

Original article

항산균 배양에서 수산화나트륨 세척제로 증류수 사용에 대한 평가

백해경¹, 고현미², 이명희¹¹광주기독병원 진단검사의학과, ²전남대학교 치과대학 치의학연구소 구강해부학교실

Evaluating the Use of Distilled Water for Washing Sodium Hydroxide in Mycobacterial Culture

Hae-Gyeong Baek¹, Hyun-Mi Ko², Myung-Hee Lee¹¹Department of Laboratory Medicine, Kwangju Christian Hospital, Gwangju, ²Dental Science Research Institute, Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Chonnam National University, Gwangju, Korea.

ABSTRACT

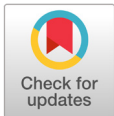
Background: Respiratory specimens subjected to mycobacterial detection were initially pre-treated with N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide (NALC-NaOH) to remove the mucus and normal flora. Next, they were washed and neutralized with phosphate-buffered solution (PBS). The effectiveness of distilled water (DW) compared to PBS as a washing neutralizer during identification of mycobacteria was evaluated in this study.

Methods: We analyzed the results of mycobacterial test conducted at a general hospital in Gwangju from October 2016 to September 2018. PBS and DW were used as a respiratory sample washing agent for one year each.

Results: The positive culture rate for the culture of mycobacteria was 12.7% (1,843/14,532) and 14.7% (2,095/14,291), when PBS and DW were used, respectively. The recovery rate of the mycobacteria growth indicator tubes (MGIT) and the separation rates of *Mycobacterium tuberculosis* complex and nontuberculous mycobacteria (NTM) showed no significant change. However, in 2% Ogawa medium, as the NTM culture increased from 47.4% (399/841) to 56.1% (630/1,122), the recovery rate increased from 45.6% (841/1,843) to 53.6% (1,122/2,095). The MGIT contamination rate decreased from 6.5% to 4.1%.

Conclusion: DW as a washing agent for NALC-NaOH increased the recovery rate of Ogawa media and reduced the contamination rate of MGIT. Therefore, use of DW instead of PBS as a washing neutralizer during identification of mycobacteria might be useful.

Keywords: Mycobacterial culture, *Mycobacterium* spp., Nontuberculous mycobacteria, Sodium hydroxide, Sputum



OPEN ACCESS

pISSN : 2288-0585
eISSN : 2288-6850Ann Clin Microbiol 2020 December, 23(4): 201-210
<https://doi.org/10.5145/ACM.2020.23.4.5>

Corresponding author

Myung-Hee Lee

E-mail: purunee0820@naver.com

Tel: +82-62-650-5436

Fax: +82-62-650-5226

Received: October 8, 2020

Revised: November 3, 2020

Accepted: December 2, 2020

© 2020 Korean Society of Clinical Microbiology.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

INTRODUCTION

결핵균군(MTBC, *Mycobacterium tuberculosis* complex)을 비롯한 비결핵 항산균(NTM, non-

tuberculous mycobacteria) 감염을 진단하기 위해 시행하는 항산균 배양 검사는 일반 세균에 비해 배양 속도가 늦어 상당한 시간이 소요되는 어려움이 있다[1]. 이러한 이유로 고체 배양에만 의존하던 방식을 액체 배양과 동시에 진행하여 배양 검사에 소요되는 시간을 단축시키고 검출률은 상승하였다[2]. 최근 결핵 발병률은 감소하면서[3] 임상 검체에서 NTM의 분리비율이 증가하고 있고 NTM에 의한 질환 중 90% 이상이 폐질환을 차지하므로[4,5] 호흡기 검체에서 항산균 검출률을 높이기 위한 검체 전처리 방법과 배양법에 대한 연구가 더 필요한 실정이다. 호흡기 검체 중 객담은 점액과 상재균 오염 가능성으로 인해 전처리제로 사용되는 N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide (NALC-NaOH)를 이용해 점액을 녹이고 오염균을 제거하는 과정을 통해 검출률을 높일 수 있다[6]. 이 과정에서 결핵균 세포벽 특성상 지질의 존재가 산성 및 알칼리성 환경에 대한 저항성을 제공하여[7] 결핵균은 저항성을 갖고 오염균은 제거가 가능하다. 액체 배양은 고체 배양에 비해 배양 성적이 높지만 배지 접종전 알칼리화된 검체를 증류수(DW, distilled water)나 인산 완충용액(PBS, phosphate buffered solution, pH 6.8)을 사용해 세척하는 과정이 필요하다[8-11]. 앞선 연구에서는[5-8] PBS를 이용해 세척 중화 후 배양에 이용했고 어떤 연구에서는 DW로 세척 후 PBS로 중화한 후 배양에 이용하기도 했다[2]. 하지만 전처리 방법에 따른 항산균 검출률과 액체 배양 mycobacterium growth indicator tube (MGIT; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) 오염률을 비교한 연구 보고는 있지만[2,8] 전처리제의 세척 중화 방법에 따른 항산균 검출률 또는 오염률 비교는 아직까지 보고된 바 없다.

