

DNA probe를 이용한 비결핵항산균의 분리 및 폐질환자들의 임상적 특징

고신대학교 복음병원 내과¹, 진단검사의학과², 부산대학교 의과대학 생화학교실³
김희규¹, 김유리¹, 박정필¹, 김남희¹, 옥철호¹, 정만홍¹, 장태원¹, 정석훈², 김철민³, 박희경³

Isolation of Nontuberculous Mycobacteria by DNA Probe and Clinical Characteristics of Patients with NTM Pulmonary Disease

Hee Kyoo Kim¹, Yu Ri Kim¹, Jung Pil Park¹, Nang Hee Kim¹, Chul Ho Ok¹, Maan Hong Jung¹, Tae Won Jang¹,
Seok Hoon Jeong², Cheol Min Kim³, Hee Kyung Park³

Department of Internal Medicine¹ and Laboratory Medicine², Kosin University College of Medicine ; Department of Biochemistry³,
Pusan National University College of Medicine, Busan, Korea

Background : Nontuberculous mycobacterial (NTM) infections are increasingly being recognized as a cause of chronic pulmonary disease. This study describes the prevalence of NTM species from clinical specimens and the clinical characteristics of NTM pulmonary disease.

Material and Methods : The NTM isolated from March 2003 to December 2003 at the Kosin Medical Center were identified using an oligonucleotide chip containing the internal transcribed space (ITS) sequence. The medical records of the patients with the NTM isolates, who fulfilled the 1997 ATS diagnostic criteria for NTM pulmonary disease, were analyzed, retrospectively.

Results : Twenty four species (24.2%) of NTM were isolated from 99 cultured AFB specimens. *M. avium* complex (MAC) (13 isolates), *M. szulgai* (3), *M. kansasii* (2), *M. malmoense* (2), *M. abscessus* (1), *M. chelonae* (1), *M. scrofulaceum* (1), and unclassified (1). Of the 23 patients with isolated NTM, 11 patients were found to be compatible with a NTM pulmonary infection according to the ATS criteria; MAC was found in 6 cases (54.5%), *M. szulgai* in 2 cases (18.2%), and *M. abscessus*, *M. szulgai*, *M. kansasii* and *M. malmoense* in 1 case each (9.1%). Ten patients (91%) were male and the median age at diagnosis was 61 years. In the pre-existing diseases, malignant disease was found in 6 cases including 5 patients with lung cancer, and history of old pulmonary tuberculosis was identified in 4 cases. The radiological patterns showed lung destruction lung in 3 cases, a cavitary mass in 3 cases, a nodular pattern in 2 cases, and reticulonodular, consolidation and a bronchiectasis pattern were in 1 case each.

Conclusion : Various types of NTM pulmonary diseases were found in a tertiary hospital at Busan, Korea. The NTM pulmonary diseases were caused by MAC, *M. szulgai*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. abscessus*, *M. chelonae*, and *M. scrofulaceum* in the order of frequency. (*Tuberc Respir Dis* 2005; 58:248-256)

Key words : Pulmonary tuberculosis, NTM, Microbiology, DNA probe

서 론

비결핵항산균은 비정형(atypical), anonymous, MOTT (Mycobacteriosis other than tuberculosis)등으로 불려져 왔으나 1990년 미국호흡기학회에서 Non-tuberculous mycobacteriosis (NTM)으로 명칭을 정리한 이후 비결핵항산균증으로 불리게 되었다¹. 결핵균과는 달리

NTM은 자연수와 토양 등 자연환경에 정상적으로 존재하고 있어², 임상검체에서 분리되었을 때 대부분 오염균 또는 집락균으로 간주되어 왔다³. 1980년대 이후 AIDS가 창궐하면서 이들에서 *Mycobacterium avium* complex (이하 MAC)이 파종성 전신질환을 일으킨다는 것이 알려지면서 관심을 끌게 되었으나¹, 최근들어 HIV감염에 관계없이 NTM균주의 분리가 많아지게 되었고, NTM감염으로 인한 질환자 수가 증가하며 다양한 종류, 진단과 치료 및 반응의 어려움 등이 질환 관리에 대한 관심있는 문제로 제기되었다⁴.

