

미생물 검사실의 결핵균 배양 위양성의 빈도

장철훈, 서대영,* 박태희, 박정선, 황원주

부산대학교병원 임상병리과, 동아대학교병원 임상병리과*

Incidence of False-Positive Cultures of *Mycobacterium tuberculosis* in A Microbiology Laboratory

**Chulhun L. Chang, M.D., Dae Young Seo, M.D.,* Tae Hee Park, M.D., Jeong Seon Park, M.D.,
and Weon Joo Hwang, M.T.**

Department of Clinical Pathology, Pusan National University Hospital, Pusan; Department of Clinical Pathology, Dong-A University Hospital, Pusan, Korea*

Background : Mycobacterial false-positive cultures have rarely been recognized in Korea, even though the rate of false-positive cultures of *Mycobacterium tuberculosis* has ranged from 0.4% to 4.0%. We estimated the false-positive rates by the review of medical records from whom mycobacterial cultures were requested, retrospeavely, after a bout of false-positive cultures was discovered in specimens treated in a single day.

Methods : Of the total 2,245 specimens, including 337 positive cultures of mycobacteria, during the period of January and June 1999, seventy-two specimens that showed colonies less than or equal to 5 colonies were reviewed, and classified as tuberculosis-likely group, tuberculosis-unlikely group and unclassifiable group by the clinical and radiological evidences, anti-tuberculosis therapy, and microbiological results.

Results : Tuberculosis-unlikely group was 21 specimens from 20 patients, and unclassifiable group was five specimens from four patients. So, the false-positive rates were estimated as 0.9-1.1% of total cultures and 6.2-7.7% of positive cultures, according to excluding or including the unclassifiable group.

Conclusion : Care should be taken for lowering false-positive mycobacterial cultures. Especially when a culture turned out to be positive with low colony isolates, more careful interpretations should be preceded before reporting the results by the review of medical records and communication with physician in charge. (*Korean J Clin Microbiol* 2001;4:40-44)

Keywords : *Mycobacterium tuberculosis* culture, False-positive culture, Laboratory cross-contamination

서 론

결핵균은 어떤 검체에서나 소수의 집락만 검출되어

도 분명한 병원균으로 생각하기 때문에[1] 대부분의 검사실 종사자는 결핵균의 배양 결과를 관독할 때 위양성의 가능성은 잘 염두에 두지 않는다. 더구나 결핵균은 성장 속도가 느리기 때문에 위양성을 인지하기가 어렵고 오염원을 밝혀 내기도 쉽지 않다. 그러나 외국에서의 보고에 의하면 결핵의 빈도가 낮은 나라에서도 위양성의 발생 비율이 총 배양 건수의 0.4%에서 3.5%에 이른다 [2-4]. 우리나라는 결핵의 유병률이 1% 정도로 매우 높기 때문에[5], 외국에 비해서 인접 검체의

접수번호 : CM 4-1-7

교신저자 : 장철훈

(602-739) 부산광역시 서구 아미동 1가 10

부산대학교 의과대학 임상병리학교실

Tel : 051) 240-7417 Fax : 051) 247-6560

E-mail : cchl@hyowon.cc.pusan.ac.kr

교차 오염으로 인한 위양성의 비율이 더 높을 것으로 추정할 수 있다. 그렇지만 우리나라에는 결핵균의 위양성 결과에 대한 보고가 본 저자들이 분자생물학적으로 규명하여 보고한 예[6] 이외에는 찾아볼 수 없었다. 이 보고에서 저자들은 부산대학교병원 임상병리과에서 하루에 처리한 배양 검체에서 교차 오염에 의한 집단 위양성이 발생하였음을 제한효소절단분절의 다형성 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 분석을 이용하여 확인하였다. 이렇게 위양성에 대한 보고가 드문 이유는 결과를 관찰할 때 위양성의 가능성을 고려하지 않았기 때문이라고 생각된다. 따라서 저자들은 부산대학교병원 임상병리과의 검사 결과를 재검토하여 위양성의 빈도를 추정하여 보았다.

