

## 임상검체에서 결핵균 검출을 위한 중합효소연쇄반응 및 BACTEC 배양의 유용성 검토

이창재\*, 기승정\*, 신종희\*\*\*, 서순팔\*\*\*, 양동욱\*\*\*

전남대학교 의과대학 임상병리학교실\*, 전남대학교 의학연구소\*\*

### Evaluation of a Polymerase Chain Reaction Assay and BACTEC Culture for the Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in Clinical Specimens

Chang Jae Lee, M.D.\*, Seung Jung Kee, M.D.\*, Jong Hee Shin, M.D.\*\*\*,  
Soon Pal Suh, M.D.\*\*\* and Dong Wook Ryang, M.D.\*\*\*

Department of Clinical Pathology\*, Chonnam National University Medical School;  
Research Institute of Medical Sciences\*\*, Chonnam National University, Gwangju, Korea

**Background** : The PCR assay for the detection of *M. tuberculosis* has been used for 5 years in Chonnam National University Hospital. To evaluate the reliability of the PCR assay, the PCR results were compared with those of culture and clinical diagnosis.

**Methods** : This study analyzed the results of BACTEC culture and PCR for detection of *M. tuberculosis* between Jan. 1996 and Dec. 1998. A total of 7,430 specimens for the PCR, 16,163 specimens for the TB BACTEC culture and 4,810 specimens (3,167 patients) submitted for both PCR and BACTEC culture were analyzed for the clinical evaluation of PCR.

**Results** : When compared with BACTEC culture results, PCR had a sensitivity of 66.1% (127/192) and a specificity of 97.0% (3,631/3,740) for the detection of *M. tuberculosis* in respiratory specimens. The sensitivity, specificity, positive and negative predictive values for the PCR assay for the diagnosis of tuberculosis patients were 64.7%, 98.5%, 84.8%, and 95.6%, respectively; the values for BACTEC culture were 86.7%, 100%, 100%, and 98.3%, respectively. In addition, 39 out of 71 PCR positive cases which were BACTEC culture-negative had clinical data supporting the diagnosis of tuberculosis. The average detection times were 5 hours in PCR but 15.8 days in BACTEC culture.

**Conclusions** : This study shows that PCR itself is not satisfactory enough to detect *M. tuberculosis* in clinical specimens. However, when it combines with BACTEC culture, they can be a powerful and rapid diagnostic tool to detect *M. tuberculosis* in clinical specimens.

(Korean J Clin Microbiol 2001;4(2):115-121)

**Key words** : PCR, *M. tuberculosis*, BACTEC culture

## 서 론

접수번호 : CM 4-02-05

교신저자 : 서순팔

(501-757) 광주광역시 동구 학1동 8

전남대학교병원 임상병리과

Tel : 062) 220-5341 Fax : 062) 224-2518

E-mail : spsuh@chonnam.ac.kr

1965년 5%였던 우리나라의 결핵 유병률은 1995년에는 1%로 현저히 감소하였지만[1], 류[2]는 1992년과 1994년 실시한 공무원 신검결과를 토대로 전국에서 연간 활동성 결핵환자가 약 79,000명이 발생하는 것으로 추정하였다. 그리고 우리나라에서 결핵으로 인한 사망

률이 인구 10만 명당 9.6명으로서 상대적으로 경제적으로 수준이 낮은 중국, 태국보다도 높은 실정이다[2]. 또한 결핵균 감염율은 미국을 비롯해 전세계적으로 지속적으로 감소 추세를 보이다가 AIDS, 항암제 치료로 인한 면역억제 환자 증가 등의 원인으로 인해 1985년부터 급증하여 심각한 공중 보건 문제로 재등장하였고, 여전히 세계 인류의 건강을 위협하고 있다[3].

결핵환자를 신속하고 정확히 진단함은 결핵환자 자신의 조기 치료뿐만이 아니라 다른 사람으로 전파될 기회를 차단함으로써 예방적인 차원에서도 매우 중요하다. 결핵의 검사실적 진단은 항산성 염색이나 배양을 이용해 객담과 같은 환자의 분비물에서 결핵균을 증명하는데 의존해 왔다. 그러나 항산성 염색은 민감도가 50% 정도로 낮고, 배양은 오랜 시일이 소요되며, 결핵균이 소량으로 존재하는 결핵의 초기 또는 경증 폐결핵의 경우에는 결핵균을 검출하지 못한다는 단점이 있다. 이런 문제점을 해결하고자 몇 가지 신속한 방법들이 개발되었고, 그 중에서 radiometry를 이용한 BACTEC TB system이 결핵균 검출에 시도되어 배양기간을 획기적으로 단축시켰으나, 여전히 배양기간이 2주일 이상으로 길어 결핵의 조기 진단에는 어려움이 있어 왔다[4].

