

결핵의 진단

대한결핵협회 결핵연구원

김 상 재

Diagnosis of Tuberculosis

Sang Jae Kim, MPH, ScD

Korean Institute of Tuberculosis, Korean National TB Association, Korea

서 론

결핵은 결핵균에 감염되어 발병한 질환이므로 진단은 그러한 사실을 밝혀내는 것이다. 그러나 전공 분야에 따라 이용하는 기법과 목적이 다르기 때문에 모두가 만족할 수 있는 결핵의 정의를 내리기가 쉽지 않다. 병리학자나 방사선학자들이 중요하게 생각하는 정의의 기준이 환자를 직접 관리하는 임상가에게는 그리 중요하지 않을 것이며, 감염전파를 중요시하고 원인균 증명이 필수적이라고 생각하는 역학자나 세균학자들은 또 다르게 생각할 것이다. 모두가 만족할 수 있는 정의를 만든다고 하더라도 이는 분명히 장황하고 학술적이라 환자관리에 도움이 되지 않을 것이 분명하다. 결국 결핵의 정의는 올바른 환자관리를 위해 취해야 할 조치의 근거이므로 결핵관리 목적을 추구해 나가는 데 얼마나 실용적인지가 중요하지 얼마나 완벽하고 옳은 정의나 하는 논쟁은 아무 의미가 없다. 그러한 관점에서 볼 때 결핵도 다른 전염병 관리와 마찬가지로 감염원 즉 결핵균을 배균(排菌)하는 환자의 질환이다. 따라서 임상 검체로부터의 균 검출이 주요 진단 방법이 될 수 밖에 없다. 진단후 취해야 할 치료도 균

의 발육을 억제하여 제거하는 일이므로 배균여부가 또한 중요한 치유 판단의 기준이 된다. 그러한 점들을 고려할 때 첫째 염색 도말표본의 현미경검사에서 항산균이 증명되는지 여부가 가장 중요한 진단기준이 되어야 한다. 둘째로는 비록 도말에는 음성이지만 잠재적으로 전염성이 있거나 치명적인 환자도 따로 분류할 수 있는 정의가 필요하며, 이들은 주로 임상소견, 배양검사 및 방사선검사 등으로 진단된다. 그러나 방사선 소견과 임상소견만으로 진단한 결핵은 결핵이 아니거나 치료를 요하지 않을 가능성이 있으므로 신중해야 할 것이다. 균검사를 토대로 환자를 진단하고 치료관리 하는 의료관행이 정착되어야 자원낭비를 막고 결핵 문제를 좀더 빨리 해결해 나갈 수 있다는 점에 유의해야 하겠다. 결핵증상이 있어서 의료기관을 찾는 환자를 진단방법별로 구성비를 살펴보면 도말양성환자가 42~50% 정도이고, 배양양성환자는 10~18%이며, 그 외는 방사선 사진상 결핵음영이 보이지만 균이 검출되지 않는 환자들이다.

그 동안 이용해 온 검사기법 들은 R. Koch가 결핵균을 발견할 당시에 창안했던 방법으로부터 기본적으로 크게 달라지지 않았다. 그러나 최근에 분자생물학,

면역학 및 물리화학의 힘을 빌려 새로운 기법들이 출현하고 있어서 결핵의 세균학적 진단이 새로운 국면을 맞이하고 있다. 현재 이용되고 있거나 이용될 전망이 있는 다양한 검사법들 가운데서 어떤 방법을 선택 할 것인가? 물론 민감도, 특이도 및 결과의 신속성을 분석하고 양·음성 결과의 예측도를 면밀히 평가하여 환자관리에 가장 효율적인 방법을 선택해야 한다. 그리고 검사를 실시하는데 있어서 우선 기법이 간편해야 하고 재현성이 높아 지역내 인력을 훈련시켜 능숙하게 수행해 나갈 수 있어야 하며, 시설, 장비 및 기타 자재 등이 쉽게 공급되고 유지관리 될 수 있을 뿐 아니라 저렴해야 한다. 소요 시약들은 오랫동안 쓸 수 있도록 안정성이 높은 것이 좋고, 가능하면 정교한 장비는 요하지 않는 것이 바람직하다.

결핵진단에 이용되는 각종 검사법들 중에서 투베르쿨린 피부반응검사는 감염여부를 알기 위한 검사이지 결핵진단을 위한 검사는 아니다. 그러나 균양성 환자의 가까운 접촉자 중 소아(小兒)는 감염위험도 높고 아직 망상직내피세포(網狀織內皮細胞界) 발달이 미흡하여 감염되면 발병으로 이어질 위험이 매우 높기 때문에(37~44%), 그러한 경우에는 투베르쿨린 검사도 어느 정도 진단적 가치가 있다.

현재 결핵진단에 가장 많이 이용되고 있고, 다른 어떤 검사법 보다도 중요한 방법은 각종 병리 검체로 제작한 도말염색표본의 현미경 검사이다. 기법이 간단하고 저렴하여 어디서나 쉽게 이용할 수 있고, 결과가

빨라 환자관리에 편리하며, 도말 검사로 진단되는 환자가 그 지역사회의 결핵 전염원이므로 빨리 찾아내어 치료해야 할 뿐 아니라 임상증상도 대체로 심해 시급한 치료를 요하는 환자들이다. 그러한 장점에도 불구하고 역시 민감도가 낮은 흠이 있고, 결핵 유병률이 낮으면서 비결핵 마이코박테리아 감염 예가 많은 지역에서는 도말 양성도 반드시 결핵이 아닐 경우도 간혹 있다. 그러나 사실상 도말 검사의 특이도는 99% 이상으로 높다. 균 분리배양 검사는 비교적 소수의 균도 검출할 수 있을 뿐 아니라 균종동정과 약제감수성검사를 가능하게 해주므로 매우 유용하지만 기법이 다소 복잡하고 번거로우며 비용도 도말검사에 비해 훨씬 많이 들 뿐 아니라 무엇보다도 결과가 늦어 환자관리에 이용하기가 매우 불편하다는 결점을 가지고 있다. 배양양성환자가 비록 전염성은 떨어지지만 그냥 두면 대부분 전염성환자로 진전되어 발견되기 전에 다른 사람들을 감염시킬 위험이 있으므로 이용 가능한 지역에서는 반드시 실시해야 한다.

