

# MGIT 960 System을 이용한 결핵균 1차 약제 내성검사의 평가

최 윤 미

서울보훈병원 임상병리과

## Evaluation of Mycobacteria Growth Indicator Tube for Drug Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* Using MGIT 960 System

Youn Mi Choi

Department of Clinical Pathology, Seoul Veterans Hospital, Seoul, Korea

**Background:** Multidrug resistant tuberculosis (MDRTB) strains rely on the prompt availability of drug susceptibility test results. We evaluated the reliability and turnaround time of MGIT 960 system, automated version of the MGIT, for antimicrobial susceptibility test of *Mycobacterium tuberculosis*.

**Methods:** Ninety six isolates have been tested for susceptibility to isoniazid (INH), rifampin (RIF), ethambutol (EMB) and streptomycin (SM). Results were compared with those obtained by traditional solid media (absolute concentration method, indirect method).

**Results:** There was no statistically significant difference between the susceptibility testing results of the two methods except for EMB. Discrepant results were obtained for 8 isolates (8.3%) with INH, for 3 isolates (3.1%) with RIF, for 13 isolates (13.5%) with EMB, for 10 isolates (10.4%) with SM. Using the indirect method as the gold standard, the sensitivity of INH, RIF, EMB and SM susceptibility testing by the MGIT system were 94.1%, 98.8%, 86.7% and 90.0%, respectively. The specificity were 85.7%, for INH and RIF and 83.3%, for EMB and SM. Turnaround times were significant shorter in MGIT (average 12 days) than in solid media (average 57 days) ( $P < 0.05$ )

**Conclusions:** These data demonstrate that the MGIT system is accurate and rapid for INH, RIF and SM susceptibility test of *M. tuberculosis*, but EMB susceptibility testing requires further evaluation. (*Korean J Clin Microbiol* 2002;5(1):47-51)

**Key words:** *Mycobacterium tuberculosis*, Mycobacterium growth indicator tube, Antimicrobial susceptibility testing

## 서 론

세계보건기구(World Health Organization)는 세계 인구의 1/3이 결핵에 감염되어 있으며 매년 8백에서 천만명의 새로운 환자가 발생하고 있음을 보고하였다[1]. 우리나라의 경우에도 결핵은 지속적으로 높은 유병율을

나타내는 강한 전염력을 가진 감염성 질환으로 보고되고 있으나[2], 결핵 약제에 대한 내성균의 출현으로 환자의 치료에 많은 어려움이 있다. 따라서 감염이 의심되는 환자의 빠른 진단과 더불어 신속한 치료가 결핵 환자의 관리에 매우 중요하다.

전통적으로 실시되는 결핵균 배양 및 약제 내성검사는 고체 배지를 이용한 방법이며 균을 키우는데 두 달의 기간이 필요하고 자란 균으로 약제 내성 검사를 실시하려면 적어도 석달 이상의 기간이 소요되기 때문에 환자 관리에 많은 어려움이 있다. 액체 배지를 이용할 경우, 검출 시간의 단축 및 검출율의 향상을 도모할 수 있으나[3] 기존의 액체 배지 방법은 방사성 동위원

접수번호 : CM 5-01-02

교신저자 : 최윤미

(134-817) 서울특별시 강동구 둔촌동 6-2

서울보훈병원 임상병리과

Tel : 02) 2225-1459

E-mail : ymchoi2000@yahoo.co.kr

소를 이용한 검출법으로 사용 및 폐기에 제한이 있어 현재는 널리 사용되지 않고 있다. 최근에 액체 배지 내에 형광 물질을 첨가해 균의 성장을 감지하는 결핵균 배양 방법이 개발되어 검출 시간의 단축 및 향상된 검출 성적을 보고하고 있다[4-7]. 우리 나라에서도 24시간 결핵균 배양과 더불어 형광 발광의 원리로 결핵균의 성장을 자동 검출할 수 있는 기기인 BACTEC MGIT 960 system (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, Md., USA)을 이용한 배양 성적을 보고하였으나 [8,9], MGIT system을 이용한 액체 배지 약제 내성 검사에 대한 성적은 아직 보고된 바가 없어 본 연구는 액체 배지가 든 Mycobacteria growth indicator tube (MGIT, Becton Dickinson)를 이용하여 결핵균 1차 약제 내성 검사를 실시하여 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 검체

1998년부터 2001년까지 결핵균 약제내성 검사가 의뢰된 균주 중 액체 배지 방법과 고체 배지 방법이 모두 의뢰된 96건을 대상으로 결과를 분석하였다. MGIT tube를 이용한 액체 배지법은 본 병원에서 실시하였으며, 전통적인 고체 배지법은 녹십자의료재단에 수탁 의뢰하여 약제 내성 검사를 실시하였다.