반면, 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction; PCR)을 이용하면 배양 과정을 거치지 않고, 검체에서 직접 균의 존재 유무를 알아낼 수 있으므로 신속한 결핵균 검출이 가능하다. 따라서 요즘에는 PCR을 이용한 결핵균 검사가 임상에서 널리 이용되고 있으나[5-7], 실제 검사실의 장기간 경험을 보고한 문헌은 접하기 힘들고, 특히 BACTEC 배양 성적을 기본으로 PCR 결과를 서로 비교 분석한 문헌은 접하기가 더욱 힘들다.

이에 본 연구에서는 결핵균 검출을 위한 PCR 및 BACTEC 배양의 최근 성적을 비교 분석하고, 두 검사의 임상적 유용성을 검토하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

1996년 1월부터 1998년 12월까지 전남대학교병원을 방문한 환자 중에 결핵균 검출을 위해 PCR과 BACTEC 배양이 동시에 의뢰된 3,167명의 환자로부터 얻은 4,810예의 임상 검체를 대상으로 하였다.

### 2. 방법

#### 가. 중합효소연쇄반응(PCR)

DNA를 분리하기 위해 임상검체를 용해완충액으로 씻은 후, 12,600 x g로 원침시키고, 이 침사를 다시 100

$\mu\text{L}$ 의 용해완충액에 풀어 녹였다. 이 혼합액을 100℃에 30분간 두어 DNA를 유리시키고, 12,600 x g로 3분간 원침하여 상청액을 PCR검사 때 까지 -70℃에 보관하였다.

PCR은 IS6110 염기서열을 표적으로 하는 시발체를 이용해 nested PCR을 이용하였다. PCR 반응액은 DynaZyme DNA 중합효소(Finazymes Oy, Finland) 2 unit와 전반응액(premaster mix; 0.5  $\mu\text{M}$  primer, 200  $\mu\text{M}$  dNTPs, 50 mM Tris-HCl [pH 8.0], 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% Triton X-100)에 임상검체에서 추출한 DNA액 5  $\mu\text{L}$ 를 넣어 총 양이 50  $\mu\text{L}$ 가 되게 하였다.

1차 PCR은 DNA thermal cycler (Model 9600, Perkin-Elmer, USA)에 옮겨 95℃에서 5분간 preheating한 후, 94℃에서 1분간 denaturation, 68℃에서 2분간 annealing, 72℃에서 2분간 extension하는 일련의 과정을 1주기로 하여 35주기를 반복하였으며, 35주기 후에 post-extension을 72℃에서 10분간 하였다. 2차 PCR은 1차 PCR 반응액의 성분 중 outer primers를 inner primers로 교체하여 분주하였고, 검체 DNA로는 1차 PCR 산물 1 $\mu\text{L}$ 를 사용하였으며, 단지 annealing 온도를 56℃로 변경하였다.

PCR을 실시한 후 반응산물 10-15  $\mu\text{L}$ 를 취하여 여기에 2-3  $\mu\text{L}$ 의 gel loading buffer를 섞고, 2% agarose gel에 점적한 후, 0.5X Tris-boric acid-EDTA 완충액으로 80V에서 2시간동안 수평형 잠수식 전기영동을 하였고, 이후 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 ethidium bromide로 염색한 후 UV DNA transilluminator (파장 302 nm; Vilber Lourmat, France)와 SL-5 GD-photographic system (Seolin, Korea)으로 사진촬영을 하여 457 bp (1차 PCR)와 132 bp (2차 PCR) 크기의 DNA band의 유무를 각각 확인하였다.

#### 나. BACTEC 배양

BACTEC 12B 배지를 이용하여 BACTEC 460 TB system (Becton Dickinson, USA)으로 검출 하였다. BACTEC 460 TB system은 <sup>14</sup>C-labelled palmitic acid가 첨가된 Middlebrook 7H12 액체 배지에 검체를 접종한 후 37℃에서 배양을 통해 결핵균을 증균시키고, 그 과정에서 결핵균에 의한 대사산물에서 유리된 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>를 방사선 분석법으로 검출함으로써 결핵균을 확인하는 방법이다.

