

Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT)와 Ogawa 배지를 이용한 결핵균의 신속검출

권오건, 조현미, 장인호, 어 영, 윤갑준

연세대학교 원주의과대학 임상병리학과학교실

Rapid Detection of Mycobacteria using Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) and Ogawa Media

Oh-Gun Kwon, M.D., Hyun Mi Cho, M.T., In Ho Jang, M.S., Young Uh, M.D., and Kap Jun Yoon, M.D.

Department of Clinical Pathology, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, Korea

Background : As many as several weeks of incubation may be necessary for the recovery of mycobacteria when conventional culture media are used. Previous studies evaluating Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) as a rapid for the growth and detection of mycobacteria from clinical specimens have been reported. We compared MGIT with Ogawa media for the recovery of mycobacteria from clinical specimens.

Methods : Ninety nine clinical specimens received in the laboratory of Wonju Christian Hospital from June to September 1999 were used for this study. The specimens from nonsterile body sites were digested, decontaminated, and concentrated for culture and Ziehl-Neelsen stain, and specimen were inoculated onto MGIT tube and 3% Ogawa egg medium, and cultured for 8 weeks.

Results : Of the 38 specimens culture-positive for mycobacteria, 3 grew isolates in MGIT medium only, 8 grew isolates in Ogawa media only, and 27 grew isolates in both media. Mean (median, range) times to detection of mycobacteria were 13.7 (5.5, 2-48) days with MGIT and 19.6 (18, 13-37) days with Ogawa ($P>0.05$). The number recovered with MGIT plus Ogawa media was 24 (63.2%) within 14 days of receipt of specimen, and 31 (81.6%) within 21 days. The contamination rates were 31% for MGIT and 1% for Ogawa media.

Conclusions : MGIT appears useful to quickly detect and identify mycobacteria from clinical specimens. However, because the number of culture-positive specimen in MGIT was not greater than those recovered with Ogawa media, MGIT should be used in combination with solid media to reduce turnaround times and increase the isolation rate. (*Korean J Clin Microbiol* 2000;3:116-120)

Key words : Mycobacterium, MGIT, Ogawa media

서 론

세계보건기구(WHO)에서는 매년 8백만 명의 새로운 결핵 환자가 발생하고 3백만 명이 결핵으로 사망하는 것으로 추정하고 있으며[1] 우리나라에서는 아직도 유

행이 되고 있고 결핵감염률이 32.3%, 활동성 폐결핵 유병률이 1.8%에 이른다고 한다[2-4]. 미국에서는 1985년까지 감소하는 추세였다가[1] 외국인의 자국내 출산, 후천성 면역결핍증의 유행, 활동성 감염전파의 증가 등으로 인하여 다시 증가하여[5] 1992년에 가장 많은 유병률을 나타냈고 그 이후에는 다시 감소하고 있다[6].

결핵의 진단에는 검체를 배양하여 *Mycobacterium tuberculosis*를 동정하는 것이 중요하지만[7] 현재 많이 사용되고 있는 Ogawa 배지와 Middlebrook 배지,

접수번호 : JM 3-2-2

교신저자 : 어 영

(220-701) 강원도 원주시 일산동 162

원주기독병원 임상병리과

TEL : 033) 741-1593 FAX : 033) 731-0506

Lowenstein-Jensen 배지에 배양하여 동정하는 경우에 6-10주가 소요되므로[2] Centers for Disease Control and Prevention (CDC)의 권고[8]에 따라 *M. tuberculosis*를 21일 내에 동정하기는 어려운 일이다.

결핵균의 배양여부를 신속히 검출하기 위한 방법으로 BACTEC 460이 개발되어 미국에서는 널리 사용되고 있으며[9] 이후에 소개된 Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT)는 BACTEC 460과 비슷한 정도의 예민도와 검출시간을 가지고 있어 결핵균을 신속히 동정하는데 매우 유용할 것으로 보고되었다[10]. 본 연구에서는 전통적 배양방법인 Ogawa 배지와 MGIT를 이용한 결핵균 검출방법이 결핵균 검출능력과 검출시간을 비교하여 향후 결핵균의 조기 보고에 도움을 주고자 하였다.

