

결핵 진단을 위한 실시간 중합효소연쇄반응의 유용성 평가

양희영

고신대학교 의과대학 진단검사의학교실

Evaluation of the Usefulness of Real-Time Polymerase Chain Reaction for Diagnosis of Tuberculosis

Hee-Young Yang

Department of Laboratory Medicine, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

Background: The polymerase chain reaction (PCR) test has been used for rapid, sensitive and specific detection of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Recently, real-time PCR has been introduced as a rapid and accurate assay but has not yet been fully evaluated its reliability for diagnosis of tuberculosis. We compared the recently developed real-time PCR COBAS TaqMan MTB assay (Roche Molecular Systems, USA) and AdvanSure TB/NTM real-time PCR (LG life Science Diagnostic Division, Korea)) with COBAS Amplicor MTB PCR assay (Roche Molecular Systems, USA) by PCR-hybridization and conventional acid fast bacilli (AFB) smear and MTB culture for diagnosis of tuberculosis.

Methods: A total of 91 specimens were tested by using COBAS Amplicor MTB PCR, COBAS TaqMan MTB assay, AdvanSure TB/NTM kit, acid fast bacilli (AFB) smear and MTB culture. The sensitivity, specificity and positive and negative predictive values of the five methods were evaluated according to final clinical diagnosis result.

Results: In 91 cases, 18 cases were diagnosed with tuberculosis based on the clinical diagnosis. The sensitivity, specificity and positive and negative predictive values of each method were 88.9%, 97.2%, 88.9% and 97.3%, respectively, for COBAS Amplicor MTB PCR, 83.3%, 95.9%, 83.3% and 95.9% for COBAS TaqMan MTB assay, 88.9%, 94.5%, 80.0% and 97.2% for AdvanSure TB/NTM kit, 72.2%, 100%, 100% and 93.6% for AFB smear and 88.9%, 100%, 100% and 97.3% for MTB culture.

Conclusion: Real-time PCR was comparable to PCR-hybridization and conventional method and was a reliable method for an early diagnosis of tuberculosis in clinical laboratories.

Key words : *Mycobacterium tuberculosis*, Polymerase chain reaction (PCR), Real-time PCR

서 론

결핵은 결핵균에 의해 전염되는 감염성 질환으로, 진단 방법으로는 임상조건, 흉부 방사선 촬영, 그리고 검사실내 결핵균 검출 등이 있는데 이중 가장 확실한 방법은 임상 검체로부터 결핵균을 검출하는 것이다. 결핵이 의심되는 환자의 검체에서 신속하고 정확하게 결핵균을 동정하는 것은 환자를 치료하고 결핵 전파를 막는

데 있어서 가장 중요하다. WHO 2008년 통계에 따르면 전세계적으로 결핵 발생환자는 940만명이고, 한해 140만명이 사망한 주요 감염병이다.¹⁾ 국내 2008년 통계 자료에 따르면 신고된 결핵환자 수는 4만5천여명²⁾이고, 결핵으로 인한 사망 환자는 2,373명으로 10만명당 4.7명에 이른다.³⁾

결핵의 검사실 진단으로 기존의 전통적 방법인 항산균 도말 검경과 배양 검사를 주로 이용해 왔고, 최근 들어 여러 분자생물학적 검사 등이 보조적으로 이용되고 있다.^{4, 5)} 항산균 도말 검경은 검사방법이 간단하고, 저렴하며, 빠른 결과를 보일 수 있지만 민감도가 낮다는

교신저자 : 양 희 영
주소 : 602-702 부산광역시 서구 압남동 34번지
고신대학교 의과대학 진단검사의학교실
TEL : 051-990-6715 FAX : 051-990-3034
E-mail : jemini25@hanmail.net

