

만성 당뇨발에서 표재조직 및 심부조직 세균배양검사의 비교

이성미·한승규·김우경

고려대학교 의과대학 성형외과학교실

Difference of Microbiology according to Tissue Sampling in Diabetic Ulcers

Sung Mi Rhee, M.D., Seung-Kyu Han, M.D.,
Woo Kyung Kim, M.D.

Department of Plastic Surgery, Korea University College of
Medicine, Seoul, Korea

Purpose: Diabetic foot infection is one of the most common and severe complications of diabetes mellitus that delays healing of the wound. Deep tissue biopsy is considered to be the gold standard method for antibiotic selection in treating infected chronic diabetic ulcers. However, swab culture or superficial tissue biopsy is often performed for a microbiologic test since deep tissue biopsy has limitations in application. The purpose of this study is to find out whether microbiologic results of swab culture or superficial tissue biopsy could be used for selection of antibiotics in treating diabetic ulcers.

Methods: This study involved 42 patients with diabetic foot ulcers with negative results in bone probing test. Tissue samples for microbiologic tests were collected from all the patients by using superficial cotton swab, superficial tissue, and deep tissue. The microbiologic results of deep tissue biopsy were compared with swab culture and superficial tissue biopsy statistically.

Results: Microbiology of the deep tissue showed the same results with those of the swab culture and superficial tissue in 67% and 71%, respectively. Statistical analysis demonstrated that the microbiology of the swab culture and superficial tissue does not coincide with that of the deep tissue.

Conclusion: These results suggest that the microbiology of the swab culture and superficial tissue is not concordant with that of the deep tissue in infected chronic diabetic ulcers. To select appropriate antibiotic regimen, the speci-

men for the microbiologic test should be obtained from deep tissue.

Key Words: Diabetic foot, Microbiology, Tissue sampling

I. 서 론

적절한 항생제 사용은 변연 절제술과 더불어 만성당뇨발 감염의 치료에 있어 필수적이다.¹ 그러나 감염을 일으킨 병원균의 규명은 대부분의 당뇨발 감염에 존재하는 정상 집락균으로 인해 어려운 경우가 많다.² 따라서 세균배양검사의 방법이 실제 병원균을 규명하는데 매우 중요하다고 할 수 있다. 일반적으로 창상에서 배양조직을 획득하는 검사방법은 도말균 검사, 표재조직검사, 심부조직검사가 있다. 만성 창상에서는 표재조직과 심부조직에 형성된 세균의 집락균이 동일하지 않은 경우가 많은 것으로 알려져 있으며, 임상적으로 치료 항생제를 선택할 때는 변연 절제술이나 국소소독제에 의해 비교적 쉽게 살균이 가능한 표재조직균보다는 심부조직균에 초점을 맞춰야 한다.

그러나 창상을 치료하는 의료진들이 심부조직 세균배양 검사 시의 불편함, 침습성, 수술 기술적 문제, 비용 등 여러 이유로 간단한 도말균 검사나 창상의 표재조직에서 채취한 조직으로 시행한 세균배양검사 결과를 토대로 항생제를 선택하여 치료하는 경우가 적지 않다. 외국의 경우 표재조직과 심부조직의 세균배양검사 결과가 일치하지 않으므로 심부조직 세균배양검사가 당뇨발 감염의 병원균 규명을 위한 가장 적합한 방법이라는 논문이 다수 있다.^{3,5} 그러나 국내에서는 실제 만성 당뇨발 감염에서 표재조직과 심부조직의 세균배양검사의 결과가 어느 정도 일치하는지에 대한 연구는 발표된 바 없는 실정이다.

당뇨발 감염은 당뇨의 가장 빈번하고 심각한 합병증의 하나로 창상치유가 지연되면 심각한 경우 절단에 이르게 하거나 패혈증으로 발전되게 하기도 한다. 따라서 정확한 원인균 파악 및 이에 감수성이 있는 적절한 항생제 사용은 당뇨발 감염치료에 있어 매우 중요하다.

