

균집락수가 적은 암색소성 비결핵항산균 배양의 임상적 의미

울산대학교 의과대학 서울아산병원 호흡기내과, 진단검사의학과¹, 아산생명과학연구소²,
연세대학교 원주의과대학 보건과학대학 임상병리학과³, (주)엠엔디 연구개발부⁴

이정연, 김미나¹, 정희정¹, 전경란¹, 최희진², 이혜영³, 정은영⁴, 오연목, 이상도, 김우성, 김동순, 김원동, 심태선

Clinical Significance of Low-colony Count Scotochromogen Nontuberculous Mycobacteria

Jung Yeon Lee, M.D., Mi-Na Kim, M.D.¹, Hee-Jung Chung, M.D.¹, Kyung Pan Jun, M.D.¹, Hee Jin Choi²,
Hyeoung Lee³, Eun Young Joung, PhD³, Yeon-Mok Oh, M.D., Sang Do Lee, M.D., Woo Sung Kim, M.D.,
Dong Soon Kim, M.D., Won Dong Kim, M.D., Tae Sun Shim, M.D.

Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Department of Diagnostic Laboratory Medicine¹, Asan Institute for Life Sciences²
University of Ulsan College of Medicine, Asan Medical Center, Department of Biomedical Laboratory Science,
Yonsei University Wonju College of Medicine³, Product Planning and Development Dept. M&D Co., LTD⁴

Background : Even though it has been suggested that low-colony, scotochromogen nontuberculous mycobacteria (NTM) are usually contaminants and not true pathogens, evidence for this hypothesis has not been provided. This study investigated the colony characteristics, organism identification, and clinical significance of low-colony scotochromogen.

Methods : The laboratory cultured 6,898 respiratory clinical specimens for an examination of mycobacteria over a three-month period. A low-colony count was arbitrarily defined as ≤ 20 colonies. This study analyzed the recovery rate of the mycobacteria, the number of colonies and their gross characteristics, and their clinical significance. PCR-restriction fragment length polymorphism analysis was carried out to identify the NTM species. NTM pulmonary disease was defined according to the American Thoracic Society.

Results : A total of 6,898 respiratory specimens for mycobacterium were cultured. Of these, 263 (3.8%) grew NTM, and 382 (5.5%) grew *M. tuberculosis*. Of the 263 cultured NTM specimens, 124 (47.1%) were scotochromogens. The smear-positive rate was significantly lower in these scotochromogens (4.8%) than in the non-scotochromogens (23.7%) ($p < 0.05$). The most common isolates were *M. gordonae* (83/102, 81.4%) in the scotochromogens, and MAC (52/121, 43.0%) in the non-scotochromogens. Even though three out of 113 patients with a low-colony scotochromogen has been diagnosed with NTM pulmonary disease, the isolated scotochromogen was not considered to be the cause of the NTM disease but was just a contaminant.

Conclusion : In this study, the most common isolate of a low-colony count scotochromogen was *M. gordonae*, which appeared to be contaminants and not true pathogens. Greater efforts in the quality control of a mycobacterium laboratory are needed in cases where there is a high recovery rate of low-colony count scotochromogen.

(*Tuberc Respir Dis* 2005; 59: 39-46)

Key words : Low-colony, Scotochromogen, Nontuberculous mycobacterium (NTM)

서 론

비결핵항산균(nontuberculous mycobacterium, 이하 NTM)증은 결핵균 및 나병균을 제외한 마이코박

테리아에 의한 감염성 질환이므로 균의 동정이 진단에 중요하다. 그러나 한 집락 이라도 배양되면 확진되는 결핵과는 달리 NTM은 균이 배양되었다고 해서 NTM 폐질환이 있다고 말할 수 없다¹. 이는 NTM이 물, 흙과 같은 환경 도처에 존재하고 또한 기관지 내에 질병의 유발 없이 존재하는 집락형성(colonization)의 상태로도 있을 수 있기 때문이다. 따라서 NTM폐질환을 진단하기 위해서는 세균학적 증명 뿐만이 아니라 방사선학적 및 임상적인 진단기준도 만족시켜야 한다. 균 또한 소수의 균이 한 번 동정 되는 것으로는 충분하지 못하고 여러 번 반복하여 많은 수의 균이 배

Address for correspondence : **Tae Sun Shim, M.D.**

Division of Pulmonary & Critical Care Medicine,
University of Ulsan College of Medicine, Asan
Medical Center, 388-1 Pungnap-Dong, Songpa-Ku,
Seoul, 138-736, South Korea

Phone : 02-3010-3892 Fax : 02-3010-6968

E-mail : shimts@amc.seoul.kr

Received : Jan. 11. 2005

Accepted : Jun. 16. 2005

양되어야 실제 NTM 폐질환이 있음을 진단할 수 있다¹.