재료 및 방법

1999년 1월부터 6월까지 6개월간 부산대학교병원에서 마이코박테리아의 배양이 의뢰된 검체는 모두 2,245검체로, 이 중 마이코박테리아가 자란 검체는 총 337검체(15.0%)였다. 결핵의 위양성의 가능성이 있는 검체는 결핵균이 자란 검체 중에서 주로 집락수가 5개 이하(LCI; low colony isolate)로 매우 적게 자라기 때문에[7], 이들을 대상으로 검사 결과 및 의무 기록을 검토하였다. 검토 결과를 3개의 군으로 나누어, 진양성 군은 염색 결과, 다른 날의 배양 결과, 방사선 촬영 소

견, 임상 진단, 항결핵제의 투여 여부 등을 종합적으로 판단하여 결핵의 증거가 명백한 군, 위양성군은 다른 결핵의 증거가 전혀 없는 군, 분류불가군은 결핵인지 아닌지를 판단하기 힘든 애매한 군으로 정하였고, 이를 근거로 하여 위양성의 빈도를 추정하였다.

결 과

1. LCI로 집락이 자란 배양례

집락이 5개 이하인 배양 검체의 수는 총 72환자로부터 유래한 82검체로 전체 배양 건수의 3.7%, 배양 양성 건수의 24.3%였다(Table 1). 그 중 결핵균이 자란 72검체에 대해서 검체의 분포를 보면(Table 2) 객담과 기관지세척액 등 호흡기 검체가 83.3%로 전체 검사의 된 건수에서 호흡기 검체가 차지하는 비중과 유사하였다.

2. 진양성으로 간주되는 군

LCI를 진양성으로 간주할 수 있었던 군은 총 38명으로부터 유래한 46검체로, 결핵균이 LCI로 검출된 72검체의 63.9%에 해당하였다 (Table 3). 이들을 진양성으로 간주할 수 있었던 근거는 16명에서 LCI가 검출된 동일 검체 또는 반복적으로 시행한 도말 및 배양 검체에서 AFB 염색 양성의 소견과 함께 흉부 X-선 소견상 결핵의 증거가 있었고, 10명에서는 반복적으로 시행한 다른 호흡기 검체에서 배양 양성의 소견을 보이면서 흉부 X-선 소견상 결핵의 증거가 있었다. 6명에서는 다른 미생물학적인 결핵의 증거는 발견되지 않았으나 X-선 소견의 증거와 함께 임상적으로 결핵을 의심하여 항결핵 치료를 실시하였다. 1명에서는 동시에 시행한 Gen-Probe test (AccuProbe, Gen-Probe Inc., USA)에서 양성을 보였다. 나머지 5명의 환자는 호흡기 이외의 검체로서 골결핵으로 수술 후 골조직을 배양한 환자 1명, 결핵성 늑막염으로 흉수를 배양한 환자 3명, 다제 내성 결핵균에 의한 감염 환자로 폐엽 절제술 후의 폐

Table 1. Culture positive rates and species distribution of mycobacteria

Total mycobacterial cultures requested	2245
Total positive cultures	337 (15.0%)
Positive cultures of low colony isolates	82 (3.7%)*
<i>M. tuberculosis</i>	72
<i>M. fortuitum</i>	5
<i>M. phlei</i>	2
<i>M. szulgai</i>	2
<i>M. avium</i>	1

* 24.3% of total positive cultures

Table 2. Specimens and probable diagnosis from which *M. tuberculosis* low colony isolates were found

Specimen	No. of isolates (No. of patients)	Tb-likely	Tb-unlikely	Doubtful
Sputa	55(49)	31	19	5
Bronchial washings	5(5)	3	2	
Pleural fluids	8(6)	8		
Cerebrospinal fluid	1(1)	1		
Bones	3(1)	3		
Total	72(62)	46	21	5

Abbreviation. Tb, tuberculosis.

