Tuberculosis and Respiratory Diseases 결핵 및 호흡기질환, Vol. 47, No. 6, Dec, 1999

□원 저□

폐결핵 진단에서 Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test의 임상적 유용성

부산대학교 의과대학 내과학교실, 임상병리학교실*

박삼석, 곽경록, 황지윤, 윤상명, 류기찬, 장철훈*, 이민기, 박순규

= Abstract =

Clinical Utility of Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test in the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis

Sam Seok Park, M.D., Kyung Rok Kwak, M.D., Ji Yun Hwang, M.D., Sang Myeong Yun, M.D., Chi Chan Ryue, M.D., Chul Hun Chang, M.D.*, Min Gi Lee, M.D., and Sun Gue Park, M.D.

Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, College of Medicine, Pusan National University, Pusan, Korea*

Background : Acid-fast stain and cultures for diagnosis of pulmonary tuberculosis are primary and essential method, but have their limitation : low sensitivity and time consuming. The objective of this study is comparison of amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test(MTD) by the conventional AFB smears and cultures in the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens.

Methods : During the period between November, 1997 and May, 1998 a total of 267 respiratory specimens (sputum 173, bronchial washing 94) from 187 patients suspected pulmonary tuberculosis were subjected to AFB smears, cultures and MTD test. MTD is based on nucleic acid amplification. We compared the MTD with 3% Ogawa culture method. In positive AFB smear and negative MTD specimen, positive culture identification between *nontuberculous mycobacterium* and *M.tuberculosis* was assesed by using Accuprobe M.tuberculosis complex probe. In negative AFB smear and negative AFB culture, MTD results are assessed by clinical follow-up.

Address for correspondence :
Sam Seok Park, M.D.
Department of Internal Medicine, Pusan National University
1-10, Ami-Dong, Seo-Ku, Pusan, 602-739, Korea
Phone : 051-240-7226, 7225 Fax : 051-254-3127 E-mail : pss0911@hanmail.net

Results : 1) Compared with culture in sputum and bronchial fluid specimens, sensitivity and specificity of MTD in positive AFB smear is 79.7% and 20.0%, sensitivity and specificity of MTD in negative AFB smear specimens is 75.0% and 79.7%. 2) Discrepant analysis is assessed by clinical follow-up and other specimen results beyond study. Culture negative but MTD positive specimens were proved to be true positive and gave MTD sensitivity 79.2%, specificity of 84.4%, positive predictive value 80.5% and negative predictive value 83.2 %. 3) 14 out of 31 specimens in negative AFB smear, negative AFB culture and positive MTD showed pulmonary tuberculosis diagnosed on clinical follow-up and sensitivity is 45.2%. 4) 2 out of 13 specimens in positive AFB smear, positive AFB culture and negative MTD diagnosed as *nontuberculous mycobacterium* by Accuprobe culture.

Conclusion : This study suggested that MTD in respiratory specimens is simple and rapid diagnostic method, but considered adjuvant method rather than replace the conventional AFB smear and culture. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 1999, 47 : 747-756)

Key words : Amplified mycobacterium, Pulmonary tuberculosis, Rapid diagnosis, Nucleic acid amplification.

서 론

폐결핵이 의심되는 환자에서 호흡기 검체로부터 결핵균을 빠르고 정확하게 동정하는 것은 결핵의 진단은 물론 적절한 치료를 시작함으로써 결핵균의 전파를 막는데 매우 중요하다 하겠다. 항산균 도말과 결핵균 배양 검사가 폐결핵 진단의 일차적이고 필수적인 방법으로 널리 이용되고 있으나 아직까지도 이러한 검사 방법만으로는 폐결핵의 진단에 어려움이 많다[1].

객담 항산균 도말 검사는 단시간내에 결핵균을 동정할 수 있고 전염성 여부를 알 수 있지만 결핵균 외에도 norcardia나 비전형적 항산균(atypical mycobacteria)등에서도 양성으로 나타날 수 있는 바, 위양성과 위음성의 빈도가 높고, 민감도는 22-87%로 보고되고 있다[2]. 한편 결핵균 배양 검사는 약제 감수성 검사뿐만 아니라 결핵균을 동정하는데 있어서 표준 검사로 인정되고 있지만 최소 3주 이상의 기간이 소요되어 진단의 지연을 초래할 수 있다. 따라서 전통적 결핵균 검사 방법으로는 특히 항산균 검사 음성인 경우 폐결핵의 진단이 명료하지 않은 상태에서 임상적 소견에 따라 경험적 치료를 하게 되므로 약 50% 정도에서 과잉 또는 과소 치료를 하는 경향이 있는 것으로 알려져 있다[2,3].