일반적으로 고형배지에서 마이코박테리아가 배양 되면 그 집락의 형태 만으로는 결핵균과 NTM을 구분할 수 없다. 따라서 배양 후 결핵균과 NTM을 구분 하기 위한 생화학적인 검사, AccuProbe 검사(Gen-Probe Inc., San Diego, USA) 또는 NAP검사(ρ -nitro- α -acetyl amino- β -hydroxypro piophenone)등의 추가적인 검사가 필요하다. 그러나 결핵균은 비색소성인데 비 하여 NTM의 일부는 암색소성(scotochromogen)이므로 빛에 노출되지 않아도 노란 색소를 띄어 일반 마이코박테리아와 육안적으로 쉽게 구분할 수 있으며, 고형배지 중 Lewenstein-Jenson배지 보다는 한천(agar) 배지가 투명하므로 NTM의 색소를 판정하는데 더 유리한 것으로 알려져 있다². 암색소성 마이코박테리아에는 *M. scrofulaceum*, *M. szulgai*, *M. gordonae*, *M. flavescens* 등이 포함되며 *M. scrofulaceum*, *M. szulgai* 등은 병원성이며 *M. gordonae*는 비병원성 균으로 실험실 오염의 주된 원인 균으로 알려져 있다¹. 한편 국내에서 제일 흔하게 동정되는 병원성 NTM은 *M. avium-intracellulare* complex (MAC), *M. abscessus*, *M. fortuitum* 등인데 MAC은 비색소성이며 *M. abscessus*와 *M. fortuitum*은 신속발육균 이어서 지연발육균과는 성장속도로 쉽게 구분할 수 있다.

국내에서는 과거부터 비결핵항산균은 대부분 오염 또는 집락형성으로 간주하였고 따라서 임상적 의미를 별로 부여하지 않았다³. 따라서 배양에서 암색소성 균주가 자라면 NTM임을 알 수 있었고, 특히 암색소성 NTM이면서 집락수가 적으면 대부분 오염 또는 집락형성으로 간주하였다. 이러한 상황에 근거하여 본 병원에서는 1989년 처음 결핵균 검사실이 시작되면서부터 최근까지도 암색소성이면서 무작위로 집락수가 20개 이하인 경우에는 “균 자라지 않음”으로 보고하여 왔다. 이러한 방법은 균 배양 후 결핵균과 NTM의 감별을 위한 추가 검사가 필요한 검체수를 줄여주는 장점이 있었으나 이의 타당성에 대한 근거자료는 부족하였다. 최근 국내에서도 NTM의 동정률 및 NTM중의 발생률이 증가하고 있는 추세에서 이러한 보고방법이 적절하지에 대한 분석이 필요하게 되었다. 본 연

구자들은 본 병원에서 일정 기간동안 시행한 마이코박테리아 배양에서 배양된 모든 NTM을 대상으로 균 동정 및 임상상 분석을 통하여 소수집락 암색소성 비결핵항산균 배양의 임상적 의미를 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

서울아산병원에서 항산균 도말 및 배양검사가 시행된 호흡기검체를 대상으로 하였다. 기간은 무작위로 2004년 2월 11일부터 5월 13일 까지 약 3개월간의 검체를 대상으로 하였다.

2. 항산균 도말 및 배양 검사와 NTM 동정

항산균 도말 검사는 형광염색으로 선별 검사한 후 양성인 검체에 한하여 Kinyoun 법으로 재검하여 최종 보고하였다. 도말 검사 결과의 보고는 미국질병예방 통제국의 기준에 따라 고배율 300시야에서 항산균이 관찰되지 않으면 음성, 300시야에서 항산균이 1-2개 관찰되면 trace, 100시야에서 항산균이 1-9개 관찰되면 1+, 10시야에서 항산균이 1-9개 관찰되면 2+, 한 시야에서 항산균이 1-9개 관찰되면 3+, 그리고 한 시야에서 항산균이 10개 이상 관찰되면 4+로 보고하였고, 이 연구에서는 trace 이상을 도말 양성으로 정의하였다^{4,5}. 배양 검사는 Ogawa 배지(대한결핵연구원, 서울, 대한민국)를 이용하였고, 균 배양 후 AccuProbe 검사(Gen-Probe Inc., San Diego, USA)를 이용하여 결핵균과 NTM을 감별하였다. 그러나 육안적으로 암색소성인 경우에는 AccuProbe 검사를 시행하지 않고 NTM으로 보고하였다. NTM 동정은 대한결핵연구원에 의뢰하거나 본 병원에서 *rpoB* 유전자의 PRA (PCR-RFLP analysis) 방법을 이용하여 시행하였다^{5,6}.

