

Evaluation of the Diagnostic Performance of the AdvanSure TB/NTM Real-Time PCR Kit for Detection of Mycobacteria

Sangsun Hwang¹, Ki Jin Oh¹, In Ho Jang¹, Young Uh¹, Kap Jun Yoon¹, Hyo Youl Kim², Young Keun Kim²

Departments of ¹Laboratory Medicine, and ²Internal Medicine,
Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, Korea

Background: The AdvanSure TB/NTM real-time PCR kit (AdvanSure) was newly developed in Korea to detect *Mycobacterium tuberculosis* and nontuberculous mycobacteria (NTM) utilizing a specific primer and TaqMan probe targeting the IS6110 and *rpoB* genes which are unique to these species. The purpose of the present study was to evaluate the clinical utility of AdvanSure by comparing the results of acid-fast staining, mycobacteria culture, COBAS Amplicor MTB PCR (Amplicor), and AdvanSure.

Methods: A total of 182 specimens (105 respiratory and 77 nonrespiratory specimens) were obtained from 165 patients, and acid fast bacilli (AFB) staining, mycobacteria culture, and Amplicor were performed on all specimens. AdvanSure was also performed on the above specimens using the SLAN real-time PCR detection system. The sensitivity and

specificity of AdvanSure were analyzed using AFB staining and culture.

Results: Of the 182 specimens, *M. tuberculosis* was detected in 43 specimens and NTM was detected in 12 specimens according to PCR and/or culture. The sensitivity and specificity of the AdvanSure based on AFB culture were 97.3% (36/37) and 95.5% (127/133) in *M. tuberculosis* and 75.0% (9/12) and 100% (0/133) in NTM, respectively.

Conclusion: AdvanSure could be useful for detecting *M. tuberculosis* and NTM in the clinical laboratory with high sensitivity and specificity. (Korean J Clin Microbiol 2011;14:55-59)

Key Words: *Mycobacterium tuberculosis*, Nontuberculous mycobacteria, Real-time PCR

서 론

결핵은 전염력, 이환율, 사망률이 높아서 공중 보건에서 상당한 문제가 되는 가장 심각한 감염성 질환의 하나이다[1]. 또한 우리나라에서는 지속적으로 감소되어 왔지만 여전히 높은 유병률을 보여, 3종 법정전염병으로 지정하여 관리하고 있다[2].

미코박테리아 감염을 진단하는 데 근간이 되는 항산균 염색은 특이도는 비교적 높으나 민감도가 낮고, 결핵균과 비결핵항산균(nontuberculous mycobacteria, NTM)을 구분하지 못한다. 항산균 배양은 민감도와 특이도가 우수하며, 정확한 균 동정과 약제감수성검사가 가능하지만 기본 배양 기간이 6~8주이므로 최적의 환자 관리를 위해서는 조기에 정확하게 검출할 수 있는 진단법이 필요하다[3-6]. PCR-based COBAS Amplicor *M. tuberculosis* Test (Roche Diagnostic Systems, Branchburg, NJ, USA), Amplified *M. tuberculosis* Direct Test (MTD, Gen-Pro-

be, San Diego, CA, USA), ligase chain reaction-based LCx test (LCx *M. tuberculosis*; Abbott Diagnostics Division, Abbott Park, IL, USA) 등의 분자생물학적인 방법을 이용한 결핵의 진단법은 결핵을 신속하게 진단할 수 있을 뿐만 아니라 예민도와 특이도가 높아 병원에서의 사용 빈도가 높아지고 있다[1,6]. 그러나 이러한 키트들은 NTM을 검출할 수 없는 단점이 있다. NTM에 의한 감염 빈도는 후천성면역결핍증 환자와 면역억제 환자의 증가에 의해 전 세계적으로 증가하고 있으며, 국내에서도 30% 수준까지 비율이 높아지고 있다[2]. 또한 NTM은 항결핵균 약제에 내성을 보이는 경우가 많기 때문에 결핵균과 NTM을 신속하고 정확하게 감별할 수 있는 진단법의 필요성이 증가하고 있다[7].

