

복막염 진단을 위한 두 가지 복수 배양법의 비교

김인숙, 이남용

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학교실

A Prospective, Comparative Study of Two Methods of Ascitic Fluid Culture to Diagnose Spontaneous Bacterial Peritonitis.

In Sook Kim, Nam Yong Lee

Department of Laboratory Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Background: Inoculation of ascitic fluid into blood culture bottles is known to be more efficient than conventional culture method to diagnose spontaneous bacterial peritonitis. The aim of this study is to evaluate recovery and early detection of peritonitis-causing bacteria from ascitic fluid by using the BACTEC blood culture system with bedside inoculation. The results were compared to those of conventional culture method.

Methods: Ascitic fluid specimens from 345 patients suspicious of spontaneous bacterial peritonitis were prospectively evaluated between January 1999 and March 2002. In all cases, 5 to 10 mL of ascitic fluid were inoculated at the bedside into a pair of BACTEC blood culture bottles (BC method), and simultaneously an aliquot of ascitic fluid was sent to microbiology laboratory for conventional culture. Isolated microorganisms and the time elapsed for final report were compared between the two methods.

Results: BC method was positive in 66/345 ascitic fluid specimens (19.1%) and conventional culture method in 48/345 (13.9%) ($P=0.065$). Time elapsed for final report was 82 ± 20.5 hours for blood culture method and 107 ± 42.4 hours for conventional culture method ($P=0.002$).

Conclusion: BC method using BACTEC system provides an earlier microbiologic diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis than conventional culture method with higher sensitivity.

(Korean J Clin Microbiol 2003;6(1):52-55)

Key words : Ascitic fluid, Spontaneous bacterial peritonitis, BACTEC blood culture system

서 론

원발성세균성복막염(spontaneous bacterial peritonitis; SBP)은 복강내에 명백한 감염의 원인이 없이 발생하는 복막염이며, 간경화나 복수를 동반하는 환자에게서 흔히 발생하는 합병증이다[1]. 간경화나 복수로 입원한 환자

의 7-25%에서 SBP가 발생되며, 이로 인한 사망률은 20-45%로 알려져 있다[2-5]. 따라서 SBP가 의심되면 세균배양검사에 의한 신속한 진단과 항균제 치료가 환자의 예후에 매우 중요하다. 그러나 SBP의 진단을 위하여 복수를 혈액한천배지와 thioglycollate broth에 배양하는 통상 배양법은 복수내의 균수가 적고 적은 양을 집중하기 때문에 배양 양성율이 낮은 단점이 있다[6-9].

1987년 Kammerer 등[10]이 복수를 혈액배양배지에 직접 집중하여 배양하는 방법이 소개된 이후 복수배양 양성률이 현저히 증가되었으며 조기 검출이 가능하다는 많은 보고들이 있었다[7,8,11-15]. 이에 저자들은 복막염이 의심되어 복수배양 검사가 의뢰되었던 환자를 대상으로

접수번호: CM 6-1-09

교신저자: 이남용

(135-710) 서울시 강남구 일월동 50

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학과

TEL : (02) 3410-2706 FAX : (02) 3410-2719

E-mail : mmmicro@samsung.co.kr

Table 1. Comparison of recovery of the microorganisms between two culture methods for ascitic fluid

	BC	CC
No. of positives	66 (19.1%)	48 (13.9%)
Total concordance	30	30
Partial concordance	6	6
Disconcordance	5	5
"Positive, by BC"	25	-
"Positive, by CC"	-	7
No. of negatives	279 (80.9%)	297 (86.1%)
"Negative, by both methods"	272	272
No. of total	345	345

Abbreviation: BC, the method using blood culture bottles; CC, conventional culture method.

기존에 시행하던 통상배양법(conventional culture method)과 환자 옆에서 복수를 채취하여 즉시 혈액배양병집종법(the method using blood culture bottles)을 이용한 복수배양법을 동시에 시행하여 배양양성율과 일치율을 비교해 보고자 하였다. 또한 혈액배양법을 이용한 복수배양법이 통상배양법에 비하여 조기 검출이 가능한지를 비교하고자 하였다.

