Korean J Clin Microbiol Vol. 11, No. 1, April, 2008

Clinical Usefulness of Real-time PCR and Amplicor MTB PCR Assays for Diagnosis of Tuberculosis

Chae Lim Jung, Mi Kyung Kim, Dong Chun Seo, Mi Ae Lee

Department of Laboratory Medicine, School of Medicine, Ewha Womans University Mokdong Hospital, Seoul, Korea

Background: PCR assay has provided a mean of more rapid and sensitive detection of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) complex than conventional acid-fast bacilli (AFB) smears and MTB cultures. Using the recently developed AdvanSure TB/NTM kit (LG Life Science Diagnostic Division, Korea), which could differentiate nontuberculous mycobacteria (NTM) from MTB, this study compared clinical usefulness of real-time PCR assay and Amplicor MTB PCR assay (Roche Molecular Systems, USA) for diagnosis of tuberculosis.

Methods: A total of 213 specimens (148 respiratory and 65 nonrespiratory specimens) were tested by using real-time PCR, Amplicor MTB PCR, AFB smear, and MTB culture. The sensitivity and specificity of four methods were evaluated according to clinical diagnosis.

Results: Of six NTM grown in culture, four (67%) were detected by real-time PCR. The overall agreement of real-time and Amplicor MTB PCR was 92% (191/207). The overall sensitivity and specificity were 91% and 87%, respectively, for real-time PCR, and 86% and 93% for Amplicor MTB PCR. In nonrespiratory specimens, the sensitivities of real-time PCR, Amplicor MTB PCR, AFB smear, and MTB culture were 67%, 60%, 13%, and 40%, respectively, and the specificity of the four methods were all 100%.

Conclusion: For diagnosis of tuberculosis, the sensitivity and specificity of the real-time PCR assay using AdvanSure TB/NTM kit and Amplicor MTB PCR were similar, and the former could differentiate NTM from MTB. The PCR assay can be considered as a more sensitive technique for the detection of MTB than the conventional AFB smear and culture. **(Korean J Clin Microbiol 2008;11:29-33)**

Key Words: *Mycobacterium tuberculosis*, Nontuberculous mycobacteria, nonrespiratory, Real-time PCR

서 론

결핵은 세계적으로 가장 중요한 전염성 질환 중의 하나로 매년 800만명이 발병하고 300만명이 사망하는 주요한 보건 문제이다[1]. 근래 들어 후천성 면역 결핍 증후군이 증가하고 다제내성 결핵균이 등장하면서 결핵 빈도가 증가하고 폐외결핵도 문제가 되고 있다. 한국에서 결핵은 감소하는 추세이나 외국에 비해 유병률이 높은 편이고[2], 과거에는 항산균 양성이면 대부분 결핵으로 간주했으나 최근 비결핵항산균(nontuberculous mycobacteria, 이하 NTM)이 증가하고 있어 이를 감별할 필요가 있다[3-5].

결핵의 진단에는 보편적으로 항산균 도말 검사와 배양 검사를 이용해 왔다. 항산균 도말 검사는 신속하고 간편하다는 장점이 있으나 민감도와 특이도가 떨어진다는 단점이 있고, 배양 검사는 결핵 진단의 표준법으로 가장 정확한 방법이지만 시간이 오래 걸린다는 단점이 있다. 최근 면역과 분자진단 기술이 발달되어 이를 이용한 결핵의 진단법들이 많이 개발되었다[6-8]. 그 중에서 핵산을 증폭하는 기술 중의 하나인 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, 이하 PCR)을 이용하여 검체에서 직접 결핵균을 검출하는 방법은 신속하면서 민감도가 높아서 널리 이용되고 있다. 표준화된 방법을 사용하여 객관적인 결과를 제공할 수 있으며 호흡기 검체뿐 아니라 다양한 검체에서 민감도가 높은 것으로 알려져 있다. Real-time PCR법이 개발되어 기존의 PCR법보다 빠르고 amplicon 오염율이 적고, 정량이 가능하여 감염질환의 진단에 이용되고 있다.