### 2. 액체 배지를 이용한 방법

MGIT 960 system에서 양성이 나오면 항산성 염색과

결핵균에 대한 중합효소 연쇄반응을 실시하여[10] 결핵균임을 확인한 후 약제 내성검사를 실시하였다.

결핵균 배양 양성인 액체 배지를 식염수로 5배 희석한 균액과 oleic acid, bovine albumin, dextrose, catalase가 첨가된 OADC (Becton Dickinson, USA) 용액과 INH (Becton Dickinson, USA, 8.3 µg/mL), RIF (83 µg/mL), EMB (415 µg/mL), SM (83 µg/mL) 각각의 약제를 MGIT tube (Becton Dickinson, USA)에 분주하였다. 약제의 최종 농도는 INH 0.1 µg/mL, RIF 1.0 µg/mL, EMB 5.0 µg/mL 그리고 SM 1.0 µg/mL이었다. 약제가 첨가되지 않은 균 배양 감지 tube (growth control)와 4가지 약제가 각각 첨가된 4개 tube를 MGIT 960 system에서 37°C 배양하였다. 60분마다 algorithm에 의해 균 성장 유무가 자동 검색되며 균 배양 감지 tube에서 균 양성 사인이 나오면 약제가 첨가된 4가지 tube에서의 균 발육 정도를 확인하였다. 약제가 든 tube에서 결핵균이 배양되면 내성으로, 균이 배양되지 않으면 감수성으로 판독하였다.

### 3. 고체 배지를 이용한 방법

고체 배지법은 L wenstein-Jensen (LJ) 배지를 이용한 절대 농도법(absolute concentration method) 중 간접법으로 실시되었다[11]. Ogawa 배지에 결핵균을 배양하여 균이 자라면 그 집락을 취해 균액의 탁도가 MacFarland 1이 되게 희석하였다. 이것을 다시 1:100, 1:10,000이 되게 희석하였다. 약제가 첨가되지 않은 LJ 배지에 희석하지 않은 균액, 1:100으로 희석한 균액, 1:10,000으로 희석한 균액을 각각 접종하여 대조 배지로 하였다. 각각의 약제가 첨가된 LJ 배지에도 균액을 접종하였다.

Table 1. Susceptibility patterns of clinical isolates of *M. tuberculosis* determined by the MGIT 960 system

Susceptibility pattern	No. of strain tested	
	MGIT	Solid media
Fully susceptible	61	66
INH resistant	8	10
RIF resistant	0	2
EMB resistant	4	0
SM resistant	2	0
INH and RIF resistant	2	7
SM and RIF resistant	1	0
INH and SM resistant	3	2
INH and EMB resistant	4	3
INH, RIF and SM resistant	2	3
INH, EMB and SM resistant	1	1
INH, RIF and EMB resistant	3	2
Fully resistant	5	0
Total	96	96

INH, isoniazid; RIF, rifampin; SM, streptomycin; EMB, ethambutol.

37℃에서 3주에서 5주간 배양하여 균 발육 정도에 따라 3주부터 보고를 시작하였다. 약제가 든 배지에서 1:10,000으로 희석한 대조보다 균 증식이 많으면 내성으로 판단하였다. 사용된 약제의 최종 농도는 INH 0.2 µg/mL, RIF 40.0 µg/mL, EMB 2.0 µg/mL, SM 10.0 µg/mL이었다.

4. 통계처리

두 검사법 간의 결과 비교는 McNemar chi-square법으로 하였고, 소요 기간 비교는 T test로 검정하였다.

결 과

*M. tuberculosis* 총 96주에 대하여 MGIT tube를 이용한 액체 배지법과 전통적 방법인 고체 배지법에 의한 약제 내성 검사를 실시하였다. 본원에서 실시한 감수성 양상은 Table 1과 같다. 4가지 약제에 대하여 모두 감수성을 보인 경우는 액체 배지의 경우 61주(63.5%)이었고, 고체 배지의 경우 66주(68.8%)이었다. 모두 내성을 보인 경우는 액체 배지의 경우 5주(5.2%)이었고, 고체 배지의 경우 한 주도 없었다.