3. NTM 집락 및 임상상

해당 기간 동안 배양된 결핵균 및 NTM의 배양 빈도를 확인하고, NTM 집락을 대상으로 색소 여부와

성장속도를 분석하였다. 일반적으로 신속발육(rapid grower)이란 Lewenstein-Jenson배지에 계대배양 했을 때 1주 이내에 자라는 경우를 의미하지만 실제 임상 검체의 배양에는 더 오랜 시간이 걸리므로³ Ogawa 배지를 이용한 본 병원에서의 경험에 의거하여 1달 이내(≤ 30 일)에 배양되는 경우를 신속발육, 배양에 1달 이상 걸리는 경우를 지연발육으로 임의로 구분하고 각 군간의 균종을 비교하였다. 색소성 분류에서는 암소에서 배양 후 노란 색조를 띠는 암색소성과 그렇지 않은 비암색소성(non-scotochromogen)의 두 군으로 분류하였다. *M. gordonae*의 경우 항산균 검사실 오염의 대표적인 원인균으로 알려져 있으므로 기간에 따라 분리비율에 차이가 있는지 확인하였다. 이를 위하여 *M. gordonae*가 많이 분리되었던 기간을 중심으로 무작위로 10일씩 3기간을 선정하여 *M. gordonae*의 분리비율을 비교하였다.

의무기록을 후향적으로 분석하여 임상상, 방사선학적 소견 및 과거에 시행한 호흡기검체의 NTM 배양 결과들을 확인하여 미국흉부학회의 진단기준을 만족하는 NTM 폐질환 여부를 확인하였다¹.

4. NTM 폐질환 진단기준

미국흉부학회의 진단기준은 다음과 같다. 크게 임상적, 방사선학적, 미생물학적 진단기준을 만족해야 하며 (1) 임상적으로는 만성적인 기침, 객담, 호흡곤란, 피로감, 혈담 등의 적절한 증상과 징후를 가지면서 다른 폐질환의 가능성을 배제할 수 있어야 한다. (2) 방사선학적으로는 단순흉부방사선 촬영에서 침윤, 공동, 다발성 결절이 관찰되거나 전산화 단층촬영에서 기관지 확장증에 다발성 결절이 동반된 소견이 관찰되어야 한다. (3) 미생물학적 진단기준은 첫째, 최근 12개월 동안 3회의 객담검사를 시행하였을 때 도말이 모두 음성인 경우는 3회 모두 동일한 균이 배양되어야 하고, 도말 양성인 경우에는 2회 동일한 균이 배양되어야 한다. 둘째, 기관지내시경을 통해 얻은 기관지 세척액을 검사한 경우에는 2+ 이상의 도말 양성이면 배양 양성이거나 또는 2+ 이상의 배양양성 이어야 한다. 셋째, 경기관지 폐생검 등 조직배양이 양성이거나 또

는 조직검사에서 육아종 등 마이코박테리아 감염의 병리학적 증거가 있으면서 1회 이상 객담 또는 기관지 세척액에서 배양 양성이어야 한다¹.

5. 통계 분석

통계분석은 Window용 SPSS 프로그램(SPSS 11.5, SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA)을 이용하여 시행하였다. 검체를 크게 암색소성 비암색소성으로 나눈 후 두 군에서 검체의 특성(성장속도, NTM배양균주 등)상 차이가 있는지 살펴보기 위하여 교차분석-카이제곱 검정을 이용 하였다. P-value가 0.05이하인 경우를 통계적으로 유의한 경우로 간주하였다.

결 과

1. 항산균 검사 결과

연구기간 동안 총 6,898검체가 의뢰되었다. 이 중에서 NTM은 3.8%(263검체), 결핵균은 5.5%(382검체)에서 배양되었다. NTM 263 균주는 208명에서 분리되었으며 29명은 2회, 8명은 3회 NTM 배양양성 이었고 4회, 5회, 6회 분리된 경우도 각각 1명씩 이었다.

2. NTM 집락의 성상 및 균동정

NTM이 2회 이상 분리된 40명 중 34명은 분리된 균주가 모두 암색소성 또는 비암색소성으로 일치하였으나 6명에서는 암색소성과 비암색소성 균주 모두가 분리되었다. NTM 균주 중 암색소성은 47.9%(126/263)이었고 비암색소성은 52.1%(137/263)이었다(Table 1). 암색소성 중 도말 양성은 4.8%(6/126)로 비암색소성 24.1%(33/137)에 비하여 낮았다($p < 0.05$). 집락수가 1+ 이상인 경우도 각각 2.4%(3/126), 40.9%(56/137)로 암색소성인 경우에 집락수가 낮았다($p < 0.05$). 암색소성에서 집락수가 1+ 이상이었던 3명중 2명에서 균이 동정 되었으며 모두 *M. kansasii*로 판명되었다. 저자들이 임의로 1달을 기준으로 신속발육균과 지연발육균으로 구분한 후 배양속도를 관찰한 결과 비암색소성