최근 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)과 NTM을 동시에 진단할 수 있는 AdvanSure TB/NTM real-time PCR 키트(LG Life Science Diagnostic Division, Daejeon, Korea)가 개발되었다. 본 연구에서는 이 키트를 이용한 real-time PCR을 기존에 많이 사용되고 있는 COBAS Amplicor MTB PCR (Roche Molecular Systems, Indianapolis, IN, USA)과 비교하여 임상적 유용성을 평가하고자 하였다. 항산균 도말 검사와 배양 검사를 함께 실시하였으며 각각 호흡기와 비호흡기 검체로 나누어 비교하였다.

Received 1 February, 2008, Accepted 4 March, 2008
Correspondence: Mi Ae Lee, Department of Laboratory Medicine, Ewha Womans University Mokdong Hospital, 911-1, Mok-dong, Yangcheon-gu, Seoul, 158-056, Korea. (Tel) 82-2-2650-5222, (Fax) 82-2-2650-5222, (E-mail) miae@ewha.ac.kr

대상 및 방법

1. 연구 대상

2007년 3월에서 9월까지 이대목동병원 진단검사의학과에 결핵균 PCR 검사가 의뢰된 검체 중 항산균 도말 검사와 배양 검사가 동시에 의뢰된 197명의 213검체를 대상으로 하였다. 호흡기 검체는 기관지흡인액 79예, 객담 66예 및 기관지폐포세척액 3예의 총 148예였고, 비호흡기 검체는 체액 42예, 요 9예, 농양 8예, 조직 5예 및 창상 1예의 65예였다. 결과 판정은 real-time PCR은 결핵균 양성, NTM 양성 및 음성으로, Amplicor MTB PCR은 양성과 음성으로 하였다. NTM이 배양된 6예를 제외한 207검체에서 임상소견을 검토하여 결핵균 검출을 위한 각 검사법간의 민감도와 특이도를 비교하였다.

2. 연구 방법

1) 검체 처리: 객담 등 호흡기 검체는 검체와 동량의 4% NaOH를 15 mL falcon tube에 넣고 vortex mixer에서 잘 혼합한 다음 15분간 실온 방치 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 뒤. 상층액은 버리고 남은 침전물을 검사에 사용하였다. 뇌척수액 등 각종 체액은 15 mL falcon tube로 옮긴 후 4°C에서 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 뒤 상층액을 제거하고 1 mL 정도를 다시 15,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 요검체는 15 mL falcon tube로 옮긴 후 4°C에서 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하였다.

2) 항산균 도말 검사: Carbol-fuchsin을 이용한 Ziehl-Neelsen 염색법을 이용하여 미국 질병예방통제국의 기준에 따라 판독하였다[1].

3) 결핵균 배양 검사: 검체를 3% 오가와 배지에 접종하고 37°C에서 배양하였다. 1주마다 배지를 관찰하고 최종적으로 8주까지 배양한 후, MTB-ID (Molecular & Diagnostic Inc., Gangwon, Korea)를 이용한 분자 진단 방법으로 결핵균과 NTM으로 구분하였고, Myco-ID (Molecular & Diagnostic Inc.)를 이용하여 PCR-restriction fragment length polymorphism analysis (PCR-RFLP) 방법으로 NTM 균종을 동정하였다.

4) Real-time PCR: AdvanSure TB/NTM 키트를 이용하여 제조회사의 지침에 따라 시행하였다. 전처리 과정 후 남아있는 침전물을 1.5 mL 튜브에 옮긴 후 시료 전처리액2를 1.0 mL 첨가하여 13,000 rpm에서 3분간 원심분리 후 상층액을 제거하고 이 과정을 2번 반복했다. Extraction buffer 50 μL를 잘 흔들어 섞은 후 1.5 mL 튜브에 첨가하고 100°C에서 20분간 가열한 다음 13,000 rpm에서 1분간 원심분리하고 잘 섞은 후 13,000 rpm에서 다시 3분간 원심분리 후 상층액 5 μL를 PCR에 사용하였다. 2X PCR mixture가 10 μL씩 분주되어 있는 200 μL 튜브에 TB/NTM primer/probe 혼합액 5 μL와 추출한 DNA 시료 5 μL를 첨가하여 원심분리한 후 SLAN real-time quantitative PCR detection system (Shanghai Hongshi Medical Technology Co., Ltd, China) 기기에 넣어 검사하였다. Ct값 35 이상을 양성으로 하여 NTM Ct값에서 TB Ct값을 뺀 값이 0 이상이면 MTB만 존재하는 경우, 0 미만이면 NTM 중복감염을 의미한다. 제조회사에 의하면 본 검사의 검출 한계는 결핵균 특이적인 IS*6110* 유전자는 250 cells/mL, 마이코박테리아의 *rpoB* 유전자는 5,000 cells/mL이다.