저자들은 우리나라 만성 당뇨발 감염에서 도말균 검사나 표재조직의 세균배양검사 결과와 심부조직의 세균

Received September 23, 2009
Revised December 2, 2009

Address Correspondence: Seung-Kyu Han, M.D., Department of
Plastic Surgery, Korea University Guro Hospital, 97 Guro-
dong, Guro-gu, Seoul 152-703, Korea. Tel: (02) 2626-3333 /
Fax: (02) 868-6698 / E-mail: pshan@kumc.or.kr

* 본 논문은 2009년 제 66차 대한성형외과학회 학술대회에서 구연 발표하였음.

배양검사 결과의 연관성을 알아보기 위하여 본 연구를 시행하였다.

II. 재료 및 방법

당뇨발을 주소로 저자들이 속해 있는 기관에 내원한 환자들을 대상으로 2007년 4월부터 2008년 6월까지 전향적인 연구를 실시하였다. 4주 이상 치유되지 않는 개방성 병변을 주소로 내원한 환자 148명 중 bone probing test를 실시하여 음성인 환자 42명을 본 연구에 포함시켰다. 남자 34명, 여자 8명이었고 평균 나이는 61.5세, 평균 유병기간은 6.8개월이었다 (Table I).

Table I. General Clinical Features of Patients Involved in this Study (n = 42)

Gender	
Male	34 (81%)
Female	8 (19%)
Age (years)	
	61.5 ± 8.5 (range 46 - 83)
Disease duration (months)	
	6.8 ± 14.3 (range 0.1 - 84)

검사방법을 살펴보면, 먼저 수압을 이용하여 창상표면을 식염수로 세척하였다. 도말균 검사는 창상 부위 중 분비물이 많고 노란 괴사조직이 있는 곳에서 Levine technique과 Z-technique를 혼합하여 시행하였다.⁶ 그 후 Scalpel로 도말균 검사 부위의 표재조직을 채취하여 표재조직 세균배양검사를 시행하였다. 또한 창상을 scalpel, tissue nipper, rongeur를 사용하여 변연 절제술을 시행한 후 표재조직 세균배양검사 부위의 깊은 곳에 있는 심부조직을 채취하여 심부조직 세균배양검사를 실시하였다 (Fig. 1).

도말균 검사 검체는 modified Stuart's medium 멸균 튜브, 표재조직과 심부조직 검체는 빈 멸균 튜브에 담겨 즉시 미생물 배양실로 보내졌다. 검체는 호기성균을 배양을 위한 Sheep blood agar plate, MacConkey II agar plate 및 혐기성균배양을 위한 Chocolate agar plate에 접종하여 35°C에서 24-48시간 배양하였으며, 분리된 균의 동정은 수기 검사 및 Vitek II (BioMerieux, Durham, NC, USA) 시스템을 이용하였다. 감수성 검사는 CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) 가이드라인에 따른 디스크 확산법을 사용하여 균종에 따라 선별된 항생제에 대해 감수성, 중간 감수성, 비감수성 (내성)으로 평가하였다.