방사선검사는 작은 병변도 찾아낼 수 있고 병변의 범위를 볼 수 있을 뿐 아니라 결과도 빨라 유용하지만 사진에 나타난 음영의 원인을 알 수 없고 잘 훈련된 전문가에 의해서만 판독될 수 있는 단점을 가지고 있다. 뿐만 아니라 균이 증명되지 않은 방사선 사진상의 활동성 결핵으로 진단된 환자 가운데는 사실상 치료를 요하지 않는 건강인이 많아 이들을 치료할 경우 치료의 낭비는 물론 불필요하게 약물중독 위험에 노출시킬

Table 1. Break-down of untreated patients with sputum negative but radiologically active pulmonary tuberculosis during follow-up

Country	No. of cases studied	Break-down to sputum positive during follow-up			
		1	2	3	5 years
Korea	546	19(3.5)			
Denmark	28				8(28.6)
Hong Kong	173	62(35.3)	69(39.9)	71(41.0)	71(41.0)
India	101	21(20.8)			
Romania	143		6(4.2)		
Scotland	95				29(30.5)

() = %

따름이다. Table 1에서 보는 바와 같이 치료를 요하는 균음성 환자는 조사에 따라 차이가 크지만 많아야 29~41%에 불과하다. Hong Kong 조사에서 보면 균음성 환자의 41%가 5년 동안에 균양성으로 악화되었는데, 그들 중 86%가 1년 이내에 악화되었다. 이들은 모두 증상을 가지고 병원을 찾아온 환자였기 때문에 많은 음성환자가 추구조사에서 균양전된 것으로 본다. 그러나 1990년과 1995년도에 실시한 우리나라 결핵실태조사에서 발견된 균음성 환자를 1년후 추구조사한 결과 불과 3.5%가 균양성으로 악화되었다. 따라서 분명한 결핵증상 없이 신체검사 등을 통해 발견된 균음성 환자의 치료는 매우 신중해야 한다.

현재 이용되고 있는 결핵균 검사법들은 민감도가 낮거나 아니면 결과를 얻기까지의 시간이 오래 걸려 환자 관리에 불편한 점이 많아 검체내 소수의 균을 신속히 검출할 수 있는 방법이 꾸준히 개발되고 있고 그 중 일부 기법들은 실용화되고 있다. 그러나 역학적 상황, 사회경제적 여건, 가용 기술인력 등에 따라 이용의 효율성이 달라질 것이다.

결핵균검사의 목적

결핵균검사의 목적은, (1) 정확한 진단, (2) 정확한 치료반응의 판단, (3) 초치료 실패환자의 재치료 처방 선정 및 (4) 주요 역학지표인 유병률, 신환 발생률, 약제내성률 조사 등이다. 국가 결핵관리 체계 내에서의 환자발견사업은 그 목적이, (1) 환자의 건강회복과 (2) 미감염자에 대한 감염위험의 극소화에 있기 때문에 반드시 세균학적 검사(특히 도말 검사)에 기초해서 환자를 찾아내고 추구관리하게 되어있다.

결핵균 검사방법

결핵균검사법은 그 지역 의료계의 결핵진단 및 치료관리 행태에 따라 크게 좌우된다. 일반적으로 검체의 선택 및 채취, 검사 시설, 장비 및 편재, 검사자의 숙련도 및 정도관리 등이 결핵균 검사 결과의 신빙성에

큰 영향을 미친다. 결핵진료에 필요한 모든 검사를 모든 검사실에서 다 실시한다는 것은 기술적으로도 어려울 뿐 아니라 무리하게 실시하면 엄청난 자원을 부정확한 검사에 낭비하게 된다. 따라서 하루에 검사하는 검체수와 검사실 규모, 장비 및 인력 등을 고려하여 그에 알맞는 검사만 실시하고 그 외의 필요한 검사는 더 큰 검사실로 의뢰하는 것이 타당하다. 규모가 작은 병의원 검사실은 채취한 가검물에 대하여 도말 검사만 실시하고, 그 외의 검사는 규모가 큰 병원 검사실이나 전문 검사기관에 의뢰하는 것이 타당하다. 하루 30건 이상의 검체를 검사하는 비교적 규모가 큰 검사실에서는 도말 및 배양검사를 실시하되 분리 배양된 인형결핵균을 동정할 수 있어야 한다. 국가 결핵관리 사업을 실시하고 있는 나라에서는 수도에 중앙결핵검사소를 설치하여 필요한 모든 검사를 실시함은 물론 검사요원 교육 및 타검사실의 정도관리를 실시한다.

1. 검체 선택 및 채취

임상가는 보다 민감하고 특이한 검사법이 없어서 환자 관리가 어렵다고 말하기 전에 진단에 적절한 검체를 채취했는지, 양질의 검체인지, 충분한 양과 횟수로 채취해 검사 의뢰 했는지를 살펴봐야 할 것이다. 80% 이상의 결핵이 폐에 발생하고 그리고 균이 객담비말핵(喀痰飛沫核)에 의해 전파되기 때문에 결핵진단 측면에서 보나 역학적 측면에서 보나 객담이 채취해 검사해야 할 가장 중요한 가검물이다. 담이 잘 나오지 않는 환자로부터 기관지 세척액, 위세척액 또는 후두 점액을 채취해 검사할 수 있지만 의사가 없는 시설에서는 시행이 어렵다. 폐외결핵인 경우에는 병변 위치에 따라 여러 가지 검체가 검사에 이용될 수 있다. 객담 검사 대상자는 결핵환자에서 흔히 볼 수 있는 뚜렷한 증상을 가지고 병의원을 찾아온 환자나 흉부엑스선 사진상에 결핵이 의심되는 음영을 가지고 있는 환자일 것이다.