대상 및 방법

본원에서 1999년 1월부터 2002년 3월까지 복막염이 의심되어 복수 천자가 시행되었던 입원환자 중에서 통상배양법과 혈액배양병집종법의 두가지 배양을 동시에 시행하였던 345명의 환자를 대상으로 하였다. 환자는 남자가 229명, 여자가 116명 이었으며, 환자들의 연령 중앙값은 51세였다(남자 49세, 여자 56세). 입원환자의 과별 분포는 소화기내과 167명, 신장내과 76명, 혈액종양내과 33명, 일반외과 7명, 응급실 55명 등이었다. 환자들의 진단명은 간경변증, 간경변증이 동반된 간세포암 등 만성 간질환 환자가 대부분이었다.

통상배양법은 천자 후 멸균 시험관에 넣어서 즉시 검사실로 보내진 복수를 혈액한천 배지, MacConkey 한천 배지, 혐기성 배지인 Brucella 배지에 접종하여 35°C에서 2일간 배양하였다. 또한 증균배지인 thioglycollate broth에

Table 2. Comparison of the microorganisms between two culture methods which showed partial concordance of the isolates

Specimens	BC	CC
1	<i>K. pneumoniae</i> , <i>C. freundii</i>	<i>K.pneumoniae</i>
2	<i>K. pneumoniae</i> , <i>S. bovis</i>	<i>K. pneumoniae</i>
3	<i>C. meningosepticum</i> , <i>C. freundii</i>	<i>C. meningosepticum</i>
4	<i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. aerogenes</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i>
5	<i>E. coli</i> , <i>S. pyogenes</i>	<i>E. coli</i>
6	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>S. aureus</i>

Abbreviation: See Table 1.

Table 3. Comparison of the average turn-around-time (hours) between two culture methods

Isolates (N)	BC	CC	Thio*
<i>E. coli</i> (6)	72.8	70.6	1
<i>E. coli</i> + <i>S.pneumoniae</i> (1)	83	111	
<i>E. cloacae</i> (1)	72	123	1
<i>K. pneumoniae</i> (2)	92	93	
<i>P. aeruginosa</i> (2)	72	66	
<i>C. meningosepticum</i> (2)	118.5	123	
<i>S. aureus</i> (3)	65	93.3	
<i>E. faecalis</i> (2)	78.5	95.5	
<i>E. faecium</i> (1)	133	228	1
<i>S. intermedius</i> (1)	72	92	
<i>S. mitis</i> (2)	80	159	2
<i>S. sanguis</i> (1)	97	71	1
CNS † (6)	78.3	121.8	1
Total isolates (30)	82 hrs	107 hrs	

*No. of microorganisms which were isolated only from thioglycollate broth on conventional culture.

† Coagulase negative staphylococcus

Abbreviation: See Table 1.

접종하여 35°C에서 배양하고 7일간 관찰하였다. 혈액배양병집종법은 환자 옆에서 호기성 및 혐기성 혈액배양배지(BACTEC blood culture vials)에 천자된 복수 5-10 mL를 각각 접종하고 BACTEC 9240 (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)을 이용하여 35°C에서 5일간 배양하였다. 동시 시행된 각각의 방법에서 배양 후 동정된 균주를 비교하였으며, 동일한 균이 동정된 경우에는 각각의 방법에서 검체 접수후 결과 보고까지의 시간을 비교하였다. 환자 정보에 따른 양성률은 분리된 균주에 관계없이 분리된 균주 유무에 따른 양성률로 구하였다. 의뢰 검체 정보에 따른 양성률 비교는 Chi-squares 검정, 평균 보고 시간 차이의 비교는 독립표본 T-검정을 실시하였다.