BACTEC TB system의 지침서에 따라 검체를 N-acetyl-L cysteine sodium hydroxide (NALC-NaOH)법으로 액화 농축 후, 0.5 mL을 PANTA 혼합액(polymyxin B, amphotericin, nalidixic acid, trimethoprim, azlocillin) 0.1 mL와 함께 BACTEC 12B 배지에 접종하고, 37℃에서 배양하였다. 성장지수(growth index; GI)가 10 이상인 경우 매일 확인하고, 100이상인 경우 항산성(Ziehl-Neelson) 염색, Gram 염색 및 혈액한천배지에 계대배양을 실시하였으며, 혈액한천배지에 다른 균의 성장이

없고 배지내 AFB 양성균만이 존재하는 경우 NAP (p-nitro- $\alpha$ -acetylamino-p-hydroxypropionophenone) 검사를 시행하였다. NAP 검사는 GI에 맞추어 BACTEC 12B 배지에 희석한 균액 1 mL을 5  $\mu$ g의 NAP가 들어있는 병에 접종시키고, 날마다 성장지수를 측정하였다. NAP에 감수성이 있으면 결핵균, 그리고 내성을 보이면 MOTT (mycobacterium other than tuberculosis)로 각각 판정하였다. GI가 10이상인 배양액에서 Gram 염색과 혈액한천 배지의 계대배양으로 오염이 확인되면 그 배양액은 4% NaOH법으로 재처리한 후, BACTEC 12B 배지와 3% Ogawa 고체배지에 동시에 접종하여 37 $^{\circ}$ C 배양기에 넣어 *Mycobacteria* spp.의 분리를 다시 시도하였다.

**다. 임상적 분석**

검체는 호흡기 검체와 비호흡기 검체로 크게 두 군으로 나눠 분석하였고, 결핵은 배양을 근거로 판정하였으며, PCR과 BACTEC 배양의 결과가 일치하지 않은 예들은 임상소견, 흉부 X-선 촬영, 제반 검사소견

및 항결핵제 투여 여부를 종합하여 판정하였다. 즉 임상증상 및 흉부 X-선 촬영상 결핵에 합당한 소견이 있어 임상외가 결핵으로 진단하였거나 결핵의 과거력이 있는 경우를 결핵으로 판정한 후 임상 진단과 두 가지 검사 결과들을 비교하였다.

**결 과**

**1. PCR과 BACTEC 배양의 양성율**

1996년부터 1998년까지 3년간 PCR과 BACTEC배양은 각각 총 7,430건과 16,163건을 시행하였고, 그 중 양성은 각각 450예 (6.0%)와 1,280예 (7.9%)이었다. 연도별 PCR과 BACTEC 배양 양성율은 매년 PCR에 비해서 BACTEC배양이 좀 더 높았고, 두 검사 모두에서 감소하는 추세이었다(Table 1).

1996년부터 1998년까지 검체별 PCR의 양성율은 객담, 기관지 폐포 흡인액 및 경기관 흡인액 등의 호흡기

Table 1. Results of PCR and BACTEC culture for detection of *M. tuberculosis* from clinical specimens

Year	PCR			BACTEC culture		
	No. of specimens		Positive rate (%)	No. of specimens		Positive rate (%)
	Total	Positive		Total	Positive	
1996	1,465	120	8.1	4,685	398	8.5
1997	3,546	183	5.1	5,938	445	7.5
1998	2,419	147	6.0	5,540	437	7.8
Total	7,430	450	6.0	16,163	1,280	7.9

Table 2. Positive rate of PCR and BACTEC culture according to sample sources

Specimens	PCR			BACTEC culture		
	No. of specimens		Positive rate (%)	No. of Specimens		Positive rate (%)
	Total	Positive		Total	Positive	
Respiratory specimens <sup>a</sup>	3,790	399	10.5	10,152	911	9.0
Fluid <sup>b</sup>	1,956	17	0.9	3,101	97	3.1
Urine	995	13	1.3	1,626	51	3.1
Pus	160	17	10.6	699	30	4.3
Blood	513	4	0.8	259	0	0.0
Tissue <sup>c</sup>	15	0	0.0	153	18	12.1
Stool	0	0	0.0	105	2	1.9
Others <sup>d</sup>	1	0	0.0	68	7	10.0
Total	7,430	450	6.0	16,163	1,116	6.9

<sup>a</sup>Respiratory specimens: sputum, throat swab, bronchial washing and trans-tracheal aspirates.