최근 폐결핵의 발생이 다시 증가하고 있음이 세계적인 추세이며, 또한 약제 내성 결핵의 빈도가 높다는 것이 중요한 임상적 문제점인 점을 고려할 때 정확한 결핵균 동정에 의한 조기의 적합한 치료가 중요하다고 생각된다. 전통적 결핵균 확인 방법인 항상균 도말 검사와 결핵균 배양검사의 제한점을 보완하기 위하여 여러 가지 새로운 기법들이 개발되었다. 최근 분자생물학적 진단 방법의 하나인 Amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test (MTD, Genprobe Inc, San Diego, California, USA)가 도입되어 전통적 방법인 항산균 도말과 결핵균 배양에서의 위음성과 위양성을 배제시키는데 많은 도움을 주고 있다. MTD는 핵산 교잡법에 근거하여 16S ribosomal RNA를 증폭하여 결핵균을 검출하는 방법으로 항산균 도말 검사 양성인 호흡기 검체에서 결핵균을 동정하기 위한 방법으로 1995년 미국 식품의약국(FDA)으로부터 공인되었으며 민감도는 71-98%, 특이도는 95-100%로 알려져 있다[4].

이론적으로 볼 때 기존의 polymerase chain reaction(PCR) 방법은 DNA를 표적으로 하고 결핵균 세포 1개당 1개 내지 수개의 DNA를 포함하는 것에

비교하여 MTD는 rRNA를 표적으로 하며 결핵균 1개당 약 1,000개의 rRNA를 포함하므로 rRNA의 표적이 많아 민감도가 높은 것으로 알려져 있다[3]. MTD 검사 과정을 보면 첫 번째 과정은 PCR 기법과 같고 두 번째 과정에서는 기질당 수십억 개의 rRNA amplicon을 생성시킨다고 하며[5,6], 증폭에서 검출까지의 전 과정이 하나의 시험관에서 이루어지므로 검사 수기가 쉽고 오염의 빈도가 적다는 것이 기존의 PCR 방법과 비교되는 점이다[7].

MTD는 항산균 도말 검사와 더불어 1일 이내에 결핵균을 동정할 수 있으므로 상호 보완적으로 이용하면 빠르고 정확하게 결핵을 진단할 수 있고 이를 기초로 하여 항결핵 치료를 일찍 시작할 수 있다는 점에서 매우 유용하다. 본 연구는 폐결핵의 진단에서 항산균 도말 검사, 결핵균 배양 검사 및 임상 소견을 고려하여 MTD의 유용성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1997년 11월부터 1998년 5월까지 부산대학교 병원에 내원한 환자중 임상적 소견과 흉부 방사선에서 폐결핵이 의심되는 187명의 환자로부터 얻은 호흡기 검체 267건(객담 173건, 기관지 세척액 94건)을 대상으로 하였으며, 이 중 최종적인 진단이 폐결핵인 경우는 132건, 비결핵으로 진단된 경우는 135건이었다 (Table 1).

2. 방 법

MTD, 항산균 도말 검사 및 결핵균 배양 검사를 위한 검체는 동일한 검체이거나 24시간 이내에 반복적으로 채취된 검체를 이용하였으며, 항결핵제를 복용하고 있는 환자는 제외하였다. 항산균 도말 검사는 Ziehl-Neelsen법, 결핵균 배양은 3% Ogawa egg medium을 사용하였으며, MTD를 측정하여 항산균 도말 검사, 배양 검사, 임상적 진단과 비교하여 MTD의 유용성을 분석하였다.

4% NaOH로 잡균을 제거하였으며 MTD는 검체를 검사하기 전까지 -20℃ 이하에서 보관하였다가 모든 과정을 제조사의 제시된 검사 방법대로 시행하였고, 전 과정을 수행하는데 약 5-6시간이 소요되었다. 각 검사시 증폭 양성, 음성 대조군과 이종 교배 양성, 음성 대조군을 포함하였고, 별도로 결핵균으로 동정된 임상 분리 균주를 희석하여 50 ㎕ 내에 25-150 colony forming unit(CFU)가 포함되도록 제조된 양성 대조 검체도 포함하였다. 측정치는 제조사의 설명대로 30,000 relative light unit (RLU) 이상을 양성으로 판정하였으며, 그 이하를 음성으로 판정하였다.