Table 3. Analysis of tuberculosis-likely patients

Evidence of tuberculosis	No. of patients
Positive AFB stain in the same or repeated specimens and radiologic evidence of tuberculosis	16
Positive culture(s) in repeated specimens and radiologic evidence of tuberculosis	10
Radiologic and clinical evidences of tuberculosis, and anti-tuberculosis therapy	6
Positive Gen-Probe test	1
Non-respiratory specimens	
Bone tuberculosis	1
Tuberculous pleurisy	3
Lung tissue after lobectomy	1

Table 4. Diagnosis other than tuberculosis in the tuberculosis-unlikely patients group

Diagnosis	No. of patients
Bacterial pneumonia	6
Bronchitis	5
Bronchiectasis	2
Old pulmonary tuberculosis	1
Chronic obstructive pulmonary disease	1
Pneumothorax	1
No pulmonary diseases	4

조직으로 배양한 환자 1명이었다.

3. 위양성으로 간주되는 군

LCI를 위양성으로 간주할 수 있었던 군은 총 20명의 환자에서 유래한 21개의 검체로 전체 LCI 검출 72건의 29.2%에 해당하였다 (Table 4). 위양성으로 간주한 근거는 반복 검체에서 도말 및 배양이 모두 음성이었고, 흉부 X-선 소견에서 결핵의 증거가 없었으며 항결핵 치료를 실시하지 않았고, 결핵 이외의 다른 질환으로 진단된 환자였다.

4. 분류불가군

진양성 또는 위양성으로 구분할 수 없었던 군은 4명의 환자로부터 유래한 5개의 검체로 전체 LCI 검출 72검체 중 6.9%를 차지하였다. 이들은 모두 흉부 X-선 소견에서는 결핵을 의심할 수 있었으나 반복적인 검사에서 미생물학적인 결핵의 증거가 발견되지 않았으며 항결핵제를 투여받지 않은 환자였다.

고 찰

검사실에서 기인된 결핵균 배양의 위양성에 대한 보고는 너무 많아서 일일이 열거하기도 힘들 지경이다[2-4, 7-18]. 그러나 대부분의 검사실에서는 이에 대한 가

능성을 거의 고려하고 있지 않다. 더구나, 공식적으로 결핵 진단의 지침으로 제시하고 있는 문헌에서도 이에 관한 주의를 언급하고 있지 않을 뿐만 아니라[19], 국내외의 유명 교과서에서도 결핵균은 하나만 있어도 분명한 병원균임을 명시하고 있다[1, 20]. 결핵균이 비록 소수일지라도 검체 그 자체에 존재한다면 병원균임에 틀림없을 것이다. 그러나 경우에 따라서는 검체를 처리하여 배지에 증식시킨 후에 거기에서 자란 것이 본래의 검체에 있었던 것과 동일하지 않을 수도 있을 것이다. 그것은 위에 인용한 수많은 위양성 보고의 문헌들을 보아도 자명하다. 이에 관해서 정리되어 있는 최근의 종설을 참조하여 위양성을 기전별로 분류해 보면 [21], 검사실의 교차오염에 의한 경우 뿐만 아니라 기관지내시경과 같은 기구의 오염에 의한 경우나 단순한 사무적인 실수에 의한 경우도 있을 수 있다. 그러나 본 연구에서 중점적으로 분석하고 고찰하는 부분은 전자이다. 검사실의 교차 오염은 전체 배양 건수의 0.4-4%에 이르며, 배양 양성 건수의 2-10%가 위양성으로 분석되었다. 본 검사실에서는 LCI를 분석한 결과 분류불가군의 포함 여부에 따라 위양성 비율이 전체 배양의 회전수의 0.9-1.1%, 배양 양성 검체의 6.2-7.7%를 보였다. 이 비율은 외국의 다른 보고들과 유사하긴 하지만, 이것이 모두 검사실의 교차오염에 의한 것이라는 증거는 없다. 또 다른 모든 검사실에서도 상황이 비슷할 것이라는 비약은 할 수 없다. 그리고 본 병원의 결핵 검사 건수가 최근 수년간 200-300%정도 증가하였기 때문에 검사량의 증가에 따른 부주의가 위양성을 높였을 가능성이 있다. 하지만 외국의 문헌에 미루어 본다면 우리 나라의 다른 검사실에서도 위양성이 전혀 발생하지 않는다고 확신할 수는 없다. 그러면 왜 우리나라의 검사실에서는 위양성이 인지되지 않는가? 단순히 자라는 기간이 길기 때문에 모르고 지나갈 수 있다는 것 이외에 저자는 다음의 몇가지 이유를 들고 싶다. 첫째는 결핵의 유병률이 너무 높기 때문이다. 유병률이 매우 낮은 나라에서는 배양 양성인 검체가 상대적으로 매우 적을 것이며, 배양 양성 환자에 대한 검토가 치밀할 것이다. 그러나 우리 나라는 결핵 환자가 많아서 임

