

그람염색과 소변검사를 이용한 배양용 소변의 선별

장철훈, 박태희, 정운성, 김형희, 황원주*

부산대학교 의과대학 임상병리학교실, 부산대학교병원 임상병리과*

Screening of Urine Culture Specimens by Gram Stain, Urinalysis and Urine Microscopic Examinations

Chulhun L. Chang, M.D., Tae Hee Park, M.D., Joseph Jeong, M.D., Hyung Hoi Kim, M.D.
and Weon Joo Hwang, M.T.*

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

Background : The purpose of this study was to discover ways to screen urine culture specimens through Gram stains, urine stick analyses and microscopic examinations for the laboratory cost saving.

Methods : One hundred and fifty-eight urine specimens for culture were included. Fifty uL of urine were inoculated onto one well each of 10-well slide, dried on the hot plate, and Gram-stained. The results combined with routine urinalyses including urine nitrite and leukocyte esterase, and pyuria, were compared with the routine culture results.

Results : The screening of bacteriuria by Gram stains, urinalyses and microscopic examinations revealed the high sensitivity (91.9%) and negative predictive value (95.5%) with cost saving of 41.8% of inoculating media. Not considering the Gram stains, the screening revealed 83.8% sensitivity and 92.5% negative predictive value, even if the cost saving of inoculating media were as high as 50.1%.

Conclusion : It was demonstrated that it was sensitive and economic and produced rapid preliminary results to screen bacteriuria by the Gram stains combined with urinalyses and microscopic examinations.

Key words : Gram stain, Urine, 10-well slide glass, Screening, Bacteriuria

서 론

요로감염은 병원감염의 가장 많은 부분을 차지하는 감염증이기 때문에 소변 배양으로 생기는 비용이 미생물 검사실에서 차지하는 비중이 적지 않다[1]. 또한 일상적인 소변 배양 방법이 0.001 mL의 소변을 혈액한 천 배지와 MacConkey 한천 배지에 접종하여 미생물이 자라지 않으면 음성 결과를 'bacteria less than 1000

CFU/mL' 라고 보고하는데, 부산대학교병원의 경우 소변 배양이 의뢰된 검체 중 이와 같은 음성 배양 결과의 보고가 약 70% 정도 되며, 다른 병원들도 이와 크게 다르지 않을 것으로 생각한다.

최근 병원 업무 또는 검사실 업무의 전산화가 많이 이루어지고 있어서 환자의 검사 결과를 배양검사실의 단말기에서도 실시간으로 쉽게 찾아볼 수 있게 되었다. 따라서 일상적인 소변 검사의 결과와 함께 소변의 그람염색 결과를 참조한다면, 음성 결과를 보일 소변을 미리 선별하여 소변 배양에 들어가는 비용을 줄일 수 있을 것으로 생각하여 본 연구를 시작하였다.

재료 및 방법

검 체 배양이 의뢰된 소변 검체 145명의 158검체를

원 본 접수 : 2000년 1월 21일 접수번호 : CM 3-1-8
수정본접수 : 2000년 2월 29일
교신저자 : 장 철 훈
(602-739) 부산시 서구 아미동 1가 10
부산대학교 의과대학 임상병리학교실
TEL : 051-240-7417 FAX : 051-247-6560
E-mail : cchl@hyowon.cc.pusan.ac.kr

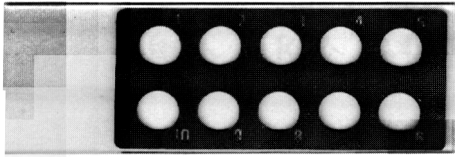


Fig. 1. Slide glass used in this study

대상으로 하였으며, 환자의 나이는 0-85 (평균 36.6세), 여자 76명, 남자 69명, 입원 75명, 외래 70명이었다.