비결핵항산균은 균집락(colony)의 성격, 그리고 임상과 병리적인 소견에 따라 분류를 할 수 있다. 전자는 1954년에 Runyon이 발육속도, 색소형성, 그리고 균집락의 모양에 NTM을 분류하였고^{3,5}, 최근에는 후

Address for correspondence : Tae Won Jang, M.D.
Department of Internal Medicine, Kosin University
College of Medicine, Busan, Korea
602-702, #34 Amnamdong, Suhgu, Busan, Korea
Phone : (051) 990-6637 Fax : (051) 248-5685
E-mail : jangtw@ns.kosinmed.or.kr
Received : Jun. 21. 2004
Accepted : Feb. 1. 2005

자와 같이 원인균, 진단, 임상양상과 치료 방법 등의 이해를 돕고자 임상과 병리적인 소견에 근거를 둔 분류법을 더 널리 사용하고 있다⁴⁵.

NTM 폐질환의 임상 증상은 다양하고 비특이적이다. 만성 기침, 객담 및 피로감이 주 증상이며, 무력감, 호흡곤란, 발열, 혈담, 그리고 체중 감소 등도 나타날 수 있다⁶.

비결핵항산균 폐감염의 주요 원인균은 *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. abscessus*, *M. fortuitum complex* 등인데 지역에 따라 분포가 다르며 치료가 쉽지 않아 정확한 균 동정이 가장 중요하다. 비결핵항산균은 균종에 따라 각종 항균제에 대해 높은 내성을 가지고 있어 결핵에 비해 더 많은 약제로 장기간 치료해도 환자에게는 효과적이지 못하면서 부작용이 증가될 수 있다⁵.

이에 저자들은 비결핵항산균이 동정된 CombiChipTM Mycobacteria Genotyping DNA chip system⁹ 방법을 이용하여 균종 분류를 하고 및 이들의 임상 양상에 대해 알아보았다.

대상 및 방법

1. 대 상

2003년 3월부터 12월까지 고신대학교 복음병원에 서 항산균 배양 염색(afb culture) 양성 99개 검체중 비결핵항산균(NTM) 검사를 의뢰한 23명의 환자들에

게서 발견된 24개 검체에서 ATS guideline에 합당한 진성 폐감염으로 확인된 11명을 대상으로 하였다.

2. 항산균 동정

검체의 항산균 도말검사는 먼저 형광 염색(Fluorochrome) 방법을 시행하고 양성으로 확인된 검체는 다시 Ziehl-Neelsen 염색법으로 재확인했으며 도말검사 결과는 정량적으로 판정하였다.

항산균 배양을 위해 sodium citrate 4% NaOH를 사용하여 검체를 전처리하고, 액체 배지(Liquid media, BBLTMMGITTM, BENEX Limited, Shannon, Ireland)⁷에 접종시킨 후 배양이 된 균주를 3% Ogawa (Löwenstein-Jensen)고체 배지(media)에 재접종시켜 결과를 판정하였다⁸. 하지만, 고체 배지에서 균주 증식 속도와 집락의 색, 집락의 형태 등은 조사하지 않았다.

3. NTM 균종 확인

NTM 균종 확인은 DNA probe를 이용한 CombiChipTM Mycobacteria Genotyping DNA chip system (GeneIn, Inc., Busan, Korea)⁹을 사용하였다. 이 방법은 *Mycobacterium tuberculosis*를 비롯하여 총 20 균종의 마이코박테리아 균종 감별이 가능한 DNA chip을 이용한 것이다(Fig 1). 나머지 드물게 발견되는 마이코박테리아 균종의 판독은 할 수 없고 미분류(unclassified)균주로 판정한다.