재료 및 방법

1999년 6월부터 9월까지 원주기독병원에서 결핵균 배양이 의뢰된 99검체를 대상으로 항산균 도말염색, Ogawa 배지 및 MGIT를 이용한 배양 검사를 시행하였으며 검체는 객담이나 기관지 세척액(bronchial washings), 흉수, 소변 등이었다.

검체의 소화, 오염제거 및 MGIT 접종은 다음과 같이 시행하였다. 즉, 객담과 소변은 동량의 3% NaOH를 첨가하여 진탕기로 15분간 진탕한 다음 3000×g에서 15분간 원심한 후 상청액을 조심스럽게 따라버리고 남은 침전물을 멸균한 Pasteur pipette을 이용하여 도말을 만들고 MGIT와 Ogawa 배지에 접종하였으며 나머지 부유액은 잠균오염시 염색을 위해 보관하였다. 기관지 세척액과 흉수 등의 체액은 무균적으로 채취되었으면 바로 접종하였고 잠균오염이 예상되면 객담과 같은 전처리 과정을 시행하였다.

BBL MGIT™ (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, USA)에는 제조사의 설명서에 따라 BBL MGIT OADC 0.5 mL와 BBL MGIT PANTA 0.1 mL를 첨가한 후에 0.5 mL의 농축한 검체를 접종하고 37℃에 배양하였다. 판독은 접종 2일부터 매일 자외선을 조사하여 형광이 있는 경우 양성으로 판독하였고 음성인 경우에는 8주까지 배양하여 판독하였다. 양성대조는 내용물을 따라버린 MGIT 튜브에 0.4% sodium sulfite 용액을 5 mL 넣고 최소 1시간 이상 방치하여 사용하였으며 음성대조는 접종하지 않은 튜브를 이용하였다. 양성으로 판독된 검체는 다시 항산균 도말염색을 시행하여 항산균이 발견되지 아니한 경우에는 세균오염으로 간주하였다. Ogawa 배지는 자체 제조하였으며 검체를 배지에 접종하여 37℃에서 배양하였고 배양 8주까지 매일 한 번씩 관찰하였다. 항산균 도말염색은 Ziehl-Neelsen 법으로 시행하였다. 결핵균의 동정은 항균제 감수성검사가 의뢰된 경우에는 결핵협회의 결과를 이용하였고

배양만이 의뢰된 경우에는 집락이 담황색을 띠고 표면이 거칠고 경계가 불규칙하며 niacin 시험에서 양성이면 *M. tuberculosis*로 동정하였다.

배양 방법에 따른 검출시간의 비교는 SPSS for Windows (version 8.0)를 이용하여 paired Wilcoxon test 및 McNemar test (Yates' correction)를 시행하였다.

결 과

검체는 모두 99예였고 종류로는 객담이 60예(61%), 기관지 세척액 24예(24%), 흉수 5예, 농 3예, 소변 3예, 그 외에 창상, 복수 등의 검체가 4예였다.

항산균 도말염색에 양성인 검체는 33예이었으며 이 중에 MGIT 및 Ogawa 배지에 양성인 경우가 각각 25예 및 30예였고 음성인 경우가 8예 및 3예였다. 항산균 도말염색에 음성인 검체는 66예이었으며 이 중에 MGIT 및 Ogawa 배지에 양성인 경우가 각각 5예씩 있었고 음성인 경우가 각각 61예씩 있었다(Table 1). MGIT에 양성인 검체는 30예였고 Ogawa 배지에서 양성인 검체는 35예였다. MGIT와 Ogawa 배지에 모두 양성인 검체는 27예, MGIT 또는 Ogawa 배지에만 양성인 검체는 각각 3예 및 8예이었다(Table 2).

배양 양성인 38검체 중 36검체에서는 *M. tuberculosis*가 동정되었고 2검체에서는 *M. tuberculosis* 이외의 mycobacteria가 동정되었으며 이 2균주는 MGIT와 Ogawa에서 모두 양성이었다.