검 사 : 배양할 소변을 일상적인 방법으로 0.001 mL loop를 이용하여 혈액한천배지와 MacConkey 한천배지에 접종하여 37℃ 공기 중에서 하룻밤 배양한 후, 관찰된 집락을 Vitek kit (bioMerieux Vitek, Hazelwood, U.S.A.) 또는 생화학적 방법으로 동정하였다. 일상적인 소변 검사의 결과는 미생물 검사실에 있는 단말기를 이용하여 배양이 의뢰된 날 또는 2일 이내에 시행한 소변검사 결과 중에서 nitrite, leukocyte esterase, 침사의 백혈구 수를 조사하였다. 그람 염색은 한 장에 직경 7mm의 원이 10개 그려져 있고 주위가 불투명하게 채색되어 있는 슬라이드(Superier Marienfeld, Germany) (Fig. 1)의 각 원에 배양이 의뢰된 소변 50 µL를 원 밖으로 퍼져 나가지 않도록 살짝 엮어서 슬라이드를 가열판에서 말려 그람염색을 하고 관찰하였다. 소변의 그람염색 관찰 결과 및 일상 소변 검사와 후일 확인된 소변 배양 검사 결과를 비교하였다.

판 정 : 배양이 불필요할 것으로 기대되는 경우(선별 음성)는 그람염색에서 50시야를 관찰하여 세균이 1000× 시야 당 평균 4개미만으로 발견되고, nitrite 음성, leukocyte esterase 음성, 침사의 백혈구 수 5/HPF 이하인 경우로 하였다. 집락수를 1000×시야 당 평균 4개미만으로 판단한 근거는 다음과 같다. 직경 7mm의 원 위에 소변 50µL를 분주하여 건조시키면 mm² 당 1.30µL의 소변이 있게 되고, 현미경의 1000×시야 면적을 약 0.0314 mm²로 간주하면 시야 당 관찰할 수 있는 소변의 양은 약 0.041 mm³이 되기 때문에 시야 당 미생물이 1개 발견되면 24,500 CFU/mL에 해당하여 시야당 4개 정도면 10⁵/mL의 세균수에 해당한다고 볼 수 있다.

결 과

총 158건 중 일상적인 배양 방법에 의한 배양 음성 건수는 117건 (74.1%)이었다. 배양음성 소변의 선별은 2가지 방법으로 나누어 비교 검토하였다.

1. 일상소변검사와 그람염색을 이용한 배양 음성 소변의 선별

그람염색 음성, nitrite 음성, leukocyte esterase 음성 및 침사의 백혈구 수 5/HPF 이하인 경우는 총 66건이었다. 따라서 선별 음성을 배양하지 않는다고 가정하였을 경우 소변의 접종에 사용되는 배지의 41.8% (66/158)의 비용 절감을 기대할 수 있었다. 그리고 선별 검사의 민감도는 82.9% (34/41), 특이도는 50.4% (59/121)이었다. 선별 검사에서 음성인 66 검체 중에서 배양 양성인 7건이었다. 3건은 분명한 요로 감염증이었으며, 4건은 요로 감염의 증상, 다른 때의 소변배양검사를 포함한 다른 검사의 소견, 임상 진단, 감염증에 대한 치료 여부 등으로 요로 감염증을 배제할 수 있었다. 그러므로 이를 보정한 후의 선별 검사의 민감도와 특이도는 각각 91.9% (34/37), 52.1% (63/121)이었으며, 선별 검사에서 음성인 검체들을 배양하지 않고 배양 음성으로 판단했을 때의 위음성률은 4.5% (3/66), 즉 음성 예측률은 95.5%이었다 (Table 1). 위음성을 보인 3건 중 2건은 E. coli 또는 Proteus mirabilis가 각각 소변 mL당 10⁶ 이상의 집락을 형성하였으며, 1건은 Staphylococcus aureus가 소변 mL당 3×10⁴의 집락을 형성하였다. 그람 음성 간균선별 음성과 배양 양성인 상반된 결과를 보인 검체에 대한 자료는 표 2에 나타내었다.