본 연구에서는 2016년 10월부터 2017년 9월까지 PBS를 이용해 세척 중화한 후 검사한 결과와 2017년 10월부터 2018년 9월까지 DW로 세척하고 중화 과정을 생략하고 진행한 항산균 배양 및 polymerase chain reaction (PCR) 검사 결과를 분석하여 DW 대체 사용에 대한 유용성을 확인하고자 하였다.

MATERIALS AND METHODS

1. 대상

2016년 10월 1일부터 2018년 9월 30일까지 2년 동안 광주기독병원 미생물검사실로 항산균 검사를 의뢰한 임상 검체 28,823검체를 대상으로 항산균 배양검사와 PCR검사가 의뢰된 6,211건을 분석하였다. 2016년 10월 1일부터 2017년 9월 30일까지 14,532건 중 호흡기 검체(객담, 기관지세척액)는 전처리 후 PBS를 이용해 세척, 중화했고 2017년 10월 1일부터 2018년 9월 30일까지 14,291건은 관류용 멸균증류수(JW pharmaceutical, Seoul, Korea)로 세척하였다. 액체 배양과 고체 배양을 동시에 시행한 항산균 배양 결과와 PCR검사 결과를 대상으로 후향적 조사를 시행했다. 본 연구는 광주기독병원 생명윤리위원회(Institutional Review Board)의 승인을 얻어 실시하였다 (IRB No. KCHIRB-RE-2020-006).

2. 시약

6.0% NaOH (Ducksan pure chemical, Ansan, Korea)와 2.9% sodium citrate tribasic dehydrate (Ducksan pure chemical) 용액을 만들어 121°C, 15lb psi에서 15분 고압멸균 후 사용 전동량 섞어 NaOH 농

도를 3%로 맞춘 후 NALC (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany)를 0.5% 농도가 되도록 잘 혼합하여 완전히 용해시켜 사용했다. PBS (pH 6.8)은 4.74 g sodium phosphate dibasic anhydrous (Na_2HPO_4) (Ducksan pure chemical)과 4.54 g potassium phosphate monobasic (KH_2PO_4)(Ducksan pure chemical)을 DW 1L에 녹인 후 고압 멸균하여 사용했다.

3. 호흡기 검체 전처리

객담을 포함한 호흡기 검체가 들어있는 50 mL screw cap centrifuge tube에 검체의 2-3배 가량의 NALC-3%NaOH를 처리하여 실온에서 20분 동안 5분 간격으로 3-4회 충분히 진탕하였다. 객담 소화 후 세척 및 중화를 위해 50 mL까지 PBS 또는 멸균증류수를 혼합한 후 Continent 512R (Hanil, Gimpo, Korea)를 이용해 4°C, 3,600 RPM으로 20분간 원심분리하여 상층액을 제거 후 항산균 염색 검사에 이용하고 5 mL의 PBS 혹은 DW로 침전물을 부유하여 배양에 사용하였다.

4. 항산균 배양 검사

전처리 과정이 끝난 후 PBS나 DW 멸균으로 부유한 침전 검체는 상피세포 등 찌꺼기가 가라앉도록 5분간 세워둔 후 100 μL 를 고체배지인 2% Ogawa medium (Union Lab, Seoul, Korea)에 접종하여 배지 표면의 습기가 마르도록 37°C 배양기에 하루 동안 누어두었다가 세워서 8주간 배양하여 성장 유무를 확인하였다. 액체 배양은 검사 전 MGIT에 항산균을 잘 배양하기 위한 growth supplement (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)와 PANTA (Becton Dickinson)를 잘 섞어 800 μL 씩 분주한 후 검체 0.5 mL을 접종하였다. MGIT은 BACTEC MGIT 960 system (Becton Dickinson)에 장착하여 세균의 성장으로 산소를 소비함에 따라 활성화되는 형광을 측정하는 방법으로 균의 배양 유무를 측정하였고 최장 6주간 배양하였다.

