

알기 쉬운 진단검사

액체배지와 고체배지를 병용한 신속 결핵균 배양



결핵 - *Mycobacterium tuberculosis*

결핵은 *Mycobacterium tuberculosis*에 의한 감염으로 발생하는 만성질환으로 2006년 세계보건기구(WHO)에서는 전 세계인구의 1/3이 결핵에 감염되어 있으며 매년 8백에서 천만명의 새로운 환자가 발생하고 있음을 보고하였습니다.

우리나라는 보건의료수준의 향상과 사회경제적 발전으로 결핵환자 수가 많이 줄어들기는 했지만, 결핵은 여전히 우리나라에서 가장 중요한 전염병으로 남아 있으며 전체 국민의 상당수는 과거 결핵균에 노출된 잠복감염 상태인 것으로 알려져 있습니다. 2009년 한 해 동안 새로 발견되어 보고된 결핵환자 수는 대략 국민 1,000명 당 1명꼴인 3만 5,845명, 2008년 결핵으로 인한 사망자 수는 2,323명으로 OECD 가입국 중 가장 높은 수준을 보이고 있습니다.



2009년 OECD가입 30개국의 결핵 발생률 및 사망률 추계 (단위 : 명/10만 명)

국가명	발생률	사망률	국가명	발생률	사망률
한국 🇰🇷	90	10	아일랜드	13	1
일본	21	3	이탈리아	7	1
미국	4	10이하	룩셈부르크	12	1
캐나다	5	1	네덜란드	8	1
멕시코	20	2	노르웨이	6	1
오스트리아	12	1	폴란드	25	3
벨기에	12	1	포르투갈	30	3
체코	9	1	스페인	30	3
덴마크	8	1	스위스	6	1
핀란드	6	1	스웨덴	6	1
독일	6	1	슬로바키아	17	3
그리스	18	2	영국	15	2
헝가리	17	2	터키	30	5
프랑스	14	1	호주	6	1
아이슬란드	4	10이하	뉴질랜드	7	1

* 출처 : Global tuberculosis control, WHO report 2009

발행년월 2011년 8월 25일
발행기관 의료법인 삼광의료재단
발행부서 홍보기획팀
문의처 ☎ 02) 3497-5100
 www.smlab.co.kr

Contents

- 결핵이란?
- 액체배지를 이용한 결핵균 배양 검사
- 액체배지와 고체배지를 병용한 결핵균 배양의 필요성
- 자동화 액체배양시스템의 검사 원리
- 항산균 배양검사의 흐름도

결핵은 지난 1994년에 결핵 신환자에서 1.6%이던 다제내성율이 1998~9년에 2.2%, 그리고 2003년에는 2.4%로 서서히 늘어나는 추세로 결핵 약제에 대한 내성균의 증가와 AIDS와의 복합감염 등에 의해 새로운 난치병으로 대두되고 있습니다. 또한 비병원성으로 분류되던 비결핵 항산균(Nontuberculous mycobacteria, NTM)의 감염도 증가하여 그 위험성이 극대화되고 있습니다. 따라서 감염이 의심되는 환자의 빠른 진단과 더불어 신속한 치료가 결핵환자의 관리에 매우 중요합니다.

결핵... 좀더 빠르고 정확한 진단이 요구되고 있습니다.



액체배지를 이용한 결핵균 배양검사

결핵(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)과 비결핵항산균(Nontuberculous mycobacteria, NTM) 감염의 진단법으로 오랫동안 결핵균 배양법이 시행되어 왔습니다. 그러나 결핵균 배양 및 동정검사는 전통적으로 고체배지를 이용한 방법이어서 균을 키우는데 두 달의 기간이 필요하고 자란 균으로 약제감수성검사를 실시하려면 적어도 석 달 이상의 기간이 소요되기 때문에 환자 관리에 많은 어려움이 있습니다. 이에 좀더 신속하고 정확한 결핵균 배양이 필수적이며 미국질병관리본부(CDC)와 세계보건기구(WHO)는 액체배지와 고체배지를 병용한 항산균 배양법을 권고하고 있습니다.