결 과

총 345명의 환자 검사에서 혈액배양병집종법에 의한 복수 배양시 양성율은 66예로 양성율은 19.1% (66/345)였으

며, 통상배양법에 의한 복수 배양시 양성율은 13.9% (48/345)였다($P=0.065$) (Table 1). 두 가지 배양법에서 동시에 양성을 보인 경우는 41예였으며, 동시에 양성을 보였던 균주 41예 중에서 균주가 완전히 일치하는 경우 30예, 부분 일치하거나 포함되었던 경우가 6예, 서로 상이한 균주가 자랐던 경우가 5예이었다. 두 가지 이상의 균주가 분리되었을 때 일부만이 일치하는 경우는 대부분 혈액배양병접종법에서 많은 균주가 분리되었다 (Table 2). 불일치를 보이는 균주들을 살펴 보면 viridans group streptococci, *Propionibacterium acnes*, coagulase negative staphylococci (CNS) 등 오염균이 대부분이었다. 혈액배양병접종법에서만 균주가 분리된 경우는 25예이었으며, viridans group streptococci 5균주, *P. acnes* 3균주, CNS 3균주, *C. albicans* 2 균주 등이었다. 반면에 통상배양법에서만 균주가 분리된 경우는 7예이었으며, 이는 *K. pneumoniae* 4 균주, *P. micros* 1균주, CNS 1균주, *Bacillus* spp. 1균주 등이었다.

동일한 균이 동정된 30예를 각각의 방법에서 검체 접수 후 결과 보고까지의 시간을 비교하였다 (Table 3). 혈액배양병접종법에 의한 평균 보고 시간은 82 ± 20.5 시간이었으며, 통상배양법은 107 ± 42.4 시간이었다($P=0.002$). 통상배양법 중에서 7 균주는 증균배지인 thioglycollate broth에서만 분리되었다.

고 찰

본 연구에서 동시에 의뢰된 복수 배양법의 단순 양성율은 통계적 유의성은 없었으나 기존에 알려졌던 바와 같이 환자 옆에서 직접 접종하는 혈액배양병접종법이 통상배양법보다 높았다(19.1% 대 13.9%, $P=0.065$). 또한 동일한 균주가 검출되었을 때 비교된 보고시간은 혈액배양병접종법이 통상배양법보다 통계적으로 유의하게 짧았다(82 ± 20.5 시간 대 107 ± 42.4 시간, $P=0.002$). 따라서 배양 양성율을 높이고 보고 시간을 단축하기 위하여 복수 배양을 혈액배양병접종법으로 시행하는 것이 의미가 있음을 확인하였다. 이는 BacT/ALERT (Organon Teknika Corp., Durham, NC, USA)를 이용하여 조사하였던 기존의 보고와 유사한 결과였다[16]. 이 보고에서는 배양 시작 후 혈액배양병접종법의 경우 BacT/ALERT 장비에서 양성으로 검출될 때까지의 시간을, 통상배양법의 경우 육안으로 배지를 관찰하여 양성으로 판정되는 시간을 서로 비교하였는데, 결과에서 민감도는 비슷하였으나 양성 검출시간은 혈액배양병접종법이 통상배양법보다 통계적으로 유의하게 짧았다(13.3 ± 9.2 시간 대 43.4 ± 34.2 시간). 본 연구에서는 균 양성 검출시간이 아닌 균 동정과 항균제 감수성 검사를 포함한 전체 보고시간을 비교하였는데, 본 연구에서 동일한 균종이 분리된 경우만 시간을 비교하였고 본원에서는 균종에 따라 동일한 방법으로 동정과 감수성 검사를 시행하므로 큰 차이는 없으리라 생각

된다.