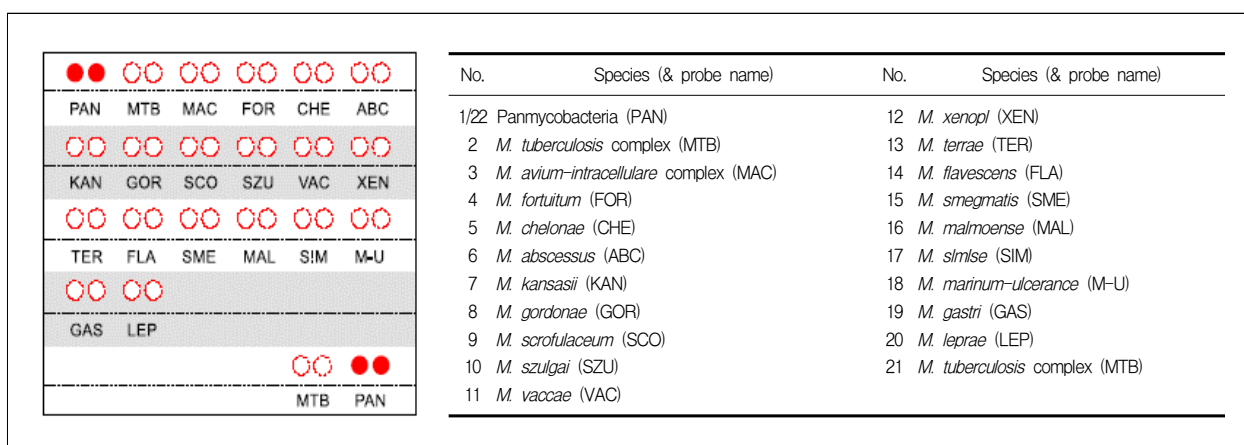


Figure 1. Format of the CombiChipTM Mycobacteria genotyping DNA chip

검사과정을 간단히 소개하면 먼저 검체를 전처리한 후 DNA를 추출하였는데, InstaGene matrix(Bio-Rad, USA)에 배양된 균주의 집락 또는 전처리한 임상 검체의 침전물을 가하여 부유시킨 후, 항온 수조에서 반응시키고, 이후 열처리하고 원심 분리하였다. 다음으로는 DNA chip실험의 표적 반응 산물 생성을 위해 형광이 표지된 프라이머(primer)를 이용한 PCR을 시행하였으며, 본 검사에 이용된 PCR kit는 Combichip™ Mycobacteria Genotyping DNA chip system에 내장된 키트를 이용하였다. 최종 단계인 DNA 혼성화 반응과 염료의 결합 및 세척은 형광이 표지된 이중가닥 표적 DNA를 95°C에서 5분간 열처리하여 단일 가닥으로 변성시킨 후, 4°C에서 5분 이상 냉각시켰다. 혼성화 반응용액 (20×SSPE, bovine serum albumin, salmon sperm DNA, Cy 5-streptavidin, ddH₂O) 8 μl와 PCR 증폭산물 2 μl를 더하여 10 μl의 혼합액을 제조하였다. Probe 부착과 세척을 마친 슬라이드의 표적 부위에 혼합액 10 μl를 분주하고 40°C에서 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후, 혼성화 반응을 하지 않은 잔여의 DNA를 세척하기 위해 2× SSC (300 mM NaCl, 30 mM sodium-citrate, pH 7.0) 용액을 이용하여 커버글라스를 제거한 후 5분간 세척하였다. 그리고 0.2× SSC 용액을 이용하여 5분간 세척하고 슬라이드를 완전히 건조시켜 냉암소에 보관하였다. 혼성화 반응 결과의 분석을 위해 비공초점 레이저 스캐너인 GenPix 4000A (Axon Instruments, USA)를 이용하였다. DNA Chip을 Cy5의 레이저 파장인 635 nm에서 스캐닝(scanning)하여 화상 분석하고, 그에 대한 화소 세기 값을 저장하되 동일한 화소 두 개의 평균값을 산출하여 그 세기를 측정하였다. 결과 분석을 자동화된 software program을 이용하여 영상화시키고 probe의 강도를 그래프로 확인할 수 있었다(Fig 2).

4. NTM 폐질환 진단기준

American Thracic Society (ATS)에서는 1997년도 비결핵항산균 폐질환 진단 기준(diagnostic criteria of nontuberculous mycobacteria lung disease)에 따라서 환자와 균종을 분류하였으며, HIV감염 유무에 관계없