객담은 가능한 한 항결핵제를 복용하기 전에 채취하

Table 2. Comparative case-yields of sputum specimens collected on the spot or at home

Investigators	Type of collection	No. of specimens	Smear positives	Culture positives
Pande et al	Home	160	85.0	98.1
	Spot	160	51.8	91.8
Valladaras et al	Home	181	31.5	51.6
	Spot	179	13.5	42.2
Kim et al	Home	2,968 ¹	11.7	
	Spot	2,736 ¹	6.9	

Table 3. Smear or culture positives in relation to the number of consecutive sputum specimens collected from each of the cases studied

investigators	No. of cases Studied	Smear positives(%)						Culture positives(%)				
		1 st	2 nd	3 rd	4 th	≥5 th		1 st	2 nd	3 rd	4 th	≥5 th
Urbanczik et al	271	80	12	8	-	-		90	9	1	-	-
Chan et al	1162	86	14	-	-	-	Smear+ ves	93	7	-	-	-
							Smear- ves	68	32	-	-	-
Urbanczik et al	200	82	10	8	-	-	Smear+ ves	95	4	1	-	-
							Smear- ves	75	23	2	-	-
Blair et al	270	71	8	8	1	12		74	9	6	3	8
Nair et al	53	68	17	2	2	11						
Nair et al	68							63	21	3	3	10
Levy et al	71	82	10	5	3	0						
Levy et al	107							83	9	2	2	3

는 것이 바람직하다. 그리고 아침에 공복시 채취하는 재가채담(在家採痰)이 바람직하지만 다시 오지 않아 검사를 못하는 경우가 많기 때문에 첫 객담은 반드시 즉석에서 채취해야 한다. Table 2에서 보는 바와 같이 재가채담이 즉석채담보다 배양양성률은 큰 차이를 보이지 않지만 도말양성률은 현저하게 차이가 난다.

정확한 진단을 위해서 한 환자로부터 최소한 몇 번 객담을 채취해 검사하는 것이 바람직한가? Table 3에서 보는 바와 같이 여러 조사의 결과를 종합해 보면 최소한 2회는 채취해 검사해야 한다. 가능한 매일 1회씩 2회 채취해 검사하고 모두 음성이면 3회까지 채취해 검사하는 것이 바람직하다. 그러나 국가 결핵관

리 체계내에서 일률적으로 3회 이상 실시하기는 어렵다. 도말양성환자는 대개 첫 객담에서 68~86%가 진단되며 배양양성도 비슷한 경향을 보여주고 있다. 도말 음성 배양양성 객담은 두 번째 객담에서 무려 23~32%의 양성이 추가 발견되므로 반드시 2회까지는 채취해 검사해야 한다. 그리고 위양성률(偽陽性率)이 높은 나라에서는 재확인이 필요하다. 폐결핵이 아닌 환자로서 2회 이상 도말에서 양성을 보여 주었던 경우가 없기 때문에 3회 연속 양성이면 틀림없는 양성이라고 볼 수 있다는 주장도 있어서 가능한 객담을 3회는 채취해 검사하도록 해야 하겠다.

객담이 침이 아니고 기도로부터 나오는 분비물이라

는 점을 주지시키고 어떻게 받아야 하는지를 잘 설명하여 질이 좋은 객담을 받도록 최선을 다해야 한다. 점액 농양성 객담의 도말양성률이 침 같은 검체의 양성률의 약 20배가 된다는 사실이 지역이 다른 여러 조사에서 동일하게 나타나고 있다^{16,17)}.

간혹 객담 배양 또는 감수성 검사를 위해 채취한 객담을 다른 검사실로 즉시 보내지 못할 경우에는 반드시 냉장 보관해야 한다. 냉장 보관해도 1주일 이 지나면 결핵균의 생활력은 약화되며 실온에 보관할 경우에는 3일 이내에도 많은 균이 사멸한다. 부득이 실온에서 4일 이상 보관해야 한다면 방부 및 오염 균을 제거할 수 있는 cetylpyridium bromide (CPB) 또는 chloride(CPC)를 0.3~0.5% 첨가하는 것이 좋다.

2. 도말 검사

도말 검사는 앞에서도 지적했듯이 가장 많이 실시되는 가장 중요한 검사이다. 도말 양성인 상태로 오랫동안 발견되지 않는 일이 없도록 최선을 다해 빨리 찾아내어야 한다. 그러나 요치료자의 절반 정도밖에 찾아낼 수 없는 낮은 민감도가 문제로 지적되지만 검사를 여러 번 실시하면 민감도를 상당히 극복할 수 있다. 예를 들면 2회 도말 검사로 찾아내는 균 양성환자수가 1회 배양검사로 찾아 내는 수와 거의 동일하다.

도말표본은 객담을 직접 도말하는 직접법과 객담을 액화후 원심분리로 침전시켜 도말하는 집균법이 있다. 집균법을 제대로만 실시하면 직접도말검사보다 약 34~52% 정도 더 많은 양성을 찾아 낼 수 있다. 따라서 원심분리기가 있고 안전시설이 잘 되어 있는 검사실에서는 집균법이 바람직하다. 그러나 집균법은 원심력에 따라 균양성률에 큰 차이가 있으므로 균질화 한 객담 용액의 점도 와 비중에 따라 충분한 원심력으로 집균해야 한다. 배양양성 객담을 1,260xg로 집균하며 25%만이 도말에서 양성이지만 3,800xg로 집균하면 82%가 양성이었다는 보고가 있다.