5. MGIT 액체 배양 양성 검체 처리

BACTEC MGIT 960 system에서 양성 신호를 보내는 MGIT를 잘 혼합한 후 1 mL을 채취하여 원심침전 후 슬라이드를 제작해 형광염색(auramine-rhodamine)을 통해 항산균 여부를 확인한 후 PCR검사하였다.

6. 호흡기 검체 오염률 계산

PBS 사용 시기 호흡기 검체는 14,023예, DW 사용 시기 호흡기 검체는 13,794예로 이중 MGIT 960 system에서 양성신호를 주었지만 실제 항산균이 검출되지 않을 경우 오염률로 산정하였다.

7. PCR에 의한 MTBC 및 NTM 검출

검체는 배양과 동일한 방법으로 전처리한 후 검사키트 AdvanSure TB/NTM real-time PCR Kit (LG chem, Seoul, Korea)를 이용하여 SLAN-96P Real-Time PCR System (LG chem)에 제조사의 설명서에 따라 시행하였다.

8. pH 측정

전처리액 NALC-3% NaOH와 PBS, 전처리 후의 검체와 검체 접촉 후 MGIT의 pH를 pH-200 meter (HM Digital, Inc. Culver City, CA, USA)를 이용하여 측정하였다.

9. 통계 분석

PBS를 사용하였을 때와 DW를 사용하였을 때의 검사 결과 차이는 통계프로그램 Medcalc (version 19.5.3, MedCalc Software Ltd., Ostend, Belgium)을 이용하여 χ^2 검정을 실시해 유의성을 검증하였다. $P < 0.05$ 일 때 유의한 차이가 있다고 해석하였다.

RESULTS

1. 항산균 배양 결과 및 오염률

전처리 소화액의 세척 중화제로 PBS를 사용하였을 때 항산균 배양 양성률은 12.7% (1,843/14,532)였고 DW 사용시는 14.7% (2,095/14,291)로 유의한 차이가 있었다($P < 0.01$). PBS 사용시는 오염률이 6.5% (907/14,023)을 나타낸 반면 DW 사용시는 4.1% (563/13,794)로 감소하였다 (Table 1)($P < 0.01$).

Table 1. Mycobacteria culture results of specimen processed by PBS and DW

Washing solution	No. of specimen	No. (%) of positive culture for			No. (%) of contamination*
		All	MTBC	NTM	
PBS	14,532	1,843 (12.7)	684 (4.7)	1,159 (8.0)	907/14,023 (6.5)
DW	14,291	2,095 (14.7)	754 (5.3)	1,341 (9.4)	563/13,794 (4.1)

*Respiratory specimen.

Abbreviations: MTBC, *Mycobacterium tuberculosis* complex; NTM, nontuberculous mycobacteria; PBS, phosphate buffered solution; DW, distilled water.

2. 고체 배양과 액체 배양 결과

PBS 대신 DW를 사용한 후 고체 배양 양성률은 45.6% (841/1,843)에서 53.6% (1,122/2,095)로 증가하였으며(Table 2)($P < 0.01$), NTM의 배양 성적이 47.4% (399/841)에서 56.2% (630/1,122)로 향상되었다(Fig. 1)($P < 0.01$). 전체 양성률 대비 액체 배양 MGIT에서의 양성률은 PBS와 DW에서 각각 98.1%와 98.0%로 유의한 차이가 없었다(Table 2).

Table 2. Comparison of MGIT 960 system and Ogawa medium results by PBS and DW

Washing solution	Total	No. (%) of positive culture for			
		MGIT	MGIT only	Ogawa	Ogawa only
PBS	1,843 (100)	1,808 (98.1)	1,002 (54.4)	841 (45.6)	35 (1.9)
DW	2,095 (100)	2,054 (98.0)	973 (46.4)	1,122 (53.6)	41 (2.0)

Abbreviations: MGIT, mycobacterium growth indicator tube; PBS, phosphate buffered solution; DW, distilled water.