MGIT 및 Ogawa 배지에서의 배양 결과가 양성으로 판독되기까지 소요된 기간은 각각 평균 13.7일(중앙값: 5.5일, 범위: 2-48일)과 19.6일(중앙값: 18일, 범위: 13-37일)로 MGIT에서 더 빨리 검출되었으나 통계학적인 의미는 없었다(Table 3, Fig. 1)

14일 내에 결핵균이 검출된 경우는 MGIT와 Ogawa 배지에서 각각 20예(52.6%) 및 5예(13.2%)였고, 21

Table Comparison of the direct smear with the culture results

Direct smear	MGIT		Ogawa		Total
	Positive	Negative	Positive	Negative	
Positive	25	8	30	3	33
Negative	5	61	5	61	66
Total	30	69	35	64	99

Table 2. Number of mycobacteria recovered with MGIT and Ogawa media

MGIT	Ogawa		Total
	Positive	Negative	
Positive			30
Negative			69

Table 3. Mean time to detection of mycobacteria from clinical specimens

Specimen	Mean (median, range) of detection time (day)		
	MGIT	Ogawa	P value
Sputum	13.2 (3.5, 2-41)	19.2 (18, 14-37)	0.192
Bronchial washing	16.1 (10, 2-48)	18.8 (18, 13-22)	0.285
Total	13.7 (5.5, 2-48)	19.1 (18, 13-37)	0.105

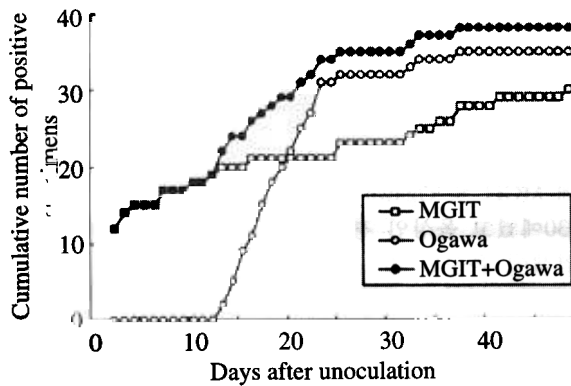


Fig. 1. Number of positive results of each media according to days after inoculation.

일 내에 양성으로 판독된 검체는 각각 21예(55.3%), 25예(65.8%)였으며 MGIT 또는 Ogawa 배지에서 14일과 21일 내에 검출된 경우는 각각 24예(63.2%) 및 31예(81.6%)였다. 배지의 오염률은 MGIT와 Ogawa 배지에서 각각 31% 및 1%였다.

고 찰

Mycobacteria의 성장은 매우 느려 generation time이 2시간에서 20시간까지의 범위를 갖고, 육안으로 볼 수 있는 집락의 형성은 종에 따라 배양 후 2일에서 8주가 걸린다[1]. 이런 느린 성장 속도는 환자로부터 결핵균을 분리, 동정하고 항균제 감수성 검사를 시행하여 실제 임상에 적용하기에 어렵게 하는 원인이 되고 있다. 따라서 빠르게 결핵균을 배양하여 검출하는 것이 환자의 진단과 치료에 매우 중요하며 이를 위하여 BACTEC 460, MGIT, 중합효소연쇄반응 등을 이용한 방법이 개발되었다.

BACTEC 460은 고체배지에 배양할 때보다 결핵균을 민감하고 신속하게 검출할 수 있다는 장점이 있으나 고가의 장비 및 시약이 필요하며 검사비용이 비싸고, 방사성 폐기물의 처리 등의 단점이 있고[11,12] 중합효소연쇄반응법은 민감도가 높을 뿐 아니라 특이도 면에서도 좋은 성적을 보지만[13] 오염에 의하여 위양성으로 나타나거나 임상적으로 문제를 일으키지 않는 균을 검출할 수도 있다[14]. 비교적 최근에 개발되어 쓰

이고 있는 MGIT는 배양 양성률이 BACTEC 460과 비슷하게 높다는 보고도 있으나[10,12], 더 낮거나 고체배지에 배양했을 때와 비슷하다는 보고도 있다[15,16]. 배양에 걸리는 시간도 보고자에 따라 차이가 있는데 BACTEC 460에 비해 MGIT의 검출시간이 더 길거나[12] 비슷하며[15] 고체배지에 배양할 때보다는 매우 빠르게 검출된다고 하였다[12,15].