통계학적 분석은 SPSS version 12.0 (Statistical Package

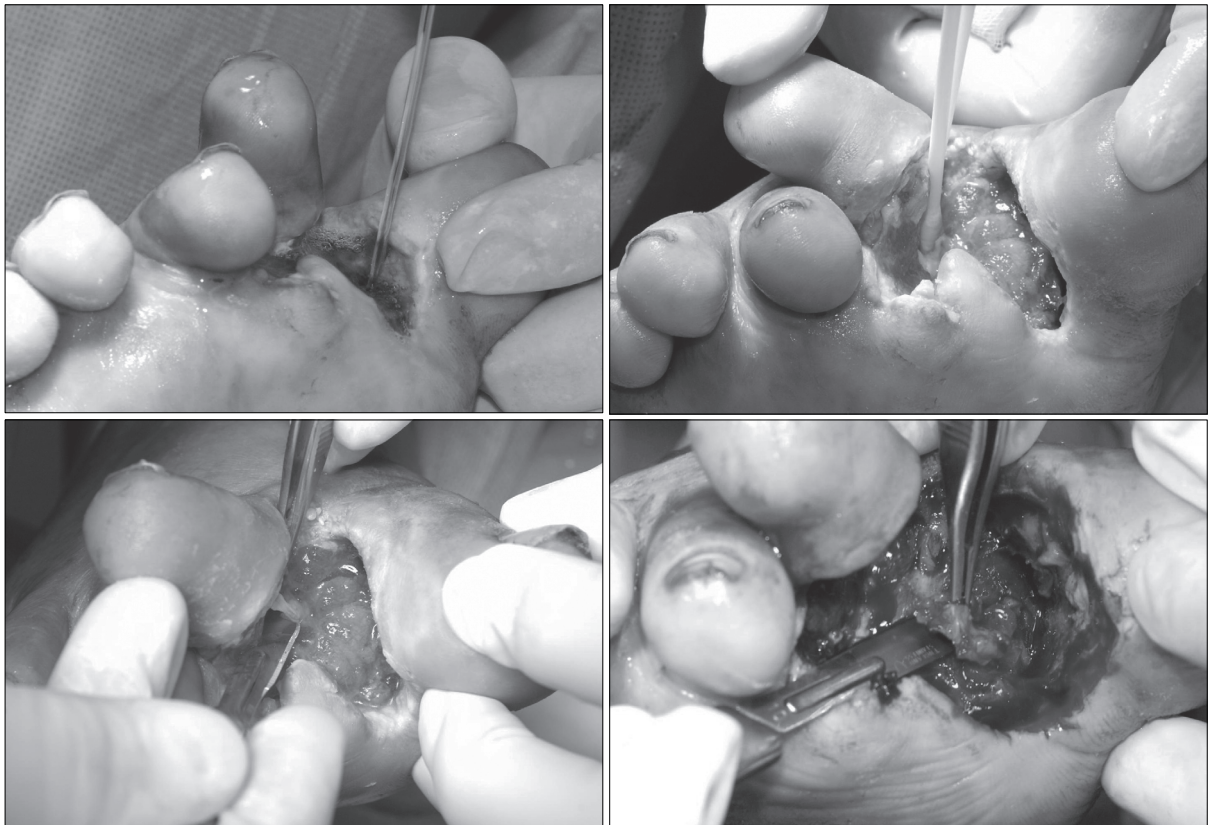


Fig. 1. Diabetic ulcer on the 1st web space of the right foot. (Above, left) Saline washing with syringe. (Above, right) Swab culture. (Below, left) Superficial tissue culture. (Below, right) Deep tissue culture.

for the Social Science)을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었다. 검사방법에 따른 일치율은 One sample test를 사용하여 통계학적 유의성을 확인하고 통계학적 유의성은 5%유의 수준으로 검정하였다. 또한 도말 및 표재조직 세균배양 검사 결과에서 음성으로 나왔으나 심부조직 세균배양 검사에서 양성으로 나온 경우와 그 반대의 경우에 대한 비율도 조사하였다.

III. 결 과

총 42명 중에서 세 개 검사방법 중 하나 이상에서 균이 동정된 경우는 29명으로 69.0%에 해당하였다. 각 검체별로 균 동정률은 도말균 검사 62.0%, 표재조직 세균배양검사 66.7%, 심부조직 세균배양검사 64.3%이다.

심부조직 세균배양검사 결과가 도말균 검사 및 표재조직 세균배양검사 결과와 일치하는 경우는 각각 67% 및 71%였다. 이 일치율은 One sample test에 의한 통계 분석결과 양쪽의 세균배양검사 결과가 모두 일치하지 않는 것으로 평가되었다.