최근에 국내에서 실시간중합효소연쇄반응을 이용하여 검체에서 직접 결핵균과 NTM을 검출할 수 있는 LG AdvanSure TB/NTM real time PCR Kit (LG 생명과학, 서울, 한국)가 새롭게 개발되었기에, 본 연구에서는 호흡기 검체와 비호흡기 검체를 대상으로 이 키트의 임상적 유용성을 평가해 보았다.

Received 6 July, 2010, Revised 30 November, 2010
Accepted 5 March, 2011

Correspondence: Young Uh, Department of Laboratory Medicine, Yonsei University Wonju College of Medicine, 162 Ilsan-dong, Wonju 220-701, Korea. (Tel) 82-33-741-1592, (Fax) 82-33-731-0506, (E-mail) u931018@yonsei.ac.kr

대상 및 방법

1. 대상

2008년 8월부터 12월까지 원주기독병원 진단검사의학과에 항산균 염색, 배양 및 결핵균 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)이 의뢰된 총 165명 환자의 182개의 검체(호흡기 검체: 105개, 비호흡기 검체: 77개)를 대상으로 하였다. 호흡기 검체는 객담과 기관지폐포세척이 대부분이었고, 비호흡기 검체로는 골수천자, 농양, 뇌척수액, 늑막액, 복막액, 소변, 전혈, 콩팥갈래기(renal pelvis), 활액(synovial fluid) 등이 포함되었다.

2. 항산균 염색과 배양

객담이나 소변과 같은 오염의 가능성이 있는 검체는 동량의 4% NaOH/NALC (sodium hydroxide/standard N-acetyl-L-cysteine)를 첨가하여 15분간 진탕한 다음 50 mL가 되도록 인산염 완충식염수를 채우고 3,000×g에서 15분간 원심한 후 상청액을 조심스럽게 따라 버리고 1~3 mL 인산염완충식염수를 첨가하여 혼합한 뒤에 침전물을 멸균 피펫을 이용하여 도말 표본을 만들었다. 무균적으로 채취한 기관지폐포세척이나 흉수 등과 같은 체액은 직접 도말 표본을 제작하였다. 항산균 염색은 자동염색기 AFB stainer 7720 (Wescor, Inc., Logan, Utah, USA)을 이용하여 형광 염색을 하였고, 양성이면 Ziehl-Neelsen 염색법으로 확인하였다. 항산균 도말 결과는 미국 CDC (Centers for Disease Control and Prevention)의 기준에 따라 판정하였다[8].

항산균 배양을 위한 검체 전처리도 항산균 도말과 동일한 기준과 방법으로 시행한 후 BACTEC MGIT 960 culture tube (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD, USA)와 3% Ogawa 배지(Shin-yang chemical, Seoul, Korea)에 접종하였으며 나머지 부유액은 잠균 오염일 때의 확인 염색을 위해 3일간 보관하였다. BACTEC MGIT 960 배양 튜브(Becton Dickinson)는 제조사의 설명서에 따라 BBL MGIT OADC (oleic acid, albumin, dextrose, catalase) 0.5 mL와 BBL MGIT PANTA (polymyxin B, amphotericin B, nalidixic acid, trimethoprim, azlocillin) 0.1 mL를 첨가한 후에 0.5 mL의 농축한 검체를 접종하고 BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson) 결핵균 자동배양 장치에 장착한 다음 37°C에서 6주 동안 배양하였다. Ogawa 배지는 37°C에서 8주 동안 배양하였다. 액체 배지와 고체 배지 중에 한 개 이상의 배지에서 자란 경우 양성으로 판정하였다. 결핵균의 동정은 결핵균 약제 감수성검사가 의뢰된 경우에는 대한결핵협회의 결과를 이용하였고, 배양만이 의뢰된 경우에는 PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism) 분석법인 Myco-ID[®] (M&D, Inc., 원주, 한국)을 이용하여 동정하였다. 대한결핵협회는 결핵균 약제감수성검사서에서 para-nitro-

benzoic acid에서 균이 성장하면 NTM으로 판정하고, NTM의 동정은 *rhoB* 유전자의 다형성 부위를 이용하여 PCR로 증폭한 후 제한 효소로 처리 후 DNA절편을 생성시킨 다음 전기영동에 의해 균종을 동정한다.