단점이 있고⁶⁻⁸⁾, 배양 검사는 소수의 균도 검출하여 동정할 수 있고, 특이도가 높아 표준 결핵 진단 방법으로 쓰이고, 약제 감수성 검사를 시행할 수 있으나, 3-6주 이상의 긴 배양기간이 소요되기 때문에 조기 치료에 어려움을 줄 수 있다.⁶⁻⁸⁾ 점차 감염질환의 분자생물학적 진단방법이 발달되면서 결핵진단에도 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)이 활용되고 있고, 신속하면서 민감도와 정확도가 높은 방법으로 알려지면서 항산균 도말 검사와 배양검사의 단점을 보완하는 방법으로 이용률이 증가되고 있다. 하지만 PCR방법은 다른 검사법에 비해 기기와 시약, 검사환경 등에 비용이 많이 소요되고, 숙달된 전문기술을 필요로 하기 때문에 모든 검사실에서 도입하는데 어려움이 있어서 아직 보조적인 진단방법으로 이용되고 있다. 최근 실시간 중합효소연쇄반응(real-time PCR)을 이용한 결핵균 검출방법이 개발되면서 기존의 PCR보다 민감도를 개선하였고, 증폭과 검출을 동시에 진행하여 오염을 최소화하고, 검사 시간을 단축하였다고 소개되고 있다.

본 연구에서는 최근 많은 검사실에서 도입하기 시작한 실시간 중합효소연쇄반응법인 COBAS TaqMan MTB Assay (Roche Molecular Systems, NJ, USA)와 AdvanSure TB/NTM real-time kit (LG life Science Diagnostic Division, Daejeon, Korea)의 결핵균 검출에 대한 유용성을 확인하기 위하여, 기존 검사실에서 많이 사용하고 있는 PCR-hybridization 방법인 COBAS Amplicor MTB PCR (Roche Molecular Systems, Indianapolis, IN, USA)과 전통적 방법인 항산균 도말 검경과 배양 검사결과를 같이 비교하여 평가하였다.

연구대상과 방법

1. 연구 대상

2009년 6월부터 9월까지 고신대 복음병원 진단검사의학과에 결핵균 PCR 검사가 의뢰된 총 91건의 검체를 대상으로 하였다. 검체구성을 살펴보면, 객담 59건, 기관지폐포세척액 17건, 흉수 4건, 복수 1건, 뇌척수액 3건, 조직 4건, 요 2건 그리고 혈액 1건이었다.

2. 연구방법

1) 항산균 도말 및 배양

항산균 도말은 fluorochrome 염색을 이용하여 관찰 후 양성 검체는 다시 Ziehl-Neelson 염색법을 이용하여 확인하였다. 판정은 CDC (Center for Disease Control) 기준에 따라 -에서 4+까지 구분하여 보고하였다. 배양은 액체배지인 Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT, Becton Dickinson, Sparks, Md., USA)를 이용하였고 전용 배양기인 BACTEC MGIT 960 system (Becton Dickinson, Sparks, Md., USA) 에서 6주간 배양 하였고 양성 판독 표시가 나오면 도말을 준비하여 Ziehl-Neelson 법으로 염색하여 항산균유무를 확인하였다.

2) COBAS Amplicor MTB PCR

제조 회사의 설명서에 따라 객담과 기관지폐포세척액은 동량의 4% NaOH 용액을 넣고 vortex하여 18분 정도 방치하여 액화시킨 후 멸균 증류수를 동량 넣고 섞은 후 3,000rpm에서 15분간 원심분리 후 상층액을 버리고 침전물을 검사하고 조직검체는 micro tube에 멸균된 일회용 주사기로 이용하여 증류수를 1cc 분주 후 주사바늘을 왔다갔다 하면서 균질화시키고, 13,000rpm에서 5분간 원심분리하고 침사를 이용하였다. 요검체의 경우 3,000rpm에서 30분 원심분리 시킨 후 침사를 이용하였고, 혈액, 뇌척수액 그리고 기타 체액은 전처리 없이 섞은 후 바로 검사하였다. 전처리 검체 100μL에 세척액 500μL를 첨가하여 13,000rpm에서 10분간 원심분리 후 상층액을 제거하고 남은 침사에 용해제 100μL를 넣고 섞어준 후 60℃에서 45분간 반응시킨 후 중화용액 100μL를 넣어주고 섞어준 후 master mix (MMX+MYCO IC + Amprase) 50μL에 추출한 DNA 50μL를 넣고 거품이 생기지 않게 피펫팅 후 반응튜브에 넣고 COBAS Amplicor기기에서 검사하여 0.35 이상의 Optical density (OD) 값인 경우 양성으로 하였다.