도말균 검사 및 표재조직 세균배양검사서 음성으로 나왔으나 심부조직 세균배양검사 결과가 양성으로 나온 경우는 각각 9.0%, 7.7%였고, 도말균 검사 및 표재조직 세균배양 검사 결과가 양성으로 나왔으나 심부조직 세균배양검사 결과 음성으로 나온 경우는 각각 0%, 4.2%였다.

도말균 검사 결과 총 25개 검체에서 30개의 균이 검출되었고(검체 당 평균 1.20개), 표재조직 세균배양검사 결과 총 28개 검체에서 34개(검체 당 평균 1.21개), 심부조직 세균배양검사 결과 총 28개 검체에서 38개(검체 당 평균 1.36개) 균이 검출되었다.

검사방법별로 그람 양성균과 음성균의 비율은 세 개 방법에서 모두 유사하였다(Table II). 그람 양성균이 가장 큰 비율을 차지하였고(도말균 검사 67.7%, 표재조직 세균배양검사 67.7%, 심부조직 세균배양검사 68.4%) 혐기성균은 상대적으로 흔하지 않았다. 도말균 검사에서 혐기성균의 비율은 0%로 이는 표재조직 세균배양검사 5.9%, 심부조직 세균배양검사 7.9%와 차이를 보였다.

그람 양성균 중에서도 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)가 가장 흔한 동정균이었으며 특히 Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA)의 비율은 도말균 검사 51.6%, 표재조직 세균배양검사 38.2%, 심부조직 세균배양검사 36.8%로 나타났으며 그 외에 *Enterococcus species*, *Streptococcus species*가 많이 검출되었다.

세균배양검사의 결과와 항생제 투여의 기준이 되는 항생제감수성 결과를 비교해 보면 모든 세균을 같은 종류의 항생제들로 감수성검사를 하는 것이 아니라 세균의 종류에 따라

감수성검사를 시행하는 항생제의 목록이 다르므로 심부나 표재에서 다른 균이 나왔을 경우의 항생제 감수성검사에 따른 투여기준은 서로 비교할 수 없었다. 반대로 심부나 표재에서 같은 균이 나왔을 경우의 같은 항생제에 대한 감수성은 차이가 없었다. 즉 한 곳 세균의 일정 항생제에 대한 반응이 감수성이 있거나 저항성이 있는 경우 다른 곳도 동일한 결과를 보였다.

IV. 고 찰

당뇨발 감염은 다수균의 혼합 감염, 혐기성균의 감염으로 그 치료가 어려운 것으로 알려져 있고⁷ 정확한 균배양 검사 방법으로 병원균을 밝히는 것은 당뇨병 감염의 치료에 있어 가장 중요한 과정이다. 심한 만성 당뇨병 감염의 병원균 규명을 위해 도말균 검사, 표재조직 세균배양검사, 심부조직 세균배양검사 등이 흔히 시행되고 있으나 선진국의 경우 심부조직검사가 당뇨병 감염의 병원균 규명을 위한 최적의 방법이라는 데는 이견이 없다.³⁻⁵

본 연구에서는 bone probing test를 실시하여 골조직 감염이 동반되지 않은 우리나라 당뇨병 감염에서 각각 도말균 검사 및 표재조직 세균배양검사와 심부조직 세균배양검사의 결과를 비교해 보고 그 연관성을 전향적으로 알아보고자 했다. Bone probing test는 Grayson 등⁸의 논문에 따르면 85%의 민감도를 보여 골수염 여부를 진단하는 데 있어 X-rays나 Bone scan보다 우수한 것으로 보고되는 검사로, 본 연구에서 골조직 병변이 있는 경우를 제외한 이유는 항생제 선택, 항생제 유지기간, 수술적 접근 등 치료방향이 골조직 병변이 없는 경우와 크게 차이가 나기 때문이다.⁹ 골조직 병변이 있는 환자에 대한 균배양검사방법의 연관성은 향후 연구를 통하여 규명이 필요할 것으로 사료된다.