항산균 도말 검사 양성, MTD 음성인 검체에서 *Mycobacterium species*로 배양된 경우는 Accuprobe kit(Gen-probe Inc, San Diego, California, USA)를 이용하여 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis complex*)과 비결핵 항산균(*nontuberculous mycobacterium*)에 대한 동정을 시행하였다.

흉부 방사선에서 공동이 보이거나, 6개월동안 추적 검사에서 변화가 있거나 병소의 변연부가 분명하게 구분되지 않는 경우를 활동성으로, 석회화, 섬유화 및 선상 밀도를 보이는 경우를 비활동성으로 간주하였으며, 고해상 단층촬영(HRCT)에서 순이 돗는 나뭇가지 모양(tree-in bud), 결핵성 폐렴 및 파종성 결핵(miliary tuberculosis)인 경우 활동성으로 분류하였

Table 1. Patient characteristics

Number of patients	187
Sex	Male 129, Female 64
Age (year)	64-29(average 46.9)
Specimen	Total 267 (sputum 173, bronchial washing 94)

Table 2. MTD performance versus culture and smear in sputum specimens

	Culture(+)		Culture(-)	
	Smear(+)	Smear(-)	Smear(+)	Smear(−)
MTD(+)	34	13	3	15
MTD(−)	11	8	0	89

Sensitivity(smear positive : 75.6%, smear negative : 61.9%)
Specificity(smear negative : 85.6%)

Table 3. MTD performance vesus culture and smear in bronchial washing specimens

	Culture(+)		Culture(-)	
	Smear(+)	Smear(-)	Smear(+)	Smear(−)
MTD(+)	17	17	5	16
MTD(−)	2	2	2	33

Sensitivity(smear positive : 89.5%, smear negative : 89.5%)
Sensitivity(smear positive : 28.6%, smear negative : 67.3%)

Table 4. MTD performance versus culture and smear in respiratory specimens

	Culture(+)		Culture(-)	
	Smear(+)	Smear(-)	Smear(+)	Smear(−)
MTD(+)	51	30	8	31
MTD(−)	13	10	2	122

Sensitivity(smear positive : 79.7%, smear negative : 75.0%)
Specificity(smear positive : 20.0%, smear negative : 79.7%)

다[8].

결핵균 균주 결과와 MTD의 결과가 불일치하는 경우의 분석(discrepant analysis)은 병력지 검토, 흉부 방사선 추적 검사, 연구 범위 밖의 다른 검체에서의 결핵균 균주 검사 결과 그리고 치료에 대한 반응 등의 소견을 종합하여 실시하였다. 통계적 분석은 엑셀 5.0판을 이용하였다.

결 과

1. 객담 검체에서 항산균 도말 검사, 결핵균 배양검사와 MTD의 비교

결핵균 배양검사와 비교했을 때 항산균 도말 양성인 경우 MTD의 민감도는 75.6%, 항산균 도말 음성인 경우 MTD의 민감도는 61.9%, 특이도는 85.6%를 보였다(Table 2).

2. 기관지 세척액에서 항산균 도말 검사, 결핵균 배양검사와 MTD의 비교

결핵균 배양검사와 비교했을 때 항산균 도말 양성인 경우 MTD의 민감도는 89.5%, 특이도는 28.6%, 항산균 도말 음성인 경우 MTD의 민감도는 89.5%, 특이도는 67.37%를 보였다(Table 3).