2. 일상소변검사에 의한 배양 음성 소변의 선별

일상 소변 검사의 결과만으로 선별했을 때는 선별 음성이 80건으로, 선별 음성을 배양하지 않을 경우 비용절감은 50.1% (80/158)이 되며, 8.2%의 추가 절감이 기대되나, 선별 음성 중 배양 양성인 10건이었고, 이중 분명한 요로 감염증이 6건이며 요로 감염의 증거가 없는 경우는 4건으로, 선별 음성의 위음성률은 7.5%

Table Comparison of the results between routine culture and screening

Screening*		positive	negative	Total
		34	58	92
	positive	7 (3)	59 (63)	66
	negative			
Total		41 (37)	117 (121)	158

* Negative screening test indicates microorganisms <4/1000× in Gram stain, nitrite and leukocyte esterase reactions negative in urine stick, and leukocytes <5/HPF in urine sediment; † the numerals in the parentheses indicate the number of specimens after adjusting the false positive cultures.

Table 2. Specimens showing discrepancy between routine culture and screening by the current method

Patients age and sex	Gram stain*	Nitrite	Esterase	M/F WBC	Culture results	Final diagnosis
39/F				-	<i>Candida albicans</i> >10 ⁵ /mL	Urinary tract infection
29/F				-	<i>E. coli</i> >10 ⁵ /mL	Acute nephritis
11/F				-	<i>E. coli</i> >10 ⁵ /mL	Urinary tract infection
2/M				-	<i>Proteus mirabilis</i> >10 ⁵ /mL	Urinary tract infection
0/F				-	<i>Enterococcus faecium</i> >10 ⁵ /mL	Urinary tract infection
53/F				-	<i>Staphylococcus aureus</i> 3 × 10 ⁴ /mL	Acute urethral syndrome
4/M				3-4	<i>Candida albicans</i> 2 × 10 ⁴ /mL	Kawasaki disease
62/F				-	<i>E. coli</i> >10 ⁵ /mL	Mitral valve regurgitation
61/M				-	<i>Enterococcus faecalis</i> 7 × 10 ⁴ /mL	Hyperplasia of prostate
30/M				-	<i>Enterococcus faecalis</i> 10 ⁵ /mL	No urinary tract infection

* No. of bacteria under the oil immersion field. -, <1/10F; 1+, 1-9/10F; 2+, 1-4/F; 3+, 5-10/F; 4+, >10/F.

Abbreviations. M/F WBC, the number of leukocytes per high-power field in urine sediment.

(6/80)로 증가했다. 그리고 선별 검사의 민감도는 75.6%, 59.8%이었고, 선별 검사 음성과 배양 양성인 4건을 보정한 후의 민감도와 특이도는 각각 83.8%, 61.1%이었다.

고 찰

선별검사의 목적은 대량의 검체에 대해 시간이나 비용을 적게 들이고 검사를 실시하여 값비싼 검사를 실시해야 할 검체의 수를 줄이는 것이 목적이다. 따라서 선별검사의 중요성은 민감도가 높을 것, 즉 배제하지 않아야 할 진양성의 검체가 포함되지 않으면서 가능한 많이 배제할 검사를 가려내는 것이다. 그런 면에서 볼 때, 일상소변검사에서 세균뇨를 추정하기 위한 검사로 nitrite 또는 leukocyte esterase가 포함되어 있는 것은 선별 검사의 목적으로는 충분하지 않고, 단지 그것이 양성일 때 세균뇨의 가능성이 매우 높음을 뜻하는 것으로 한정해서 해석해야 한다. 왜냐 하면, 이들 검사가 세균뇨를 진단하는 민감도가 소변 1 mL당 10⁵ 이상의 세균뇨에서도 58-80%로 그리 높지 않기 때문이다 [2]. 그러나 이 두 검사를 합해서 판단하면 민감도는 85%로 올라갔다 [2]. 이처럼 하나의 검사만으로는 선별 검사가 요구하는 민감도에 미치지 못하지만 여러 종류의 검사를 종합하여 판단하면 선별 검사로서 충분한 민감도를 얻을 수 있다. 본 연구에서는 nitrite, leukocyte esterase, 및 요침사의 백혈구를 근거로 한 세균뇨의 선별은 민감도가 83.8%에 불과하였고, 음성 예측률이 92.5%로서, 이들 검사만으로는 세균뇨의 선별에 충분하다고 말할 수 없다. 그러나 이 검사에 추가하여 본 연구에서 시도한 그람염색을 추가로 고려한다면, 민감도 91.9%, 음성 예측률 95.5%로 훨씬 개선된 성적을 보임으로써, 이를 이용하여 세균뇨를 선별하는