혈액배양병접종법이 기존의 통상배양법보다 민감도가 높으리라는 배경은, 혈액배양병접종법은 통상배양법보다 많은 양의 복수를 접종할 수 있다는 점이다. 이는 SBP 환자들의 복수내 균의 농도가 낮기 때문에 접종량에 따라 균 검출의 민감도가 증가될 수 있다는 논리이다[6]. 또한 혈액배양병에 들어 있는 항응고제나 옴소닌억제제(sodium polyanethol sulfonate)의 역할과 환자 옆에서 바로 접종하여 검사실로 운반되어 접종될 때까지의 검사지연이 없다는 점이 관계가 있다[17]. 본 연구에서는 혈액배양병접종법에서만 균주가 분리된 경우는 25예이었으며, 반면에 통상배양법에서만 균주가 분리된 경우는 7예이기는 전체적인 양성률의 차이에 기여하였다고 생각된다. 두 방법간의 차이를 유발한 균주들은 viridans group streptococci, *Propionibacterium* spp., CNS, *Bacillus* spp. 등 임상적 의미가 떨어지는 균종들이었으나, *C. albicans* 2 균주는 혈액배양병접종법에서만 분리되었고 더욱이 *K. pneumoniae* 4 균주가 통상배양법에서만 분리되었던 것이 특이하였다. 두 가지 배양법에서 동시에 양성을 보인 경우에도 두 가지 이상의 균주가 분리되었을 때 일부만이 일치하는 경우는 대부분 혈액배양법에서 많은 균주가 분리되었으며 (Table 3), 불일치를 보이는 경우 균주들을 살펴 보면 viridans group streptococci, *Propionibacterium acnes*, coagulase negative staphylococci (CNS) 등 오염균이 대부분이었다. 따라서 본 연구에서도 임상적 의미가 적은 일부 균종이 포함되더라도 혈액배양병접종법이 양성률이 높다는 기존의 보고와 일치하였다.

SBP의 원인균은 *E. coli*나 *K. pneumoniae* 등 장내세균이 흔하며, 그람양성균은 *Streptococcus* spp.나 *Enterococcus* spp.가 흔하다. 혐기성 세균은 드문 편이며 복합 균주 감염은 약 10%로 알려져 있다[18]. 본 연구에서 검출된 원인균들도 기존의 보고와 큰 차이는 없었다.

결론적으로 복수 배양시 환자 옆에서 즉시 복수를 접종하는 혈액배양병접종법은 기존의 통상배양법에 비하여 배양 양성율이 높으며, 균 검출 시간을 단축시킬 수 있으므로 임상적 의미가 있는 검사법이라고 생각된다.

요 약

배 경 : 원발성세균성복막염(spontaneous bacterial peritonitis; SBP)의 진단을 위하여 복수를 혈액배양병에 직접 접종하는 방법은 통상배양법보다 배양 양성율이 증가하며 조기 검출이 가능하다는 많은 보고들이 있었다. 이에 저자들은 복막염이 의심되어 복수배양 검사가 의뢰되었던 환자를 대상으로 기존에 시행하던 통상배양법과 환자 옆에서 복수를 채취하여 즉시 혈액배양병에 접종하는 혈액배양병접종법을 동시에 시행하여 배양 양성율과 일치율을 비교해 보고자 하였다. 또한 혈액배양병접종법이 조기 검출이 가능한지를 비교하고자 하였다.

방 법 : 본원에서 1999년 1월부터 2002년 3월까지 복막염이 의심되어 복수 천자가 시행되었던 입원환자 중에서 통상배양법과 혈액배양병접종법 두 가지가 동시에 의뢰되었던 345명의 환자를 대상으로 하였다. 통상배양법은 천자 후 멸균 시험관에 넣어서 즉시 검사실로 보내진 복수를 혈액한천 배지, MacConkey 한천배지, Brucella 배지, thioglycollate broth에 접종하였고, 혈액배양병접종법은 환자 옆에서 호기성 및 혐기성 혈액배양병(BACTEC culture vials)에 천자된 복수 5-10 mL를 각각 접종하고 BACTEC 9240 (Becton Dickinson, USA)을 이용하여 배양하였다. 동시 시행된 각각의 방법에서 배양 후 동정된 균주를 비교하였으며, 동일한 균이 동정된 경우에는 각각의 방법에서 검체 접수후 결과 보고까지의 시간을 비교하였다.

결 과 : 총 345명의 환자 검사에서 혈액배양병접종법에 의한 복수 배양시 양성은 66예로 양성율은 19.1% (66/345)였으며, 통상배양법에 의한 복수 배양시 양성은 48예로 양성율은 13.9% (48/345)였다($P=0.065$). 동일한 균이 동정된 30예를 각각의 방법에서 검체 접수후 결과 보고까지의 시간을 비교하였는데, 혈액배양병접종법에 의한 평균 보고 시간은 82 20.5시간 이었으며, 통상배양법은 107 ±42.4시간 이었다($P=0.002$).