상적으로 또는 방사선학적으로 약간의 의심이 가는 경우에 배양 양성이라면 주저없이 결핵으로 진단할 개연성이 높다. 둘째는 배양용 배지의 선택이다. 최근에는 상품화된 액체 배지의 사용이 늘어나고 있지만 수년 전까지만 해도 거의 모든 병원에서 배양을 상대적으로 배양 성적이 떨어지는 오가와 배지에만 의존했다[22]. 이 경우에는 염색에서 양성인 검체조차도 배양에 실패하는 경우가 드물지 않다[23]. 따라서 이와 같은 상황에서는 결핵 배양의 위양성보다는 위음성을 먼저 고려하게 될 것이다. 마지막으로 임상의사와의 정보 교류의 부족과 아울러 검사자의 관심 부족이 아닐까 생각한다.

교차오염에 의한 위양성의 원인으로는 검체의 액화와 잠균 제거를 위한 목적의 NaOH-NALC와 같은 용액 또는 중화를 위한 완충액을 분주할 때 비말이 분주기의 입구를 오염시키는 경우가 많고, 오염된 용액에 의한 경우도 있다[7, 9, 14]. 생물학적 안전상자의 공기 흐름의 장애로 인한 교차오염의 가능성도 있다[11]. 그리고 본 연구에서도 그 기준을 적용한 바와 같이 위양성은 반복적인 검사에서 모두 도말이 음성인면서 한 검체에서만 LCI로 자라는 경우가 많다고 한다 [7]. 따라서 교차오염을 줄이고, 최종적으로 위양성 결과의 보고를 줄이기 위해서는 다음과 같은 방법이 요구된다 [6]. 즉, 액화 용액과 중화제는 매일 새로운 병에 들어 있는 것을 사용하며, 이를 검체가 들어있는 관에 분주할 때 용액이 검체에 직접 떨어지지 않고 비말도 만들어지지 않도록 관벽을 따라 조심스럽게 흘려 내린다. 원심분리할 때에는 원심분리기의 뚜껑은 물론이고 시험관도 모두 뚜껑을 막아야 한다. 분주기의 끝부분은 매 검체에 분주한 후 알코올 솜으로 닦는다. 혹시 오염이 생긴 경우에는 오염원을 밝히기 쉽게 하기 위하여 오염제거액을 분주한 순서와 반대로 중화제를 분주한다. 음성 대조검체를 중간에 삽입하여 검사를 진행한다. 검사 결과를 판독할 때 동일한 날짜에 검사가 진행된 다른 검체의 결과를 눈여겨 본다. 염색 결과는 음성인면서 한 검체에서만 LCI로 배양 양성인 경우는 환자의 병력지 검토, 같은 날 검사한 결과와 같이 검토, 임상의와의 정보 교환 등을 통하여 위양성의 가능성을 충분히 검증한다. 이상과 같은 주의를 기울임으로써 결핵균 배양의 위양성을 어느 만큼 낮출 수 있는지는 알 수 없지만, 실제 임상의에게 위양성의 결과가 보고되어 불필요한 치료에 이르게 하는 경우를 상당히 많이 줄일 수 있을 것으로 생각한다.