기존의 액체배지법은 방사성 동위원소를 이용한 검출법으로 사용 및 폐기에 제한이 있어 널리 사용되지 못했으나, 최근에 액체배지 내에 형광 물질을 첨가해 균의 성장을 감지하는 자동화 액체배양시스템이 개발되어 검출률을 높일 뿐만 아니라 검출 시간을 단축하면서 신속 민감한 진단이 가능하게 되었습니다.

액체배지를 이용한 결핵균 배양검사의 장점

	액체배지	고체배지
장점	<ul style="list-style-type: none">검출률이 높음 고체배지보다 15~30% 높음성장검출이 빠름 10~20일 소요 (중간보고 2주/ 최종보고 6주)모든 <i>Mycobacteria</i> 균종이 잘 자람	<ul style="list-style-type: none">집락형태로 MTB와 NTM 구분가능오염률이 비교적 낮음혼합 감염이나 오염 등 육안으로 확인 가능
단점	<ul style="list-style-type: none">집락형태의 관찰이 어려움고체배지에 비해 오염률이 높음	<ul style="list-style-type: none">검출률이 액체배지보다 낮음성장속도가 늦음 보통 4주 소요 (중간보고 4, 6주 / 최종보고 8주)일부 <i>Mycobacteria</i> 균종은 잘 자라지 못함



액체배지와 고체배지를 병용한 결핵균 배양의 필요성

■ 액체배지와 고체배지의 병용, 표준검사법으로 권고

- World Health Organization (WHO)
- Centers for Disease Control (CDC)
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)

결핵 및 비결핵 항산균 감염의 진단에 있어 신속하고 정확한 항산균 배양이 필수적이며 이를 위해 액체배지를 이용한 항산균 배양을 권고하고 있으나, 액체배지는 오염률이 높은 단점이 있어 위 기관들은 결핵균의 신속한 검출 및 정확한 동정·약제감수성검사를 위해서 액체배지와 고체배지를 병용할 것을 권고하고 있습니다.

■ 액체배지를 이용한 경우, 항산균을 빨리 검출할 수 있습니다.

서울 일개 3차 병원에서 1,059명의 환자의 1,764 검체를 대상으로 연구한 액체배지와 고체배지를 이용한 결핵균의 검출시간, 검출률 등의 보고에 따르면 항산균의 평균검출시간은 액체배지(MGIT 960)에서 10.6일이었고, 고체배지(Ogawa)는 31일로 액체배지의 평균검출시간이 유의하게 짧았습니다. 이 중 결핵균의 평균검출시간은 액체배지에서 11.4일, 고체배지에서 29일이었고, 비결핵항산균의 평균검출시간은 액체배지에서 9.7일, 고체배지에서 33일로 두 경우 모두 액체배지에서 검출시간이 짧았습니다. 이처럼 액체배지를 이용한 항산균 배양검사를 통해 항산균의 조기진단을 가능하게 함으로써, 비결핵항산균에 의한 폐감염 진단시 부적절한 항결핵제치료를 중단하고 적절한 치료를 시작할 수 있게 되었습니다.

■ 액체배지와 고체배지 병용시 검출률이 높아집니다.

전남지역 일개 대학병원에 의뢰된 총 1,067 검체를 대상으로 액체배지와 고체배지를 이용하여 결핵균 배양을 연구한 결과, 항산균이 검출된 128 검체 중 액체배지(MGIT 960)에서의 검출률은 85.1%(109건), 고체배지(Ogawa)에서는 65.6%(84건), 액체배지와 고체배지를 병용한 경우의 검출률은 93.0%(119건)로 보고되었습니다. 특히 결핵균이 검출된 검체 106건 중에 액체배지와 고체배지를 병용한 경우 104건이 검출되어 98.1%의 높은 검출율을 보여 액체배지와 고체배지를 병용한 경우 검출률이 높아지는 것을 알 수 있습니다.