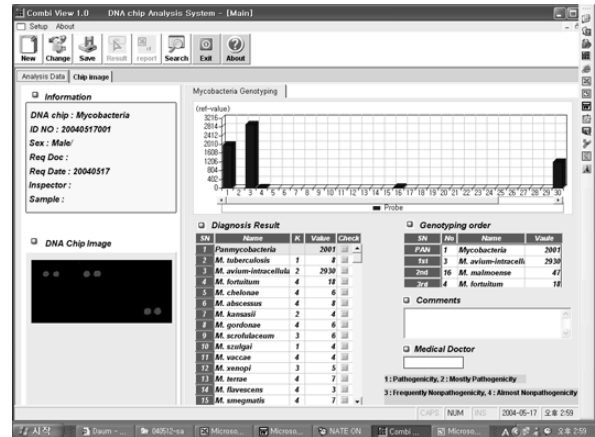


Figure 2. Chip Image of the M. avium complex

이 환자가 만성 기침, 객담 등의 임상증상이 있고 방사선 검사상 이상 소견(폐 침윤, 결절 혹은 공동성 병변, 고해상도 컴퓨터 단층촬영에서 다병소성 기관지확장증과 결절성 폐실질 병변)이 관찰된다는 전제하에 진단기준을 제시하였다⁵.본원에서는 ATS의 진단기준을 적용하여 NTM 폐질환 환자들을 정의하였다.

결 과

1. 균종 동정

2003년 3월부터 2003년 12월까지 10개월간 본원에서 항산균 배양(AFB culture)양성 균주 중 99개 검체에서 NTM동정이 의뢰되었고, 이중 23명의 환자에게서 24개 균주(24.2%)의 NTM이 분리되었다. 분리된 검체를 부위별로 분류하면 객담에서 19균주, 기관지세척액에서 4균주, 대장액에서 1균주가 분리되었으며, 이 중 2명은 각각 *M. tuberculosis*와 *M. kansasii* 그리고 *M. kansasii*와 *M. szulgai*에 의한 중복감염이었다. DNA-probe hybridization방법으로 균종을 분석한 결과 24개의 검체에서 MAC이 13균주(54.2%)로 가장 많은 비율을 차지 하였고 *M. szulgai*가 3균주(12.5%), *M. kansasii*, *M. malmoense*가 각각 2균주(8.3%)로 그 뒤를 이었다. *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. scrofulaceum*도 각각 1균주씩 분리되었고 1균주는 분류되지 않은(unclassified) 균주였다(Table 1).

Table 1. The Frequency of the nontuberculous mycobacteria isolates from the clinical specimens and clinical significant patients

	No. of isolated specimens	No. of patients
MAC	13 (54.2%)	6 (54.5%)
<i>M. chelonae</i> Complex	2 (8.3%)	1 (9.1%)
<i>M. chelonae</i>	1 (4%)	0
<i>M. abscessus</i>	1 (4%)	1 (9%)
<i>M. szulgai</i>	3 (12.5%)	2 (18.2%)
<i>M. kansasii</i>	2 (8.3%)	1 (9.1%)
<i>M. malmoense</i>	2 (8.3%)	1 (9.1%)
<i>M. scrofulaceum</i>	1 (4%)	0
Unclassified NTM	1 (4%)	0
Total	24	11

Table 2. Patients characteristics (n=11)

Genotyping	Age	Gender	Underlying disease	Chest radiologic findings
MAC*	69	M	Old tuberculosis	Destructed lung
MAC	69	M	Old tuberculosis	Destructed lung
MAC	76	M	Old tuberculosis	Destructed lung
MAC	68	F	Old tuberculosis	Bronchiectasis
MAC	48	M	Lung cancer	Cavitary mass
MAC	48	M	Lung cancer	Cavitary mass
<i>M. szulgai</i>	71	M	Lung cancer	Consolidation
<i>M. szulgai</i>	57	M	Lung cancer	Nodular infiltration
<i>M. abscessus</i>	61	M	Stomach cancer	Reticulonodular
<i>M. malmoense</i>	69	M	(-)	Nodular(with PE [†])
<i>M. kansasii</i>	39	M	Lung cancer	Fibrocavitary

**Mycobacterium avium* complex , [†]Pleural effusion

2. NTM 폐감염 환자들의 특징

23명의 환자 중 ATS 폐감염 기준에 부합되는 NTM 감염 환자는 총 11명(45.8%)으로 남자가 10명이었고, 평균 연령은 61세(38-76세)였다. 균종을 분석한 결과 MAC이 6균주로 가장 많은 비율을 차지했고, *M. szulgai*가 2균주, *M. abscessus*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. scrofulaceum* 등이 1균주로 확인되었다(Table 1,2). 환자들의 기저질환으로 악성종양을 진단받았던 환자는 6명이며 그 중 5명이 폐암 환자였고 폐결핵의 과거력을 가진 사람은 11명중 4명이었으며, AIDS환자는