3. COBAS AmpliCor MTB PCR test

제조회사의 설명서에 따라 1.5 mL 튜브에 세척액 500 μL를 미리 분주하고 전처리한 검체 100 μL를 첨가한 뒤 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상청액을 버리고 용해액 100 μL를 가하여 60°C에서 45분간 반응시킨 다음 중화용액 100 μL를 첨가하였다. 반응 혼합물 50 μL와 master mix 50 μL를 반응튜브에 넣고 AmpliCor (Roche molecular systems) 기기에서 검사하여 흡광도가 0.350 이상이면 양성으로 판정하였다[6,9,10].

4. LG AdvanSure TB/NTM real time PCR test

검체 전처리는 LG AdvanSure TB/NTM real time PCR Kit (LG 생명과학)의 사용 설명서에 따라 전처리한 후 남아있는 침전물을 DNA 추출에 이용하였다. 즉, 객담이나 기관지폐포세척은 검체 3 mL에 전처리액 3 mL를 첨가한 후 보텍스교반기를 이용하여 섞어준 다음 5분간 상온에 방치하면서 1분 간격으로 30초간 보텍스교반기를 이용하여 섞고 3,000 rpm으로 20분 동안 원심분리하고 상청액을 제거하였다. 여기에 검체 전처리액 1 mL를 첨가한 후 피펫을 이용하여 침전물을 섞은 후 1.5 mL 튜브로 옮겨서, 5분간 상온에 방치하면서 1분 간격으로 30초간 보텍스교반기를 이용하여 섞어주고, 13,000 rpm에서 3분 동안 원심분리하고 상청액을 제거하였다. 점성이 완전히 풀릴 때까지 앞의 과정을 반복한 후, 남아있는 침전물을 DNA 추출에 사용하였다. 뇌척수액, 소변 등의 각종 체액은 최대한 많은 양의 검체를 13,000 rpm에서 3분 또는 3,000 rpm에서 20분 동안 원심분리하고 상청액을 제거한 후, 남아있는 침전물을 DNA 추출에 사용하였다. 혈액은 1.5 mL 튜브에 EDTA-혈액 1.0 mL를 넣고 -20°C에서 4시간 또는 -70°C에서 2시간 동안 냉동시킨 후, 냉동된 혈액을 상온에서 완전히 녹여 용혈시키고 13,000 rpm에서 3분 동안 원심분리하였다. 이후 상청액을 제거하고 멸균증류수 1.0 mL를 첨가한 후, 보텍스교반기를 이용하여 30초 동안 섞은 후 13,000 rpm에서 3분 동안 원심분리하고 상청액을 제거하였다. 적혈구가 완전히 제거될 때까지 앞의 과정을 반복하고, 남아있는 침전물을 DNA 추출에 사용하였다.

항산균 DNA 추출은 전처리 과정 후 남아 있는 침전물을 1.5 mL 튜브에 옮기고 검체 전처리액 1.0 mL를 첨가하여 보텍스 교반기로 혼합한 후 13,000 rpm에서 3분 동안 원심분리한 다음 상청액을 제거하는 과정을 두 번 반복하였다. 여기에 추출 완충액 50 μL를 첨가한 후 잘 흔들어 섞은 다음 100°C에서 20분간 가열하였다. 이후 13,000 rpm에서 1분 동안 원심분리하고,

10초 동안 보텍스교반기로 혼합한 후 다시 13,000 rpm에서 3분 동안 원심분리하여 분리된 상청액 5 μ L를 PCR에 사용하였다.