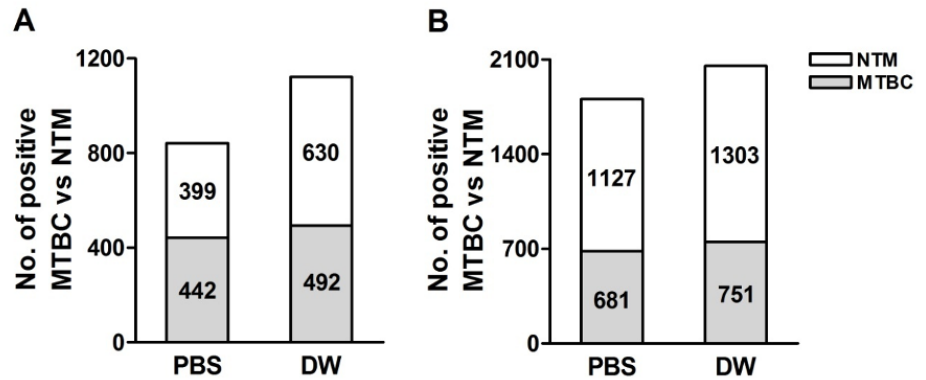


Fig 1. The number of *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) and nontuberculous mycobacterium (NTM) cultured in Ogawa (A) and MGIT (B) medium. MGIT, mycobacterium growth indicator tube; PBS, phosphate buffered solution; DW, distilled water.

3. MTBC와 NTM 검출비

PBS 사용 시기(2016년 10월부터 2017년 9월까지) MTBC와 NTM 검출비는 37.1% (684/1,843)와 62.9% (1,159/1,843)였고 DW를 사용한 시기(2017년 10월부터 2018년 9월까지)는 36.0% (754/2,095)와 64.0% (1,341/2,095)로 유의한 차이가 없었다. MTBC는 이 연구기간 이전부터 계속 감소하는 경향을 보이고 있다(Fig. 2). 배지별 분리율은 MGIT에서 MTBC와 NTM 분리비는 37.7% (681/1,808)와 62.3% (1,127/1,808)와 DW 사용 시기에 MTBC는 36.6% (751/2,054)와 NTM은 63.4% (1,303/2,054)였다. Ogawa media에서는 52.6% (442/841)와 47.4% (399/841)에서 DW 사용 시기에 43.9% (492/1,122)와 56.1% (630/1,122)로 나타나 NTM 분리 건수가 증가함에 따라($P < 0.01$) Ogawa 배양 전체 양성률이 증가되었다.

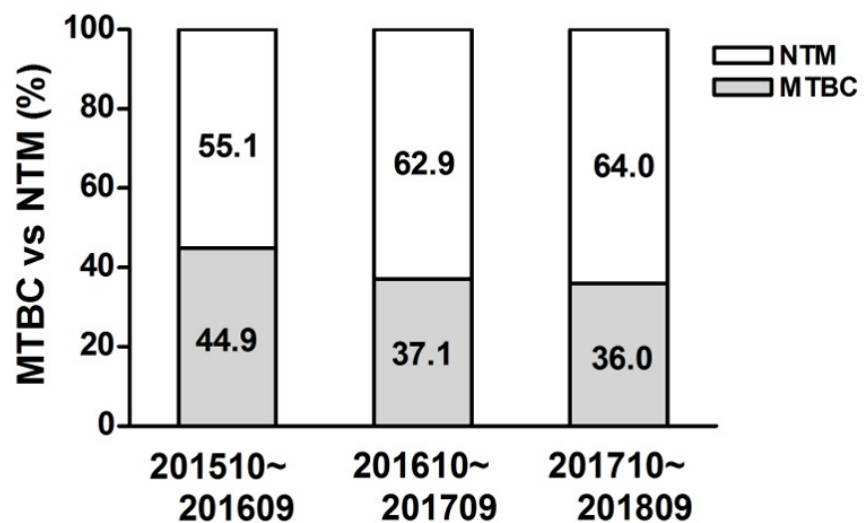


Fig 2. Annual change in the proportion of *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) vs nontuberculous mycobacteria (NTM) isolated in patients.