<sup>b</sup>Fluid: peritoneal, pericardial & joint fluid, gastric & bile juice and dialysate, etc.

<sup>c</sup>Tissue: lymph node, skin, bone marrow, liver and brain, etc.

<sup>d</sup>Others: clinical materials are not known.

검체와 농 검체에서 뇨, 체액 및 혈액 검체보다 훨씬 더 높았다. BACTEC 배양과 비교한 PCR의 양성율은 농 검체에서는 상대적으로 높았으나, 체액과 뇨 검체에서는 더 낮았다. 조직 검체의 PCR에서는 15예 중에서 한 예도 검출되지 않았으나, BACTEC배양에서는 153예 중 18예에서 양성을 보여 12.1%의 높은 양성율을 보였다(Table 2).

## 2. PCR과 BACTEC 배양을 동시에 의뢰한 검체의 성적

PCR과 BACTEC 배양을 동시에 의뢰한 총 4,810예의 검체에서 PCR의 양성율은 5.5%(265예)이었고, BACTEC배양과의 일치율은 94.7%이었다. 이 검체들은 호흡기 검체 (객담, 기관지폐세포 세척액, 기관지흡인물) 3,932예와 비호흡기 검체 (홍수 및 기타) 878예 등이었다.

호흡기 검체에서의 PCR의 양성율은 6.0% (236예), BACTEC 배양과의 일치율은 95.5%이었고, 비호흡기 검체에서는 PCR의 양성율이 3.3% (29예), BACTEC배양과의 일치율은 91.1%이었다(Table 3).

## 3. BACTEC 배양을 기준으로 한 PCR의 민감도, 특이도, 양성 및 음성 예측도

BACTEC 배양에서 결핵균이 검출된 265예 중에서 135예만이 PCR에서 결핵균의 증폭 산물을 관찰할 수 있어 PCR의 민감도는 50.9%이었다. 이 민감도를 검체별로 보면 호흡기 검체에서는 66.1% (127/ 192)이었고 비호흡기 검체에서는 12.3% (8/65)이었다(Table 4).

## 4. 호흡기 검체로 PCR과 BACTEC 배양을 동시에 의뢰한 환자에서 두 검사의 임상적 유용성

호흡기검체로 PCR과 BACTEC 배양이 동시에 의뢰된 총 2,590명의 환자 중 2,415명에서 결과가 일치하여 두 검사의 일치율은 93.2%이었다.

BACTEC 배양 결과와 환자들의 결핵 여부를 의무기록지를 검토한 후 임상소견, 흉부 X-선 촬영, 제반 검사소견 및 항결핵제 투여 유무 등을 종합하여 판정한 후 최종적으로 결핵으로 판정된 환자는 295명 이었다.

임상소견과 검사 결과를 종합하였을 때, 295명의 결핵환자를 진단하기 위한 PCR의 민감도, 특이도, 양성

Table 3. Comparison of PCR with BACTEC culture for the detection of *M. tuberculosis* from 4,810 parallel specimens

Specimen types	PCR	BACTEC culture		Total
		Positive	Negative	
Respiratory specimens	Positive	127	109	236
	Negative	65	3,631	3,696
	Total	192	3,740	3,932
Non-respiratory specimens <sup>a</sup>	Positive	8	21	29
	Negative	57	792	849
	Total	65	813	878
Total		257	4,553	4,810

<sup>a</sup>Non-respiratory specimens: urine, CSF, pleural & peritoneal fluid, tissue, stool and blood, etc.

Table 4. Sensitivity, specificity and predictive values of PCR according to specimen types compared with BACTEC culture

Specimen types	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Predictive values (%)	
			Positive	Negative
Respiratory	66.1	97.0	53.8	98.2
Non-respiratory <sup>a</sup>	12.3	97.4	27.5	93.2
Total	50.9	97.3	52.5	97.1

<sup>a</sup>See Table 3.

Table 5. Comparison of PCR and BACTEC culture in patients after discrepant analysis based on the clinical diagnosis

		No. of patients		Sensitivity (%)	Specificity (%)	Predictive values (%)	
		Tuberculosis <sup>a</sup>	Non-tuberculosis			Positive	Negative
PCR	Positive	191	34	64.7	98.5	84.8	95.6
	Negative	104	2,261				
BACTEC culture	Positive	256	0	86.7	100	100	98.3
	Negative	39	2,295				

<sup>a</sup>Tuberculosis or non-tuberculosis was determined by culture or clinical diagnosis.