3. 객담과 기관지 세척액 검체를 합친 경우 항산균 도말 검사, 결핵균 배양검사와 MTD의 비교

결핵균 배양검사와 비교했을 때 항산균 도말 양성인

Table 5. Comparison of MTD with AFB cullture

	Culture	
	(+)	(−)
Before discrepant analysis[1]		
MTD(+)	81	39
MTD(−)	23	124
After discrepant analysis[2]		
MTD(+)	95	25
MTD(−)	23	124

[1] Sensitivity 67.5%, Specificity 84.3%, Positive predictive value 77.8%, Negative predictive value 76.0%

[2] Sensitivity 79.2%, Specificity 84.4%, Positive predictive value 80.5%, Negative predictive value 83.2%

Table 6. Discrepant analysis

		After discrepant resolution[2]	
IInitial discreapnt result[1]		TB(%)	Non-TB(%)
False(+)	31	14(45.2)	17
False(−)	13	11(84.6)	2(15.4)
Total	44	25	19

[1] Sensitivity 67.5%, Specificity 84.3%

[2] Sensitivity 79.2%, Specificity 84.4%

경우 MTD의 민감도는 79.7%, 특이도는 20.0%, 항산균 도말 음성인 경우 MTD의 민감도는 75.0%, 특이도는 79.7%를 보였다(Table 4).

4. 결핵균 배양 검사와 비교한 MTD의 결과 및 불일치 해결후의 결과

MTD를 결핵균 배양 검사와 비교했을 때 초기 결과는 MTD의 민감도는 67.5.0%, 특이도는 84.3%였으며 불일치 해결후에는 MTD의 민감도가 79.2%, 특이도가 84.4%를 보였다(Table 5).

5. 항산균 도말 음성, 결핵 배양 음성인 경우 MTD의 유용성

항산균 도말 음성, 결핵균 배양검사 음성이고 MTD만 양성인 31예에 대한 임상적 경과 추적 결과 14예(45.2%)가 최종적으로 폐결핵으로 진단되었으며, 나머지 17예(54.8%)중에서 4예는 진구성 폐결핵이었고, 4예에서 폐암으로 진단되었으며, 2예에서 폐렴으로 진단되었고, 2예는 재발된 경우로 연구 범위밖의 검체에서 항산균 도말 양성을 보였으며, 나머지 5예는 비특이적 기관지염으로 진단되었다. 이 경우 MTD의 민감도는 45.2%를 보였다(Table 6).

6. 항산균 도말 양성, MTD 음성인 예에서 *mycobacterial species*로 배양된 경우 MTD의 유용성

항산균 도말 양성, MTD 음성인 예에서 *mycobacterial species*로 자란 13예를 Accuprobe myco-

bacterium complex culture kit로 배양하여 11예(84.6%)에서 *Mycobacterium tuberculosis*를 확인하였으며, 2예(15.3%)에서 비결핵 항산균으로 나왔다(Table 6).

고 찰

면역 부전 환자의 증가, 결핵의 유병율이 높은 지역에서의 이민 인구의 이동 증가 등의 요인으로 1980년대 중반 이후 미국에서는 폐결핵의 유병률이 다시 증가하고 있는 추세에 있으며, 우리 나라에서도 흉부 방사선 촬영에 의한 전국 결핵 실태 조사에서 결핵의 유병률이 점차적으로 감소되고 있으나 경제 수준이 비슷한 다른 나라와 비교할 때 아직까지도 높은 편에 속한다. 이런 점을 감안할 때 결핵의 관리에 대한 대책이 강화되어야 할 것이다. 폐결핵으로 인한 의료 경제적 손실은 상당하며 이환율, 사망률 또한 높으므로 빠르고 정확한 진단에 기초한 치료가 중요하다[1,6].

결핵 진단의 고전적이고 일반적인 방법인 항산균 도말 검사와 결핵균 배양 검사는 상호 보완적이며 필수적인 방법이나 이러한 검사만으로는 결핵균의 진단에 어려운 점이 많다. 항산균 도말 검사는 결핵균을 빨리 동정할 수 있고 전염성의 정도를 알 수 있다는 장점이 있으며, 결핵균 배양 검사는 항산균 도말보다 적은 균수에서도 검출할 수 있다는 장점이 있으나 약 3-6주 정도의 기간이 필요하다는 단점이 있다[9].

MTD는 *M.tuberculosis complex species*에 특이한 16S ribosomal RNA를 효소적으로 증폭하는 검사 방법이며, 증폭 방법에는 RNA transcriptase에 대한 promoter 그리고 reverse transcriptase, RNA polymerase 같은 효소를 사용하여 빠른 시간내에 십억개의 RNA amplicon 복제물을 생성한다. 이 방법은 *M.tuberculosis complex*에만 특이하게 반응하며 다른 *mycobacterial species*에는 반응하지 않는다[1].