Table 3. The underlying diseases from NTM* pulmonary disease in 11 patients

Underlying disease	No. of patients(n=11)
Lung cancer	5 (45%)
Old pulmonary tuberculosis	4 (36%)
Stomach cancer	1 (9%)
No previous disease	1 (9%)

*nontuberculosis mycobacteria

한 명도 없었다(Table 3). 흉부 방사선 소견에서는 파괴성 폐 형태(destructed lung pattern)가 3명, 공동성 종괴 형태(cavitary mass pattern)는 3명, 결절형(nodular pattern)이 2명(흉수동반 포함), 망상결절형(reticulonodular pattern), 경화형(consolidation pattern), 기관지확장형(bronchiectasis pattern)이 각각 1명 관찰되었다(Table 4).

3. 균종에 따른 발병력의 차이

NTM이 분리된 환자 중 임상적 의의가 있는 NTM 폐질환을 가진 환자의 비율을 각 균종에 따라 살펴보았다. 전체 균주 수가 많지 않아 충분한 비교가 되지는 않았지만, 폐질환을 일으킨 균주 모두가 50% 전후의 발병력을 나타내었는데, MAC이 분리된 환자 13명 중 6명(46.1%) 그리고 *M. szulgai*가 분리된 환자 3명 중 2명(67%), *M. chelonae complex*가 2명 중 1명(50%)이 ATS 진단기준에 합당한 NTM 폐질환을 가

Table 4. Chest radiological findings of NTM* pulmonary disease in 11 patients

Radiologic pattern	No. of patients(n=11)
Cavitary pattern	3 (27%)
Cavitary mass	2 (18.2%)
Fibrocavitary	1 (9.1%)
Destructed lung pattern	3 (27%)
Nodular pattern	3 (27%)
Nodular infiltration	2 (18.2%)
Reticulonodular	1 (9.1%)
Bronchiectasis pattern	1 (9.1%)
Consolidation	1 (9.1%)

*nontuberculosis mycobacteria

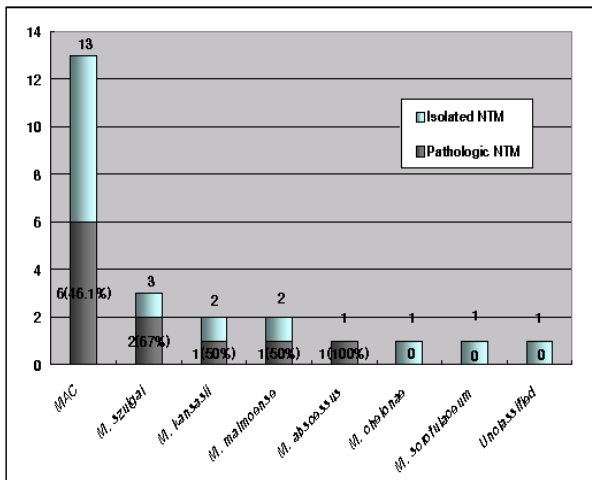


Figure 3. Pathologic potential of the Isolated nontuberculosis mycobacteria

지고 있었고, 중복 감염된 2명은 NTM 폐질환 진단에 모두 합당하지 않았다(Fig 3).

고 찰

비결핵항산균(nontuberculous mycobacteria, NTM)은 결핵균중(*Mycobacterium complex*)과 나병균(*M. leprae*)를 제외한 마이코박테리아를 말한다.

1954년에 Runyon이 발육 속도, 색소 형성, 그리고 균집락의 모양에 따라 NTM을 분류하였는데, 균이 자라는데 1주일 이상 소요되면 완속 발육균(slow growers), 1주일 미만이면 신속 발육균(rapid growers)로 분류하였다. 완속 발육균은 다시 빛에 따른 색소 형성 유무로 광발색균(photochromogens), 암발색균(scotochromogens), 그리고 광비발색균(nonphotochromogens)으

로 세분하였다^{3,10}. NTM의 병인, 세균학적 특성에 대한 이해의 폭이 넓어지고 이 분류에 해당되지 않는 새로운 균들이 발견되면서 이 분류법은 쓰지 않는 실정이다. 그러나, NTM감염으로 인해 다양한 임상 양상이 나타나므로 최근에 들어서는 임상 증후에 따라 임파선염, 피부질환, 파종성 질환, 폐질환 등으로 분류하는 방법을 더 선호한다⁴⁵.