것이 가능하다는 것을 보여주고 있다. 이것은 대개 배양을 의뢰하는 소변은 거의 예외없이 일상적인 소변 검사가 이루어지고 있기는 하지만, 검사실 업무의 전산화가 이루어지고 단말기를 통하여 그 결과를 실시간으로 검색할 수 있을 때에만 가능하다는 점이 부분적인 한계일 것이다. 왜냐 하면 그람염색만으로 세균뇨를 선별하는 것 역시 nitrite나 leukocyte esterase 검사처럼 그 하나의 결과만으로는 선별 검사로서 충분한 민감도를 보여주지 못하고 있기 때문이다 [2]. 또 하나 고려해야 할 점은, 그람염색과 소변검사 결과를 이용한 선별 검사의 음성 예측률이 95.5%로 높기는 하지만, 소변 배양이 의뢰되는 경우가 매우 많다는 것을 고려하면 위음성으로 배제되는 검체의 개수가 적지 않을 것이라 점이다. 본 연구에서 *E. coli*와 *P. mirabilis*가 검출된 2건의 검사에서 소변 검사는 물론 그람염색까지 모두 음성으로 나온 이유는 추정할 수 없었다. *S. aureus*가 검출된 1건은 집락수가 mL당 10⁵ 이하였기 때문에 그람염색에서 음성으로 나왔다고 생각되지만, 이 세균은 mL당 10⁴ 이상의 집락만 형성되면 병원균일 가능성이 많다는 점 때문에 위음성으로 간주됨과 동시에 본 연구에서 제시한 방법의 한계라고 볼 수 있을 것이다. 따라서 위음성을 줄이기 위해서는 그람염색에서 그람양성 구균이 1000배 시야 당 4개미만으로 발견되어도 배양을 진행해야 할 것으로 생각된다.

본 연구에서 사용된 슬라이드는 한장 당 값은 다소 비싸지만 한장에 10개의 원형 시야가 있기 때문에 10개의 검체를 한장의 슬라이드에서 염색할 수 있어서 염색과 판독이 매우 수월하였다. 또한 일반적인 슬라이드 위에서는 50μL의 소변을 퍼지지 않게 엮을 수가 없으므로 mL당 10⁵ 이상의 세균뇨인 경우에 1000× 시야 당 1개 정도를 관찰할 수 있을 뿐이지만, 이 슬라이드는 반구형으로 소변을 엮어서 퍼지지 않게 할 수 있

으므로 4배정도 많은 미생물을 관찰할 수 있었다. 따라서 보통의 슬라이드를 이용한 그람염색보다 높은 민감도를 기대할 수 있었다. 이 때 슬라이드에서 소변이 마르는 시간은 가열판 위에 올려놓음으로써 약 5-7분으로 단축할 수 있었기 때문에 별 무리가 없었다.