Table 1. Distribution of isolates recovered in each culture system and in combination of solid and liquid system

Culture system	Total No. (%) of positive cultures for:		
	<i>M. tuberculosis</i>	MOTT	All mycobacteria
Total, all media*	106 (100)	22 (100)	128 (100)
MGIT 960	101 (95.3)	8 (36.4)	109 (85.1)
BACTEC 460	95 (89.6)	14 (63.6)	109 (85.1)
Ogawa media	76 (71.7)	8 (36.4)	84 (65.6)
MGIT 960+Ogawa	104 (98.1)	15 (68.2)	119 (93.0)
BACTEC 460+Ogawa	96 (90.6)	19 (86.4)	115 (90.0)
MGIT 960 only	10 (9.4)	3 (13.6)	13 (10.2)
BACTEC 460 only	2 (1.9)	7 (31.8)	9 (7.0)
Ogawa only	1 (0.9)	5 (22.7)	6 (4.7)

*All or either of the culture systems.

■ 액체배지도 급여가 가능합니다. (2008. 09. 11 고시 개정)

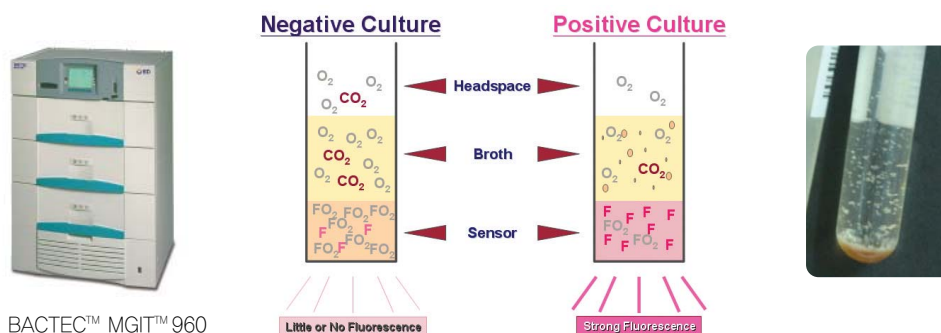
보건복지부는 2008년 “나405 미생물배양 및 동정검사”의 고시를 개정함으로써 고체배지(B4054)와 함께 추가로 액체배지(B4055)를 이용한 결핵 배양을 급여항목으로 신설하였습니다. 이에 기존의 배양법에 상관없이 1회만 급여청구가 가능했던 것이 이제는 액체배지와 고체배지에 대해 각각 급여청구가 가능하게 되었습니다.

현 행	개 정
제2장 검사료 나-405 미생물배양 및 동정검사 <u>나. 항산균배양 및 동정검사</u> 주 : 배양검사와 동정검사를 서로 다른 요양기관에서 실시하더라도 소정 점수를 1회만 산정한다. <u><신설></u>	제2장 검사료 나-405 미생물배양 및 동정검사 <u>나. 항산균배양 및 동정검사[배지별 각각 산정]</u> 주 : 배양검사와 동정검사를 서로 다른 요양기관에서 실시하더라도 소정 점수를 1회만 산정한다. B4054 (1) 고체배지 이용 B4055 (2) 액체배지 이용