및 음성 예측도는 각각 64.7%, 98.5%, 84.8% 및 95.6% 이었고, BACTEC 배양의 경우는 각각 86.7%, 100%, 100% 및 98.3%이었다(Table 5).

BACTEC 배양 양성이며 PCR이 음성인 환자 104명은 PCR의 위음성으로, BACTEC배양 음성이며, PCR이 양성인 환자 71명 중에 34명은 PCR의 위양성으로, 그리고 나머지 39명은 BACTEC 배양의 위음성으로 각각 판정되었다.

## 고찰

세계보건기구의 발표에 의하면, 전세계 인구의 약 1/3인 17억명 정도가 결핵균에 감염되어 있으며 (선진국 ; 5%, 개발도상국 ; 95%), 매년 800만명 정도의 신환자가 발생하는데, 이중 360만명 정도는 객담의 항산성 염색에서 양성인 전염성 폐결핵환자로 알려져 있다. 또한, 화학요법이 도입되면서 이전에 비하여 결핵 사망률이 급격하게 줄었으나 아직도 전 세계적으로는 매년 290만명 가까운 환자가 결핵으로 사망하고 있다 [1,2].

결핵은 *M. tuberculosis*에 의한 만성 감염성 질환으로서 전통적으로 흉부 X-선 검사, 항산성 염색 및 배양 등이 진단에 이용되었다. 항산성 염색은 빠르고, 경비가 적게 드는 장점이 있으나, 민감도가 낮아서 항산성 염색이 음성이어도 배양에 양성일 수 있다. 그 이유는 항산성 염색에서 양성이기 위해서는 적어도  $1 \times 10^4$ /mL 정도의 균이 있어야하고, 배양은 10/mL 정도의 생균만 있어도 양성일 수 있기 때문이다[8, 9]. 그러나 재래식 배양법은 기간이 6-8주로 매우 오랜 기간이 걸리므로 [10], 소요되는 시간을 단축하기 위하여 radiometry를 이용한 BACTEC TB system이 결핵균 검출에 이용되고 있으나 여전히 배양기간이 2주일 이상으로 길어 결핵의 조기 진단에는 어려움이 있어 왔다[4].

이와 같은 전통적 결핵 진단법들의 단점을 보완하고자 분자생물학적 기법이 시도되었는데, 그 중에서

PCR이 현재 널리 쓰이고 있다[5]. 그러나, 결핵의 진단에 PCR을 시도하고, 기존의 항산성 염색이나 배양 및 제반 임상상과 비교한 과거의 보고들 중에는 PCR의 민감도와 특이도가 우수하고 검사기간이 짧아서 결핵의 조기 진단에 적합하다는 주장[11-13]이 있는 반면, PCR의 높은 위양성 및 위음성을 지적하며, 신뢰성에 의문을 제기하는 상반된 주장도 있다[14, 15].

본 연구에서는 배양결과를 근간으로 하고 임상적인 것을 보충하여 결핵을 판정하였는데, 배양결과는 결핵의 진단에 흔히 100%의 특이도를 갖고 있는 것으로 알려져 있으나, 민감도는 90%를 넘지 못하는 것으로 알려져 있다[16, 17]. 이에 배양의 민감도 한계를 극복하기 위하여, 연이어 의뢰된 배양 검체에서 하나라도 배양 양성이면 결핵환자에 포함시켰고, 배양에 음성이라도 PCR에서 양성을 보이고, 임상소견과 방사선 소견을 고려한 임상적 진단이 결핵인 경우도 결핵환자에 포함시켰는데, 이때 결핵환자를 진단하기 위한 PCR의 민감도와 특이도는 각각 64.7%, 98.5%이었고, BACTEC 배양의 경우는 각각 86.7%, 100%이었다.

Shawar 등[18]은 384예의 임상검체에서 시행한 BACTEC 배양과 single PCR을 실시하여 PCR을 BACTEC 배양과 비교할 때, agarose gel 전기영동법에서는 55%의 민감도를, 그리고 hybridization에서는 74%의 민감도를 각각 보인다고 하였다. 한편 Pierre 등[15]과 Sjobring 등[19]은 결핵균 검출에 있어 PCR의 민감도가 각각 63% 및 50%라고 하였으나, Manjunath 등[20]은 배양보다 PCR이 더 민감하다고 하는 등 대상 환자, 보고자 그리고 관찰방법에 따라 그 성적이 다양하다.