항산균 도말 양성을 보이는 *M.tuberculosis*에서는 균수 적재가 높고, 결핵균 1마리당 약 1, 000개의 ribosomal RNA를 포함하므로 ribosomal RNA 표적의 수가 많은 바, MTD는 항산균 도말이나 결핵균 배양 검사보다 적은 균수에서도 양성 반응을 보일 수 있다[10]. 결핵 치료중인 경우 검사 결과에 영향을 미칠 수 있는데, Moore 등[11]에 의해 항산균 도말 양성 폐결핵 23명의 환자를 주기적으로 검사한 결과 치료 시작부터 마지막 양성 결과가 검출되기까지의 평균 기간은 항산균 도말인 경우 9일, 결핵균 배양 검사인 경우 26일, MTD인 경우 30일로 보고되었다. 치료 종결 후 수개월 동안 MTD는 양성으로 남을 수 있기 때문에 본 연구에서는 최근 1년 이내에 결핵 치료를 받은 환자는 제외하고 폐결핵이 의심된 경우를 대상으로 하였다.

항산균 도말 양성, MTD 음성인 경우는 억제인자 존재 여부에 대한 평가와 결핵균의 불균등 분포, 그리고 비결핵성 항산균에 대한 평가가 필요하다[9]. 항산균 도말 양성, MTD 음성이면 비전형적 항산균을 의심해 볼 수 있는데, 본 연구에서는 항산균 도말 양성, MTD 음성인 경우에서 *mycobacterial species*를 보인 31예에 대하여 accuprobe mycobacterium complex culture kit로 배양을 시행했으며 이 중 26예에서 *M.tuberculosis,* 5예에서 비결핵 항산균을 보였다. 면역 부전 환자에서 비결핵 항산균 감염의 빈도가 증가하는 추세이며 이들 환자에서 비결핵 항산균과 결핵균 감염의 조기 감별은 중요하다[12].

항산균 도말 양성, MTD 양성인 경우 결핵균 배양 양성 가능성이 매우 높으므로 배양 검사에 대한 부담을 감소시키는데 도움을 줄 것으로 보인다. 본 연구에서는 항산균 도말 양성, MTD 양성인 59예의 검체중 51예에서 *M.tuberculosis*가 배양되어 86%의 양성률을 보였다. 또한 Thomas 등[13]은 항산균 도말 음성, MTD 음성인 132예에서 결핵균 배양 음성이 122예로 92%에서 결핵을 배제할 수 있었다.

MTD의 RLU titer가 백만 단위 이상이면 강력히 결핵 소견을 시사하며 RLU titer 30,000-100,000 정도의 저 단위의 범위에서 MTD 양성인 경우 임상 소견과 결부지어 재검사함으로써 진성 양성인지 확인

할 수 있다[2]. *M.kansasii, M.avium* 등의 비결핵 항산균 감염에서는 저 단위의 위양성 MTD 결과를 보여 주며, 항산균 도말 음성이고 방사선 소견 및 임상 소견으로도 결핵이 의심되지 않는 경우에 10만 이하의 저 단위의 RLU level을 보이면 재검사를 해 볼 필요가 있을 것이다[14]. 결핵균 배양검사를 참고방법으로 했을 때 약 20~30%에서 배양 음성 결핵(culture negative tuberculosis)가 발견되며 이런 경우 결핵균 동정에 대한 MTD의 유용성이 크다고 볼수 있다[15].

MTD의 다른 임상적 유용성은 임상적 배경에서 결핵의 저위험 인자를 가진 결핵균 도말 양성 환자에서 MTD 음성인 경우 방사선 소견 등 임상 소견을 검토하여 폐결핵이 아니라고 생각될 때 치료를 중단할 수 있다[10]. 그러나 비결핵 항산균이 흔하지 않은 지역에서는 HIV(*human immunodeficiency virus*) 감염 여부, 만성 폐쇄성 폐질환 병력 등 MOTT의 위험 인자가 없는 환자에서 항산균 도말 양성, MTD 음성인 경우 결핵균 배양 결과가 나올 때까지 결핵에 준하여 치료를 해야 한다[16].