4. PCR 검사 결과

PCR 양성률은 PBS 사용 시기 5.4% (168/3,080)에서 DW 사용 시기 7.1% (222/3,131)로 상승하였다($P < 0.01$). MTBC와 NTM은 PBS 사용 시기에 4.2% (130/3,080)와 1.2% (38/3,080), DW 사용 시기에 5.2% (162/3,131)와 1.9% (60/3,131)로 확인되었다.

5. PBS와 DW 사용에 따른 pH 변화

PBS로 세척 중화한 후 검체의 pH는 평균 7.3 이었고 MGIT에 접종 후 pH는 6.8이었다. DW로 세척한 검체는 평균 pH 12.1이었으나 MGIT에 접종 후에는 pH 6.8이었다(Fig. 3).

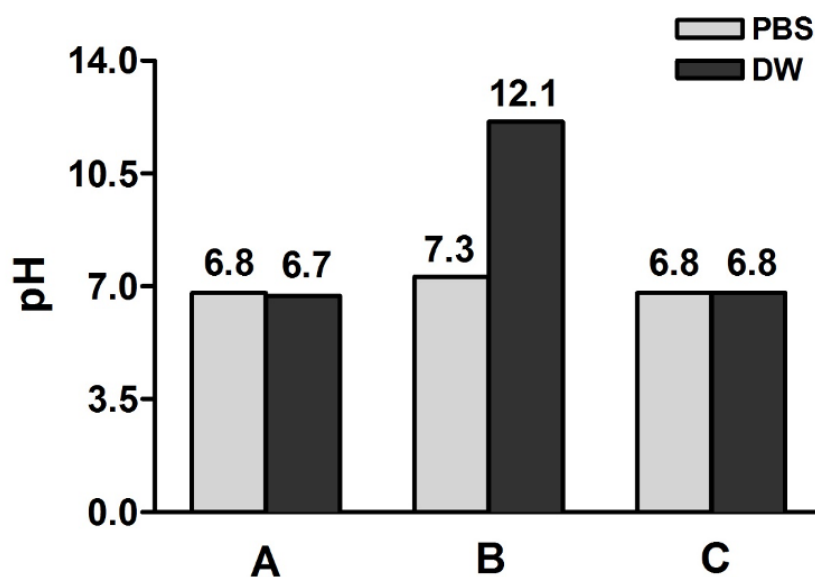


Fig 3. Changes of pH after washing pretreatment agent with PBS or DW and after inoculation of the specimen in MGIT. (A) pH of PBS and DW, (B) pH of the specimen after pretreatment and washing, (C) pH of the MGIT after inoculation of the specimen. MGIT, mycobacterium growth indicator tube; PBS, phosphate buffered solution; DW, distilled water.

Table 3. PCR results of specimen processed by PBS and DW

Washing solution	No. of specimen	No. (%) of positive PCR for		
		MTBC	NTM	Mycobacteria
PBS	3,080	130 (4.2)	38 (1.2)	168 (5.4)
DW	3,131	162 (5.2)	60 (1.9)	222 (7.1)

Abbreviations: PCR, polymerase chain reaction; MTBC, *Mycobacterium tuberculosis* complex; NTM, nontuberculous mycobacteria; PBS, phosphate buffered solution; DW, distilled water.