PCR 반응은 2 \times PCR 혼합액이 10 μ L씩 분주되어 있는 200 μ L PCR 튜브에 TB/NTM primer/probe 혼합액 5 μ L와 추출한 검체 DNA 5 μ L를 첨가하고 SLAN real-time PCR detection system (LG 생명과학)을 이용하여 50°C에서 2분, 95°C에서 10분의 변성 단계 후 95°C에서 10초, 62°C에서 40초의 PCR 주기로 35회를 시행하였다. 5 N-엑소뉴클레아제 소식자와 시발체는 결핵균의 IS6110와 항산균의 *rpoB* 유전자에 특이적인 시발체를 이용하였다. PCR 반응의 검출에는 3개의 채널(*M. tuberculosis* complex, mycobacteria, internal control)을 이용하여 각 채널에서 FAM, HEX, Cy5 파장의 신호 형성을 확인하여 C_T 값이 35 미만일 때를 양성으로 판정하였다. 제조사의 지침서대로 각 신호에서 *rpoB*의 C_T 값이 IS6110의 C_T 값보다 크거나 같으면 결핵균으로 판정하고, 작은 경우에 IS6110 copy 수가 적은 *M. tuberculosis* complex 또는 결핵균과 NTM의 동시감염의 가능성이 있는 것으로 해석하였다. *rpoB*의 C_T 값만이 35 미만인 경우에는 NTM으로 해석하였다. PCR 저해 반응이 있는 검체는 추가적인 정제나 재추출을 통해 재검을 하여 결과를 판정

Table 1. Detection frequency of mycobacteria by based on PCR and culture results

Organisms	No. (%)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	43 (78.2)
Nontuberculous mycobacteria	12 (21.8)
<i>M. intracellulare</i>	6
<i>M. avium</i>	1
<i>M. chelonae</i>	1
<i>M. fortuitum</i>	1
<i>M. gordonae</i>	1
<i>M. kansasii</i>	1
<i>M. terrae</i>	1

Table 2. Sensitivity and specificity of acid-fast bacilli (AFB) stain and culture, and two PCR methods for detection of mycobacteria based on combination of PCR and culture results

Methods	Sensitivity	Specificity
AFB stain	47.3% (26/55)	96.1% (122/127)
Culture	89.1% (49/55)	100.0% (127/127)
Amplicor	86.0% (35/43)	96.0% (122/127)
AdvanSure-TB	97.7% (42/43)	92.1% (128/139)
AdvanSure-NTM	75.0% (9/12)	100.0% (170/170)
AdvanSure-TB/NTM	92.7% (51/55)	91.3% (116/127)

Abbreviations: Amplicor, COBAS Amplicor MTB PCR; AdvanSure-TB, AdvanSure-TB/NTM result for *Mycobacterium tuberculosis*; AdvanSure-NTM, AdvanSure-TB/NTM result for nontuberculous mycobacteria; AdvanSure-TB/NTM, LG AdvanSure TB/NTM real-time PCR.

하였다.

5. 양성 검체의 정의

A. 결핵 배양 고체 배지나 액체 배지에서 배양 양성인 경우
 B. 결핵 배양 음성이지만 PCR 양성인 경우에는 (i) 다른 검체에서 항산균 배양 양성인 환자의 검체인 경우 (ii) 결핵치료를 받은 환자에서 검체를 얻은 경우 (iii) 검체를 임상 증상, 방사선학적 양성, 결핵 피부 반응 검사 양성, 조직학적 양성, 항결핵치료 후 개선된 경우 등을 포함한 결핵의 병력이 있는 환자에서 얻은 경우의 3가지 부가적인 기준에서 1개 이상 만족하는 경우 [6]로 정의하였다.