Table 1. Baseline characteristics of both groups

| Variables | Scotochromogen (n=113)* (%) | Non scotochromogen (n=101)* (%) |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| No. of specimen | 126 | 137 |
| Age (range) | 30-81 | 20-92 |
| Sex (male: female) | 65 : 48 | 55 : 46 |
| AFB smear-positive | 6 (4.8) [†] | 33 (23.7) |
| Low colony count | 123 (97.6) [†] | 81 (59.1) |
| Rapid grower** (%) | 12 (9.5) [†] | 44 (32.1) |

*Among 208 patients, six patients expectorated both scotochromogen and non scotochromogen isolates.

**Defined as a growth < 30 days on Ogawa media.

[†] p value <0.05 between the scotochromogen and non scotochromogen group.

Table 2. Results of the NTM species identification according to the groups determined by the colony color; scotochromogen and non-scotochromogen

| NTM species | Scotochromogen (%) | Non scotochromogen (%) |
|-----------------------------|--------------------|------------------------|
| <i>M. gordonae</i> | 83 (81.4) | 8 (6.7) |
| <i>M. kansasii</i> | 13 (12.7) | |
| <i>M. avium</i> | 2 (2.0) | 17 (14.0) |
| <i>M. intracellulare</i> | 1 (1.0) | 35 (28.9) |
| <i>M. abscessus</i> | 2 (2.0) | 29 (24.0) |
| <i>M. fortuitum complex</i> | | 17 (14.0) |
| <i>M. chelonae</i> | | 8 (6.6) |
| <i>M. terrae</i> | | 7 (5.8) |
| <i>M. scrofulaceum</i> | 1 (1.0) | |
| Total | 102 (100) | 121 (100) |

의 경우 암색소성에 비해 신속발육군의 비율이 높았다(p<0.05)(Table 1). 이는 Runyon에 의한 성장속도 구분에서 rapid grower에 속하는 *M. abscessus*, *M. fortuitum*이 대부분 비암색소성에 포함되었기 때문이다. 비암색소성 *M. abscessus*, *M. fortuitum* 각각 82.8%(24/29), 70.6%(12/17)에서 30일 이내에 배양되어 신속발육군으로 분류되었다. 반면에 비암색소성에 속하는 MAC은 모두가 지연발육군이였다. 그러므로 집락의 색소 및 성장속도로 정확하지는 않지만 대략적으로 임상에서 중요한 균들과 *M. gordonae*와의 감별에 도움이 됨을 알 수 있었다.

분리된 NTM종을 살펴보면, 암색소성에서는 *M. gordonae*가 81.4%(83/102)로 가장 많이 분리되었고 다음은 *M. kansasii*가 12.7%(13/102)였다. *M. kansasii*는 광색소성(photochromogen)으로 알려진 균주이므로 PRA법에 의한 균동정 결과가 맞는지를 재확인하기 위하여 *rpoB* 유전자 염기서열결정법을 시행하였

고, 그 결과 *M. kansasii*가 맞음이 판명되었다. 이 균주들을 대상으로 집락의 색소를 후향적으로 다시 관찰한 결과 전형적인 암색소성이 아니어서 판독자의 판독 오류로 추정되었다. 비암색소성은 MAC 43.0%(52/121), *M. abscessus* 24.0%(29/121), *M. fortuitum complex* 14.0%(17/121)의 빈도로 분리되었다(Table 2).

무작위로 10일씩 3기간을 선정하여 *M. gordonae*의 분리비율을 비교한 결과 각각 18/33 (55%), 23/50 (46%), 19/37 (51.3%)로 시기에 따른 차이는 없었다.

3. 미국 흉부학회 진단기준을 만족하는 NTM 폐질환

NTM이 분리된 208명 중 암색소성 NTM, 비암색소성 NTM은 각각 113명, 101명에서 분리되었고, 이 중 6명에서는 암색소성, 비암색소성 NTM이 모두 분리되었다(Table 1). 암색소성과 비암색소성균의 나이는 각각 30-81세, 20-92세의 범위였고 남녀 비는 1.4:1,

Table 3. Causative organisms of NTM pulmonary disease according to the groups determined by the colony color, scotochromogen and non-scotochromogen

| | Scotochromogen (n=113) (%) | Non scotochromogen (n=101) (%) |
|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| No of patients | 3 | 19 |
| <i>M. kansasii</i> | 1 (33.3) | |
| <i>M. avium</i> | 1 (33.3)* | |
| <i>M. intracellulare</i> | 1 (33.3)* | 9 (47.4) |
| <i>M. abscessus</i> | | 8 (42.1) |
| <i>M. fortuitum complex</i> | | 2 (10.5) |

*Both the scotochromogen and non scotochromogen were isolated and the grossly determined non scotochromogen was found to be to be the causative organism of NTM disease.