본 연구에서도 Ogawa 배지에서 접종 후 18일에 50%가 검출된 반면 MGIT에서는 접종 후 5-6일 이내에 50%를 검출할 수 있었다. 또한 접종 2일에 검출된 것이 전체 양성 검체 38예 중 12예(31.6%)에 달하여 일부 검체에서는 Ogawa 배지에 접종하는 것보다 매우 빠르게 검출됨을 알 수 있었다.

Tenover 등[17]은 24시간 내에 항산균 도말염색의 보고, 10-14일 내에 *M. tuberculosis* 동정, 15-30일 내에 항균제 감수성 검사 보고를 추천하였고, CDC에서는 *M. tuberculosis*를 21일 내에 임상검체로부터 동정하도록 권고하고 있다[8]. 본 연구에서 21일 내에 양성인 경우는 Ogawa 배지가 MGIT보다 조금 많았지만 14일 내에는 MGIT에서 훨씬 더 많은 수가 검출된 것을 알 수 있었다. 또 MGIT와 Ogawa 배지에 접종한 결과를 종합해 볼 때 14일과 21일내 검출이 각각 24예(63.2%), 31예(81.6%)로 한가지 방법만 시행할 때보다 민감도가 높아지고 검출시간이 단축됨을 알 수 있었다.

결핵균의 검출시간을 단축시키는 중요한 요소인 BACTEC 460이 많이 보급된 미국에서는 21일 내에 동정할 수 있는 기관이 64.7% (75/116)에 이르나[9] 국내에서는 1999년까지 이 장비를 사용하는 기관이 1개에 불과하였다[18]. 우리나라 결핵전문병원과 3차병원을 포함한 거의 모든 병원에서는 mycobacteria를 배양할 때 계란기초배지인 Ogawa 배지 한 종류에만 접종하여 배양하고 있으며[18], 그 중에서도 대부분은 여러 개의 배지에 접종하지 않고 한 개의 배지에만 접종하여 접종 후 처음 집락을 관찰할 수 있을 때까지의 기간은 배지 종류에 따라 평균 24일에서 31일이었다[19]. 이와 같은 국내 현실에 MGIT를 이용하면 고가의 장비도 필요하지 않고 방사성 폐기물도 배출되지 않으며 배양 결과를 조기에 알 수 있으므로 국내의 결핵균 배양 및 동정에 아주 적합할 것으로 생각된다. 자동화된 기기인 MGIT 960 system을 이용하는 경우에 결

핵균 검출능력과 검출시간이 BACTEC 460과 비슷한 성적을 보였지만[20] 자동화된 기기를 이용하지 않더라도 MGIT를 이용할 수 있다. MGIT의 검출시간은 Ogawa 배지보다 짧았지만 균 검출능력은 Ogawa 배지와 비슷하여 MGIT와 Ogawa 배지에서 양성인 각각 30예, 35예였으며 이는 황 등[16]이 41검체 중 각각의 배지에서 27검체와 26검체에서 양성 결과를 보여주었던 것과 비슷하였으나, Cornfield 등[10]과 Badak 등[12]이 MGIT의 mycobacteria 검출능력이 BACTEC 460과 비슷하다고 한 것이나 Pfyffer 등[15]과 Hanna 등[21]이 고체배지에 배양했을 때보다 민감하였다는 것과는 차이가 있었다. 따라서 결핵균을 검출하기 위해 MGIT만 단독으로 사용하는 것보다는 Ogawa 배지에도 동시에 배양하는 것이 바람직할 것이다.