DISCUSSION

본 연구에서는 호흡기 검체 전처리액의 세척제로 PBS 대신 DW 사용의 유용성을 확인하기 위해 2년 동안의 mycobacteria 검사 결과를 분석하였다. 두 세척제 사용에 대한 정확한 비교 검사를 위해 동일 기간 동일 검체를 이용하는 것이 적절하나 객담의 특성상 검체를 정확히 반으로 나누는 것이 쉽지 않아 PBS와 DW 사용기간 각각 1년의 결과를 비교하여 분석하였기에 직접적인 결과 비교에는 제한점이 있음을 밝힌다. 호흡기 검체의 전처리 과정은 점액질을 녹여 그 사이에 있는 항산균을 집균시킬 수 있어 mycobacteria 검출률을 높이기 위한 매우 중요한 과정이다[6]. 이 과정에서 전처리제 NALC-3% NaOH의 세척제로 사용되던 PBS 대신 DW를 사용했을 때 검사를 위한 시약의 제조 과정이 단순해져 검사에 소요되는 시간과 노력을 절약할 수 있다. 이 연구에서 분석된 결과를 보면 PBS 대신에 DW를 사용한 시기에 항산균의 양성률은 12.7% (1,843/14,532)에서 14.7% (2,095/14,291)로 증가된 반면 오염률은 6.5% (907/14,023)에서 4.1% (563/13,794)로 오히려 감소함을 확인할 수 있었다. 전처리제인 NALC-NaOH의 농도는 항산균 배양 시 오염률에 영향을 준다는 보고들이 있는데 NaOH 농도를 6%로 올렸을 때 오염률은 줄고 검출률이 증가했다는 보고가 있으며[8] 1.5% NaOH를 사용한 연구에서는 오염률이 13.4%로 보고되었다[9]. 그러나 본 연구에서는 NaOH의 농도를 3% 그대로 유지하면서 DW를 세척제로 사용함으로써 오염률이 저하되고 양성율이 증가됨을 확인할 수 있었다. 그러나 DW 세척제 사용시기 검사 의뢰 환자의 유병률에 대한 정확한 정보가 없었기에 배양 양성율이 증가되어서 검출률이 증가되었다고 단언할 수는 없지만 DW 사용이 항산균 배양에는 영향을 주지 않았다는 것은 알 수 있다.

액체배지 MGIT에는 7 mL의 변형 된 Middlebrook 7H9 broth 베이스가 들어 있고 액체배지 속에 다량의 용존산소가 존재하여 형광을 억제하고 있다가 항산균 또는 기타 균이 자라면서 산소를 소모하게 되면서 365-nm UV light 하에서 오렌지색의 형광을 나타내게 되고 형광 감지기가 이를 감지함으로써 결핵균을 비롯한 항산균을 검출할 수 있다[8]. 이 때 오염균이 먼저 자란다면 MGIT를 장비에서 꺼내 양성 확인 과정을 거치면서 오염으로 처리되어 항산균이 있었다 할지라도 검출할 수 없게 된다. 이번 연구에서는 NALC-3% NaOH로 전처리된 검체를 DW로 세척하고 재 부유하면 MGIT 접종 전까지 알칼리 상태(pH 12.1)가 유지되는데, 항산균의 경우 지질세포벽 특성상 생존에 미치는 영향은 적은 반면[2] 상재 오염균은 더 많이 사멸되어 제거되었을 것으로 생각된다. 그리고 검체 접종 후에는 MGIT 안에 들어있는 disodium phosphate, monopotassium phosphate가 완충제 역할을 하게 되어 배양에 필요한 적정 pH가 맞춰져 배양환경에는 영향을 주지 않았을 것으로 사료된다(Fig. 3). 그러나 MGIT 배지는 NaOH 농도가 높으면 위양성의 가능성이 있어 세척시 주의가 필요하며 강 알칼리 상태의 검체를 오랜 시간 방치하면 검출률에 영향을 줄 수 있으므로 본 연구에서는 원심침전검체를 DW로 부유 후 5분 이상 지체하지 않고 MGIT에 접종하였다. 하지만 검체를 DW로 부유 후 지체 시간에 따른 오염률과 양성률 변화에 대한 실험은 따로 시행하지 않았다.

국내에서 보고된 자료에서 MGIT의 오염률은 NaOH의 농도나 전처리 조건에 따라 차이가 있어 5-10% [12], 혹은 10% 이상의 오염률도 보고되었지만[10] 질병관리본부 국립보건원에서 발행한 결핵지침서에서는 일반적으로 5-10%에서 정상 상재균에 의한 오염이 발생하고 오염률이 5%보다 낮으면 항산균 자체에도 영향을 미칠 수 있으며 일정 기간 동안 오염률이 10%를 넘는다면

오염제거 과정에 대한 점검이 필요하다고 제시하고 있다. 본 연구에서는 PBS 사용 당시 MGIT 오염률은 6.5%였으나 멸균 DW 사용으로 인해 4.1%로 낮아져 상재균의 오염이 더 제거되었음을 알 수 있다. 본 연구기간 Ogawa media 배양 오염기록 미비로 고체배양 오염률 산정이 불가능하였음을 밝힌다.