저자들의 연구결과 심부조직 세균배양검사 결과와 도말균 검사 및 표재조직 세균배양검사 결과는 일치하지 않는 것으로 나타났다. 이는 도말균 검사가 병원균을 정확하게 규명하지 못 한다고 발표한 Sapico 등⁵의 결과(심부조직 세균배양검사와 도말균 검사 및 표재조직 세균배양검사의 일치율 각각 62%, 74%)와 유사하며 그 외에도 유사한 결과를 보고한 논문들이 다수 있다.³⁴ 따라서 본 논문의 결과를 보면 우리나라 당뇨병 감염 환자의 치료에 있어서 도말균 검사 및 표재조직 세균배양검사가 심부조직 세균배양검사의 결과를 대체할 수 없으므로 다른 유수의 논문³⁻⁵에서 발표한 바와 같이 골조직 병변이 없는 당뇨병 감염에서 심부조직 세균배양검사를 시행하여 병원균을 규명해야 한다고 판단된다.

본 논문의 결과에서 또 주목해야 하는 점은 도말균 검사 및 표재조직 세균배양검사서 음성으로 나왔으나 심부조

Table II. Bacteriology according to Culture Technique

	Number of positive cultures(%)		
	Swab	Superficial	Deep
Gram-positive	21(67.7)	23(67.7)	26(68.4)
Aerobes	21	22	24
Staphylococcus aureus	18	15	18
Methicillin-resistant	16	13	14
Methicillin-susceptible	2	2	4
CNS*	2	2	0
Enterococcus spp. [†]	0	2	3
Streptococcus spp. [†]	1	3	3
Anaerobe	0	1	2
Peptostreptococcus spp. [†]	0	1	2
Gram-negative	8(25.8)	10(29.4)	10(26.3)
Aerobes	8	9	9
Pseudomonas spp. [†]	0	1	3
Morganella morganii	2	1	0
Serratia marcescens	2	1	0
Proteus spp. [†]	0	2	1
Klebsiella pneumoniae	0	1	1
Enterobacter cloacae	2	1	1
<i>Escherichia coli</i>	2	2	3
Anaerobes	0	1	1
Bacteroides spp. [†]	0	1	1
Prevotella bivia	0	0	0
Fungus	2(6.5)	1(2.9)	2(5.3)
Candida albicans	2	1	2
Total	31(100.0)	34(100.0)	38(100.0)
Aerobe	29(93.5)	31(91.2)	33(86.8)
Anaerobe	0(0.0)	2(5.9)	3(7.9)
Fungus	2(6.5)	1(2.9)	2(5.3)

*: Coagulase negative staphylococcus.

†: species.

직 세균배양검사 결과가 양성으로 나온 경우가 각각 9.0%, 7.7% 였다는 점이다. 이는 항생제 오용과 직결되는 문제로 창상을 치료하는 의료진들이 심부조직 세균배양검사의 불편함, 침습성, 기술적 어려움 등 여러 이유로 도말균 검사나 표재조직 세균배양검사만 실시하는 경우 심부조직 세균 치료에 필요한 항생제를 사용하지 않는 실수를 범하게 된다.

일반적으로 만성 당뇨병으로 인해 전신 상태가 좋지 않은 당뇨발 감염 환자에서 적당한 항생제 치료를 하지 않을 경우 절단을 해야 하거나 원인균으로 인한 패혈증 등 치명적인 합병증이 생길 수 있고 치료를 지연시킬 수 있으므로 당뇨발 감염이 의심되는 경우 반드시 심부조직 세균배양검사를 실시해야 한다. 또한 반대로 도말균 검사 결과가 양성으로 나

왔으나 심부조직 세균배양검사 결과 음성으로 나온 경우는 없었고, 도말균 검사 결과와 심부조직 세균배양검사 결과는 일치하지 않는다는 결과를 얻었으므로 도말균 검사 결과 양성으로 나온 경우 반드시 심부조직 세균배양검사를 실시하여 정확한 병원균을 규명해야 한다.