염색법은 carbol-fuchsin을 이용한 Ziehl-Neelsen

(ZN)법과 auramine과 같은 형광염료로 염색하는 형광법(FM)이 있다. 형광현미경의 시야는 25×대물렌즈로 볼 때 0.34mm²로 100×대물렌즈로 보는 광학현미경 시야 0.02mm²의 17배나 넓어 판독시간이 단축되므로 Ziehl-Neelsen(ZN)염색에 따른 광학현미경으로는 하루 한사람이 최대 25매 볼 수 있으나 형광현미경으로는 200매 정도 검경할 수 있다. 검경시야가 넓어서 균수가 적은 가검물이 많은 경우에는 양성률도 ZN법에 비해 높을 수 있다. 그러나 실제로 유의하게 더 많은 양성을 찾아내는 것은 아니다. 그리고 비록 전체적으로 보아서는 형광현미경검사의 위양성률이 더 높지는 않지만 균이 소수로 검출된 경우에 역시 많은 위양성이 있을 수 있으므로 ZN법으로 다시 확인한 다음 통보하는 것이 바람직하다.

도말 위양성(偽陽性)으로는 항산성 염색성을 띠는 음식을 입자나 섬유 또는 화분, 오래된 염색액이나 가온염색시 수분증발로 인해 생긴 염료결정, 토양이나 물의 비결핵항산균 오염, 고초균 포자, 슬라이드 긁힌 자국 및 양성슬라이드의 균이 음성슬라이드로 오염되어 발생할 수 있다. 도말 위음성(偽陰性)은 주로 검체 채취, 도말, 염색 및 검경의 잘못으로 발생한다. 부적절한 객담채취, 객담이나 도말표본을 직사광선이나 자외선 또는 과도한 열에 노출시켰을 때 위음성이 발생할 수 있다. 도말표본을 너무 얇게 또는 너무 두껍게 제작하거나, 고정할 때 열을 과도하게 가하거나, 고정을 잘못해 염색시 떨어져 나가거나, carbol-fuchsin염색을 너무 짧게 했거나 끓였을 때 그리고 대조염색을 너무 짙게 하였을 때 위음성이 발생한다. 그리고 검경시간이 너무 짧거나, 소수의 시야만 보고 결과를 내든지, 검경요원이 색맹이거나 시각장애가 있을 경우에도 위음성이 발생할 수 있다. 그 밖에도 기록보고와 같은 사무착오로 위양성 또는 위음성 결과를 낼 수도 있다. 형광염색 슬라이드는 보관하면 형광을 잃고, fuchsin염색도 고온 다습한 환경에 보관하면 색이 바랜다. 도말검사의 신뢰도는 철저한 정도관리를 통해서만 높게 유지할 수 있다.

3. 배양검사

배양검사는 결핵균의 동정으로 확실한 진단이 가능하고, 소수의 검출 할 수 있으며, 약제감수성검사를 위해서는 반드시 필요하다. 도말검사는 객담 0.01ml을 도말 염색해 약 3%의 시야를 보고 결과를 내는데 비하여 배양검사는 적어도 0.1ml내 배양가능 균을 모두 검출할 수 있으므로 이론적으로는 도말검사보다 약 330배의 높은 민감도를 가지고 있다. 그렇다고 실제 그만큼 환자를 더 찾아내는 것은 아니다. 개발도상국에서는 대체로 발견되는 균양성환자의 약95%가 도말 양성인데 비해 선진국에서는 약 40%이다. 그 이유는 개발도상국에서는 환자들이 병이 많이 진행된 다음에 의료기관을 찾기 때문이다.

객담 배양검사는 결핵균보다 신속히 발육하는 각종 오염균을 제거하고 적절한 배지에 접종하여 배양해야 한다. 오염균 제거를 위한 처리가 결핵균에도 유독하기 때문에 사실상 많은 균이 전처리 과정에서 사멸한다. 일반적으로 NaOH 처리가 가장 널리 이용되고 있는데 최종 농도가 2% 이상되면 결핵균도 많이 사멸하기 때문에 농도를 1%로 낮추고 그대신 균 주위의 점액을 빨리 용해하기 위해 N-acetyl-L-cysteine이나 dithiothreitol을 첨가하기도 한다²⁰⁾. 노출시간이 균의 생활력에 미치는 영향이 크므로 주의해야 한다. 13% trisodium phosphate-Zephiran 처리법과 0.5% CPC 처리법도 이용되는데, 전자는 노출시간 지키기가 어려운 곳에서 유용하고 후자는 결핵균이 8일간은 생존해 있을 수 있어서 객담을 다른 곳으로 운송해야 할 때 유용한 처리법이다. 5% 수산은 alkali 처리에 잘 죽지 않는 균 (예, *Pseudomonas* spp.)로 오염된 객담의 처리에 좋고, 4% 황산 처리는 뇨로부터 균을 분리하는데 유용하다.

균분리배양에 가장 많이 쓰이는 배지는 제란배지 (Lowenstein-Jensen, Ogawa)이다. 그러나 한천배지(7H11등)도 많이 이용되는데, 특징적 균집락의 형태를 일찍 관찰할 수 있는 장점이 있다. 7H11이나

Dubos액체배지도 간혹 이용되며, 근래에는 C¹⁴ palmitate를 첨가한 7H12액체배지에 균을 접종하고 균의 대사로 생긴 ¹⁴CO₂량을 발육지수(growth index)로 관찰하는 방법이 개발되어 주로 경제적으로 풍요한 나라에서 이용하고 있다. BACTEC 460이라 부르는 이 방법은, (1) 결과를 빨리(평균 16일) 얻을 수 있고, (2) 더 많은 양성을 찾아낼 수 있으며, (3) 약제감수성검사에 유용하다는 장점을 가지고 있지만 동위원소를 취급할 수 있는 시설과 자격 요건을 갖춘 인력이 있어야 하고, 장비와 운영비가 비싼 흠을 가지고 있다. 우리나라처럼 신선한 가검물이 많지 않은 나라에서는 오염균 제거가 쉽지 않고, 계속 관찰을 위한 CO₂ 교체시 오염위험이 있으며, 결핵균과 결핵균의 mycobacteria가 혼재해 있을 때는 문제가 될 수 있다. 그 외에도 결핵균의 산소 소비를 감지하여 발육을 관찰하는 MGIT (mycobacteria growth indicator tube)가 개발되어 이용이 증가하고 있는데 결과를 얻기까지의 소요시간과 민감도는 BACTEC과 동일하지만 동위원소를 취급 할 수 없는 검사실에서도 쓸 수 있는 잇점이 있다. 그러나 비용이 많이 드는 흠이 있다. 균분리 배양검사를 실시하는 검사실은 반드시 인형 결핵균을 다른 mycobacteria와 감별할 수 있어야 한다.