5) Amplicor MTB PCR: 제조회사의 지침에 따라 시행하였다. 요약하면, 1.5 mL의 튜브에 세척액 500 μL를 미리 분주하고 전처리한 검체 100 μL를 첨가한 뒤 12,000 rpm에서 10분간 원침 후 상층액을 버리고 용해액 100 μL를 가하여 60°C에서 45분간 반응시킨 다음 중화용액 100 μL를 가하였다. 반응 혼합물 50 μL와 master mix 50 μL를 반응튜브에 넣고 Amplicor (Roche molecular systems) 기기에서 검사하여 OD값 0.35 이상을 양성으로 하였다.

6) 임상 진단: 결핵 진단은 미국 흉부학회 기준에 따랐다[1]. 환자의 항산균 도말 검사 또는 배양 검사 결과, 방사선 소견, 임상 증상 및 치료 여부 등을 참조하여 임상적으로 활동성 결핵인 경우 양성으로 판정하였다.

7) 통계 분석: 각 검사법간의 양성율 차이를 카이제곱 검정을 시행하여 비교하였다. *P* value가 0.05 이하인 경우를 통계적으로 유의한 경우로 간주하였다.

결 과

배양에서 NTM으로 동정된 6예 중 4예가 real-time PCR에서 양성으로 배양결과와 67%의 일치율을 보였고, Amplicor MTB PCR에서는 모두 음성이었다. 도말 검사에서는 3예가 양성으로 배양결과와 50%의 일치율을 보였고, real-time PCR에서 3예 모두 NTM으로 검출되었다(Table 1).

NTM 6예를 제외한 207예 중 임상소견상 96예가 결핵으로

Table 1. Results of 6 cases of nontuberculous mycobacteria (NTM)

No. Case	Specimen	Real-time PCR	Amplicor MTB PCR	AFB smear	Culture
1	Sputum	NTM	Neg	1+	NTM*
2	Sputum	NTM	Neg	3+	NTM*
3	Urine	NTM	Neg	3+	*M. avium*
4	Sputum	NTM	Neg	Neg	*M. abscessus*
5	Sputum	Neg	Neg	Neg	*M. fortuitum*
6	Bronchial aspirate	Neg	Neg	Neg	*M. intracellulare*

*The identification tests were not performed.
Abbreviations: MTB, *Mycobacterium tuberculosis*; AFB, acid-fast bacilli; Neg, negative.

Table 2. Comparison of results between real-time PCR and Amplicor MTB PCR assays for detection of MTB

		Real-time PCR		
		TB (+)	TB (−)	Total
Amplicor MTB PCR	TB (+)	88*	3	91
	TB (-)	13	103*	116
	Total	101	106	207

*Concordance rate between real-time PCR and Amplicor MTB PCR was 92% (191/207).
Abbreviations: MTB, *Mycobacterium tuberculosis*; TB, tuberculosis.

Table 3. Sensitivity, specificity, predictive values of real-time PCR, Amplicor MTB PCR, AFB smear and culture for detection of MTB in all 207 specimens according to clinical diagnosis

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	*P* value*	Predictive value (%)	
				Positive	Negative
Real-time PCR	91	87		86	92
Amplicor MTB PCR	86	93	0.324	91	89
AFB smear	46	100	**0.000**	100	68
Culture	59	100	**0.000**	100	74

*Statistical analysis between real-time PCR and other methods (Amplicor MTB PCR, AFB, and culture) by chi-square test.
Abbreviations: MTB, *Mycobacterium tuberculosis*; AFB, acid-fast bacilli.

진단되었다. 결핵균 검출을 위한 real-time PCR과 Amplicor MTB PCR의 일치율은 92% (191/207)였다(Table 2). 불일치 16예 중 7예는 real-time PCR 결과와 임상진단이 일치하였고, 9예는 Amplicor MTB PCR 결과와 임상진단이 일치하였다.