NTM의 균동정은 균주의 온도에 따른 증식 속도, 집락의 형태 및 색소 형성 및 생화학적인 방법을 사용하는 것이 전통적인 방법이나 많은 시간과 노력이 필요하다⁷. 최근에는 직접 임상검체에서 혹은 NTM이 배양 후 배양액에서 균을 동정하는 방법들이 개발되고 있다. HPLC (High performance liquid chromatography)는 항산균 세포벽의 구성성분인 mycolic acid를 분석하여 균종을 동정하는 방법^{7,11}이며, PCR-RFLP (Polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism) 방법은 항산균의 특정 유전자 일부분을 primer로 사용하여 증폭시키고 제한 효소 처리를 한 후 전기 영동법을 이용하여 동정하는 방법⁷인데 최근 국내 결핵 연구원에서 *rpoB* gene을 이용한 방법이 소개되어 이용되고 있다¹². 또한 DNA chip 기술은 probe hybridization의 분자 생물학적 기법을 이용한 것이다^{7,9,13}. 이번 연구에서 사용한 Combichip™ Mycobacteria Genotyping DNA chip system⁹은 동정 가능 항산균주가 20가지라는 제약이 있지만, PCR에서 chip분석에 이르기까지 신속하고(4시간이내), 간단하면서도 민감도 및 특이도가 높다는 특성을 가지고 있다. 이는 임상 분리균주와 임상 검체를 대상으로 직접 유전자배열(direct sequencing) 방법을 통해 그 정확도가 검증된 방법이다. 뿐만 아니라, 결과 해석이 쉬운 프로그램을 사용하고 있고 결핵 약제 내성 검사도 겸할 수 있는 장점도 있다⁹. 그외 NTM 균동정 방법으로 AccuProbe (GeneProbe, USA), gas-liquid chromatography, thin-layer chromatography 등과 16S ribosomal RNA (rRNA) gene의 염기서열 분석(DNA sequence analysis) 등도 소개되어 있지만 임상에서 일반적으로 시행되기에는 제약이 많다^{7,13}.

NTM의 폐질환에 대한 진단기준은 아직까지 전세계적으로 통일되어 있지 않은 상태이나 최근 발표된

ATS와 BTS 진단기준이 널리 쓰이며, 이 기준은 *M. avium complex*, *M. abscessus*, 그리고 *M. kansasii* 감염에서 가장 잘 적용된다고 한다⁵. 하지만, 우리나라와 같이 폐결핵의 발생률이 상대적으로 높은 나라에서 상기 진단기준을 그대로 받아들이기에는 문제가 있으며^{14,15}, 우리나라 실정에 맞는 NTM 진단 기준이 시급할 것 같다.

NTM에 의한 감염의 빈도는 정확하게 알 수는 없으나 지역에 따라 차이가 있어서 모든 항산균 감염의 0.5-30% 정도이며¹⁶ 본원에서는 24.2%로 나타났다. 본원에서 분리된 NTM 균종을 분석하면 MAC (54.2%), *M. szulgai* (12.5%), *M. kansasii*, *M. malmoense* (각각 8.3%) 순이며, *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. scrofulaceum* 등이 1균주(4%)씩 분리되었다. 국내 NTM 분리 균종 빈도를 보면, 2002년 6월 결핵 연구원에서는 MAC이 가장 많이 분리되고 *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. szulgai*, *M. kansasii* 순으로 보고하고 있다¹⁶. 국내 대학 병원에서 보고한 내용에 따르면, 서울삼성병원¹⁴ 및 서울중앙병원¹⁷에서는 MAC, *M. fortuitum complex*, *M. abscessus*, *M. gordonae* 순으로 균종이 분리되었다.