3) COBAS TaqMan MTB Assay

제조 회사의 설명서에 따라 DNA 추출과정까지 2)번의 과정과 일치하고 이후 전용 master mix (MMX+MYCO IC+MYCO Mg⁺) 50μL에 추출한 DNA 50μL를 넣고 거품이 생기지 않게 피펫팅 후 반응튜브

에 넣고 COBAS TaqMan 48 (Roche Molecular Systems, NJ, USA) 기기에서 검사하여 Cycle Threshold (Ct) 값이 50 미만일 때를 양성으로 하였다.

4) AdvanSure TB/NTM real-time PCR

AdvanSure TB/NTM kit를 이용하여 제조 회사의 설명서에 따라 검사를 시행하였다. 객담이나 기관지폐포세척액 3mL에 시료전처리액1을 3mL 첨가 후 혼합하고 나서 5분간 상온에서 방치하면서 1분 간격으로 30초간 강하게 섞어주고, 3,000rpm으로 20분간 원심분리후 상층액을 제거하고 시료 전처리액1을 1mL 첨가 후 피펫을 이용하여 침전물을 섞은 후 1.5mL microtube로 옮긴다. 5분간 상온에 방치 후 1분 간격으로 30초간 강하게 섞어주고 13,000rpm에서 3분 동안 원심분리하고 상층액을 제거하였다. 점성이 완전히 풀릴 때까지 이 과정을 3-5회 반복 후 침사를 검사에 이용하였다. 조직 검체는 가능한 잘게 분쇄 후 검사에 이용하였고, 요, 혈액, 뇌척수액 그리고 기타 체액 검체는 최대한 많은 양의 시료를 13,000rpm에서 3분 원심분리하고나서 침사를 이용한다. 전처리 과정 후 남아있는 침전물을 1.5 mL microtube에 옮긴 후 시료 전처리액2를 1.0mL 첨가하여 10초간 혼합 후 13,000rpm에서 3분동안 원심분리 후 상층액을 제거하고 이 과정을 2번 반복하였다. Extraction buffer 50 µL를 잘 흔들어 섞은 후 1.5mL microtube에 첨가하고 100℃에서 20분간 가열 후 13,000rpm에서 1분 동안 원심분리하고, 10초 동안 잘 섞어준 후 13,000rpm에서 3분 동안 원심분리하여 분리된 상층액 5µL를 SLAN real-time quantitative PCR detection system (Shanghai Hongshi Medical Technology Co., Ltd, China) 기기로 검사하였다. Ct값이 35 미만일 때를 양성으로 하였다.

3. 결핵의 진단

환자의 항산균 도말 결과, 배양 검사 결과, 방사선 소견, 임상증상 및 항결핵제 치료에 대한 반응 등을 고려하여 임상적으로 결핵 판정이 난 경우만 결핵질환 양성으로 보았다.