항산균 도말 음성, MTD 양성인 경우에는 배양 결과가 나오기 전까지는 활동성 여부를 판정하기 힘든 경우가 많다. 본 연구에서는 항산균 도말 음성, MTD 양성인 33예 중 12예에서 *Mycobacteria species*를 보였으며 임상적으로 활동성 결핵으로 진단되었고 결핵균 배양 검사 결과를 참고 방법으로 이용할 때 활동성 결핵에 대한 중등도의 확률을 가진다고 볼 수 있다[17]. 그러나 항산균 도말 음성, 결핵균 배양 음성인 예에서 high RLU/cutoff MTD 양성인 경우 진성 결핵을 강력히 제시한다[18]. MTD는 전염성의 정도, 약제 감수성의 해석에 대한 정보가 없고 또한 amplicon inhibitor 조절 결손이 있기 때문에 항산균 도말 검사나 결핵균 배양 검사를 대체할 수는 없다[19].

폐결핵이 재발된 경우에도 MTD의 유용성이 있다는 보고가 있으며 본 연구에서도 결핵균 균주에서는 음성이고 MTD만 양성을 보인 2예에서 재발된 폐결핵을 확인할 수 있었다. MTD 양성률은 폐결핵의 활동성 감소가 보일 때 이와 비례하여 감소되고 결핵균 배양에서 결핵균이 없다는 것을 증명하는 것처럼 치료 반응 추적에서 균이 없음을 결정하는데 유용하다는 보고가 있으나 이에 대해서는 좀 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다[20].

최근의 결핵 진단이 결핵균 성장 의존으로 가는 경향이 있지만 일부 보고에서는 방사선학적 진단같은 임상검사로 결핵으로 진단된 환자의 약 반 수에서 결핵균 유전자(gene of *Mycobacterial tuberculosis*)가 검출되지 않았다고 한다. 이것은 객담을 거의 배출 못하거나 또는 아예 객담을 배출 못하는 환자나 흡연으로 결핵균이 포함되지 않는 객담을 만드는 폐결핵 환자에서 MTD에 의한 유전자 증폭의 제한점을 제시한다하겠다[18, 21].

MTD 검사의 민감도는 검체에 있는 균수에 직접 비례하며, 검체에서 균수가 적은 경우, 균주의 불균등 분포, 그리고 검체량이 적은 경우는 MTD의 민감도를 감소시킬 수 있다. 이런 경우 MTD의 민감도를 증가시키기 위해서는 양질의 풍부한 검체를 빠른 시간내에 검사 의뢰하는 것이 중요하다[14]. 본 연구에서는 객담 검체와 기관지 세척액 검체를 분리하여 분석하였을 때 객담에서 배양 검사와 비교하였을 때 도말 양성인 경우 MTD의 민감도는 75.6%였으며, 도말 음성인 경우 민감도는 61.9%, 특이도는 85.6%였다. 기관지 세척액에서는 배양 검사와 비교하였을 때 도말 양성인 경우 MTD의 민감도는 89.5%, 특이도는 28.6%, 도말 음성인 경우 MTD의 민감도는 89.5, 특이도는 67.3%를 보였으며 객담 검체보다 민감도가 향상된 소견을 보여 주고 있다. 본 연구를 통해서도 기도 분비물 채취에 있어서 기관지 세척액에서 보다 양질의 결과를 보여주고 있다.

검체의 잡균 처리에 대한 여러 방법이 사용되고 있는데, 본 연구에서는 4% NaOH로 잡균을 처리했으며 *Mycobacterial tuberculosis* 동정에 억제 효과는 없는 것으로 보인다. Manterola 등[19]에 의해서 증폭을 억제하면서 MTD로 *Mycobacterium tuberculosis complex*를 동정할 수 있는 SDS(sodium

dodecyl dulfate)-NaOH의 임계 농도를 결정하는 데에 대한 연구가 제시되고 있으며 이에 대한 전향적인 연구도 필요하다고 생각된다.