본원에서 분리된 ATS guideline에 부합되며 NTM 감염 환자에서 임상적으로 의미가 있는 NTM 폐질환 환자 수는 전체 23명 중 11명(47.8%)였는데, 미국에서는 40%¹⁸, 국내 고 등¹⁴의 연구에서 25.9%와 비교하여 다소 높은 비율을 보이나, 이 등¹⁷에서의 보고는 45.7%로 본원과 비슷하였다. 이번 조사가 본원에서는 처음으로 시행되어 이전의 난치 결핵 환자가 포함되었기에 일정 기간이 지나면 비율은 다소 떨어질 것으로 판단된다. 환자의 기저 및 선행질환이 존재한 경우가 대부분이었는데, 본원에서는 악성 질환 특히 폐암환자에서 5례(45%)로서 결핵의 과거력이 있었던 4례(36%)보다 높은 비율이었다. 국내에서 보고된 폐결핵이 선행질환으로서 전체의 71%의 비율을 보이는 것¹⁹과는 다소의 차이가 있는 것은 아마도 검사 대상 전체 환자의 분포가 악성 질환의 비율이 높은 것과 관련이 있을 수 있고, 또한 감염은 되어 있었으나 여태까지 진단되지 않았던 환자가 이번 처음의 검사 실시로 환자로 포함되었기 때문일 것이다.

NTM 폐질환자 중 가장 많은 비율을 차지한 균주는 MAC(55%)이었는데, 기존의 국내 연구에서도 NTM 폐질환 중 MAC 폐질환이 차지하는 비율이 49.3~65.8%로 보고되고 있다^{14,19}. 미국 흉부학회에서는 MAC 폐질환에 대해 상엽공동형과 결절기관지확장증형의 두가지 임상상을 제시하고 있다^{5,20}. 본원에서는 결핵 병력을 가지고 기관지확장형태를 보이는 68세 남자에게서 MAC이 발견되었는데, 이 환자의 경우 방사선학적 소견이 MAC 폐감염으로 인한 것인지 아니면 과거 결핵 후유증 병변에 추가 감염이 된 것인지는 알 수 없다. MAC 폐질환의 또 다른 한 형태는 과민성 폐렴(hypersensitivity pneumonia) 형태로서 뜨거운 욕조수(hot tub water)와 연관된 것으로 알려져 있다²¹. 국내에서는 MAC 폐질환 중에서 *M. intracellulare*가 *M. avium*에 비해 많은데, 면역저하가 없는 MAC 폐질환은 주로 *M. intracellulare*이므로 국내에서는 AIDS 환자 수가 미국 등지에 비해 상대적으로 적은 것과 관련이 있을 것이다^{14,20}. 본원의 연구에서는 두 종을 구별하여 시행치 못하였다.

*M. kansasii*는 미국과 일본에서 2번째로 많은 NTM 폐질환 원인 균주이나⁷ 국내에서는 1994년까지는 1.3%^{16,19} 이하로 낮은 분리율을 보이며 *M. kansasii* 폐질환은 2명이 보고되고 있다¹⁴. 1997년부터 2002년까지 결핵 연구원에서 2.8~4.7%의 분리 비율을 보이고 있어 앞으로 *M. kansasii* 균주의 분리 및 폐질환 비율이 증가할 것으로 보여진다²¹. 본원에서는 기저 질환이 폐암인 39세 남자로서 방사선 검사상 섬유공동형(fibrocavitary) 소견을 보였던 환자에게서 발견되었다. *M. kansasii* 폐질환은 폐결핵과 유사한 면이 많고, 주로 상수도 시스템 내에서 발견되며, 발병력은 면역적격자에서 결핵만큼이나 강하다²².

신속 발육(rapid growth) 비결핵항산균은 균이 자라는데 1주일 미만에 해당하는 균주로서 폐질환을 일으키는 균주는 크게 *M. chelonae/abscessus* group과 *M. fortuitum* group으로 나뉘어진다²³. 미국과 일본에서는 신속 발육 비결핵항산균 폐질환이 5%미만으로 그 비율이 드문데 반해¹⁸ 국내의 경우 1981년부터 1994년까지 대한 결핵 및 호흡기학회에서 약 22%의 비교적 높은 빈도로 보고하였다¹⁶. 미국의 한 전국조사의