각 검사방법의 평균 동정균의 수는 환자 한 명 당 도말균 검사에서 1.20개, 표재조직 세균배양검사 1.21개, 심부조직 세균배양검사 1.36개로 다른 외국 논문에서 발표한 환자 당 평균 균수 1.60, 2.06개 보다는 낮은 수치였다.¹⁰ 이는 검사 기술상 혐기성균 배양의 어려움 및 세균배양검사 시 2개 이상의 균이 검출되더라도 1개 균의 동정 비용만을 지급하는 우리나라 의료보험제도의 문제점 등으로 여러 종류의 세균 배양을 병원에서 적극적으로 하지 않기 때문인 것으로 추측된다.

본 논문의 결과를 토대로 우리나라 당뇨발 궤양의 다수균 혼합 감염 특성을 확인할 수 있는데 가장 많이 검출된 균은 *S. aureus*, *Streptococcus species*, *Escherichia coli* 등이었다. 외국에서 최근 발표된 연구에 의하면 대체적으로 가장 많이 동정되는 균은 *S. aureus*이며, 그람 음성균 중에서는 *Pseudomonas aeruginosa*가 가장 많은 것으로 보고되고 있다.^{11,12} 또한 *S. aureus* 중에서도 MRSA의 비율이 계속 증가하고 있어 문제가 되는데, Dang 등¹¹은 당뇨발 감염 환자에서 MRSA의 검출률이 30%라고 보고하였고, Valencia 등¹²은 MRSA의 검출률이 50%라고 보고하였다. 균 동정 결과상 본 연구에서도 가장 흔한 균은 MRSA로 동일하게 나타났으며, 심부조직 MRSA의 검출률은 36.8%로 나왔다.

외국의 경우 혼합 감염된 병변에서는 혐기성균도 종종 보고되며 이는 당뇨발 감염치료를 어렵게 하는 중요 인자 중 하나로⁷ 그 중에서는 *Bacteroides*균이 주를 이룬다고 알려져 있다.¹³ 본 연구결과 우리나라 당뇨발 환자에서 검출된 혐기성균 중에서는 *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*균이 주를 이뤘다. 시행한 각 검사방법의 혐기성균 검출률은 도말균 검사 0%, 표재조직균검사 5.9%, 심부조직 균검사 7.9%로 심부조직 세균배양검사의 혐기성균 검출률이 높은 것으로 나타났으며 이는 Sapico 등⁴의 결과와도 일치하였다. 그러나 검출률의 절대 빈도에 있어서는 큰 차이를 보였다. 만성 당뇨발 감염 환자의 정확한 병원균을 검출하기 위해서는 혐기성균을 규명할 수 있는 균검사방법을 적용하여야 하는데 혐기성균 검출률이 0%인 도말균 검사방법은 혐기성균 검출에 적합하지 않다고 판단되며 본 논문의 결과에서 도말균 검사의 혐기성균 검출률이 0%로 나타난 것은 병변 표면보다는 조직에서 혐기성균의 생존이 보다 유리하고 오랜 개방성 병변으로 인해 혐기성균의 검출이 쉽지 않기 때문이다.⁴ 또한 혐기성균 배양의 까다로움과 앞서 언급한 의료보험제도의 문제점 등으로 인해 각 검사방법의 혐기성균 검출률이

Sapico 등⁴의 결과(도말균 검사 37.5%, 심부조직검사 63.6%)보다 훨씬 낮게 검출된 것으로 판단된다.

본 연구의 결과를 토대로 당뇨발은 균분포가 매우 다양하며 항생제 내성이 있는 균이 많음을 확인할 수 있었다. 그러나 이러한 당뇨발의 특성 및 항생제 사용 프로토콜의 다양성으로 인해 실제 임상에서 검출된 균에 맞는 적절한 항생제를 선택하는 것은 쉽지 않다. 같은 균이더라도 감수성이 있는 제한 항생제를 사용할 수도 있고 비제한 항생제를 두 가지 병합하여 사용할 수도 있으며 감수성이 없는 항생제를 두 가지 이상 사용하여 시너지 효과를 내기도 한다. 따라서 실제 심부조직과 표재조직의 균 및 항생제 감수성 일치 여부를 따지고 이에 대해 일관성 있게 정리하는 것은 쉽지 않으며 이는 추후 연구해야 할 과제이다.