결 론 : 동시에 의뢰된 복수 배양법의 양성율은 기존에 알려졌던 바와 같이 혈액배양병 접종법이 높았으며, 혈액배양병접종법에 의한 방법이 통상배양법에 비하여 조기 검출이 가능하였다.

참 고 문 헌

1. Gilbert JA, Kamath PS. *Spontaneous bacterial peritonitis; an update. Mayo Clin Proc* 1975;70:365-70.
2. Garrison RN, Cryer HM, Howard DA, Polk HC. *Clarification of risk factors for abdominal operations in patients with hepatic cirrhosis. Ann Surg* 1984;199:648-55.
3. Almdal TP, Skinhoj P. *Spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis. Incidence, diagnosis and prognosis. Scand J Gastroenterol* 1987;22:295-300.
4. Caly WR, Strauss E. *A prospective study of bacterial infections in patients with cirrhosis. J Hepatol* 1993;18:353-8.
5. Arroyo V, Navasa M, Rimola A. *Spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis: treatment and prophylaxis. Infection* 1994;22 (Suppl 3):169-75.
6. Runyon BA, Hoefets JC. *Culture negative neutrocytic ascites: A variant of spontaneous bacterial peritonitis. Hepatology* 1984;4:1209-11.

7. Runyon BA, Umland ET, Merlin T. *Innoculation of blood culture bottles with ascitic fluid: improved detection of spontaneous bacterial peritonitis. Arch Intern Med* 1987;147:73-5.
8. Runyon BA, Canawati HN, Akriviadis EA. *Optimization of ascitic fluid culture technique. Gastroenterology* 1988;95:1351-5.
9. 송형운, 남홍우, 민경완, 김학산. *원발성 세균성 복막염에서 복수배양법에 대한 연구. 대한소화기병학회지* 1991;23:953-8.
10. Kammerer J, Dupeyron C, Vuillemin N, Leluan G, Fouet P. *Apport des examens cytologiques et bacteriologiques du liquide d'ascite cirrhotique au diagnostic de peritonite bacterienne. Med Chir Dia* 1982;11:243-51.
11. Bobadilla M, Sifuentes J, Garcia-Tsao G. *Improved method for bacteriological diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. J Clin Microbiol* 1989;27:2145-7.
12. Sainz S, Soriano G, Guarner C, Coll P, Vilardell F. *More on ascitic fluid culture technique. Hepatology* 1989;9:662-3.
13. Castellote J, Xiol X, Verdaguer R, Ribes J, Guardiola J, Gimenez A, et al. *Comparison of two ascitic fluid culture methods in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. Am J Gastroenterol* 1980;85:1605-8.
14. Siersema PD, De Marie S, Van Zeijl JH, Bac DJ, Wilson JHP. *Blood culture bottles are superior to lysis-centrifugation tubes for bacteriological diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. J Clin Microbiol* 1992;30:667-9.
15. Singh N, Rihs JD, Gayowsky T, Mieles L, Yu VL. *Improved detection of spontaneous bacterial peritonitis with Bactec as compared with conventional culture methods. A prospective study. Diagn Microbiol Infect Dis* 1994;1:1-4.
16. Ortiz J, Soriano G, Coll P, Novella MT, Pericas R, Sanchez F, et al. *Early microbiologic diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis with BacT/ALERT. J Hepatol* 1997;26:839-44.
17. Runyon BA, Antillon MR, Akriviadis EA, McHuitchison JG. *Bedside inoculation of blood culture bottles with ascitic fluid is superior to delayed inoculation in the detection of spontaneous bacterial peritonitis. J Clin Microbiol* 1990;28:2811-2.
18. Tsao CG. *Spontaneous bacterial peritonitis. Gastroenterol Clin North Am* 1992;21:257-75.