그람염색을 이용한 선별 검사에서 기대할 수 있는 또 하나의 효과는 배양 결과의 빠른 예측이다. 미생물 검사실에서는 혈액이나 뇌척수액의 배양 결과가 양성이면 그 결과를 경고치로 판단하고 그람염색 결과를 신속하게 담당 의사에게 보고하려고 노력한다[4]. 그러나 다른 감염증에서는 이와 같은 노력이 드물다. 그 이유가 균혈증, 패혈증 또는 뇌막염 따위가 훨씬 심각한 경과를 초래하기 때문이기는 하겠으나, 다른 감염증의 신속한 진단이 불필요한 것은 아닐 것이다. 요로 감염의 신속 진단방법으로는 4-6시간만에 요로 감염의 원인균을 찾아내고 감수성 검사까지 완료할 수 있다는 보고[1]를 비롯한 몇몇 연구가 있었다[5,6]. 그러나 우리나라와 같이 의료비가 낮고 검사 행위에 대한 수가가 낮은 경우는 성적이 좋다고 손쉽게 값비싼 검사를 도입할 수 없다. 본 연구에서는 그람염색 소견과 배양 결과를 직접 비교해 보지는 않았지만, 흔한 요로 감염증의 원인이 제한되어 있다는 것을 고려하면[7] 그람염색의 결과가 조기에 감염증을 치료하고자 하는 시도에 충분한 참고가 될 것으로 생각한다.

요 약

배 경 : 일상 소변검사의 결과와 함께 소변의 그람염색 결과를 참조하여 세균뇨를 선별하고자 하였다.

방 법 : 배양이 의뢰된 소변 158검체를 대상으로 원형 시야가 만들어진 슬라이드에서 소변 50μL를 넣고 그람염색을 하고, 일상 소변검사와 함께 세균뇨를 선별하였다.

결 과 : 일상소변검사와 그람염색을 이용한 배양 음성 소변의 선별에서는 소변의 접종에 사용되는 배지의 41.8%의 비용 절감이 기대되었으며, 민감도가

91.9%, 음성 예측률은 95.5%였다. 일상소변검사에 의한 배양 음성 소변의 선별만으로 선별했을 때는 비용 절감이 50.1%로 기대되었으나, 민감도가 83.8%, 음성 예측률이 92.5%에 불과하였다.

결 론 : 일상적인 소변검사의 결과를 단말기를 통하여 실시간으로 확인할 수 있을 경우에, 10개의 원형 시야가 있는 슬라이드를 이용한 그람염색과 일상소변검사의 결과를 종합하여 높은 민감도와 음성예측률로 세균뇨를 선별할 수 있었고 소변 배양의 비용을 절감할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Heinze PA, Thrupp LD, Anselmo CR. A rapid (4-6-hour) urine-culture system for direct identification and direct antimicrobial susceptibility testing. *Am J Clin Pathol* 1979;1:177-83.
2. Murray PR, Smith TB, McKinney TC Jr. Clinical evaluation of three urine screening tests. *J Clin Microbiol* 1987;25:467-70.
3. Sobel JD and Kaye D. Urinary tract infections. In: Mandell GL, Bennett JE, et al. eds. *Principles and practice of infectious diseases*. 4th ed. New York: Churchill Livingstone, 1995:662-90.
4. 경고치. In 김순호, 손한철 등 (편). 최신 임상검사진단학. 제2판. 서울: 계축문화사 1999:8-9.
5. Hiraoka M, Hida Y, Tsuchida S, Tsukahara H, Yamashita M, Kuroda M, et al. Diagnosis of urinary tract infection by urine microscopy using a disposable counting chamber. *Scand J Clin Lab Invest* 1993;53:705-9.
6. Pezzlo M. Detection of urinary tract infections by rapid methods. *Clin Microbiol Rev* 1980;1:268-80.
7. 요로감염의 세균검사. In: 정윤섭, 이경원 (편). 최신 진단미생물학. 제2판. 서울: 서흥출판사, 1993:94-9.