본 연구의 PCR 민감도는 64.7%로서 다양한 민감도를 보고한 문헌들 중에서 낮은 성적에 속했는데, 그 이유는 본 검사에서 표준 검사로 이용한 BACTEC 배양의 민감도가 다른 연구에서 사용한 배양 방법들보다 더 높기 때문이거나, 약양성으로부터 강양성까지 양성 검체의 분포상황 및 특히 약양성 검체인 경우에 문제가 되는 검체내 균 분포의 불균질성 등의 요인들 때문이

라고 생각된다[12].

기존의 연구들[21-23]에서는 검체간 교차오염 혹은 생성 산물에 의한 잔효, 오염으로 인한 위양성을 이유로 특이도를 다소 낮게(62.6-100%) 보고하였는데, 본 연구에서는 결핵균 진단을 위한 PCR의 특이도가 98.5% 로서, 기존의 연구들[24-27]과 비교할 때 우수하였다.

그리고 결핵을 보고하기까지 BACTEC TB system은 최소한 2주일이 걸린 반면, PCR은 평균 5시간으로 매우 짧은 시간이 소요되었다.

이상으로 PCR은 신속하고 결핵의 진단에 특이도가 높은 검사로서 결핵이 강력히 의심되는 환자에서 항산성 염색이 음성인 경우 배양 결과가 나오기 전에 결과를 보고함으로써 결핵의 조기 진단에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료되나, PCR의 낮은 민감도를 고려하여 여러 번의 반복검사가 필요할 것으로 생각된다.

## 요 약

**배 경 :** 전남대학교병원에서는 1994년부터 임상 검체에서 결핵균을 검출하는데 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction; PCR)을 이용해왔다. 이에 본 연구에서는 결핵균 검출을 위한 PCR 및 BACTEC 배양의 최근 성적을 비교 분석하고, 두 검사의 임상적 유용성을 검토하였다.

**방 법 :** 1996년 1월부터 1998년 12월까지 전남대학교병원을 방문한 환자 중에 결핵균 검출을 위해 PCR과 BACTEC 배양이 동시에 의뢰된 3,167명의 환자로부터 얻은 4,810예의 임상 검체를 대상으로 하였다.

**결 과 :** 호흡기검체에서 BACTEC 배양을 기준으로 결핵균 검출을 위한 PCR의 민감도는 66.1% (127/192), 특이도는 97.0% (3,631/3,740) 이었다. 그리고 결핵환자를 진단하기 위한 PCR의 민감도, 특이도, 양성 및 음성 예측도는 각각 64.7%, 98.5%, 84.8% 및 95.6%이었고, BACTEC 배양의 경우는 각각 86.7%, 100%, 100% 및 98.3%이었다. BACTEC 배양에서는 음성이었지만 PCR에서는 양성을 보인 71명중 39명에서는 의무기록지 검토 등을 통해 결핵으로 판정되었다. 또한 결핵을 보고하기까지 BACTEC TB system은 최소한 2주일이 걸린 반면, PCR은 평균 5시간으로 매우 짧은 시간이 소요되었다.

**결 론 :** PCR 하나만으로는 임상 검체에서 결핵균을 검출하기에는 불충분하였으나 BACTEC 배양과 병행할 경우 신속하고 정확한 결핵균 동정이 가능하였다.

## 참 고 문 헌

1. 홍영표. 우리나라의 결핵 - 어제, 오늘, 내일. 결핵 및 호흡기질환 1997;44:1-10.

2. 류우진. 한국의 결핵 실태. 결핵 및 호흡기질환 1999; 46:301-10.

3. Centers for Disease Control and Prevention. Expanded tuberculosis surveillance and tuberculosis morbidity-United States. Morbid Mortal Weekly Rep 1993;43: 361-366.

4. 서진태, 이우인, 김선희. 결핵균의 동정 및 약제 감수성에 대한 BACTEC 460의 유용성. 대한임상병리학회지 1991;11:633-9.

5. 김미나, 이선희, 양성은, 배직현. 국내 3차 및 대학병원에서의 결핵균 검사 실태조사. 대한임상병리학회지 1999;19: 86-91.