1.2:1로 양 군간에 차이는 없었다.

암색소성균 2.7%(3/113명)에서 NTM 폐질환이 진단되었으며 원인균은 각각 *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*이었다. MAC폐질환으로 진단된 2명에서는 다른 검체에서 MAC이 반복적으로 분리되어 NTM 폐질환이 진단되었고, *M. kansasii* 폐질환자는 연구 기간 뿐 만이 아니라 다른 시기에도 *M. kansasii*가 반복적으로 동정 되어 *M. kansasii* 폐질환으로 진단되었다. 그러나 이 3명 모두 기존에 암색소성으로 알려진 *M. gordonae*, *M. szulgai* 등이 NTM 폐질환의 원인인 경우는 1예도 없었다. 비암색소성균에서는 18.8%(19/101명)에서 NTM 폐질환이 진단되어 암색소성균에 비하여 높았다($p<0.05$). 원인균은 *M. intracellulare* 47.4%(9/19), *M. abscessus* 42.1%(8/19), *M. fortuitum complex* 10.5%(2/19) 순이었다.

고 찰

본 연구를 통해 암색소성, 특히 저집락수(low-colony count)인 경우 배양된 비결핵항산균은 대부분이 *M. gordonae* 로 실험실 오염이 원인이며 임상적으로 의미가 없을 것으로 추정되었다. 그러나 육안에 의한 집락 색소 분석에도 한계가 있음을 동시에 확인할 수 있었다. 따라서, 저집락수의 NTM 배양률이 높을 경우 실험실 오염의 가능성을 고려하여 정도관리에 주의할 기울여야 할 것으로 생각된다.

한 집락 이라도 배양되면 확진할 수 있는 결핵의 경우에도 5개 이하의 집락이 배양되는 경우에는 오염일 가능성이 있다고 보고된 바 있다⁷. MacGregor 등에

의하면 배양된 239 결핵 균주 중 36검체(31명, 15%)가 저집락수 이었는데 저집락수 31명 중 12명(38.7%)은 검사실 오염이 원인으로 의심되었다⁷. 국내에서도 결핵의 유병률이 높으므로 검사실에서 결핵균 오염의 가능성이 높음을 추정할 수 있는데 1999년 한 대학병원의 조사에 의하면 배양된 337 결핵균 검체 중에서 72(21.4%)검체가 5 집락 이하였고, 이 중에서 21검체가 오염의 가능성이 있는 것으로 분석되어 전체 배양 의뢰건수의 0.9%(21/2245), 배양양성 건수의 6.2%(21/337), 5 집락 이하에서는 29.2%(21/72)가 오염의 가능성이 있는 것으로 보고되었다⁸.

결핵균에 비하여 병원성이 낮은 NTM의 경우 흙, 물 등 도처에 존재하므로 오염되기 쉽고, 집락형성으로도 존재 가능하기 때문에 소수의 집락만 배양된 경우 실제 폐질환을 유발하는 원인균인지는 확실하지 않다. 미국흉부학회의 NTM 폐질환 진단기준에 다수의 균이 반복해서 배양되어야 한다는 내용이 포함된 이유도 이 같은 상황에 근거하고 있다. 그러나 결절성 기관지확장증 형태의 NTM 폐질환의 경우 44%에서 10집락 이하의 저집락균으로 나온다는 보고도 있으므로⁹ 특히 객담이 많지 않은 환자의 경우 저집락균이 반드시 오염을 의미한다고 할 수는 없다. 따라서 균집락의 특성을 살펴 보는 것도 중요하다. 결핵균은 비색소성이므로 암색소성이면 쉽게 NTM으로 추정할 수 있는데 본 연구에서도 암색소성으로 판명된 균주 중 일부는 균종이 확인되지 못했으나 확인된 균 모두는 NTM으로 판명되었다. 따라서 암색소성이면서 집락수가 적으면 이 균주는 MAC이나 *M. abscessus*와 같은 흔한 NTM종의 원인균이 아닌 다른 NTM일 것이

고 집락수도 적으므로 임상적 의미가 없을 것으로 추정할 수 있다. 또한 실험실 오염의 가장 흔한 원인균인 *M. gordonae*가 암색소성이고, 다른 암색소성 NTM인 *M. szulgai*, *M. scrofulaceum* 등의 분리빈도가 낮음을 감안한다면 이 균주 모두를 NTM이 자란 것으로 보고해야 하는지, 그리고 추후 AccuProbe와 같은 균동정법을 이용하여 균동정을 시행하여야 하는지 등에 대한 의문이 제기될 수 있다. 또한 과거에는 NTM의 분리빈도 및 NTM 폐질환의 빈도가 낮았기 때문에 이를 무시할 수도 있었지만 최근처럼 NTM증의 빈도가 증가하는 추세에서도 이 방법을 그대로 유지해도 될지는 검증된 바가 없다. 본 연구는 이러한 문제점들을 분석하기 위한 연구이었다.