결핵균 검출을 위한 real-time PCR의 민감도와 특이도는 91%, 87%, 양성예측도와 음성예측도는 86%, 92%이었고, Amplicor MTB PCR의 민감도와 특이도는 86%, 93%, 양성예측도와 음성예측도는 91% 및 89%이었다. Real-time PCR과 Amplicor MTB PCR의 양성률은 통계적으로 유의한 차이가 없었다($P>0.05$). 항산균 도말 및 배양 검사의 민감도는 각각 46%와 59%였고 특이도는 모두 100%로 각각 real-time PCR의 양성률과 통계적으로 유의한 차이를 보였다($P<0.05$)(Table 3).

호흡기와 비호흡기 검체로 분류하였을 때, 호흡기 검체(143예)에서 real-time PCR의 민감도와 특이도는 95%, 77%였고, Amplicor MTB PCR의 민감도와 특이도는 91%, 87%로, 두 검사의 양성률은 통계적으로 유의한 차이가 없었다($P>0.05$). 항산균 도말 및 배양의 민감도는 각각 52%, 63%였고, 특이도는 모두 100%로 각각 real-time PCR과 통계적으로 유의한 차이를 보였다($P<0.05$). 비호흡기 검체(64예)에서 real-time PCR과 Amplicor MTB PCR의 민감도는 각각 67%, 60%였고 특이도는 모두 100%로 호흡기 검체보다 민감도가 낮았고, 역시 두 검사

Table 4. Sensitivity and specificity of real-time PCR, Amplicor MTB PCR, AFB smear and culture for detection of MTB according to respiratory and nonrespiratory specimens

	Sensitivity (%)		Specificity (%)		*P* value*	
	Resp	NonR	Resp	NonR	Resp	NonR
Real-time PCR	95	67	77	100		
Amplicor MTB PCR	91	60	87	100	0.276	0.804
AFB smear	52	13	100	100	**0.000**	**0.015**
Culture	63	40	100	100	**0.000**	0.285

*Statistical analysis between real-time PCR and other methods (Amplicor MTB PCR, AFB smear, and culture) by chi-square test.
Abbreviations: MTB, *Mycobacterium tuberculosis*; AFB, acid-fast bacilli; Resp, respiratory specimens; NonR, nonrespiratory specimens.

간 양성률에 통계적으로 유의한 차이가 없었다($P>0.05$). 항산균 도말 및 배양의 민감도는 각각 13%, 40%였고, 특이도는 모두 100%이었다. Real time PCR의 양성률은 항산균 도말보다 통계적으로 유의하게 높았고($P<0.05$) 배양 검사보다 민감도가 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다($P>0.05$) (Table 4).

고 찰

결핵 진단에 있어서 PCR 검사는 특히 도말 양성 검체에서 민감도와 특이도가 매우 높아, 항산균 도말 양성이면서 PCR 음성이면 대부분 NTM 가능성을 고려하여야 한다[9, 10]. NTM 폐질환 빈도가 높은 미국의 경우 항산균 도말 양성에서 PCR이 양성일 경우 폐결핵으로 잠정 진단하고, 음성일 경우는 PCR 억제 물질이 있는지 확인 후 다시 음성으로 나오면 NTM에 감염된 것으로 잠정 진단하도록 권고하고 있다[11]. 현재 이 지침에 따라 NTM 감염을 추정할 수 있으나, 직접 NTM을 구분할 수 있다면 임상적으로 좀더 유용할 것이다. 국내의 경우 결핵의 유병률이 높고 NTM 질환의 빈도가 낮아 항산균 도말 양성일 경우 대부분 결핵으로 간주하고 항결핵제 치료를 시행하는 것이 일반적이다. 그러나 최근 국내에서도 NTM의 분리율 및 NTM 질환이 증가하고 있고, NTM은 면역 기능 저하자에서 질병을 일으킬 수 있고 진단이 쉽지 않으며, 약제 내성율이 높아 치료가 어렵고 재발율도 높다[5]. 따라서 NTM을 구별할 수 있는 진단법의 필요성이 커지고 있다. 본 연구에 이용된 AdvanSure TB/NTM real-time PCR 키트의 원리는 결핵균에 특이적인 IS*6110*과 마이코박테리아 *rpoB* 유전자 부위에 특이적인 시동체에 의해 PCR 반응 산물이 형성되고 동시에 각 유전자에 특이적인 Taqman probe가 분해되면서 형성된 형광을 real-time PCR cycler로 측정하는 것이다. 따라서 결핵균과 NTM을 함께 검출할 수 있고, 기존 PCR 방법보다 빠르며 amplicon 오염율이 적다는 장점이 있다. 본 연구에서 이 키트를 이용한 real-time