총 96주 중 62주(64.6%)에서 4가지 약제에 대하여 액체 배지법과 고체 배지법 모두 동일한 결과를 얻었고, 34주에서 불일치를 보였다(35.4%)다. Table 2에서와 같이 총 96주 중 INH에서는 88주(91.7%)에서 두 방법간의 일치율을 보였고(64주는 감수성, 24주는 내성), 8주(8.3%)에서 불일치를 보였다. RIF은 93주(96.88%)일치율을 보였고(81주는 감수성, 12주는 내성),

3주(3.12%)에서 불일치를 보였다. EMB은 83주(86.46%)에서 일치율을 보였고(78주는 감수성, 5주는 내성) 13주(13.54%)는 불일치를 보였다. SM은 86주(89.58%)에서 일치율을 보였고(81주는 감수성, 5주는 내성), 10주(10.42%)에서 불일치를 보였다. 고체 배지법의 결과를 기준으로 4가지 약제에 대한 액체 배지법에서의 위양성율과 위음성율을 비교하여 계산된 INH의 민감도와 특이도는 각각 94.1% 및 85.7%이었고, RIF은 98.8% 및 85.7%이었고, EMB은 86.7% 및 83.3%이었고, SM은 90.0% 및 83.3%이었다(Table 3). 4가지 약제에서 두 방법간의 차이에 대하여 교차 분석을 실시한 결과(SPSS ver 10.0), 유의 확률은 INH가 1.000, RIF이 1.000, EMB이 0.003, SM이 0.021로 INH와 RIF, SM은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나 EMB은 유의한 차이를 보였다.

의뢰된 결핵 배양 검사에서 결핵균이 자란 후 그 균을 다시 키워 약제 내성 검사를 실시하여 결과가 나오기까지 걸리는 평균 시간은 액체 배지인 MGIT tube를 이용할 경우 평균 12일(최소 5일에서 최대 75일)이 소요되었으며, 고체 배지를 이용할 경우 평균 57일(최소 31일에서 최대 123일)이 소요되었다. 두 방법간의 검사에 소요되는 시간에 대한 평균을 T 검정으로 평가한 결과 유의 확률이 0.05이하(P=0.045)로 유의한 차이를 보였다.

고 찰

세계적으로 높은 유병율을 나타내고 있는 결핵은 다제 내성균의 증가 추세로 치료에 어려움이 있다. 따라

Table 2. Susceptibility of *M. tuberculosis* isolates as determined by the MGIT and solid media

Drugs	Total No. of strains tested	No. of isolates with the following results			
		Both S	MGIT R, Solid S	MGIT S, Solid R	Both R
INH	96	64	4	4	24
RIF	96	81	1	2	12
EMB	96	78	12	1	5
SM	96	81	9	1	5

S, susceptible; R, resistant.

Table 3. Accuracy and reliability of the MGIT compared with the traditional method for the first line four drugs tested

Drugs	Sensitivity(%)	Specificity(%)	PPV(%)	NPV(%)	Efficiency
INH	94.12	85.71	94.12	85.71	91.67
RIF	98.78	85.71	97.59	92.31	96.88
EMB	86.67	83.33	98.73	29.41	86.46
SM	90.00	83.33	98.78	35.71	89.58

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

서 도말과 배양 검사를 실시한 후 정확하고 신속한 약제 내성 검사 결과가 요구된다. 기존의 전통적인 약제 내성 검사는 고체 배지를 이용하기 때문에 결과를 얻기까지는 적어도 3주 이상의 기간이 필요하다. 최근에는 좀더 신속한 결과 보고가 가능한 액체 배지를 이용한 약제 내성 검사 방법이 소개되고 있다[6]. 본 연구의 목적은 액체 배지 방법인 MGIT 960 system을 이용해 결핵균 1차 약제 내성검사를 실시하여 그 결과를 전통적인 고체 배지 방법과 비교하여 유용성을 평가함이다.