결 과

1. 각 검사 방법에서 결과 비교

총 91검체 중 18건(19.8%)이 임상적으로 결핵으로 판정되었다. 각 검사 방법 별로 살펴보면 항산균 도말에서 13건(14.3%), 배양에서 16건(17.6%), 중합효소연쇄반응 중 COBAS Amplicor MTB PCR 와 COBAS TaqMan MTB Assay는 18건(19.8%) 그리고 AdvanSure TB/NTM real-time PCR은 20건(22.0%)에서 양성결과를 보였다. 세가지 중합효소연쇄반응, 항산균 도말 그리고 배양검사, 이 5가지 검사결과를 비교하였을 때, 모든 검사결과가 일치하는 81건(89.0%)은 음성으로 일치하는 69건(75.8%)과 양성으로 일치하는 12건(13.2%)으로 구성되었다. 그리고 불일치하는 10건(11.0%)을 살펴보면, 이 중 3가지 중합효소연쇄반응이 양성인 5건(5.5%) 중 항산균 도말과 배양에서 모두 음성인 경우는 3건(3.3%), 항산균 도말은 음성이나 배양 양성인 결과는 2건(2.2%)이었고, 3가지 중합효소연쇄반응이 모두 음성인 결과 1건(1.1%)에서는 항산균도말과 배양결과 둘 다 양성인 결과를 보였으며, 5가지 검사 중 AdvanSure TB/NTM real-time PCR만 양성인 것은 2건(2.2%), COBAS TaqMan MTB Assay만 양성인 것은 1건(1.1%)이었으며, COBAS Amplicor MTB PCR, AdvanSure TB/NTM real-time PCR 그리고 배양이 양성이고 나머지 두 검사는 음성인 경우 1건(1.1%)이 있었다(Table 1).

COBAS Amplicor MTB PCR을 임상적으로 결핵 확진된 결과와 비교하였을 때 민감도와 특이도는 88.9%, 97.2%, 양성예측도와 음성예측도는 88.9%, 97.3%이었고, COBAS TaqMan MTB Assay는 민감도와 특이도는 83.3%, 95.9%, 양성예측도와 음성예측도는 83.3%, 95.9%이었고 그리고 AdvanSure TB/NTM real-time PCR은 민감도와 특이도는 88.9%, 94.5%, 양성예측도와 음성예측도는 80.0%, 97.2%이었다. 항산균 도말 결과의 민감도는 72.2%, 특이도와 양성예측도는 100%, 음성예측도는 93.6%이었고 그리고 배양결과와 민감도는 88.9%, 특이도와 양성예측도는 100%, 음성예측도는 97.3%이었다 (Table 2).

Table 1. Comparison of results of AFB stain, culture, COBAS Amplicor MTB PCR, COBAS TaqMan MTB Assay and AdvanSure TB/NTM real-time PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis*

Result number(%)	COBAS Amplicor MTB PCR	COBAS TaqMan MTB Assay	AdvanSure TB/NTM real-time PCR	AFB smear	Culture	Number (%)
Concordant	—	—	—	—	—	69 (75.8%)
81(89.0%)	+	+	+	+	+	12 (13.2%)
	+	+	+	—	—	3 (3.3%)
	+	+	+	—	+	2 (2.2%)
Discordant	+	—	+	—	—	2 (2.2%)
10(11.0%)	—	+	—	—	—	1 (1.1%)
	+	—	+	—	+	1 (1.1%)
	—	—	—	+	+	1 (1.1%)

Table 2. Overall performances of the AFB stain, culture, COBAS Amplicor MTB PCR, COBAS TaqMan MTB Assay and AdvanSure TB/NTM real-time PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis*

Method	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Predictive value(%)		Number			
			Positive	Negative	True positive	True negative	False positive	False negative
COBAS Amplicor MTB PCR	88.9%	97.2%	88.9%	97.3%	16	71	2	2
COBAS TaqMan MTB Assay	83.3%	95.9%	83.3%	95.9%	15	71	3	3
AdvanSure TB/NTM real-time PCR	88.9%	94.5%	80.0%	97.2%	16	69	4	2
AFB smear	72.2%	100%	100%	93.6%	13	73	0	5
Culture	88.9%	100%	100%	97.3%	16	73	0	5