6. Cousins DV, Wilton SD, Francis BR, Gow BL. Use of polymerase chain reaction for rapid diagnosis of tuberculosis. J Clin Microbiol 1992;30:255-8.

7. Pfyffer GE, Kissling P, Wirth R, Weber R. Direct Detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens by target-amplified test system. J Clin Microbiol 1994;32:918-23.

8. Miller N, Hernandez SG, Cleary TJ. Evaluation of Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test and PCR for direct detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical specimens. J Clin Microbiol 1994;32:393-7.

9. Smithwick R W. 1975. Laboratory manual for acid-fast microscopy, 2nd ed. Centers for Disease Control and Prevention Atlanta.

10. Levy H, Feldman C, Sacho H, van der Meulen H, Kallenbach J, Koornhof H. A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Chest 1989; 95:1193-7.

11. 서순팔, 허윤, 기승정, 신중희, 양동욱. 임상검체에서 이중중합효소연쇄반응법에 의한 결핵균의 검출. 대한임상병리학회지 1995;15:60-73.

12. 염양숙, 정옥연, 장숙진, 문대수, 박영진. 결핵균 검출을 위한 배양법, 항산성 염색법과 중합효소연쇄반응법간의 비교. 대한임상병리학회지 1995;15:594-601.

13. 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 1989; ii:1069-71.

14. Pfaller MA. Application of new technology to the detection, identification, and antimicrobial susceptibility testing of mycobacteria. Am J Clin Pathol 1994;101:329-37.

15. Pierre C, Lecossier D, Boussougant Y, Bocart D, Joly V, Yeni P, et al. Use of a reamplification protocol improves sensitivity of detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical samples by amplification of

- DNA. *J Clin Microbiol* 1991;29:712-7.
16. Jonas V, Alden MJ, Curry JI, Kamisango K, Knott CA, Lankfort R, et al. *Detection and identification of Mycobacterium tuberculosis directly from sputum sediments by amplification of rRNA. J Clin Microbiol* 1993;31:2410-16.
  17. Noordhoek GT, Kaan JA, Mulder S, Wilke H, Kolk AH. Routine application of the polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples. *J Clin Microbiol* 1995;48: 810-4.
  18. Shawar RM, el-Zaatari FA, Nataraj A, Clarridge JE. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples by two-step polymerase chain reaction and nonisotopic hybridization methods. *J Clin Microbiol* 1993;31:61-5.
  19. Sjobring U, Mecklenburg M, Andersen AB, Miorner H. Polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 1990;28: 2200-4.
  20. Manjunath N, Shankar P, Rajan L, Bhargava A, Saluja S, Shrinivas. Evaluation of a polymerase chain reaction for the diagnosis of tuberculosis. *Tubercle* 1992;72:21-7.
  21. 김성준, 김장성, 오달균, 문해란, 문홍모. 중합효소연쇄반응을 이용한 비배양 객담에서의 *Mycobacterium tuberculosis*의 조기 검출. *대한미생물학회지* 1993;28: 373-80.
  22. 김한길, 은상진, 송경은, 서장수, 이원길, 김재식 등. 결핵균검출을 위한 중합효소연쇄반응의 효율적인 조건. *대한임상병리학회지* 1993;13:437-44.
  23. 최윤미, 이명희. 객담에서 중합효소 연쇄반응을 이용한 결핵균 검출법의 평가. *대한임상미생물학회지* 1999;2:144-151.
  24. Noordhoek GT, Kolk AH, Bjune G, Catty D, Dale JW, Fine PE, et al. Sensitivity and specificity of PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis*: a blind comparison study among seven laboratories. *J Clin Microbiol* 1994;32:277-84.
  25. 이창규, 김창현, 마경란, 김영기, 이갑노, 정희진 등. 호흡기 검체의 결핵 진단에서 *In-house PCR*과 *Amplicor MTB*의 비교. *대한화학요법학회지* 1998; 16:97-103.
  26. Abe C, Hirano K, Wada M, Kazumi Y, Takahashi M, Fukasawa Y, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens by polymerase chain reaction and Gen-probe amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test. *J Clin Microbiol* 1993;32:3270-4.
  27. Bergmann JS and Woods GL. Clinical evaluation of the Roche AMPLICOR PCR *Mycobacterium tuberculosis* test for detection of *M. tuberculosis* in respiratory specimens. *J Clin Microbiol* 1996;34:1083-5.