전체 배양 양성에서 차지하는 고체배지 배양 양성률이 45.6%에서 DW사용시기에 53.6%로 증가된 것은 검체 의뢰 환자의 유병률과 관계없이 고체배지 배양성적이 향상되었음을 의미한다. 액체 배양이 도입된 후 고체 배양은 전처리 된 검체를 액체 배양과 동시에 접종하게 되었고 액체 배양에 비해 검출률을 높이기 위한 연구가 부족했던 것이 사실이다. 그러나 Ogawa배지는 자체의 산성도로 인해 DW로 세척하여 알칼리 상태인 검체를 접종함으로써 배지에서 중화가 일어나 배양환경이 호전되어 양성률 증가로 이어져 오히려 DW의 사용이 더 적합할 수 있음을 시사한다. 고체배지 양성률 증가는 액체배지가 오염된 경우 항결핵제 감수성 검사 등 추가 검사가 필요할 때 대체할 수 있는 장점이 있다. 또한 결핵환자의 치료 경과를 평가하거나 NTM에 의한 폐질환의 추적 관찰에 필요한 정량검사가 가능하며 집락의 형태를 직접 관찰할 수 있는 장점이 있으며 고체배지에서만 자라는 항산균을 검출할 수 있기 때문에 액체 배양만으로 모든 항산균을 검출할 수 없는 문제를 해결할 수 있다[12,13]. 그에 반해 MGIT 액체 배양은 PBS 사용시기에 전체 양성률 대비 98.1%와 DW 사용시기에 98.0%로 변화가 없어 고체 배양과 달리 액체 배양 성적에는 영향을 미치지 않은 것으로 사료된다. NTM의 배양률이, MGIT 액체 배양이 고체 배양보다 NTM 배양 양성률이 크게 높다는 보고와 같이[12] 고체 배양에서의 NTM 배양률이 낮은 결과를 보였지만 DW를 사용한 경우 Ogawa media에서 MTBC의 분리는 저하되지 않으면서 NTM은 47.4%에서 56.2%로 증가하였다(Fig. 1). 하지만 본 연구에서 DW 사용 후에도 Ogawa media의 배양 성적은 여전히 전체 양성률 대비 53.6%이므로(Table 2) 다른 보고서의 60% 이상과[8,14] 80% 이상보다[13] 낮은 수치여서 향후 고체 배양 양성률을 높이기 위한 연구가 더 필요한 실정이다.

PCR 검사 양성률이 DW 세척제 사용시 5.4% (168/3,080)에서 7.1% (222/3,131)로 증가했다(Table 3). 배양검사에 비해 pH의 영향을 덜 받을 것으로 사료되는 PCR 검사의 양성률 증가는 DW 사용시기의 양성률이 실제로 증가하였을 가능성을 배제할 수 없지만 PCR 검사 의뢰 환자가 배양검사 의뢰 환자의 22%에 그치고 MTBC와 NTM 검출비 또한 배양검사 결과와 다르게 나타나 양성률 증가와 실제 유병률 증가의 상관관계를 논하기엔 부족해 보인다. 하지만 최근 NTM의 증가로 전체 항산균 배양 양성률이 줄어들지 않고 있어 지속적인 감시와 자세한 분석이 필요해 보인다. 그리고 이곳에 따로 표기하진 않았지만 같은 기간 항산균 염색결과도 7.2% (1,311/18,189)에서 9.1% (1,577/17,371)로 증가하여 DW 사용이 항산균 염색검사서 항산균 검출에 영향을 주지 않았음을 알 수 있다.

결론적으로 호흡기 검체 전처리제의 세척 중화제로 사용되던 PBS 대신 DW 사용이 MGIT 액체배양의 오염률을 낮추고 배양과 PCR, 항산균 염색검사서 항산균 검출에 영향을 주지 않으며 특히 고체배지에서 항산균의 배양률을 증가시키므로 전처리제의 세척제로 DW를 사용하는 것도 유용할 것으로 사료된다.

요약

배경: 항산균 검사를 위한 호흡기 검체는 점액과 상재균 제거를 위해 N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide (NALC-NaOH)로 전처리한 후, 인산완충용액으로 세척과 중화를 거치게 된다. 본 연구에서는 인산완충용액대신 증류수 사용에 대한 유용성을 평가하고자 하였다.

방법: 2016년 10월부터 2018년 9월까지 2년 동안 광주 소재 종합 병원에서 진행된 항산균검사를 분석했다. 호흡기검체의 전처리 세척제로 인산완충용액과 증류수를 각각 1년씩 사용하여 검사하였다.