Table 3. Final diagnosis of the discordant cases

Specimen	COBAS Amplicor MTB PCR	COBAS TaqMan MTB Assay	AdvanSure TB/NTM real-time PCR	AFB smear	Culture	Clinical diagnosis
1 Tissue	+	—	+	—	+	Tuberculosis (Tuberculous peripheral lymphadenopathy)
2 BAL	+	+	+	—	+	Respiratory tuberculosis
3 Sputum	+	+	+	—	+	Respiratory tuberculosis
4 Sputum	+	+	+	—	—	Respiratory tuberculosis
5 BAL	+	+	+	—	—	Bacterial pneumonia
6 BAL	+	+	+	—	—	Bacterial pneumonia
7 BAL	—	+	—	—	—	Stomach cancer, Tuberculosis of Intestine
8 BAL	—	—	+	—	—	Lung cancer
9 CSF	—	—	+	—	—	Meningitis
10 BAL	—	—	—	+	+	Respiratory tuberculosis

BAL, bronchoalveolar lavage; CSF, cerebrospinal fluid

2. 불일치 결과 분석

전체 91검체 중 10건(11.0%)에서 결핵 검사 결과간 불일치 소견을 보였다. 이중 5건은 검체와 일치하는 부위의 결핵질환이 있는 것으로 판정되었고, 나머지 5건

은 다른 질환이거나 검체와 상관없는 부위에 국한된 결핵이었다. 폐렴 판정을 받은 2건에서 항산균 도말과 배양결과 모두 음성이었으나 3가지 중합효소연쇄반응에서는 모두 양성결과를 보이는 위양성결과를 보이고 있고, 폐결핵 1건에서는 항산균 도말과 배양결과 모두 양

성이었으나 중합효소연쇄반응에서는 모두 음성결과를 보이는 위음성결과를 보였다. 중합효소연쇄반응 간 불일치를 확인하였을 때 3가지 분자 결과 중 COBAS TaqMan MTB Assay 만 음성결과를 보인 1건은 결핵판정을 받은 결과로 위음성이었고, COBAS TaqMan MTB Assay만 양성인 1건은 위암환자이면서 다른 부위인 장관 조직에서 결핵판정을 받았던 경우로 위양성이었으며, 그리고 AdvanSure TB/NTM real-time PCR만 양성이고 나머지 중합효소연쇄반응은 음성인 경우는 2건으로 각각 폐암과 뇌염으로 위양성 결과였다(Table 3).

고 찰

결핵은 높은 전염성을 가지고 있어 신속한 진단을 통한 조기 치료가 다른 환자가 발생하는 것을 억제하는데 중요한 요건이 되어 왔다. 오랜 기간 결핵의 검사실 진단은 항산균 도말의 현미경검사와 결핵배양 검사로 균을 검출하거나, 조직에서 병리학적으로 생검을 통해 결핵성 병변을 확인하는 방법을 사용해 왔다. 항산균 도말 검사는 비용이 저렴하고, 간편한 방법으로 신속하게 결과를 얻을 수 있어 결핵의 검사실내 진단을 위해 가장 널리 이용하고 있지만, 결핵균과 비결핵항산균을 구별할 수 없고, 검체 1mL 당 5,000-10,000개의 균이 존재하여야 검출할 수 있으므로, 민감도는 35-70%로 낮다는 단점이 있다.⁶⁻¹¹⁾ 배양검사는 검체 당 10-100개 이상의 균이 존재시 검출이 가능하고 민감도는 80-85%, 특이도는 거의 100%로 확진 방법으로 쓰이고 있으나 배양기간이 고체배지에서는 3주에서 6주 이상 소요되고, 액체배지를 이용한 자동화된 신속배양기기 이용 시 기간을 단축하였지만 2주 이상의 배양 기간이 걸리는 등, 항산균 도말 검사로 양성을 확인할 수 없을 때 배양결과를 확인하기까지 기간이 오래 걸린다는 어려움이 있다.⁶⁻¹¹⁾

최근 감염질환의 신속한 진단을 위해 분자생물학 검사가 활발하게 응용되고 있고, 특히 결핵진단에서는 유용하게 활용되어 왔다. 1989년 Brisson-Noel 등¹²⁾에 의해 처음으로 결핵진단에 PCR을 이용한 이후 결핵균 증명에 분자생물학적 방법이 많이 응용되어 왔다. PCR은 임상 검체에서 직접 소수의 균이 존재하더라도 검출할 수