덧붙여서 말하고 싶은 것은, 현재는 대한임상검사정도관리협회 또는 대한임상병리학회 등 관련기관에서 실시하는 외부정도관리프로그램에 결핵균배양에 관한 것이 들어있지 않다는 것이다. 양성 검체의 처리와 배달이 중요한 장애 요인이라고 생각되지만, 이것은 매우 중요한 문제이므로 관련 기관에서는 적절한 안전

지침을 적용하여 외부정도관리를 실시할 수 있도록 방안을 제시할 필요가 있다고 생각한다.

요 약

배 경 : 결핵균 배양의 위양성의 비율이 총 배양 건수의 0.4%에서 3.5%에 이르지만, 우리나라에는 결핵균의 위양성 결과에 대한 보고가 거의 없다. 저자들에 의해 한 검사실에서 하루에 이루어진 배양 검사의 위양성이 인지된 이후 부산대학교병원 임상병리과의 검사 결과를 후향적으로 검토하여 결핵균 배양의 위양성의 빈도를 추정하였다.

방 법 : 1999년 1월부터 6월까지 6개월간 부산대학교병원에서 마이코박테리아의 배양이 의뢰된 2,245 검체, 마이코박테리아가 자란 337검체 중에서 결핵균이 5집락 이하로 자란 72검체에 대해서 검사 결과 및 의무기록을 검토하여, 진양성, 위양성, 분류불가군으로 분류한 후 위양성의 비율을 조사하였다.

결 과 : 위양성으로 간주할 수 있었던 군은 총 20명의 환자에서 유래한 21개의 검체였고, 분류불가군은 4명의 환자로부터 유래한 5개의 검체로서, 분류불가군을 위양성에 포함하는가의 여부에 따라 위양성 비율이 전체 배양 의뢰건수의 0.9-1.1%, 배양 양성 검체의 6.2-7.7%를 보였다.

결 론 : 검사실의 교차오염에 의한 결핵균 배양 위양성을 줄이기 위해 검사 진행 과정에 충분한 주의를 기울여야 하며, 특히 집락수가 5개 이하로 매우 적을 때에는 결과를 판독할 때에 충분히 의무기록을 검토하고 임상의사와 정보 교환을 하여야 할 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

1. 정윤섭, 이경원 등. 최신진단미생물학 제2판, 서울:서홍출판사, 1993; 91.
2. Wurtz R, Demarais P, Trainor W, McAuley J, Kocka F, Mosher L, et al. Specimen contamination in mycobacteriology laboratory detected by pseudo-outbreak of multidrug-resistant tuberculosis: analysis by routine epidemiology and confirmation by molecular technique. *J Clin Microbiol* 1996; 34:1017-9.
3. Dunlap NE, Harris RH, Benjamin WH, Jr., Harden JW, Hafner D. Laboratory contamination of *Mycobacterium tuberculosis* cultures. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152(5 Pt 1):1702-4.
4. Braden CR, Templeton GL, Stead WW, Bates JH, Cave MD, Valway SE. Retrospective detection of laboratory cross-contamination of *Mycobacterium tuberculosis* cultures with use of DNA fingerprint analysis. *Clin*