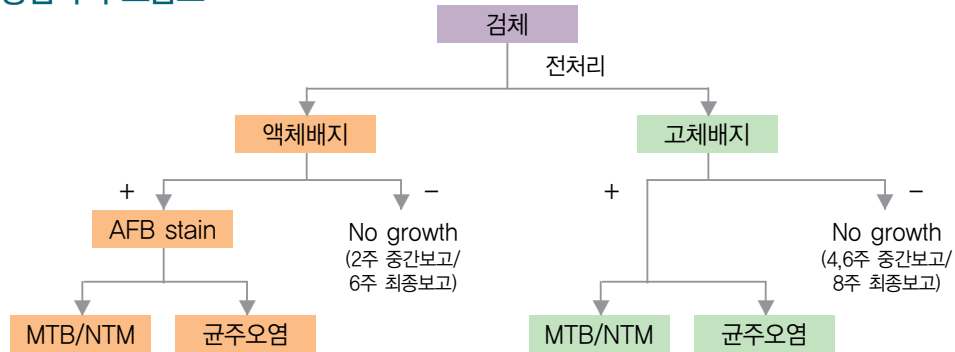
자동화 액체배양시스템의 검사원리

액체배지 속에 다량의 산소가 형광물질과 결합한 상태로 존재하여 형광을 억제하고 있다가 항산균 등이 증식하면서 산소를 소모하게 되면 형광물질이 분리되어 형광을 발산하게 됩니다. 이때 MGIT 960 자동화장비에서 매 시간 균이 소비하는 산소의 변화를 형광센서로 판독하여 결핵균의 배양 정도를 자동으로 보고하므로 민감하고 쉽게 결핵균을 검출 할 수 있습니다.





항산균 배양검사의 흐름도



검사정보

검사항목	검체	검사법	검사일정	보험정보
AFB culture (액체배지 + 고체배지)	Sputum 5.0mL 냉장 밀봉	고체배지 culture + 액체배지 culture	매일 중간보고 : 2주 최종보고 : 6주 (고체배지 최종보고 : 8주)	고체배지 : B4054 액체배지 : B4055

* AFB culture (액체배지+고체배지)검사는 액체배지와 고체배지의 SET 검사입니다.
액체배지 단독검사는 시행하지 않습니다.

결핵관련 검사안내

검사항목명	검체	검사법	검사일정	참고치	보험정보
AFB Stain	Sputum 3.0mL 냉장 밀봉	형광법	매일 1일	Negative	녀304 BX304
AFB culture	Sputum 5.0mL 냉장 밀봉	Culture	매일 60일	No growth	녀405나(1) B4054
AFB sensitivity (약제감수성 검사)	균주 실온 밀봉	절대농도법	월, 수, 금 30일	결과지 참조	녀406다(2) B4064
AFB sensitivity (신속약제감수성 검사) • Rifampicin (RMP) • Isoniazid (INH)	Sputum 5.0mL 냉장 밀봉	Sequencing	월-금 10일	결과지 참조	CZ985 CZ986 (비급여)
AFB Identification (결핵균 동정검사)	균주 실온	PRA	월-금 10-15일	결과지 참조	녀562녀 CY636006
MTB & NTM PCR (결핵균 & 비결핵항산균 PCR)	Sputum 5.0mL (tissue, urine, stool, 균주, serum, blood 등) 냉장	PCR-Hybridization	월-금 3-4일	MTB : Negative NTM : Negative	녀595-17가 C6021006
QuantiFERON-TB (결핵균 Interferon- γ)	Blood 각 1.0mL 전용용기 실온	ELISA	월, 수 2일	Negative	녀477 CZ393006

Reference

- 이지연 외. BACTEC MGIT 960 system을 이용한 결핵균의 검출 - BACTEC 460 TB system 및 Ogawa 배지와와의 비교. *Korean J Clin Pathol* 2000; 20: 384-91
- 배은신 외. 항산균 배양에서 BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 System과 Ogawa 배지 병용의 평가. *Korean J Lab Med* 2008; 28: 299-306
- Doris Hillemann et al. Use of the BACTEC MGIT 960 Automated System for Recovery of Mycobacteria from 9,558 Extrapulmonary Specimens, Including Urine Samples. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44: 4014-4017
- World Health Organization. Global Tuberculosis Control Surveillance, WHO Report 2009
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Laboratory detection and identification mycobacteria; proposed guideline. CLSI document M48-P. CLSI. 2007.