검체에 혈흔이 묻어 있을 때 MTD의 위양성률이 다소 높게 나올 수 있으며 본 연구에서는 항산균 도말 음성, 결핵균 배양 음성이면서 MTD만 양성인 31예의 분석에서 원인 미상의 객혈을 보인 1예, 폐암 환자의 기관지 내시경으로 조직 검사한 4예에서 혈성 성분이 보일 때 MTD의 위양성이 관찰되었다. 기관지 내시경이 검체 오염의 제공처가 될 수 있으며 Kaul 등[22]에 의해 잔존하는 DNA가 기관지 내시경에 남아서 위양성 결과를 가져온다는 보고가 있으며, 본 연구에서도 기관지 세척액에서 MTD의 위양성률이 높게 나타난 점으로 미루어 이에 대한 전향적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

폐결핵 유병률이 높은 우리 나라 실정을 감안할 때 결핵균의 빠르고 정확한 균 동정에 기초한 조기의 적합한 치료가 중요할 것으로 생각되며 고전적 방법인 항산균 도말 검사에 MTD같은 새로운 진단 기법을 추가함으로써 보다 더 효율적일 것으로 생각된다.

결론적으로 MTD는 고전적인 결핵균 진단 방법인 항산성 도말 검사와 함께 1일 내에 결핵균을 빨리 동정할 수 있다는 점에서 상호 보완적으로 이용하면 도말 검사의 위양성율과 위음성율을 배제시키는데 도움이 되며, 결핵균 배양 결과를 기다려서 치료를 해야했던 경우에서도 MTD의 결과를 이용하여 좀 더 빨리 치료 시작 여부를 결정할 수 있다는 점에서 유익하다고 본다[23].

요 약

연구배경 :

폐결핵을 확진하는 방법은 결핵균의 증명이며 결핵균 동정을 하는 고전적인 방법인 항산균 도말 검사와 결핵균 배양 검사에 대해 상호 보완적으로 폐결핵의 보다 신속한 진단을 하는데 있어서 MTD의 유용성을 알아보고자 하였다.

방 법 :

1997년 11월부터 1998년 5월까지 부산대학교 병원에 내원하여 폐결핵이 의심된 187명의 환자로부터 얻은 호흡기검체 267건(객담187건, 기관지 세척액 94건)에 대해 각각 항산균 도말, 결핵균 배양 검사, MTD를 시행한 결과를 임상 소견과 연관지어 비교 분석하였다.

결 과 :

1) 객담 검체에서 항산균 도말 검사, 결핵균 배양 결과와 비교하였을 때 항산균 도말 양성인 경우 결핵균 배양 검사와 비교한 MTD의 민감도는 75.6%, 도말 음성인 경 우 결핵균 배양 검사와 비교한 MTD의 민감도는 61.9%, 특이도는 85.6%였다.

2) 기관지 세척액에서 항산균 도말 검사, 결핵균 배양 결과와 비교하였을 때 항산균 도말 양성인 경우 결핵균 배양 검사와 비교한 MTD의 민감도는 89.5%, 특이도는 28.6%, 도말 음성인 경우 결핵균 배양 검사와 비교한 MTD의 민감도는 89.5%, 특이도는 67.3%였다.

3) 객담과 기관지 세척액을 합한 경우 항산균 도말 검사, 결핵균 배양 결과와 비교하 였을 때 항산균 도말 양성인 경우에서 결핵균 배양 검사와 비교한 MTD의 민감도 는 79.7%, 특이도는 20.0%를 보였으며, 항산균 도말 음성인 경우 결핵균 배양 검 사와 비교한 MTD의 민감도는 75.0%, 특이도는 80.3%를 보였다.

4) 결핵균 배양 결과와 비교하여 MTD의 결과가 일치하지 않는 경우 MTD의 민감도 는 67.5%, 특이도는 84.3%였으나 불일치 해결후에 MTD의 민감도는 79.2%, 특이 도는 84.4%를 보여 향상된 결과를 보였다.

5) 항산균 도말 음성, 결핵균 배양 음성이며 MTD만 양성인 31예에서 임상 경과 추적 및 항결핵제 치료 반응 등의 분석에서 14예에서만 최종 폐결핵으로 진단되었으며 이 경우 MTD의 민감도는 45.2%였으며 진성 양성을 확인할 수 있었다.

6) 항산균 도말 음성, MTD 음성에서 *mycoba-*

*cterium species*로 자란 13건의 검체에서 *Mycobacterium tuberculosis*와 *nontuberculous mycobacteria*를 분리하기 위해 accuprobe *M.tuberculosis* complex culture kit를 이용하여 11건에서 *M.tuberculosis*로 배양되었으며 2건(17.3%)에서 비결핵 항산균이 배양되었다.