간혹 도말양성 배양음성인 경우를 볼 수 있는데 그 이유를 명확히 다 알 수 없지만 치료환자인 경우에는 죽은 균을 배출할 수 있다. 특히 rifampicin이 함유된 처방으로 치료할 때 그러한 예가 관찰된다. 치료환자가 아니라면 객담을 부적절한 환경에서 오래동안 보관했거나, 오염균 제거를 위한 전처치가 너무 강하게 또는 오래 동안 했을 때 균이 분리배양되지 않는다. 검체가 환경에 부생하는 mycobacteria로 오염된 경우도 있다. Singapore에서 조사된 바에 의하면 1,162명의 엑스선상 결핵이 의심되는 환자로부터 발견된 500명의 도말양성 객담중 배양음성이 4%이었다고 보고한 바 있다. 대체로 5% 이상의 배양음성이 관찰되면 검사상의 문제점이 없는지 점검해야 할 것이다.

4. 약제 감수성검사

초회내성이 많은 지역이라도 처음 치료에 임하는 환자에게는 약제감수성검사가 필요하지 않다. 그러나 초치료에 실패한 환자에 대해서는 감수성검사결과가 유효한 재치료처방 선정에 도움이 된다. 잘못된 약제감수성검사 결과는 효과가 떨어지고 독성은 더 강하면서도 비싼 약제들로 구성된 재치료처방으로 불필요하게 변경시키는 인재(人災)를 범할 우려가 있으므로 이용도 신중해야 하고 검사도 철저한 정도관리 아래서 실시되어야 한다.

약제감수성검사는 역학적 조사목적으로 중요하게 이용된다. 특히 초회내성률의 조사는 나라 전체환자의 치료관리 효율성 평가와 더불어 앞으로의 치료대책 수립에 유용한 정보를 제공해 준다. 정확한 유행률을 알고 현.과거 결핵 치료력을 가진 환자의 비율이 파악된다면 획득내성을 조사로 그 나라의 결핵 환자관리의 효율성을 평가할 수 있다.

약제감수성검사는 너무 복잡하고 어렵기 때문에 경험 많고 잘 훈련된 기사에 의해 철저한 정도관리 아래서 실시해야 하고 비용도 많이 들기 때문에 대개 중앙검사소에서만 실시하는 것이 타당하다. 감수성검사는 환자 병변내 결핵균의 감수성 양상을 알고자 하는 것이므로 객담내 균을 직접 약제함유 및 비함유 배지에 접종해 실시하는 직접법이 더 적절하고 결과도 빨리 얻을 수 있어서 바람직하지만 균의 생활력을 포함한 접종균량의 표준화가 어려운 점이 있다. 그리고 균이 소수이어서 배양에서만 검출될 경우나 타검사로 부터 배양된 균으로 검사를 의뢰해 올 때는 부득이 배양된 균집락으로 제조한 균액을 접종하는 간접법으로 행하는 수밖에 없다.

일반적인 방법으로, (1) 절대농도법(absolute concentration method), (2) 내성비례법(resistance ratio method), (3) 내성비율법(proportion method) 등이 있는데 대부분의 검사실이 (1), (3)을 이용한다²⁵⁾. 내성균과 감수성균을 구분하는 기준(농도)은 약을 6~9개월 이상 사용해도 균이 계속 분리 배양되

어 임상적으로 내성인 환자로부터 분리된 균주들(probably resistant strains)과 약을 전혀 사용한 경험이 없는 환자로부터 분리된 감수성일 것으로 추정되는 균주들(probable sensitive strains)을 모아 선정된 표준검사법으로 검사하여 선정한다.

새로운 결핵검사법

1. 핵산 증폭합성

Saiki 등이 고온균으로부터 얻은 DNA 증합요소를 이용하여 창안한 primer directed DNA 증폭합성법이 등장한 이후 여러가지 핵산증폭합성법이 개발되었다. 결핵균처럼 분리배양에 오랜 시간이 걸리는 병원균의 검출에 매우 유용하게 이용될 것으로 큰 기대를 가지고 있으나 아직은 일상 검사에 쉽게 쓸 수 있는 방법이 개발되어 있지 않다. 그 주된 이유는 기법이 복잡하고 정교하여 재현성이 높지 않아 검사실과 검사자에 따라 다양한 결과를 나타내기 때문이다. 대체로 균종 특이 핵산 절편을 증폭 합성하기 때문에 특이도는 문제가 없겠지만 민감도는 세포내 표적 핵산의 수에 따라, 증폭 합성 기법과 합성 핵산의 검출 방법에 따라 다르다. (여기서 이야기하는 특이도는 균종 특이도를 의미하는 것이며 질병 진단 특이도를 의미하는 것은 아니다) 핵산 증폭합성 기법은 (1) 통상적 방법으로 내열성 증합효소로 균종 특이 핵산 절편을 증폭 합성하여 전기영동으로 확인하는 방법 (polymerase chain reaction, PCR), 증폭 합성한 16S rDNA 절편을 horse radish peroxidase를 이용하여 검출하는 Amplicor가 Roche사에 의해 개발되어 시판되고 있고, (2) 16S rRNA를 역전사효소로 cDNA를 합성한 다음 이를 증폭 합성하는 기법이 Gen-Probe사에서 개발되어 시판되고 있으며 (AMTD), 그 밖에도 (3) Pab 유전자의 일부를 primer와 ligase를 이용하여 증폭 합성하는 ligase chain reaction (LCR), (4) 외가닥 표적 DNA에 primer를 결합시킨 다음 nick을 만들고 이어 증합효소로 합성하여 표적 DNA