PCR의 NTM 검출은 배양 결과와 67% (4/6)의 일치율을 보였고, 항산균 도말 양성이면서 Amplicor MTB PCR 음성인 3예의 경우에 real-time PCR을 이용하여 NTM을 확인할 수 있었으나, 검체수가 적어 NTM 검출능을 확인하기 위해서는 대규모 연구가 추후 필요하다.

Amplicor MTB PCR은 미국식품의약청에서 항산균 도말 양성 호흡기 검체에서 결핵균 검출을 위해 공인받은 검사로 널리 사용되고 있고, 민감도와 특이도가 높으며 비호흡기 검체에서도 좋은 결과를 보이는 것으로 알려져 있다[12-14]. 본 연구에서 Amplicor MTB PCR의 민감도는 86%, 특이도는 93%로 다른 연구들[12,15]에서 민감도 76-81%, 특이도 98-100%로 보고한 결과와 비슷하였다. 호흡기 검체에서 민감도와 특이도는 각각 91%와 87%로 다른 연구들[16-19]이 민감도 83-96%, 특이도 99-100%이었던 것에 비해 특이도가 낮았다. 비호흡기 검체에서 민감도와 특이도는 60%와 100%로 다른 연구들[15, 16, 20]이 민감도 59-86%, 특이도 99-100%를 나타낸 것과 비슷하였다. 호흡기와 비호흡기 검체 사이의 결과 차이에 대해서는 연구들마다 달랐는데, 민감도와 특이도가 호흡기와 비호흡기 검체 사이에 유의한 차이가 없었다는 보고들[16, 21]도 있었고 유의한 차이가 있었다[15]는 보고도 있었다. 본 연구에서는 비호흡기 검체의 민감도는 60%, 호흡기 검체의 민감도는 91%로 비호흡기 검체에서 민감도가 더 낮았다. 이에 비해 항산균 도말의 민감도가 호흡기 검체 52%, 비호흡기 검체 13%이었고 배양 검사의 민감도가 호흡기 검체 63%, 비호흡기 검체 40%였던 것에 비해서는 높은 민감도를 나타냈다. 비호흡기 검체에서 Real-time PCR의 민감도가 배양 검사보다 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았는데, 이는 대상수가 적은 것에 기인하는 것으로 생각된다. PCR의 민감도와 특이도가 연구마다 차이가 나는 것은 PCR 자체의 분석적 민감도와 결핵균 배양의 민감도가 연구자마다 다르고, 양성 검체나 검체 내 균의 분포가 고르지 않기 때문일 가능성이 있다[22]. 또한 대상 인구집단마다 결핵 유병율이 다르기 때문일 수도 있고[12], 대상 검체의 구성 차이가 원인일 수도 있다[15]. 그밖에 검체의 종류, 검체에서 항산균 도말 양성의 비율, 검체의 보관과 취급, 검사시점, 검사방법, 검사자의 기술 등 다양한 요인이 영향을 줄 수 있다.

본 연구에서 real-time PCR과 Amplicor MTB PCR의 양성율은 통계적으로 유의한 차이가 없었으나, real-time PCR의 민감도는 91%로 Amplicor MTB PCR의 86%보다 다소 높았다. 이는 Amplicor MTB PCR은 100 μL를 접종하는 데 비해 real-time PCR은 남은 침전물(200-300 μL)을 모두 검사에 사용하고 real-time PCR 자체의 예민도가 기존의 PCR보다 높기 때문인 것으로 생각된다. 다른 연구에서도 Amplicor MTB PCR이 접종량이 적어 민감도가 더 낮았다는 보고가 있다[15].