암색소성 NTM 중 81.4%가 *M. gordonae*이었고, 대부분이 1-2 개의 적은 집락수를 보였으며, 다른 많은 수의 비암색소성 집락에 1개만 암색소성 집락이 보여 오염으로 의심되는 경우도 있었고, 본 연구기간 동안 *M. gordonae*가 NTM 폐질환의 원인이 된 예가 없었던 점 등을 고려하면 암색소성인 *M. gordonae*는 분명히 오염에 의한 것으로 추정된다. 객담검체 처리시 NaOH를 사용하기 때문에 이를 중화하기 위하여 세척액을 사용하게 되는데 이 세척액이 오염원일 가능성을 고려하여 매 검사 시마다 수개씩 이 세척액을 도말하여 배양하였으나 한 예에서도 암색소성 NTM이 배양되지 않았다. 집락수가 1-2개인 경우가 가장 많아 후드(hood)내에서 오염된 공기 입자(air droplet)에 의한 가능성을 고려할 수 있으나 이를 확인하지는 못하였다. 또한 본 연구기간 동안에만 특별히 *M. gordonae*에 의한 오염빈도가 높았을 가능성이 있으므로 연구기간 중 무작위로 10일씩 세 기간을 나누어 *M. gordonae*의 분리빈도를 확인하였으나 차이가 없었다. 2002년 1년간 본 검사실에서 시행한 자료를 보면 NTM 배양 584건 중 암색소성 236균주(40.4%), 비암색소성은 348균주(59.6%)로 본 연구결과와 큰 차이가 없음을 알 수 있었다¹⁰. Arnow등의 보고에 의하면 *M. gordonae*의 오염은 특히 객담검체에서 많았으며 검체 채취 이전 수도물로 구강 세척을 한 경우 *M. gordonae*분리비율이 높음을 관찰하였고¹¹ 따라서 실험실 뿐만이 아닌 환자들이 노출되는 모든 환경에서

분리가 가능함을 인식하고 이에 대한 전반적인 검사도 필요할 것으로 생각되어진다. 향후 검사장비의 교체 등 오염의 원인 가능성이 있는 요소들을 지속적으로 점검하는 과정을 통하여 *M. gordonae* 또는 암색소성 NTM의 동정비율의 변화 등을 관찰할 필요가 있겠다.

본 연구를 통해 기존에는 암색소성과 비암색소성은 검사자의 육안적 판단에 의존하였으나 이에 의한 균주의 구분이 한계가 있음을 알 수 있었다. *M. kansasii*로 확인된 13균주 모두 암색소성으로 판정되었으나 실제 *M. kansasii*는 광색소성으로 알려져 있어 암실 하에서는 색소가 없고 빛에 노출되어야만 노란 색소를 띠게 된다. 검사자에 의하여 암색소성으로 판정된 일부 검체를 후향적으로 확인한 결과 짙은 노란색으로 보이는 암색소성 NTM과 명확히 차이가 있음을 확인하여 처음 색소 판단 당시에 오류가 있었던 것으로 생각되었다. 또한 일부 MAC이나 *M. abscessus* 같은 균주도 암색소성으로 판정되고, *M. gordonae*는 비암색소성으로 판정된 경우도 있었다. 이러한 결과는 육안적 분석에 의한 색소판정만으로 균주를 분석하는 것은 한계가 있음을 보여주고 있다.

과거에는 전통적인 생화학적 방법을 이용하여 균동정을 시행하는 것이 일반적이었으나 최근에는 분자생물학적인 방법을 많이 이용하고 있다. 이는 전통적인 생화학적 방법들이 시간이 오래 걸리고 정확도가 떨어짐에 비하여 새로운 분자생물학적 방법들은 시간이 짧게 소요되고 정확도 또한 높기 때문이다. 그러나 최근 국내에서 많이 사용되며 본 연구에서 이용한 *rpoB* 유전자를 이용한 PRA법도 약 3%에서는 균동정이 되지 않는 것으로 알려져 있다^{12,13}. 본 연구결과에 제시되지는 않았으나 비암색소성 NTM 중 31.4%가 PRA 방법으로 *M. celatum*으로 분석되었다. 그러나 *M. celatum* 동정 빈도가 흔하지 않고¹⁴⁻¹⁸ *M. celatum*은 비색소성으로 알려져 있으므로 이를 확인하기 위하여 *rpoB* 유전자 염기서열결정법을 시행한 결과 최종 *M. gordonae*임이 밝혀졌다¹⁹. 따라서 새로운 NTM 종이 계속 밝혀지고 있는 현 시점에서 어느 NTM 동정방법도 완벽하지 않음을 인식하고 임상상과 동정된 균이 일치하지 않는 경우에는 다른 방법으로 재확인하

는 과정을 거쳐야 할 것으로 생각된다¹⁴.