결 론:

이상의 결과로 볼 때 MTD는 빠르고 정확한 결핵균 진단에 유용한 것으로 생각되며, 폐결핵 진단에 있어서 MTD는 항산균 도말 검사 및 배양 검사와 병행함으로써 유용성이 높으며, 고전적인 진단 방법을 대체하기 보다는 상호 보완적인 방법으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. Welch K, Brown G, Jonas V, Ferraro MJ : Performance of the Gen-Probe amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test in a laboratory that infrequently isolates *Mycobacterium tuberculosis*. Diagn Microbiol Infect Dis 1995;22:297-9
2. American Thoracic Society Workshop(Medical Section of the American Lung Association) : Rapid diagnosis tests for tuberculosis : what is the appropriate use?. Am J Respir Crit Care Med 1997;155:1804-14
3. Lutta PD, Whittier S : Comprehensive evaluation of performance, laboratory application, and clinical usefulness of two direct amplification technologies for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex. Am J Clin Pathol 1998;110:301-10
4. Wood AJ : Treatment of multidrug-resistant tuberculosis. N Engl J Med 1993;329:784-9
5. Jonas V, Longiaru M : Detection of *Mycobacterium tuberculosis* by molecular methods. Clin Lab Med 1997;17:119-28
6. Forbes BA : Critical assessment of Gene Amplification approaches on the diagnosis of tuberculosis. Immuno Invest 1997;26:105-16
7. Aoyogi TI : Efficacy of the Gen-probe *Mycobacterium tuberculosis* direct test for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens. Kekkaku 1993;69(1):7-14
8. 연세대학교 의과대학 진단방사선학 교실편. 진단방사선학. 1판. 서울:고려의학, 1993
9. Gladwin MT, Plorde JJ:Clinical application of the *Mycobacterium tuberculosis* direct test. Chest 1998;114:317-23
10. Vlaspolder VF, Singer P, Rocoenven C : Diagnostic value of an amplification method(Gen-probe) compared with that of culture for diagnosis of tuberculosis. J Clin Microbiol 1995;33:2699-703
11. Moore DF, Curry JI, Knott CA, Jonas V : Amplification of rRNA for assessment of treatment response of pulmonary tuberculosis patient during antimicrobial therapy. J Clin Microbiol 1996;34(7):1745-9
12. Schlossberg D: Tuberculosis. 3rd ed. Springer-Verlag:Philadelphia;1994
13. Bodmer T, Gurtner A, Schopfer K, Matter L : Screening of Respiratory tract specimens for the presence of *Mycobacterium tuberculosis* by using the Gen-probe Amplified *Mycobacterium tuberculosis* Direct test. J Clin microbiol 1994;32:1483-7
14. Lebrun L, Mathieu D : Limits of Commercial molecular tests for diagnosis of pulmonary tuberculosis. Eur Resp J 1997;10(8):1874-6
15. Bradley SP, Reed SL, Catanzaro A:Clinical efficacy of the Amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 1996;153:1606-10

16. Musial CE, Tice IS, Stockman L, Roberts GD : Identification of Mycobacterium from culture by using the Gen-probe rapid diagnostic system for *Mycobacterium avium complex* and *Mycobacterium tuberculosis complex*. J Clin Microbiol 1988;29:2120-3
17. Levy H, Feldman C, Howard S, Kallenbach J : A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Chest 95:1193-7, 1989
18. Salfinger M, Hale YM, Driscoll JR : Diagnostic Tools in Tuberculosis. Respiration 65:163-70, 1998
19. Linda S, Efferen LS : Tuberculosis update : will good news become bad news?. Curr Opin Pulm Med 1997;3:131-8
20. Toyoda T, Aoyagi T, Osumi M, Kawashiro T : Longitudinal observation of pulmonary tuberculosis patients by Gen-probe *Mycobacterium tuberculosis* direct test. Kansenshogaku Zasshi 1995; 69:303-7
21. Maekura R : Trends in the diagnosis of tuberculosis in Japan. 대한임상병리학회지 1998;18 (S2);S308-16
22. Kaul K, Luke S, McGum C, Snowden N, Monti C, Fry WA : Amplification of residual DNA sequences in sterile bronchoscope leading to false positive PCR results. J Clin Microbiol 1996;34: 1949-51
23. Thomsen VO : Diagnosis of pulmonary tuberculosis : Application of Gen-probe amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test. APMIS 1998;106:699-703