.7%, 결핵성늑막염이 의심된 환자7명중 5명이 양성으로 나타나 71.4%의 양성률을 보인다고 하고있으며, 김호중 등¹⁵⁾의 연구에 의하면 결핵성흉막삼출로 확진된 20명의 환자중 16명에서 양성으로 나타나 80.0%의 양성률을 보인다고 하였다. 하지만 본원에서의 IS6110을 이용한 결핵성흉막삼출액 PCR검사는 12명중 2명에서 양성으로 나타나 민감도는 16.7%밖에 되지 않아서 그다지 유용한 검사가 되지 않는다는 결론을 내렸다. 마지막으로 본원에서의 PCR 검사상에서 비활동성결핵으로 진단된 28명중 2명, 비결핵폐질환으로 진단된 50명중 2명에서 양성을 보여 모두 4명이 위양성을 나타내 94.9%의 특이도를 보여주었다. 상기의 본원에서의 결과로 보아서 PCR검사는 객담검체에서는 배양검사보다 민감도가 다소 떨어지기는 하나 거의 비슷한 결과를 보여주고, 기관지세척액검체에서는 배양검사보다 오히려 민감도가 우수하여 활동성결핵조기진단을 위한 유용한 검사방법이라고 생각되며, 더구나 특이도 역시 94.9%로서 비교적 안전한 방법으로 사료되므로 활동성결핵이 의심되는 환자에서 배양검사와 더불어 동시에 시행되어야 할 검사종목의 하나라고 생각한다.

요 약

연구배경 :

내원시 항산균도말검사에서 음성인 환자에서 결핵의 조기진단을 위하여 최근에 널리 사용되고 있는 결핵균 PCR 방법의 민감도와 유용성에 대해 본원에서의 후향적고찰을 통하여 알아보고, 타연구자들의 결과와 비교해보고자 한다.

방 법 :

활동성 결핵이 의심되거나, 결핵의 재발이 의심되는 환자, 그리고 타질환으로 입원하였으나 결핵의 복합감염이 의심되었던 환자를 대상으로 객담 항산균도말검사나 기관지세척액 항산균도말검사를 실시하여 음성으로 나온 환자 177명에서 PCR검사를 시행하여 민감도와 특이도를 구해보고, 또한 동시에 실시된 결핵균 배양검사의 민감도와 비교하여 보았다. 또한 결핵성 흉막삼출이 의심되는 환자에서 흉막삼출액을 이용한 PCR검사와 배양검사의 결과를 비교하고, 타연구자의 결과와 비교하여 보았다.

결 과 :

내원시 객담도말검사상 음성인 환자를 대상으로 실시된 객담 PCR검사와 배양검사의 민감도는 각각 41.5%, 53.8%로 나타났으며, 기관지세척액을 이용한 경우는 PCR검사와 배양검사의 민감도는 각각 53.8%, 43.6%로 나타났다. 그리고 내원전에 항결핵약제를 복용하지 않았던 군에서는 PCR의 민감도가 45.6%, 배양검사의 민감도는 58.2%였으며, 내원전부터 항결핵약제를 계속복용해오던 군에서는 PCR의 민감도가 60%, 배양검사의 민감도는 50%로 나타났다.

결 론 :

본연구에 PCR검사와 배양검사의 민감도가 비교적 낮은 이유는 타연구자들과는 달리 연구대상환자를 내원 이후 3회연속 객담도말음성이고 또한 기관지세척액도 말음성인 경우로 엄격히 제한시켰기 때문으로 사료된다, 특이도는 94.9%로 높은 결과를 보여주어 불필요한 투약이 이루어질 수 있는 경우는 매우 드물것으로

생각되어 비교적 안전한 검사방법이라고 사료된다. 내원시 객담도말 음성인 환자를 대상으로 실시되는 PCR 검사는 배양검사와 거의 유사한 양성률을 보이고, 기관지세척액을 이용한 경우는 배양검사보다도 더 우수한 양성률을 보이며, 또한 항결핵제를 투약받던 도중에 내원한 경우 역시 배양검사보다 좋은 결과를 보이므로, 내원시 객담도말음성인 경우에는 조기진단을 위해 유용한 검사방법이라고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Reiss J : The polymerase chain reaction and its potential role in clinical diagnostics and research, review article. *J Int Med* 230 : 391, 1991
2. Thirry D, Brisson-Noel A, Levy-Frebault V, Nguyen S, Guesdon JL, Gicquel B : Characterization of a *Mycobacterium tuberculosis* insertion sequence, IS6110, and its application in diagnosis. *J Clin Microbiol* 28 : 2668, 1990
3. Walker DA, Taylor IK, Mitchell DM, Shaw RJ : Comparison of polymerase chain reaction amplification of two mycobacterial DNA sequences, IS6110 and the 64KDa antigen gene in the diagnosis of tuberculosis. *Thorax* 47 : 690, 1992
4. Eisenach KD, Siford MD, Cave D, Bates JH, Crawford JT : Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum samples using a polymerase chain reaction. *Am Rev Respir Dis* 144 : 1160, 1991
5. Clarridge JE, Shawar RM, Shinnick TM, Pliskaytis BB : Large-scale use of polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in a routine mycobacteriology. *J Clin Microbiol* 31 : 2049, 1993
6. Schluger NW, Kinney D, Harkin TJ, Rom WN : Clinical utility of the polymerase chain reaction in the diagnosis of infections due to *Mycobacterium tuberculosis*. *Chest* 105 : 1116, 1994
7. 박문환, 최춘환, 김남진 : 폐결핵에 있어서 기관지폐포세척액 결핵균검사 및 PCR의 진단적 가치. *결핵 및 호흡기질환* 43(2) : 128, 1996
8. 대한결핵협회, 대한결핵 및 호흡기학회. 결핵균검사. *결핵(제4판)* 96-117, 1993
9. Brisson-Noel A, Gicquel B, Lecossier D, Levy Frebault V, Nassif X, Hance AJ : Rapid diagnosis of tuberculosis by amplification of mycobacterial DNA in clinical samples. *Lancet* 4 : 1069, 1989
10. Forbes BA, Hicks KES : Direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens is a clinical laboratory by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 31 : 1688, 1993
11. KY Yuen, KS Chan, CM Chan, BSW Ho, LK Dai, PY Chau, MH Ng : Use of PCR in routine diagnosis of treated and untreated pulmonary tuberculosis. *J Clin Pathol* 46 : 318, 1993
12. Schmidt RM, Rosenkranz HS : Antimicrobial activity of local anesthetics : Lidocaine and Procaine. *J Infect Dis* 121 : 597, 1970
13. Arnaud de Lassence, Denise Lecossier, Catherine Pierre, Jacques Cadranel, Marc Stern, Allan J Hance : Detection of mycobacterial DNA in pleural fluid from patients with tuberculous pleurisy by means of the polymerase chain reaction : comparison of two protocols. *Thorax* 47 : 265, 1992
14. 김선택, 강창운. 흉막삼출액에서 중합효소 연쇄반응을 이용한 *M. tuberculosis*의 검출. *결핵 및 호흡기질환* 42(5) : 695, 1995
15. 김호중, 김영환, 한성구, 심영수, 김건열, 한용철. 흉막삼출액에서 Polymerase Chain Reaction을 이용한 결핵균의 검출에 관한 연구. *결핵 및 호흡기질환* 40(5) : 509, 1993