Table 4. Results of different studies for the detection of *M. tuberculosis* DNA using nucleic acid amplification tests (NAT)

Investigators	Specimens (patients)	Culture positives, %	Parameters of the NAT compared to culture, %			Sensitivity (PPV) after discrepant analysis, %		False positive results of NAT	
			Sens	Spec	PPV	NAT	Culture	n	%
<i>In-house polymerase chain reaction (PCT)</i>									
Clarridge et al	1,166	19	83	99	94	83	99	9	0.8
Roth et al	729	15	80	94	71	83	84	3	0.4
Kirschner et al	502	6	88	99	81	90	84	3	0.6
<i>Amplicor™ (Roche Molecular System)</i>									
Bennedsen et al	7,194	9	82	96	68	88	100	30	0.4
Carpentier et al	2,073	9	86	98	82		95	9	0.4
Stauffer et al	722	9	87	99	91	88	89	2	0.3
Schirm et al	485	5	75	93	72	70		6	1.2
<i>AMTD (Gen-Probe)</i>									
Pfyffer et al	1,117	9	85	95	67	85	100	11	1.0
Rocco et al	760	8	65	99	94	89	100	2	0.3
Jonas et al	758	16	80	97	82	82	88	4	0.5
Ehlers et al	261	18	83	95	78	85	85	3	1.1

절편을 치환하며 증폭하는 strand displacement amplification (SDA), (5) 23S rRNA에 균종 특이 capture probe와 Q β -RNA를 결합시킨 다음 Q β -RNA를 효소로 증폭 합성하는 기법등을 비롯해 여러 가지 방법이 개발되어 있다. 아직도 많은 검사실이 자체 개선한 통상적 PCR기법을 이용하고 있지만 상품화된 Roche사의 Amplicor와 Gen-Probe사 AMTD가 가장 많은 임상 평가를 거쳐 이용되고 있다. Table 4에서 보는 바와 같이 균양성이 6-19% 섞여 있는 검체들을 자체 개선한 통상 PCR로 검사했을 때 민감도는 80-91%, 특이도는 94-99%로 나타나 양성예측도가 71-94%로 밝혀졌다²⁸⁾. 균양성이 5-9% 섞여 있는 검체로 평가한 Amplicor의 민감도는 75-87%이고, 특이도는 93-99%이며, 양성예측도는 68-91%로 보고되고 있고, 균양성이 8-18% 섞여있는 검체로 평가한 AMTD의 민감도는 65-85%, 특이도는 95-99%, 양성예측도는 67-99%로 보

고되고 있다. 도말양성인 경우에는 두 제품이 95-96%의 민감도에 100% 특이도를 보이고 있어서 미국 식품의약청이 적용을 인정하고 있지만 도말음성 환자인 경우에는 민감도도 48-53%에 불과하고 특이도는 96-99%이지만 양성예측도가 24-58%로 낮아서 적용을 인정하지 않고 있다.

핵산증폭합성법이 이처럼 신속, 민감한 장점이 있음에도 불구하고 앞으로 해결해야 할 문제점들을 가지고 있다. 예를 들면, (1) PCR산물의 오염 및 결핵균 DNA의 오염으로 인한 위양성, (2) 일부 가검물에는 존재하는 중합효소 억제인자에 의한 위음성, (3) 검사과정이 매우 복잡하고 정교하여 잘 훈련된 요원이 아니면 행할 수 없어서 검사실간 수행능력 차이가 많고, (4) 운영 비용이 많이 들어 일상 검사에 널리 이용되지 못하고 있다. 일본에서 Amplicor를 이용하여 9개 검사실을 대상으로 동일 검체로 수행능력을 비교 관찰한바 균이 100개정도 든 검체 10개 중 2개내지

모두 검출하지 못한 검사실이 4곳이나 되었고 3 검사실은 4-6.7%의 위양성을 보고하였고 4 검사실은 2.2-13.3%의 위양성을 보고하여 수행 능력이 다양함을 알 수 있다.

2. 표지 DNA를 이용한 균검출 및 동정

DNA 절편을 cloning하여 방사성 동위원소 표지를 붙인 다음 균이 함유된 가검물의 DNA를 추출해 외사슬로 변성후 반응시켜서 균의 유무를 밝히는 방법으로 민감도가 높지 못할 것으로 생각되었으나, 관찰된 결과는 결핵균이 분리배양된 가검물(84건)은 90%가 양성반응을 보였고, 균이 분리배양되지 않은 가검물(37건)중에서도 16%가 양성반응을 보였다고 보고하고 있다.

그리고 균의 rRNA 염기배열에 기초해 합성한 균종특이 외사슬 cDNA에 I^{125} 와 같은 방사성 동위원소 표지를 붙여 시험균의 rRNA를 유리후 반응시켜 형성된 rRNA : cDNA- I^{125} 를 측정하는 방법이다. 상당히 많은 양의 균을 필요로 해 현재로는 균종동정에 이용되고 있다. Gen-Probe사에서 AccuProbe라는 상품명으로 시판되는 것 중 인형결핵균과 *M. intracellulare* 표지 cDNA는 100% 민감도와 100% 특이도가 있다고 하며 *M. avium*은 99.3% 민감도와 100% 특이도, *M. gordonae*는 99.7% 민감도와 100% 특이도가 있다고 한다. 이러한 방법들도 시설, 장비, 시약 등의 비용이 많이 들고 기법의 복잡하여 극히 한정된 검사실에서만 이용될 수 있다.