결 과

총 182개의 검체에서 결핵균과 NTM 양성 검체는 각각 43개 (호흡기 검체 36, 비호흡기 검체 7)와 12개(호흡기 검체)로 모두 55개였으며, 결핵균과 NTM이 동시에 검출된 검체는 없었다(Table 1). 항산균 염색, 항산균 배양, COBAS Amplicor MTB PCR (Amplicor)과 LG AdvanSure TB/NTM real time PCR kit (AdvanSure)의 항산균 양성 검체의 검출 예민도는 각각 47.3%, 89.1%, 86%, 92.7%였으며, 특이도는 각각 96.1%, 100%, 96.0%, 91.3%였다(Table 2). 항산균 배양 결과를 기준으로 했을 때 AdvanSure의 결핵균 검출 예민도와 특이도는 각각 97.3% (36/37)와 95.5% (127/133)였고, NTM 검출 예민도와 특이도는 각각 75.0% (9/12)와 100%였다. 항산균 배양과 도말이 모두 양성인 경우는 AdvanSure에서 100% (24/24) 검출되었고,

Table 3. Comparison of two PCR results according to AFB stain and culture

Final results*	Results of AFB culture and stain			
	Culture positive (37/12) [†]		Culture negative (133)	
	Stain-positive (23/1) [†]	Stain-negative (14/11) [†]	Stain-negative (126)	Stain-positive (7)
<i>M. tuberculosis</i> (43)				
Amplicor-positive (35)	19	14	1	1
Amplicor-negative (8)	4	0	3	1
AdvanSure-positive (42)	23	13	4	2
AdvanSure-negative (1)	0	1	0	0
NTM (12)				
AdvanSure-positive (9)	1	8	0	0
AdvanSure-negative (3)	0	3	0	0

*Final results were based on the combinations of PCR and AFB culture results; [†]Positive numbers of *M. tuberculosis*/positive numbers of NTM.

Abbreviations: See Table 2.

Table 4. Sensitivity of two PCR methods for *M. tuberculosis* according to type of specimens based on combination of PCR and culture methods

PCR methods	Type of specimens	
	Respiratory	Non-respiratory
Amplicor	83.3% (30/36)	71.4% (5/7)
Advansure-TB/NTM	97.2% (35/36)	100% (7/7)

Abbreviations: See Table 2.

항산균 배양 양성인 경우 도말 음성인 경우는 AdvanSure에서 결핵균은 93.0% (13/14), NTM은 72.7% (8/11)에서 검출되었다 (Table 3). 결핵균 양성 검체를 기준으로 했을 때 Amplicor는 호흡기 검체와 비호흡기 검체에서 각각 83.3%와 71.4%의 검출률이었고, AdvanSure는 호흡기 검체와 비호흡기 검체에서 각각 97.2%와 100%의 검출률이었다 (Table 4).

고 찰

AdvanSure는 *M. tuberculosis* complex에 특이적인 IS6110과 항산균의 *rhoB* 유전자 부위의 염기서열에 특이적인 시발체에 의해 반응 산물이 형성되는 동시에 각 유전자에 특이적인 Taqman probe가 분해되어 형성되는 형광을 실시간중합효소연쇄반응 장비로 측정하는 방법으로, 결핵균과 여러 종류의 NTM을 검출할 수 있는 국내에서 개발된 진단 키트이다. 본 연구 결과, 항산균 배양 결과를 기준으로 했을 때 AdvanSure의 결핵균 검출 예민도와 특이도는 97.3%와 95.5%로서 기존에 보고된 여러 결핵균 검출 방법의 민감도 66.7~100.0%와 특이도 86.8~100%에 비교해 볼 때 뒤지지 않는 결과라고 판단된다[2, 7]. AdvanSure의 NTM 검출 예민도와 특이도는 75.0%와 100%로서 예민도는 결핵균보다 낮았으나 이전의 AdvanSure 평가 연구[7]의 55.6%에 비해서 높았다.