본 연구의 경우 만일 과거처럼 20 집락 이하의 암색소성 비결핵항산균을 “자라지 않음”으로 보고한다면 비결핵항산균의 분리 비율은 3.8%에서 2.0% (140/6,898)로 감소하게 된다. 또한 결핵균 및 비결핵항산균의 분리비율은 각각 59.2% (382/645)와 40.8% (263/645)에서 73.2% (382/522)와 26.8% (140/522)로 변하게 된다. 본 연구결과 암색소성의 대다수를 차지하는 *M. gordonae*가 질환을 일으킨 것으로 판명되는 예가 하나도 없이 대부분 오염으로 추정되기에 오히려 이를 “자라지 않음”으로 보고하는 것이 임상 의사에게는 혼동을 초래하지 않고 도움이 될 가능성이 있다. 그러나 반대로 색소관찰만으로 구분이 불완전하여 *M. kansasii*의 경우 “자라지 않음”으로 보고될 가능성도 있다. 또한 드물지만 *M. gordonae*도 NTM증을 일으킨 보고들이 있으며^{20,21}, 본 연구에서는 동정되지 않았지만 드물게 *M. szulgai* 등도 병원균으로 작용하므로 이를 모두 “자라지 않음”으로 보고하는 것은 문제가 있는 것으로 생각된다. 이상을 고려하면 배양된 모든 균주는 결과를 그대로 임상 의사에게 보고하는 것이 합리적이라 생각된다. 다만 충분한 교육을 통하여 임상 의사는 보고 받은 결과를 분석할 수 있는 능력을 갖추도록 하여야 할 것이다. 또한 암색소성 균주가 빈번하게 분리되면 오염의 가능성을 생각하여 검사실의 정도관리에 철저하여야 할 것으로 생각된다. 본 병원의 결핵균 검사실에서는 항산균 도말시 염색액의 외관상 이상 여부를 관찰하고, 새로 시약을 만들 때 마다 결핵균과 *E. coli*를 양성 및 음성 대조균으로 하여 대조 염색을 실시하며, 탈오염과정에서 결핵균 배양의 오염률이 3-5% 사이에 들어가는지 확인한다. 또한 매주 대조균으로 배양검사를 시행하며, 균동정 검사시 항상 대조균주를 함께 사용하고 있다.

결론적으로, 암색소성, 저집락수 비결핵항산균의 분리는 대부분에서 실험실 오염에 의한 *M. gordonae*가 원인인 것으로 추정되나 임상 의사에 의한 적절한 결과의 분석이 중요할 것으로 생각된다. 암색소성 비결핵항산균의 분리 비율이 높으면 항상 오염의 가능성을 고려하여 정도관리에 최선을 다하도록 하여야 할 것으로 생각된다.

요 약

배 경:

암색소성이면서 집락수가 적은 비결핵항산균이 분리되는 경우 실제 NTM폐질환의 원인일 가능성이 낮다고 추정되나 아직 이에 대한 보고는 없는 실정이다. 본 연구는 암색소성 저집락균 NTM배양의 임상적 의미를 알아보려고 시행되었다.

방 법 :

3개월간 항산균 검사가 의뢰된 6,898예를 대상으로 하여 분석하였으며 무작위로 집락수가 20개 이하인 경우를 저집락균으로 정의하였다. 모든 검체에서 결핵균, NTM의 배양 빈도를 확인하고, NTM에서는 암색소성 여부와 집락수를 분석하였다. NTM은 PRA법으로 동정하였으며 NTM폐질환의 진단은 미국흉부학회 기준을 따랐다.

결 과:

총 6,898검체 중 NTM은 263(3.8%)예(206명) 결핵균은 382(5.5%)예 분리되었다. NTM 263 균주 중 암색소성 균주는 124예(47.1%, 112명)이었다. 암색소성 중 도말양성은 6예(4.8%)로 비암색소성 139균주 중 33예 (23.7%)에 비하여 의미 있게 낮았다($p < 0.05$). 균동정은 암색소성은 *M. gordonae* 83예(81.4%)가 가장 많이 분리되었고, 비암색소성은 MAC 52예(43.0%), *M. abscessus* 29예(24.0%), *M. fortuitum* complex 17예(14.0%)의 순이었다. 암색소성-저집락균 113명중 NTM폐질환은 3예 있었으나 모두 비암색소성으로 알려진 다른 균이 원인균이었다.