- Infect Dis* 1997; 24:35-40.
5. 제7차 전국결핵실태조사 결과. 보건복지부, 대한결핵 협회, 1995
 6. Chang CL, Kim HH, Son HC, Park SS, Lee MK, Park SK, et al. *False-positive growth of Mycobacterium tuberculosis attributable to laboratory contamination confirmed by restriction fragment length polymorphism analysis. Int J Tuberc Lung Dis (in submission)*
 7. MacGregor RR, Clark LW, Bass F. *The significance of isolating low numbers of mycobacterium tuberculosis in culture of sputum specimens. Chest* 1975; 68:518-23.
 8. Vannier AM, Tarrand JJ, Murray PR. *Mycobacterial cross contamination during radiometric culturing. J Clin Microbiol* 1988; 26:1867-8.
 9. Smith WB and Vance DW. *Specimen cross-contamination by a strain of Mycobacterium tuberculosis lacking nitrate reductase activity. Diagn Microbiol Infect Dis* 1991; 14:523-6.
 10. Small PM, McClenney NB, Singh SP, Schoolnik GK, Tompkins LS, Mickelsen PA. *Molecular strain typing of Mycobacterium tuberculosis to confirm cross-contamination in the mycobacteriology laboratory and modification of procedures to minimize occurrence of false-positive cultures. J Clin Microbiol* 1993; 31:1677-82.
 11. Segal-Maurer S, Kreiswirth BN, Burns JM, Lavie S, Lim M, Urban C, et al. *Mycobacterium tuberculosis specimen contamination revisited: the role of laboratory environmental control in a pseudo-outbreak. Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; 19:101-5.
 12. Nitta AT, Davidson PT, de Koning ML, Kilman RJ. *Misdiagnosis of multidrug-resistant tuberculosis possibly due to laboratory-related errors. JAMA* 1996; 276: 1980-3.
 13. Nivin B, Fujiwara PI, Hannifin J, Kreiswirth BN. *Cross-contamination with Mycobacterium tuberculosis: an epidemiological and laboratory investigation. Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; 19:500-3.
 14. Maurer JR, Desmond EP, Lesser MD, Jones WD. *False-positive cultures of Mycobacterium tuberculosis. Chest* 1984; 86:439-43.
 15. Jones WD. *Bacteriophage typing of Mycobacterium tuberculosis cultures from incidents of suspected laboratory cross-contamination. Tubercle* 1988; 69:43-6.
 16. de C. Ramos M, Soini H, Roscanni GC, Jaques M, Villares MC, Musser JM. *Extensive crosscontamination of specimens with Mycobacterium tuberculosis in a reference laboratory. J Clin Microbiol* 1999; 37:916-9.
 17. Burman WJ, Stone BL, Reves RR, Wilson ML, Yang Z, El-Hajj H, et al. *The incidence of false-positive cultures for Mycobacterium tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:321-6.
 18. Bhattacharya M, Dietrich S, Mosher L, Siddiqui F, Reisberg BE, Paul WS, et al. *Cross-contamination of specimens with Mycobacterium tuberculosis: clinical significance, causes, and prevention. Am J Clin Pathol* 1998; 109:324-30.
 19. American-Thoracic-Society. *Diagnostic standards and classification of tuberculosis. Am Rev Respir Dis* 1990; 142:725-35.
 20. Metchock BG, Nolte FS, Wallace RJ, Jr. *Mycobacterium. In: Murray PR, Baron EJ, et al, ed. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington DC.: ASM Press, 1999: 399-437.*
 21. Burman WJ and Reves RR. *Review of False-Positive Cultures for Mycobacterium tuberculosis and Recommendations for Avoiding Unnecessary Treatment. Clin Infect Dis* 2000; 31:1390-5.
 22. 김미나, 이선화, 양성은, 배직현. 국내 3차 및 대학병원에서의 결핵균 검사 실태조사. 대한임상병리학회지 1999; 19:86-91.
 23. 신정환, 장철훈, 김성률, 손한철, 김순호. 계관기초배지를 이용한 *Mycobacteria* 배양 성적의 비교. 대한임상병리학회지 1998; 18:554-8.