항산균 도말 염색 음성인 검체에서 분자생물학적 방법에 의한 항산균의 검출은 신속한 진단과 치료를 가능하게 하며 불필요하거나 해로운 진단 기술을 막는 데 도움이 되므로 검출 예민도가 특히 중요하다[4,5]. 본 연구에서는 항산균 배양 양성인 경우 도말 음성일 때 AdvanSure의 결핵균과 NTM의 검출 예민도는 각각 93.0% (13/14)와 72.7% (8/11)로 기존의 결핵균 74.5%, NTM 50%의 예민도에 비해 더 높았다[7]. 본 연구의 제한점으로 NTM 양성 검체 수가 12건으로 적어 AdvanSure의 NTM 검출 능력의 정확한 평가가 어려웠으며, 향후 이에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 생각되었다.

본 연구에서 항산균 배양 결과를 기준으로 할 때 AdvanSure의 결핵균 검출 위양성률과 위음성률은 4.5% (6/133)와 2.7% (1/37)로서 증폭 산물의 오염에 의한 위양성과 증폭 억제 물질

에 의한 위음성은 해결해야 할 문제점이었다[7]. 항산균 PCR 검사의 위양성은 잔효 효과(carry over)나 교차 오염에 의해 발생할 수 있으며, 또한 역학적으로 결핵의 유병률이 높은 지역에서 활동성 결핵이 없는 환자의 검체에서 적은 수의 결핵균이 군체를 형성하여 PCR에 의해 검출될 수 있다고 한다[1,4]. 본 연구에 사용된 키트는 실시간 중합효소연쇄반응법을 이용하기 때문에 증폭 후 전기영동이나 교잡반응과 같은 추가 과정 없이 분석이 가능하므로 핵산 추출 과정에서 검체 오염에 주의한다면 교차 오염에 의한 위양성의 가능성은 낮다고 할 수 있다 [2,7,11]. 본 연구에서는 위양성을 보인 모든 예에서 C_T 값이 31 이상이였다. 따라서 결과치가 판정기준치에 가까운 값일 경우 위양성의 가능성을 생각하여 임상 정보를 고려한 후 결과를 신중히 해석해야 할 것이다[7]. 또한, 위음성 결과를 보이는 경우는 기술적 오류, 균주 수가 적을 때, 결핵균이 응집하거나 끈을 형성하는 성향에 의해 분포가 균일하지 않을 때, 검체에 증폭 과정 저해 인자가 존재할 때, 증폭하는 표적 유전자의 변이나 결핍이 있을 때 등 여러 요인에 의해 나타날 수 있다[1,6]. PCR에서 위음성을 보이는 주요 원인인 검체 내 핵산증폭을 저해하는 물질의 존재는 배양된 균보다 임상 검체를 이용한 검사에서 그 가능성이 훨씬 높으며, 문헌에 의하면 저해 비율은 0.3~4.7% 정도로 다양하게 보고되고 있다[4,6,7]. 분자생물학적인 방법에서는 저해 반응을 확인하기 위해 internal control을 이용하여 위음성의 가능성을 확인하며, 본 연구에서 사용된 키트도 internal control 시발체를 함유하고 있는데, 추가적인 정제나 재추출 후 재검한 결과, 핵산증폭과정의 저해는 발견되지 않아서, 이에 의한 위음성의 가능성은 거의 없을 것으로 생각된다[7]. 분자생물학적인 방법은 이러한 위양성이나 위음성의 문제가 존재하기 때문에 항산균 염색과 배양을 함께 사용해야 하며 그 결과는 임상 정보를 고려해서 해석해야 한다[1].

본 연구 결과 AdvanSure은 항산균 검출의 민감도와 특이도가 우수하여 호흡기 및 비호흡기 검체를 이용한 결핵 및 비결핵 미코박테리아 감염증의 신속한 진단에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Araj GF, Talhouk RS, Itani LY, Jaber W, Jamaledine GW. Comparative performance of PCR-based assay versus microscopy and culture for the direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical respiratory specimens in Lebanon. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;4:877-81.
2. Chang HE, Heo SR, Yoo KC, Song SH, Kim SH, Kim HB, et al. Detection of *mycobacterium tuberculosis* complex using real-time polymerase chain reaction. *Korean J Lab Med* 2008;28:103-8.
3. Moore DF and Curry JI. Detection and identification of *Mycobacterium tuberculosis* directly from sputum sediments by Ampli-cor PCR. *J Clin Microbiol* 1995;33:2686-91.
4. Johansen IS, Thomsen VØ, Johansen A, Andersen P, Lundgren B.