총 96주 중 INH는 88주(91.67%)에서 두 방법간의 일치를 보였다. 불일치를 보인 8주 중 4주는 액체 배지에서 내성이었는데 고체 배지에서는 감수성이었다. 4주는 액체 배지에서 감수성이었는데 고체 배지에서 내성이었다. RIF은 93주(96.88%)에서 일치를 보였다. 불일치를 보인 3주 중 1주는 액체 배지에서 내성이었는데 고체 배지에서는 감수성이었다. 2주는 액체 배지에서 감수성이었는데 고체 배지에서 내성이었다. EMB은 83주(86.46%)에서 일치를 보였다. 불일치를 보인 13주 중 12주는 액체 배지에서 내성이었는데 고체 배지에서는 감수성이었다. 1주는 액체 배지에서 감수성이었는데 고체 배지에서 내성이었다. SM은 86주(89.58%)에서 일치를 보였다. 불일치를 보인 10주 중 9주는 액체 배지에서 내성이었는데 고체 배지에서는 감수성이었다. 1주는 액체 배지에서 감수성이었는데 고체 배지에서 내성이었다. INH와 RIF은 높은 일치율을 보였으나 EMB에서는 낮은 일치율을 보였다.

Rusch-Gerdes 등의 보고[6]에서도 EMB이 가장 낮은 일치율을 보였다. 이와 같은 현상은 EMB에 대한 내성균의 유전자적 다양성에 기인하는 것으로 설명하고 있다[12]. 결핵균 내의 embB 유전자에 대한 돌연변이가 있을 경우 EMB에 대한 고농도 내성(최소억제농도가 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상)과, 돌연변이가 없을 경우 저농도 내성(최소억제농도가 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이하)과 관련이 있음을 보고하였다. 액체 배지를 이용해 결핵균 약제 내성 검사를 실시한 그 밖의 보고들에서도 INH와 RIF에서는 95%이상의 좋은 일치율을 보였으나 EMB이나 SM에서는 비교적 낮은 일치율을 보였다[13,14]. 따라서 검사에 사용되는 약제의 농도와 약제에 대한 돌연변이 유전자 유무가 결과에 영향이 있을 것으로 사료된다. 본 연구에서 EMB의 불일치 경우, 액체 배지에서는 내성이나 고체 배지에서는 감수성을 보인 경우가 특히 많았다. 검사 방법의 차이 이외에도 사용된 약제 농도의 차이와 운반 및 보관 과정에서의 약제 활성도 감소 등 여러 요인을 고려할 수 있으나 좀더 추후 관찰이 필요할 것으로 사료된다.

본 연구는 자동화 장비를 이용한 액체 배지법으로 약제 내성검사를 실시하였다. 전통적인 고체 배지법을 기준으로 한 민감도와 특이도는 INH가 94.12%와

85.71%, RIF가 98.78%와 85.71%, EMB가 86.67%와 83.33%, SM이 90.00%와 83.33%이었다. 수작업에 의한 MGIT tube법과 동위 원소를 이용한 BACTEC 460 system 간의 결과를 비교한 Rusch-Gerdes 등[6]의 각각의 약제에 대한 민감도와 특이도는 97.6%와 100%, 95.8%와 100%, 86.5%와 99.0%, 98.2%와 99.4%이었다. 수작업에 의한 MGIT tube법과 전통적인 고체 배지법 간의 결과를 비교한 Goloubeva 등[13]은 INH와 RIF에 대해서만 비교하였는데 INH의 민감도와 특이도 100%와 92.3%이었고, RIF에 대한 민감도와 특이도는 96.4%와 100%이었다.

검사 소요시간의 비교에 있어서 액체 배지의 경우 배양에서 결핵균이 자라면 새로운 액체 배지에 계대 배양을 해 약제 내성 검사를 실시하여 결과가 나오기까지 걸리는 시간이 평균 12일인데 반해 고체 배지를 사용하면 본 병원의 경우 수탁 기간에 의뢰해서 결과를 얻기까지 걸리는 시간이 평균 57일이었다. 배양에서 결핵균이 자라면 새로운 고체 배지에 계대 배양을 하여 그 검체로 수탁 기간에 의뢰를 하기 때문에 많은 시간이 필요하며 계대 배양 중 오염이 되거나 잘 자라지 않는 경우도 있어 그럴 경우에는 두 달 내지 석 달의 소요 기간이 더 필요하다.

INH, RIF 및 SM은 고체 배지와 액체 배지의 일치율이 비교적 높으나 EMB은 일치율이 떨어지므로 좀더 추가적인 병행 시험과 함께 실험 약제 농도에 대한 정도 관리가 필요할 것으로 사료되지만, 고체 배지에 의한 약제 내성검사와 병행하여 액체 배지를 이용한 약제 내성 검사를 실시할 경우 결핵 환자 관리에 많은 도움이 될 것으로 사료된다.