MGIT를 이용하는데 최대의 문제점은 오염률이 높다는 것이다. Ogawa 배지에 접종한 경우 오염률이 1%였던 것에 비해 MGIT에 접종한 경우 31%로 매우 높았는데 이는 Cornfield 등[16]의 29.8%나 황 등[16]의 34.9%와 비슷하였다. Cornfield 등[10]은 검체의 소화에 4% NaOH를 사용하였는데 이것을 6%로 바꾸면서 오염률을 12%로 감소시켰다. Pfyffer 등[15]의 보고에서는 MGIT의 오염률이 검사기관에 따라 2.0%에서 13.8%였는데, 이렇게 오염률이 높은 이유는 MGIT가 BACTEC보다 배지내의 영양성분이 풍부하기 때문이거나[10] 검체 채취 후 검사실로 검체를 보내는 시간이 1-5일 지체되었기 때문이라고[15,21] 하였다. 본 연구에서 MGIT의 오염률이 높은 이유는 NaOH의 농도와 연관성과 시험한 검체 대부분이 객담이었기 때문일 것으로 생각되었으나 정확한 원인은 알 수 없었다. 고체배지에서의 오염률은 연구자에 따라 2.6%에서 21.1%로 다양하게 보고되었으나[16,20,22] 본 연구기간중에는 1%로 다른 보고에 비해 오염률이 낮은 편이었다. 따라서 MGIT의 검체의 소화에 사용하는 NaOH의 농도는 각 검사실의 환경에 맞게 조절해야 할 것으로 생각되었다.

요 약

배 경 : 전통적인 방법으로 결핵균을 검출하기 위해서는 수주 동안의 배양 시간이 필요하다. Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT)는 비교적 조기에 결핵균을 검출할 수 있는 것으로 알려져 본 연구에서는 MGIT와 Ogawa 배지의 결핵균 검출을 비교하였다.

방 법 : 1999년 6월부터 9월까지 결핵균 배양이 의뢰된 99검체를 대상으로 소화와 오염제거 및 원침 후 항산균 도말염색을 하고 MGIT와 Ogawa 배지에 접종하여 8주간 관찰하였다.

결 과 : 항산균 도말염색에 양성인 검체가 33예(33.3%)였다. 배양 양성인 전체 38검체 중에 MGIT와

Ogawa 배지에 모두 양성인 검체는 27예, MGIT 또는 Ogawa 배지에만 양성인 검체는 각각 3예 및 8예였다. MGIT 및 Ogawa 배지에서의 결핵균이 검출되기까지 소요된 기간은 각각 평균 13.7일(중앙값: 5.5일, 범위: 2-48일)과 19.6일(중앙값: 18일, 범위: 13-37일)이었으나 통계학적으로 유의하지는 않았다. MGIT 또는 Ogawa 배지에서 14일과 21일 내에 결핵균이 검출된 경우는 각각 24예(63.2%) 및 31예(81.6%)였다. 배지의 오염률은 MGIT와 Ogawa 배지에서 각각 31% 및 1%였다.

결 론 : MGIT는 임상검체로부터 결핵균을 검출하여 동정하는데 빠르고 유용하였다. 그러나 MGIT의 양성률이 Ogawa 배지보다 높지 않으므로 두 가지 방법을 동시에 이용함으로써 검출률을 높이고 검출시간을 단축시킬 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