항산균 도말 검사는 저렴하고 간편하며 신속하게 결과를 얻을 수 있어 널리 사용되지만, 결핵균과 NTM을 구분할 수 없고 민감도도 낮다는 제한점이 있다. 배양 검사는 도말 검사가 항산균 5,000-10,000개 이상이 있어야 검출할 수 있는데 반해 10-100개 정도의 적은 양이 있어도 검출할 수 있고 특이도가 높은 장점이 있으나, 시간이 오래 걸린다는 단점이 있다. 이에 비해 PCR 검사는 당일 내로 빠르고 정확한 결과를 제공할 수 있다[17, 21]. 특히 항산균 도말 음성일 때 수 주일을 기다려야 하는 배양 검사에 비해 신속한 결과를 얻을 수 있어 폐결핵의 조기 진단과 치료를 가능하게 한다[13, 23]. 아직까지 PCR은 항결핵제 감수성 검사와 균주의 역학적 특성 때문에 항산균 도말과 배양 검사를 완전히 대체할 수는 없고 임상 소견을 참조하여 결과를 해석할 것이 권고되고 있다[12, 24].

결론적으로, real-time PCR은 기존의 Amplicor MTB PCR과 양성율에서 차이가 없었고 NTM을 검출할 수 있어 앞으로 검사실에서 유용하게 이용될 수 있을 것이다. 또한 PCR 검사는 항산균 도말과 배양 검사에 비해 민감도가 우수하였으며 비호흡기 검체에서도 민감도 및 특이도가 높아 폐외 결핵 진단에 유용할 것이다.

참 고 문 헌

1. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. This official statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This statement was endorsed by the Council of the Infectious Disease Society of America, September 1999. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:1376-95.
2. Lew WJ. Tuberculosis situation in Korea. Tuberc Respir Dis 1999;46:301-10.
3. Lee JY, Choi HJ, Lee H, Joung EY, Huh JW, Oh YM, et al. Recovery rate and characteristics of nontuberculous mycobacterial isolates in a university hospital in Korea. Tuberc Respir Dis 2005;58:385-91.
4. Koh WJ, Kwon OJ, Yu CM, Jeon KM, Seo GY, Jeong MP, et al. Recovery rate of nontuberculous mycobacteria from acid-fast-bacilli smear-positive sputum specimens. Tuberc Respir Dis 2003;54:22-32.
5. Scientific committee in Korean academy of tuberculosis and respiratory disease. National survey of mycobacterial diseases other than tuberculosis in Korea. Tuberc Respir Dis 1995;42:277-94.
6. Cho SN and Brennan PJ. Tuberculosis: diagnostics. Tuberculosis 2007;87:S14-7.
7. Cho SN. Current issues on molecular and immunological diagnosis of tuberculosis. Yonsei Med J 2007;48:347-59.
8. Woods GL. Molecular techniques in mycobacterial detection. Arch Pathol Lab Med 2001;125:122-6.
9. Lee JS, Ji HS, Hong SB, Oh YM, Lim CM, Lee SD, et al. Clinical utility of polymerase chain reaction for the differentiation of nontuberculous mycobacteria in patients with acid-fast bacilli smear-positive specimens. Tuberc Respir Dis 2005;58:452-8.
10. Yu CM, Koh WJ, Rye YJ, Jeon K, Choi JC, Kang EH, et al. Usefulness of PCR test for *M. tuberculosis* for the differentiation of pulmonary tuberculosis and nontuberculous mycobacterial lung disease in patients with smear-positive sputum. Tuberc Respir Dis