## 요 약

**배 경 :** 다제 내성 결핵균은 약제 내성검사에 대한 신속한 결과가 필요한 균이다. 저자는 자동화 장비인 BACTEC MGIT 960 system을 이용하여 액체 배지에서 결핵균에 대한 약제 내성검사를 실시하여 검사 성적과 소요 시간을 기존의 전통적인 고체 배지법과 비교하였다.

**방 법 :** 총 96주에서 INH, RIF, EMB와 SM에 대한 액체 배지를 이용한 약제 내성검사를 실시하였고, 동시에 고체 배지를 이용한 전통적인 간접법에 의한 약제 내성검사도 병행하였다.

**결 과 :** EMB를 제외한 INH, RIF과 SM에서 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 기존의 전통적인 방법과 비교하였을 때, INH는 8.31%, RIF는 3.1%, EMB는 13.5%, SM은 10.4%에서 서로 다른 결과를 보였다. 액체 배지 방법의 민감도는 INH, RIF, EMB과 SM에서 각각 94.1%, 98.8%, 86.7%와 90.0%이었다. 특이도는 INH와 RIF은 85.7%, EMB와 SM은 83.3%이었다. 검사에

걸리는 소요 시간은 액체 배지가 평균 12일이었고, 고체 배지는 평균 57일로 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

**결론:** 결핵균 약제 내성 검사에 있어서 자동화 장비를 이용한 액체 배지법은 기존의 고체 배지법과 비교 시 EMB를 제외한 나머지 INH, RIF와 SM에 대하여 통계적으로 유의한 차이가 없었으며, 소요 시간도 매우 단축됨을 알 수 있었다.

### 참 고 문 헌

1. World Health Organization, 1996. *Report of the tuberculosis epidemic. World Health Organization, Geneva, Switzerland.*
2. 대한 결핵협회 결핵연구원 · 7차 결핵실태조사 발견 환자 추구조사 결과. 1997.
3. Centers for Disease Control and Prevention · CDC guidelines for tuberculosis control in health care facilities. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1994;43:1-13.
4. Cornfield DB, Beavis KG, Greene JA, Bojak 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.
5. Pfyffer GE, Welscher HM, Kissling P, Cieslak C, Casal MJ, Gutierrez J et al. *Comparison of the Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) with radiometric and solid culture for recovery of acid fast bacilli. J Clin Microbiol* 1997;35:364-8.
6. Rusch-Gerdes S, Domehl C, Nardi G, Gismondo MR, Welscher HM, Pfyffer GE. *Multicenter evaluation of the mycobacteria growth indicator tube for testing susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to first-line drugs. J Clin Microbiol* 1999;37:45-8.
7. Williams-Bouyer N, Yorke R, Lee HI, Woods GL. *Comparison of the BACTEC MGIT 960 and ESP culture system II for growth and detection of mycobacteria. J Clin Microbiol* 2000;38:4167-70.
8. 최윤미, 이명희. 결핵균 배양기 BACTEC MGIT 960 system의 평가. *대한임상병리학회지* 2000;20:56-61.
9. 이지연, 김종필, 신종희, 서순팔, 양동욱. BACTEC MGIT 960 system을 이용한 결핵균의 검출. *대한임상병리학회지* 2000;20:384-91.
10. 최윤미, 이명희. 객담에서 중합효소 연쇄반응을 이용한 결핵균 검출법의 평가. *대한임상미생물학회지* 1999;2:144-51.
11. Kent PT and Kubica GP. 1985. *Public health mycobacteriology. A guide for the level III laboratory. Centers for Disease Control, Atlanta, Ga.*
12. Alcaide F, Pfyffer GE, Telenti A. *Role of embB in natural and acquired resistance to ethambutol in mycobacteria. Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:2270-3.
13. Goloubeva V, Lecocq M, Lassowsky P, Matthys F, portael F, Bastian I. *Evaluation of mycobacteria growth indicator tube for direct and indirect drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis from respiratory specimens in a Siberian prison hospital. J Clin Microbiol* 2001;39:1501-5.
14. Diaz-Infantes MS, Ruiz-Serrano MJ, Martinez-Sanchez L, Ortega A, Bouza E. *Evaluation of the MB/BacT mycobacterium detection system for susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. J Clin Microbiol* 2000;38:1988-9.