결과: 배양 양성률은 인산완충용액 사용시기에 12.7% (1,843/14,532), 증류수 사용시기에 14.7% (2,095/14,291)였다. MGIT의 양성률과 MTBC와 NTM의 분리비는 변화가 없었다. 그러나 2% Ogawa media에서는 NTM의 배양이 47.4% (399/841)에서 56.1% (630/1,122)로 증가함에 따라 양성률이 45.6% (841/1,843)에서 53.6% (1,121/2,095)로 증가하였다. MGIT 오염률은 6.5%에서 4.1%로 감소하였다.

결론: NALC-NaOH 세척제로 증류수를 사용하는 것은 MGIT의 오염률은 감소시키면서 Ogawa media의 양성률을 증가시켰다. 따라서, 항산균 배양 검사에서 전처리 세척제로 인산완충용액대신 증류수 사용도 유용할 것으로 사료된다.

CONFLICTS OF INTEREST

No potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

ACKNOWLEDGEMENTS

In this study, Woon-Seok Yeo, the medical information office of Gwangju Christian Hospital, helped collect data.

REFERENCES

1. Hwang SS, Oh KJ, Jang IH, Uh Y, Yoon KJ, Kim HY, et al. Evaluation of the diagnostic performance of the AdvanSure TB/NTM real-time PCR kit for detection of mycobacteria. *Korean J Clin Microbiol* 2011;14:55-9.
2. Kim YS, Jo YH, Lee HJ, Suh JT, Lee YJ. Comparison of the MGIT (mycobacteria growth indicator tube) with Ogawa media for recovery of mycobacteria. *Korean J Clin Microbiol* 2001;4:58-61.
3. Go UY, Park MS, Kim UN, Lee SD, Han SM, Lee JY, et al. Tuberculosis prevention and care in Korea: evolution of policy and practice. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis* 2018;11:28-36.
4. Schlossberg D. Tuberculosis and nontuberculous mycobacterial infections. 6th ed. Washington, DC: ASM Press, 2011.
5. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:367-416.

6. Kang H, Sung N, Lee S, Kim D, Jeon D, Hwang S, et al. Comparison of smear and culture positivity using NaOH method and NALC-NaOH method for sputum treatment. *Tuberc Respir Dis* 2008;65:379-84.
7. Beran V, Havelkova M, Kaustova J, Dvorska L, Pavlik I. Cell wall deficient forms of mycobacteria: a review. *Vet Med* 2006;7:365-89.
8. Yi JY, Kim JP, Shin JH, Suh SP, Ryang DW. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* using BACTEC mycobacteria growth indicator tube (MGIT) 960 system: comparison with BACTEC 460 TB system and Ogawa media. *Korean J Clin Pathol* 2000;20:384-91.
9. Subramanyam B, Sivaramakrishnan G, Sangamithrai D, Ravi R, Thiruvengadam K, Vijayaragavan V, et al. Reprocessing of contaminated MGIT 960 cultures to improve availability of valid results for mycobacteria. *Int J Microbiol* 2020;1721020:1-3.
10. Jung H, Bang HI, Choi TY. Evaluation of the effectiveness of a re-decontaminating process with bacterial contaminated specimens showing a positive MGIT signal for the detection of mycobacteria. *Korean J Clin Lab Sci* 2019;51:171-6.
11. Krasnow I and Wayne LG. Sputum digestion. I. The mortality rate of tubercle bacilli in various digestion systems. *Am J Clin Pathol* 1966;45:352-5.
12. Bae E, Im JH, Kim SW, Yoon NS, Sung H, Kim MN, et al. Evaluation of combination of BACTEC mycobacteria growth indicator tube 960 system and Ogawa media for mycobacterial culture. *Korean J Lab Med* 2008;28:299-306.
13. Joung US, Jeong J, Lee SH, Kim SR. Comparison of mycobacterial culture by mycobacterium growth indicator tube and Ogawa media. *Korean J Clin Microbiol* 2004;7:135-8.
14. Kim YS, Jo YH, Lee HJ, Suh JT, Lee YJ. Comparison of the MGIT (mycobacteria growth indicator tube) with Ogawa media for recovery of mycobacteria. *Korean J Clin Microbiol* 2001;4:58-61.