있고, 민감도와 특이도가 높으며, 당일내로 신속하고 정확한 조기 진단을 통한 빠른 치료가 가능하도록 하였다. 하지만 이미 죽은 결핵균이 존재하거나 과거 감염 경력이 있는 경우도 양성 결과가 나올 수 있고, 증폭산물의 교차 오염에 의한 위양성 가능성이 있으며¹³⁻¹⁶⁾, 증폭억제 인자가 존재하는 경우 위음성이 나올 수 있으며¹⁴⁾, 다른 검사법에 비해 고가의 비용이 요구되어 아직까지는 결과해석에 임상 소견을 참고하여 다른 검사에 보조적인 진단법으로 이용되고 있다.

실시간 중합효소연쇄반응법은 검사과정이 단축되어 간편하고, 전처리를 빼고 PCR 기기 내 처리만 기존 4시간 30분이 걸리던 시간을 1시간 15분에서 2시간 20분 이내로 단축하였고, 민감도를 높이면서 비슷한 특이도를 유지했다는 장점이 있어 신속 정확하게 결핵을 진단하여, 대량의 검체를 대상으로 하는 검사실에서 효과적으로 적용할 수 있다.

COBAS Amplicor MTB PCR은 미국 FDA(Food and Drug Administration)에서 결핵균 검출을 위해 공인한 상품화된 분자 검사로 많이 사용되어 왔으나, 민감도가 높고, 증폭산물을 옮겨서 검출하는 단계를 없애서 오염가능성을 줄이며, 증폭과 검출을 동시에 진행하여 빠른 결과를 보이는 실시간 중합효소연쇄반응법이 개발되면서 최근에 많은 검사실에서 이 방법이 주로 사용되면서 기존의 공인된 COBAS Amplicor MTB PCR은 점차 검사실 사용이 줄어들어 없어지는 추세로, 이에 검사실 별로 검사방법 변경을 위한 평가가 요구되었다.

본 연구에서는 실제 검사실 환경에서 PCR-Hybridization법을 이용하는 COBAS Amplicor MTB PCR과 실시간 중합효소연쇄반응법을 이용한 COBAS TaqMan MTB Assay 와 AdvanSure TB/NTM real-time PCR을 비교하였다.

COBAS Amplicor MTB PCR의 민감도는 76-86%, 특이도는 93-100%로 보고되고 있고¹⁷⁻¹⁹⁾, COBAS TaqMan MTB Assay의 민감도는 97-98%, 특이도는 97-100%²⁰⁻²¹⁾ 그리고 AdvanSure TB/NTM real-time PCR의 민감도는 88-91%, 특이도는 97-98%^{19, 22)}로 COBAS Amplicor MTB PCR보다 실시간 중합효소연쇄반응인 COBAS TaqMan MTB Assay과 AdvanSure TB/NTM real-time PCR가 높은 민감도를 보이면서 특이도는 비슷한 것으로 보고되

고 있다.

본 연구에서는 COBAS Amplicor MTB PCR이 실시간 중합효소연쇄반응과 비슷하거나 높은 민감도와 특이도를 보였고, COBAS TaqMan MTB Assay는 다른 연구에 비해 비교적 낮은 민감도를 보였다.²⁰⁻²¹⁾ 전체 검체 중 양성 검체가 적어 한 검체의 차이가 큰 비율의 차이로 이어졌기 때문이기도 하였고, COBAS Amplicor MTB PCR이 환자결과를 내기 위하여 충분한 양의 검체를 사용하였고 나머지 검체로 실시간 중합효소연쇄반응 검사를 나누어 시행하였기 때문에 균량이 균질하지 않아 결과의 차이를 보일 수 있었을 것으로 생각되었다. 특히 결핵판정된 조직검체에서 COBAS TaqMan MTB Assay만 음성이고 다른 두 PCR 검사에서는 양성이 나왔는데, 마찬가지로 검체를 나누는 과정에 균량이 낮거나 없는 부분이 들어갔거나 COBAS TaqMan MTB Assay가 조직보다 주로 호흡기 검체의 양성률을 높이도록 시약이 제작되었기 때문인 것으로 생각되었다. 기관지 폐포 세척액 검체에서 COBAS TaqMan MTB Assay만 양성이고 나머지 모든 검사에서 음성이 나온 경우는 일단 다른 부위인 장관의 결핵으로 위양성으로 판단하였으나, 높은 민감도로 인하여 사균이나 미량의 결핵균을 검출하였을 가능성도 있을 것으로 생각되었다.