- Evaluation of a new commercial assay for diagnosis of pulmonary and nonpulmonary tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:455-60.
5. 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.
 6. Levidiotou S, Vrioni G, Galanakis E, Gesouli E, Pappa C, Stefanou D. Four-year experience of use of the Cobas Amplicor system for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory and nonrespiratory specimens in Greece. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:349-56.
 7. Kim YJ, Park MY, Kim SY, Cho SA, Hwang SH, Kim HH, et al. Evaluation of the performances of advanSure TB/NTM real time PCR kit for detection of mycobacteria in respiratory specimens. *Korean J Lab Med* 2008;28:34-38.
 8. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. This official statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This statement was endorsed by the Council of the Infectious Disease Society of America, September 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:1376-95.
 9. Jung CL, Kim MK, Seo DC, Lee MA. Clinical usefulness of real-time PCR and amplicor MTB PCR assays for diagnosis of tuberculosis. *Korean J Clin Microbiol* 2008;11:29-33.
 10. Reischl U, Lehn N, Wolf H, Naumann L. Clinical evaluation of the automated COBAS AMPLICOR MTB assay for testing respiratory and nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol* 1998;36:2853-60.
 11. Iinuma Y, Senda K, Fujihara N, Saito T, Takakura S, Shimojima M, et al. Comparison of the BDProbeTec ET system with the Cobas Amplicor PCR for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:368-71.

=국문초록=

LG AdvanSure TB/NTM Real-Time PCR Kit의 항산균 진단 수행 능력 평가

연세대학교 원주의과대학 ¹진단검사의학교실, ²내과학교실
황상선¹, 오기진¹, 장인호¹, 어 영¹, 윤갑준¹, 김효열², 김영근²

배경: AdvanSure TB/NTM real-time PCR kit (AdvanSure)는 결핵균과 비결핵 미코박테리아(nontuberculous mycobacteria, NTM)를 검출하기 위해 결핵균과 NTM에 특이적인 IS6110과 *rpoB* 유전자를 표적으로 하는 primer와 TaqMan probe를 사용하여 국내에서 새로 개발된 검출 키트이다. 본 연구에서는 항산균 도말 염색과 배양법, COBAS Amplicor MTB PCR (Amplicor), AdvanSure의 결과를 비교하여 AdvanSure의 임상적 유용성을 평가하고자 하였다.

방법: 항산균 도말 염색과 배양법, Amplicor가 의뢰된 총 165명의 환자들에서 채취한 182개의 검체(호흡기 105개, 비호흡기 77개)를 대상으로 SLAN real-time PCR detection system으로 AdvanSure 검사를 하였다. AdvanSure의 예민도와 특이도를 AFB 염색과 배양을 기준으로 분석하였다.

결과: 총 182개의 검체 중 AdvanSure와 항산균 배양에 의해 43개의 검체에서 결핵균을 검출하였고, NTM은 12개의 검체에서 검출하였다. 항산균 배양 결과를 기준으로 했을 때 AdvanSure의 결핵균 검출 예민도와 특이도는 97.3% (36/37)와 95.5% (127/133)였고, NTM의 검출 예민도와 특이도는 75.0% (9/12)와 100% (0/133)였다.

결론: AdvanSure는 우수한 예민도와 특이도로 임상검사실에서 결핵균과 NTM을 검출하는 데 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단된다. [*대한임상미생물학회지* 2011;14:55-59]

교신저자 : 어 영, 220-701, 강원도 원주시 일산동 162
연세대학교 원주의과대학 진단검사의학교실
Tel: 033-741-1592, Fax: 033-731-0506
E-mail: u931018@yonsei.ac.kr