결 론 :

본 연구에서 암색소성-저집락 NTM은 대부분 *M. gordonae*였으며 NTM폐질환의 원인균이 아닌 오염균으로 추정되었다. 저집락수, 암색소성 비결핵항산균의 분리비율이 높을 경우 오염의 가능성을 생각하여 검사실의 정도관리에 최선을 다해야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. American Thoracic Society. *Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria.* *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:S1-25.

2. Brown-Elliott BA, Griffith DE, Wallace RJ Jr. *Diagnosis of nontuberculous mycobacterial infections. Clin Lab Med* 2002;22:911-25.
3. Kim JS, Kim WB, Suh JJ, Hah YM, Kim YM. *Scotochromogens from tuberculosis patients. Korean J Pathol* 1968;2:39-43.
4. Falkinham JO 3rd. *Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. Clin Microbiol Rev* 1996;9:177-215.
5. Tuberculosis Committee of the British Thoracic Society. *Management of opportunist mycobacterial infections. Thorax* 2000;55:210-8.
6. Devallois A, Goh KS, Rastogi N. *Rapid identification of mycobacteria to species level by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the hsp65 gene and proposition of an algorithm to differentiate 34 mycobacterial species. J Clin Microbiol* 1997;35:2969-73.
7. MacGregor RR, Clark LW, Bass F. *The significance of isolating low numbers of Mycobacterium tuberculosis in culture of sputum specimens. Chest* 1975;68:518-23.
8. Chang CL, Seo DY, Park TH, Park JS, Hwang WJ. *Incidence of false-positive cultures of Mycobacterium tuberculosis in a microbiology laboratory. Korean J Clin Microbiol* 2001;4:40-4.
9. Wallace RJ Jr, Zhang Y, Brown BA, Dawson D, Murphy DT, Wilson R, et al. *Polyclonal Mycobacterium avium complex infections in patients with nodular bronchiectasis. Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1235-44.
10. Lee JY, Choi HJ, Lee H, Joung EY, Huh JW, Oh YM, et al. *Recovery rate and characteristics of nontuberculous mycobacterial isolates in a university hospital in Korea. Tuberc Respir Dis* 2005;58:385-91.
11. Arnow PM, Bakir M, Thompson K, Bova JL. *Endemic contamination of clinical specimens by Mycobacterium gordonae. Clin Infect Dis* 2000;31:472-6.
12. Hong SK, Kim BJ, Yun YJ, Lee KH, Kim EC, Park EM, et al. *Identification of Mycobacterium tuberculosis by PCR-linked reverse hybridization using specific rpoB oligonucleotide probes. J Microbiol Methods* 2004;59:71-9.
13. Kim BJ, Hong SK, Lee KH, Yun YJ, Kim EC, Park YG, et al. *Differential identification of Mycobacterium tuberculosis complex and nontuberculous mycobacteria by duplex PCR assay using the RNA polymerase gene (rpoB). J Clin Microbiol* 2004;42:1308-12.
14. Butler WR, O'Connor SP, Yakrus MA, Gross WM. *Cross-reactivity of genetic probe for detection of Mycobacterium tuberculosis with newly described species Mycobacterium celatum. J Clin Microbiol* 1994;32:536-8.
15. Bux-Gewehr I, Hagen HP, Rusch-Gerdes S, Feurle GE. *Fatal pulmonary infection with Mycobacterium celatum in an apparently immunocompetent patient. J Clin Microbiol* 1998;36:587-8.
16. Tjhie JH, van Belle AF, Dessens-Kroon M, van Solingen D. *Misidentification and diagnostic delay Caused by a false-positive amplified Mycobacterium tuberculosis direct test in an immunocompetent patient with a Mycobacterium celatum infection. J Clin Microbiol* 2001;39:2311-2.
17. Kim DK, Kim BJ, Kook YH, Lee CT, Yoo CG, Kim YW, et al. *Pulmonary infection with M. celatum in immunocompetent host. Tuberc Respir Dis* 1999;47:697-703.
18. Piersimoni C, Zitti PG, Nista D, Bornigia S. *Mycobacterium celatum pulmonary infection in the immunocompetent: case report and review. Emerg Infect Dis* 2003;9:399-402.
19. Somoskovi A, Hotaling JE, Fitzgerald M, Jonas V, Stasik D, Parsons LM, et al. *False-positive results for Mycobacterium celatum with the AccuProbe Mycobacterium tuberculosis complex assay. J Clin Microbiol* 2000;38:2743-5.
20. Resch B, Eber E, Beitzke A, Bauer C, Zach M. *Pulmonary infection due to Mycobacterium gordonae in an adolescent immunocompetent patient. Respiration* 1997;64:300-3.
21. Yanagisawa N, Miyamoto D, Ichinose Y, Toyama K. *Pulmonary infection caused by Mycobacterium gordonae. Kansenshogaku Zasshi* 1999;73:482-5.