우리나라는 결핵유병률이 높고 비결핵마이코박테리아(non-tuberculous mycobacteria, NTM)에 의한 질환 빈도가 낮아²³⁾, 환자가 호흡기 증상으로 내원하였을 때 임상적으로 결핵의 가능성이 높지 않은 경우에도 기본적으로 항산균 도말 검사를 같이 시행하는 경우가 많고, 도말 양성시 결핵으로 진단하고 항결핵제 치료를 시행하는 경우가 많았다. 점차 NTM 감염증 빈도가 증가되고 있다고 보고되고 있어 항산균 도말 검사가 양성이면서 중합효소연쇄반응 음성인 경우 반응억제물질이 있는지 확인하고 이후에도 음성으로 나오면 NTM 감염증 가능성을 의심해 볼 수 있다.²⁴⁾

COBAS Amplicor MTB PCR과 COBAS TaqMan MTB Assay는 배양결과가 분석되기 전까지 항산균 양성이고 PCR 음성인 경우 NTM을 의심할 수 있으나, AdvanSure TB/NTM real-time PCR은 기기 내에서 바로 NTM을 검출할 수 있다는 장점이 있다. 본 연구에서는 NTM이 검출되지 않아 이 부분에 대해서는 검증할 수 없었다.

본 연구는 배양 양성 검체만을 대상으로 하여 PCR 평가를 한 일부 연구에 비해 적은 민감도나 특이도를 보일 수 있으나, 실제 검사실 환경을 반영하였다는 점과 여러가지 검사 방법을 대상으로 한꺼번에 검사를 진행하기 어려운 조건에서 5가지 검사 방법을 비교했다는 점에서 의의가 있는 연구라고 볼 수 있다.

결 론

새로 개발된 COBAS TaqMan MTB Assay과 AdvanSure TB/NTM real-time PCR의 실시간 중합효소연쇄반응은 기존의 COBAS Amplicor MTB PCR과 양성율에서 차이가 없으면서 비슷한 민감도와 특이도를 보여, 검사시간을 단축하여 신속하고 정확하게 결핵을 진단하는데 있어서 검사실에서 유용하게 이용될 것으로 사료된다.

참고문헌

- 1) World Health Organization, WHO Library Cataloguing-in-Publication Data Global tuberculosis control: a short update to the 2009 report. Geneva: World Health Organization, 2009
- 2) 질병관리본부 질병예방센터 에이즈, 결핵관리과 : 2008년 결핵환자 신고현황 분석, 주간건강과 질병 2: 557-563, 2009
- 3) 통계청 사회통계국 인구동향과 : 결핵 사망률 추이(전결핵), 2009년 국가통계포털 (KOSIS), 2009
- 4) Cheng VC, Yam WC, Hung IF, Woo PC, Lau SK, Tang BS, Yuen KY : Clinical evaluation of the polymerase chain reaction for the rapid diagnosis of tuberculosis. J Clin Pathol 57:281-285, 2004
- 5) Laifer G, Widmer AF, Frei R, Zimmerli W, Fluckiger U : Polymerase chain reaction for Mycobacterium tuberculosis: impact on clinical management of refugees with pulmonary infiltrates. Chest 125:981-986, 2004
- 6) 송정섭: 폐결핵의 진단. 결핵 및 호흡기질환 46: 466-472, 1999
- 7) Corbett EL, Watt CJ, Walker N, Maher D, Williams BG, Raviglione MC, Dye C : The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic. Arch Intern Med 163:1009-1021, 2003
- 8) Steingart KR, Henry M, Ng V, Hopewell PC, Ramsay A,