3. 결핵균체성분의 물리화학적 분석

가검물내 결핵균의 균체성분중 지방화합물을 gas chromatography와 mass spectrometry를 병합한 기기를 이용하여 검출하는 방법으로 진단에 유용함이 입증되었다. 특히 tuberculostearic acid(TSA)가 민감도나 특이도 면에서 가장 유용한 검출대상 화합물임이 밝혀졌는데 균이 검출된 결핵성 수막염 환자는

모두 TSA가 검출되었다고 보고하고 있다. 비결핵성 중추신경계 질환자의 뇌척수액 87건 중 1명이 양성반응을 보였는데, 이는 amikacin을 쓰고 있어서 생긴 위양성이므로 이점만 유의한다면 특이도도 매우 높다. 그러나 장비가 너무 비싸기 때문에 이방법을 이용할 수 있는 검사실은 극소수에 불과하다.

4. 혈청학적 방법에 의한 균체성분 검출

각종 가검물내 결핵균체성분(항원)을 그에 대한 항체를 이용하여 검출하는 방법으로서 여러 가지 방법이 시도되었지만 실용화된 것이 없다. 기본적으로 균항원에 대한 항체에 대한 항체를 흡착시킨 혈구나 latex 입자를 이용한 응집반응과 효소를 항체에 결합시킨 효소결합면역 분석법등이 시도되었다. 시급한 진단을 요하는 결핵성 수막염 환자의 진단에 유용하다는 보고가 있다. 기법들이 매우 정교하여 세심한 주의를 요하므로 실용화하기가 매우 어렵다고 생각한다.

5. 항결핵항체검출에 의한 진단

항결핵항체 검출이 결핵의 진단과 예후관찰에 이용될 수 있을 것이라는 기대를 가지고 1901년에 보체결합법으로 시도한 이래 20~30년간 계속된 혈청학적 연구가 결실없이 끝나고 말았고, 1949년에 혈구응집법이 이용되면서 또다시 시작된 수많은 연구도 또한 무위로 끝났으며, 항원정제기술 발달로 다시 활기를 찾았지만 결국 만족할만한 혈청학적 진단법이 없음을 알게 되었다. 여러 항원 결정기에 대한 항체를 정량분석하거나 한무리 항체로 어느 특정 항원결정기에 대한 항체를 분석하여 활동성 결핵을 단순한 건강 감염균과 구별할 수 있는 방법을 찾으려고 노력해 왔지만 그 진단적 가치는 아직도 의문이다. 분석기법을 보면 항체 검출에 널리 이용되는 모든 방법이 다 시험되었다. 효소결합면역분석법이 근래에 가장 많이 이용되었고 최근에는 신속하고 간편한 membrane-based antibody assay가 여러회사에서 개발되어 임상 평가를 하

고있다. 보고된 후자의 결과를 보면 균양성 환자는 89%, 균음성 활동성 환자는 74%, 비결핵 호흡기 환자 중에서 9%, 건강인 중에서 3%가 양성반응을 나타내고 있어서 일상검사에 이용했을 때 양성 예측도는 매우 낮을 것으로 본다. 일반적으로 환자와 건강인의 항결핵 항체반응이 다양하여 극히 제한된 이용이 가능할 것으로 추정된다.

맺 음 말

결핵진단의 궁극목적은 결핵으로 인한 인명위협과 고통을 덜고 결핵문제를 줄여나가기 위한 효율적 관리에 있다. 따라서 임상증상도 심하고 타인에 대한 감염위험도 큰 결핵환자를 진단하는 방법이 가장 중요하며, 그 다음은 현재로서는 감염위험이 적지만 그냥두면 전염성 환자로 진전할 수 있는 환자와 심각한 결과를 초래할 폐외결핵환자를 진단하는 방법이 중요하다. 그러한 방법선택에는 민감도, 특이도, 양·음성 결과의 정확도, 소요시설, 장비, 시약 및 운영비용, 기법의 복잡성과 재현성, 정도관리, 결과를 얻기까지의 소요시간, 검사실 규모와 일일처리 검체수 등을 감안하여 결정해야 한다. 그런 점에서 볼 때 가장 많이 이용되는 도발검사가 가장 중요한 검사법이다. 간편하고 저렴하며 결과가 빨리 환자관리에 편리하고 도발검사로 발견된 환자야말로 임상적으로나 역학적으로 최우선해서 찾아 치료해야 할 환자이기 때문이다. 민감도가 낮은 흡이 있지만 이를 타하기 전에 가검물 선택과 채취, 채취횟수, 검사정도가 잘 이루어 지고 있는지 살펴야 한다. 소수의 균은 배양검사로 검출할 수밖에 없는데 결과가 늦어 환자관리에 불편하다. $^{14}\text{CO}_2$ 측정이나 산소소비를 측정하여 발육을 좀더 일찍 감지할 수 있는 방법이 있지만 비용효율을 잘 따져보고 이용해야 할 것이다. 혈청학적 방법에 의한 항원 또는 항체 검출은 특수한 몇몇 예를 제외하고는 진단적 가치가 없다. 최근 연구 개발이 활발하게 진행중인 핵산 증폭합성에 의한 결핵균 검출이 신속, 민감, 특이하여 유용하게 이용될 전망이지만 현재로서는 위양·음성이 완벽하

게 해결되지 못하고 있고, 기법이 복잡하고 정교하여 검사실간 수행능력의 차가 현저하고, 비용이 많이 들기 때문에 실용화가 늦어지고 있다.

임상가의 입장에서 보면 결핵진단을 위한 현행 검사법들이 답답할 때가 많을 것이다. 그러나 막연한 최선의 방법을 찾기보다는 확실한 차선을 택하여 정확한 결과를 얻도록 노력하는 것이 바람직하다.