본 연구의 결과가 우리나라 당뇨발 환자들을 치료하는 의료진들에게 유용한 정보를 제공해 주기를 기대한다.

V. 결 론

골조직 감염이 동반되지 않은 만성 당뇨발 감염에서 도말균 검사나 표재조직의 세균배양검사 결과는 심부조직의 세균배양검사 결과와 일치하지 않으므로 도말균 검사나 창상의 표재조직부에서 채취한 조직으로 시행한 세균배양검사 결과를 토대로 항생제를 선택하여 치료하는 것은 적절하지 않으며 심부조직 세균배양검사 결과에 기초하여 감염치료에 임해야 한다.

REFERENCES

- Rosenblum BI, Pomposelli FB Jr, Giurini JM, Gibbons GW, Freeman DV, Chrzan JS, Campbell DR, Habershaw GM, LoGerfo FW: Maximizing foot salvage by a combined approach to foot ischemia and neuropathic ulceration in patients with diabetes. A 5-year experience. *Diabetes Care* 17: 983, 1994
- Caputo GM, Cavanagh PR, Ulbrecht JS, Gibbons GW, Karchmer AW: Assessment and management of foot disease in patients with diabetes. *N Engl J Med* 331: 854, 1994
- Mackowiak PA, Jones SR, Smith JW: Diagnostic value of sinus-tract cultures in chronic osteomyelitis. *JAMA* 239: 2772, 1978
- Sapico FL, Canawati HN, Witte JL, Montgomerie JZ, Wagner FW Jr, Bessman AN: Quantitative aerobic and anaerobic bacteriology of infected diabetic feet. *J Clin Microbiol* 12: 413, 1980
- Sapico FL, Witte JL, Canawati HN, Montgomerie JZ, Bessman AN: The infected foot of the diabetic patient: quantitative microbiology and analysis of clinical features. *Rev Infect Dis* 1: S171, 1984
- Gardner S, Frantz R, Saltzman C, Hillis SL, Park H, Scherubel M: Diagnostic validity of three swab techniques for identifying chronic wound infection. *Wound Repair Regen* 14:

- 548, 2006
7. Gerding DN: Foot infections in diabetic patients: The role of anaerobes. *Clin Infect Dis* 2: S283, 1995
 8. Grayson ML, Gibbons GW, Balogh K, Levin E, Karchmer AW: Probing to bone in infected pedal ulcers. A clinical sign of underlying osteomyelitis in diabetic patients. *JAMA* 273: 721, 1995
 9. Brem H, Sheehan P, Rosenberg HJ, Schneider JS, Boulton AJ: Evidence-based protocol for diabetic foot ulcers. *Plastic Reconstr Surg* 117: 193S, 2006
 10. Tentolouris N, Jude EB, Smirnof I, Knowles EA, Boulton AJ: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An increasing problem in a diabetic foot clinic. *Diabet Med* 16: 767, 1999
 11. Dang CN, Prasad YD, Boulton AJ, Jude EB: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the diabetic foot clinic: A worsening problem. *Diabet Med* 20: 159, 2003
 12. Valencia IC, Kirsner RS, Kerdel FA: Microbiologic evaluation of skin wounds: Alarming trend toward antibiotic resistance in an inpatient dermatology service during a 10-year period. *J Am Acad Dermatol* 50: 845, 2004
 13. Abdulrazak A, Bitar ZI, Al-Shamali AA, Mobasher LA: Bacteriological study of diabetic foot infections. *J Diabetes Complications* 19: 138, 2005