- Cunningham J, Urbanczik R, Perkins M, Aziz MA, Pai M : Fluorescence versus conventional smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 6:570-581, 2006
- 9) 염양숙, 정옥연, 장숙진, 문대수, 박영진 : 결핵균검출을 위한 배양법, 항산성 염색법과 중합효소연쇄반응법 간의 비교. *대한임상병리학회지* 15:594-603, 1995
- 10) American Thoracic Society : Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 161:1376-1395, 2000
- 11) Kiviha-Ndugga L, van Cleeff M, Juma E, Kimwomi J, Githui W, Oskam L, Schuitema A, van Soolingen D, Nanga L, Kibuga D, Odhiambo J, Klatser P : Comparison of PCR with the routine procedure for diagnosis of Tuberculosis in a population with High prevalences of Tuberculosis and Human Immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol* 42:1012-1015, 2004
- 12) 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* 2:1069-1071, 1989
- 13) Beige J, Lokies J, Schaberg T, Finckh U, Fischer M, Mauch H, Lode H, Köhler B, Rolfs A : Clinical Evaluation of a *Mycobacterium tuberculosis* PCR assay. *J Clin Microbiol* 33:90-95, 1995
- 14) Beavis KG, Lichty MB, Jungkind DL, Giger O : Evaluation of Amplicor PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis* from sputum specimens. *J Clin Microbiol* 33:2582-2586, 1995
- 15) Cohen RA, Muzaffar S, Schwartz D, Bashir S, Luke S, McGartland LP, Kaul K : Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis Using PCR assays on sputum collected within 24 hours of hospital admission. *Am J Respir Crit Care Med* 157:156-161, 1998
- 16) 김진희, 장숙진, 문대수, 박영진 : 결핵균 검출을 위한 두 가지 PCR-Hybridization 검사법의 평가. *대한진단검사의학회지* 23:32-38, 2003
- 17) Tortoli E, Tronci M, Tosi CP, Galli C, Lavinia F, Natili S, Goglio A : 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* 33:173-179, 1999
- 18) Michos AG, Daikos GL, Tzanetou K, Theodoridou M, Moschovi M, Nicolaidou P, Petrakkos G, Syriopoulos T, Kanavaki S, Syriopoulou VP : Detection of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in respiratory and nonrespiratory specimens by the Amplicor MTB PCR. *Diagn Microbiol Infect Dis* 54:121-126, 2006
- 19) 정채림, 김미경, 서동춘, 이미애 : 결핵 진단을 위한 Real-time PCR과 Amplicor MTB PCR의 임상적 유용성. *대한임상미생물학회지* 11:29-33, 2008
- 20) Broccolo F, Scarpellini P, Locatelli G, Zingale A, Brambilla AM, Cichero P, Sechi LA, Lazzarin A, Lusso P, Malnati MS : Rapid Diagnosis of Mycobacterial Infections and Quantitation of *Mycobacterium tuberculosis* Load by Two Real-Time Calibrated PCR Assays. *J Clin Microbiol* 41:4565-4572, 2003
- 21) Chandran SP, Kenneth J : Evaluation of COBAS TaqMan real time PCR assay for the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis. *Indian J Med Res* 132:100-102, 2010
- 22) 김영진·박미영·김신영·조선아·황상현·김형희·이은엽·정운성·김경희·장철훈 : 호흡기 검체를 이용한 AdvanSure TB/NTM Real Time PCR Kit의 항산균 진단 능력평가. *대한진단검사의학회지* 28: 34-38, 2008