참 고 문 헌

1. Toman K : Tuberculosis case-finding and chemotherapy. World Health Organization, 1979
2. Levy H, Feldman C, Sacho H, van der Meulen H, Kallenbach J, Koornhof H : A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Chest 95 : 1193, 1989
3. 대한결핵협회, 대한 결핵 및 호흡기 학회 : 결핵. pp.96-117, 1997
4. Norregaard J, Heckscher T, Viskum K. A bacillary pulmonary tuberculosis. Tubercle 71 : 35, 1990
5. Hong Kong Chest Service, Tuberculosis Research Centre(Madras), British Medical Research Council. A controlled trial of 2-month, 3-month, and 12-month regimens of chemotherapy for sputum-smear negative pulmonary tuberculosis. Amer Rev Resp Dis 130 : 23, 1984
6. Aneja KS, Gothi GD, Samuel GER : Controlled study of the effect of specific treatment on bacteriological status of suspected cases. Ind J Tuberc 26 : 50, 1979
7. Anastasatu C, Bercea O, Corlan E : Controlled clinical trial on smear-negative, X-ray positive new cases, with the view to establishing if and how to treat them, Bull IUAT 60 : 108, 1985
8. Scottish Thoracic Society. A controlled trial of chemotherapy in pulmonary tuberculosis of

- doubtful activity : five year follow-up. *Tubercle* 44 : 39, 1963
9. Urbanczik R. Present position of microscopy and of culture in diagnostic mycobacteriology. *Zbl Bakt Hyg A* 260 : 81, 1985
10. 김상재, 배길한, 황해도 : 객담내 결핵균 검출 방법의 효율성 비교 결핵 및 호흡기 질환 36 : 354, 1989
11. Chan W, Chia M, Lee LK, Macfaden DM : Bacteriological measures for the detection of cases of pulmonary tuberculosis. *Bull WHO* 45 : 551, 1971
12. Blair EB, Brown GL, Tull AH : Computer files and analysis of laboratory data from tuberculosis patients. II. Analysis of six years' data on sputum specimens. *Amer Rev Resp Dis* 113 : 427, 1976
13. Nair SS, Gothi GD, Naganathan N, Rao KP, Banerjee GC, Rajalakshmi R : Precision of estimates of prevalence of bacteriologically confirmed pulmonary tuberculosis in general population. *Ind J Tuberc* 23 : 152, 1976
14. Groothuis DG, Yates MD (Ed) : Diagnostic and public health mycobacteriology, 2nd ed. Bureau of Hygiene and Tropical Diseases, London, 1991
15. Rickman TW, Moyer NP : Increased sensitivity of acid-fast smears. *J Clin Microbiol* 11 : 618, 1980
16. Collins CH, Grange JM, Yates MD : Organization and practice in tuberculosis bacteriology. Butterworths, London, 1985
17. Siddiqi SH : BACTEC TB system, product and procedure manual. Becton Dickinson, Towson, Maryland, 1989
18. Kim S J : Quality control for laboratory procedures in the Korean national tuberculosis programme. *Bull IUAT* 62 : 51, 1987
19. Kim SJ, Bai GH, Hong YP : Drug resistant tuberculosis in Korea, 1994. *Int J Tuberc Lung Dis* 1(4) : 302-308, 1997.
20. Canetti G, Fox W, Khomenko A, Mahler HT, Menon NK, Mitchison DA, Rist N, Smelev NA : Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes, *Bull WHO* 41 : 21, 1969.
21. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Nullis KB, Erlich HA : Primer-directed enzymatic amplification of DNA with thermo-stable DNA polymerase. *Science* 239 : 497, 1988
22. American Lung Association : Rapid diagnostic tests for tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 155 : 1804, 1997
23. Roth A, Schaberg T, Mauch H : Molecular diagnosis of tuberculosis : current clinical validity and future perspectives. *Eur Respir J* 10 : 1877, 1997
24. Abe C, Saito Y, Motoyama T, et al : Reliability of Amplicor mycobacteria test for detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex, *M. avium* and *M. intracellulare* : a comparative study among 9 laboratories. *Kekkaku* 72(4) : 181-185, 1997
25. Pao CC, Lin SS, Wu SY, Juang WM : The detection of mycobacterial DNA sequences in uncultured clinical specimens with cloned *Mycobacterium tuberculosis* DNA as probes. *Tubercle* 69 : 2, 1988
26. Mardh PA, Larson L, Hoiby N, Engbaek HC, Oldham G : Tuberculostearic acid as a diagnostic marker in tuberculous meningitis. *Lancet* 1 : 367, 1983
27. French GA, Teoh R, Chan CY, Humphries MJ, Cheung SW, O'Mahoney G : Diagnosis of tuber-

- culous meningitis by detection of tuberculostearic acid in cerebrospinal fluid. *Lancet* ii : 117, 1987
28. Sada E, Ruiz-Palacios GM, Lopez-Videl Y, Ponce de Leon S : Detection of mycobacterial antigen in CSF of patients with tuberculous meningitis by enzyme linked immunosorbent assay. *Lancet* ii : 651, 1983
29. Krambovitis E, McIlmurray MB, Lock PE, Hendrickse W, Holzel H : Rapid diagnosis of tuberculous meningitis by latex agglutination. *Lancet* 2 : 1299, 1984
30. Chandramuki A, Allen PRJ, Keen M, Ivanyi J : Detection of mycobacterial antigen and antibodies in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis. *J Med Microbiol* 20 : 239, 1985
31. Reggiardo Z, Aber VR, Mitchison DA, Devi S : Haemagglutination tests for tuberculosis with mycobacterial glycolipid antigens. *Am Rev Resp Dis* 124 : 21, 1981
32. 김상재, 배길한, 김성진 : 효소결합면역분석법을 이용한 결핵환자 혈청내 항결핵균항체의 검출. *결핵 및 호흡기질환* 28 : 171, 1981
-