2004;57:528-34.
11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: Nucleic acid amplification tests for tuberculosis. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2000;49:593-4.
12. Michos AG, Daikos GL, Tzanetou K, Theodoridou M, Moschovi M, Nicolaidou P, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in respiratory and nonrespiratory specimens by the Amplicor MTB PCR. Diagn Microbiol Infect Dis 2006;54:121-6.
13. Choi WS, Shin SY, Kim JO, Kim MS, Lee HK. Usefulness of automated PCR test for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in fresh biopsy tissues. Tuberc Respir Dis 2006;61:54-9.
14. Shah S, Miller A, Mastellone A, Kim K, Colaninno P, Hochstein L, et al. Rapid diagnosis of tuberculosis in various biopsy and body fluid specimens by the AMPLICOR *Mycobacterium tuberculosis* polymerase chain reaction test. Chest 1998;113:1190-4.
15. Tortoli E, Tronci M, Tosi CP, Galli C, Lavinia F, Natili S, et al. Multicenter evaluation of two commercial amplification kits (Amplicor, Roche and LCx, Abbott) for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in pulmonary and extrapulmonary specimens. Diagn Microbiol Infect Dis 1999;33:173-9.
16. Scarparo C, Piccoli P, Rigon A, Ruggiero G, Scagnelli M, Piersimoni C. Comparison of enhanced Mycobacterium tuberculosis amplified direct test with COBAS AMPLICOR Mycobacterium tuberculosis assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory and extrapulmonary specimens. J Clin Microbiol 2000;38:1559-62.
17. Levidiotou S, Vrioni G, Galanakis E, Gesouli E, Pappa C, Stefanou D. Four-year experience of use of the Cobas Amplicor system for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory and nonrespiratory specimens in Greece. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2003;22:349-56.
18. 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.
19. Brown TJ, Power EG, French GL. Evaluation of three commercial detection systems for *Mycobacterium tuberculosis* where clinical diagnosis is difficult. J Clin Pathol 1999;52:193-7.
20. D'Amato RF, Hochstein LH, Colaninno PM, Scardamaglia M, Kim K, Mastellone AJ, et al. Application of the Roche Amplicor *Mycobacterium tuberculosis* (PCR) test to specimens other than respiratory secretions. Diagn Microbiol Infect Dis 1996;24:15-7.
21. 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.
22. Lee MH. Evaluation of Amplicor PCR kit for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* from sputum specimens. Korean J Lab Med 1996;16:364-72.
23. Lee J, Kim Y, Park J, Ko W, Yang D, Kim S, et al. Clinical utility of bronchial washing PCR for IS6110 and Amplicor for the rapid diagnosis of active pulmonary tuberculosis in smear negative patients. Tuberc Respir Dis 2001;50:213-21.
24. 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.

=국문초록=

결핵 진단을 위한 Real-time PCR과 Amplicor MTB PCR의 임상적 유용성

이화여자대학교 의학전문대학원 진단검사의학교실

정채림, 김미경, 서동춘, 이미애

배경: PCR 검사가 개발되어 전통적인 항산균 도말과 배양 검사보다 신속하고 예민하게 결핵을 진단할 수 있게 되었다. 본 연구에서는 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*)과 비결핵항산균(nontuberculous mycobacteria, NTM)을 감별할 수 있게 최근 개발된 AdvanSure TB/NTM PCR 키트(LG Life Science Diagnostic Division, Korea)를 이용한 real-time PCR과 Amplicor MTB PCR (Roche Molecular Systems, USA)의 결핵 진단을 위한 임상적 유용성을 비교하였다.
방법 : 총 213예(호흡기 148예, 비호흡기 65예)에서 real-time PCR, Amplicor MTB PCR, 항산균 도말 및 배양 검사를 함께 시행하였다. 임상소견을 검토하여 각 검사법간의 민감도와 특이도를 비교하였다.
결과 : 배양에서 NTM이 자란 6예 중 4예(67%)가 real-time PCR에서 검출되었다. Real-time PCR과 Amplicor MTB PCR의 일치율은 92% (191/207)였다. 전반적인 real-time PCR의 민감도와 특이도는 91%, 87%, Amplicor MTB PCR의 민감도와 특이도는 86%, 93%이었다. 비호흡기 검체에서 real-time PCR과 Amplicor MTB PCR의 민감도는 각각 67%, 60%였고 특이도는 모두 100%였으며, 항산균 도말 및 배양의 민감도는 각각 13%, 40%였고, 특이도는 모두 100%이었다.
결론 : AdvanSure TB/NTM 키트를 이용한 real-time PCR과 Amplicor MTB PCR은 결핵균에 대한 민감도와 특이도는 비슷하였으나 AdvanSure TB/NTM 키트는 NTM을 검출할 수 있었다. PCR은 전통적인 항산균 도말과 배양에 비해 결핵균 검출의 민감도가 우수하였다. **[대한임상미생물학회지 2008;11:29-33]**

교신저자 : 이미애, 158-056, 서울시 양천구 목동 911-1
이대목동병원 진단검사의학과
Tel: 02-2650-5222, Fax: 02-2650-5222
E-mail: miae@ewha.ac.kr