1. Metchock BG, Nolte FS, Wallace RJ Jr. Mycobacterium. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. Washington DC: ASM press, 1999;399-437.
2. 유철규 및 심영수. 결핵의 진단. 대한의학협회지 1991;34:484-98.
3. 홍영표. 결핵의 현황. 대한의학협회지 1993;36:236-41.
4. 국립보건원. 한국의 결핵실태. 감염병발생정보 1995; 6:25-8.
5. Cantwell MF, Snider DE Jr, Cauthen GM, Onorato IM. *Epidemiology of tuberculosis in the United States, 1985 through 1992*. JAMA 1994;272:535-9.
6. Centers for Disease Control and Prevention. *Tuberculosis morbidity - United States, 1997*. Morbid Mortal Weekly Rep 1998;47:253-7.
7. Comstock GW and O'Brien RJ. Tuberculosis. In: Evans AS and Brachman PS. *Bacterial infections of humans* 2nd ed., New York, Plenum Medical Book Company, 1991;745-71.
8. Centers for Disease Control and Prevention. *Meeting the challenge of multidrug-resistant tuberculosis: summary of a conference*. Morbid Mortal Weekly Rep 1992;41(RR-11):51-7.
9. Denniston MM, Bird BR, Kelly KA. Contrast of survey results between state and an cohort of nonstate mycobacteriology laboratories: changes in laboratory practices. J Clin Microbiol 1997;35:422-6.
10. Cornfield DB, Beavis KG, Greene JA, Bojac M, Bondi J. Mycobacterial growth and bacterial contamination in the Mycobacteria Growth Indicator Tube and BACTEC 460 culture systems. J Clin Microbiol 1997;35:2068-71.

11. 이경인. 임상검체에서 결핵균 검출을 위한 BACTEC 460TB의 유용성. 대한임상병리학회지. 1997;17:89-98.
12. Badak ZF, Kiska DL, Setterquist S, Hartley C, O'Connell MA, Hopfer RL. *Comparison of Mycobacteria Growth Indicator Tube with BACTEC 460 for detection and recovery of mycobacteria from clinical specimens. J Clin Microbiol* 1996;34:2236-9.
13. 이기은, 조지현, 문영희. 객담에서 결핵균 검출을 위한 염색법과 중합효소연쇄반응법 및 배양법간의 비교. 대한임상병리학회지 1998;18:201-7.
14. Beige J, Lokies J, Schaberg T, Finckh U, Fischer M, Mauch H, et al. *Clinical evaluation of a Mycobacterium tuberculosis PCR assay. J Clin Microbiol* 1995;33:90-5.
15. Pfyffer GE, Welscher H-M, Kissling P, Cieslak C, Casal M, Cutierrez J, et al. *Comparison of the mycobacteria growth indicator (MGIT) with radiometric and solid culture for recovery of acid-fast bacilli. J Clin Microbiol* 1997;35:364-8.
16. 황상현, 김미나, 배직현. 결핵균 검출에 있어서 MGIT와 Ogawa 배지의 비교. 대한임상병리학회지 1997;17(부록 2):S378.
17. Tenover FC, Crawford JT, Huebner RE, Geiter LJ, Horsburgh CR Jr, Good RC. *The resurgence of tuberculosis: Is your laboratory ready? J Clin Microbiol* 1993;31:767-70.
18. 김미나, 이선화, 양성은, 배직현. 국내 3차 및 대학병원에서의 결핵균 검사 실태조사. 대한임상병리학회지 1999;19:86-91.
19. 신정환, 장철훈, 이선희, 김성률, 손한철, 김순호. 계란 기초배지를 이용한 Mycobacteria 배양 성적의 비교. 대한임상병리학회지 1998;18:554-8.
20. Hanna BA, Ebrahimzadeh A, Elliott LB, Morgan MA, Novak SM, Rusch-Gerdes S, et al. *Multicenter Evaluation of the BACTEC MGIT 960 System for Recovery of Mycobacteria. J Clin Microbiol* 1999;37:748-52.
21. Hanna BA, Walters SB, Bonk SJ, Tick LJ. *Recovery of mycobacteria from blood in Mycobacteria Indicator Tube and Lowenstein-Jensen Slant after Lysis-Centrifugation. J Clin Microbiol* 1995;33:3315-6.
22. Palaci M, Ueki SYM, Sato DN, da Silva Telles MA, Curcio M, Silva EAM. *Evaluation of Mycobacteria growth indicator tube for recovery and drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis isolates from respiratory specimens. J Clin Microbiol* 1996;34:762-4.
23. 최윤미 및 이명희. 결핵균 배양기기 BACTEC MGIT 960 System의 평가. 대한임상병리학회지 2000;20:56-61.