보고²⁴에 의하면 중년의 비흡연자 여성에서 호발하는 것으로 보고했고 *M. abscessus* 폐감염이 82%로 *M. fortuitum* 폐감염(14%)보다 높은 발병력을 보이며 폐결핵 등과 같이 동반 질환을 가진 환자는 40%에 불과했다. 국내의 보고에서도 상기 보고와 비슷한 임상적 특징을 가지고 있었으나 높은 비율(90~92%)의 선형 폐질환 특히 결핵 과거력이 있었다^{25,26}. 본원에서는 2균주가 발견되었는데 이중 폐질환을 일으킨 균주는 *M. abscessus*였고, 위암병력이 있는 61세 남자에서 방사선학적으로는 망상결절형(reticulonodular pattern)을 나타내었다. *M. fortuitum* 균주는 본원에서 분리되지 않았는데, 지역적 환경과 연관이 있을 것으로 생각한다.

소수에서 발견되지만 관심의 대상이 되는 균주로는 *M. szulgai*, *M. malmoense*, *M. simiae*, *M. xenopi* 등이 있다. *M. szulgai*는 NTM 폐감염의 1% 미만의 원인 균주로 알려져 있으나²⁷, 발병력은 높은 것으로 알려져 있다²⁸. 본원에서는 3균주가 분리되었는데, 57세, 71세의 폐암병력이 있는 2명의 남자 환자에서 의미있는 폐질환으로 각각 진단되었고 방사선학적으로는 결절성 침윤 형태(nodular infiltrative pattern) 및 경화 형태(consolidation pattern)로 나타났다. *M. szulgai*와 악성 종양과의 연관성에 대해 조사된 내용은 아직까지 없지만, 본원 입원 환자 중 악성 종양의 빈도가 높은 것과 연관성이 있을 것으로 생각한다. *M. malmoense*는 북유럽의 NTM 폐질환의 원인 균주로 부각되고 있는데⁷, Scotland 등지에서는 폐결핵 환자 40명 당 1명 꼴로 감염이 된다고 한다²⁹. 방사선학적으로도 폐결핵과 구분하기 힘들며, 기도 폐쇄 질환을 가진 환자에서 호발한다. 본원에서는 69세 남자 환자의 객담배양에서 *M. malmoense*가 발견되었는데, 방사선학적으로는 결절성 음영을 보였으며 흉수를 동반하였다. 흉수에서는 균주가 확인되지는 않았으나 흉막 조직검사서 건락성 육아종 소견을 보여 폐실질 감염과 연관되었을 것이다. 흉막액에서 균주가 분리된 경우 폐실질 혹은 다른 조직에 동일한 균주의 감염 증거가 있어야 흉막 침범 원인으로 간주하고 있다³⁰.

결론적으로 NTM 폐질환을 치료하기에 앞서 NTM의 정확한 균동정이 필요하며, 임상적, 방사선학적 판

단이 병행되어야 한다. 본원에서 시행한 이번 검사에서 비록 전체 균주가 많지 않았다는 단점은 있으나, NTM 폐질환을 일으키는 다양한 균주를 발견할 수 있었다. 국내의 다른 조사와 비교해서 균종 분리의 차이를 보인 것은 기저 질환의 분포, 지역 환경의 차이, 그리고 발전된 진단 방법으로 NTM 균주 분리의 증가 등과 관련이 있을 것으로 생각한다.

요 약

목 적 :

NTM질환이 과거에는 공중 건강에 치명적인 것으로 생각하지 않았다. 최근에 NTM이 높은 빈도로 발견되고 있고, 분리균의 임상적인 중요성도 커지고 있다. 본 연구는 부산의 한 삼차 의료기관에서 의뢰한 임상 검체에서 분리된 NTM의 균종 분포와 폐질환을 일으킨 균주의 임상적 특징에 대해 알아보려고 하였다.

대상 및 방법 :

2003년 3월부터 2003년 12월까지 10개월간 진단검사의학과 임상미생물검사실에 항산균 도말 및 배양 검사가 의뢰되어 도말 및 배양 양성을 보인 검체를 DNA-probe hybridization을 이용한 DNA chip을 통해 항산균종(Genotyping)을 확인했다. 비결핵항산균 동정이 이루어진 환자를 대상으로 미국흉부학회(ATS)의 진단 기준에 합당한 환자를 NTM 폐질환균으로 정의하였으며, 이 환자들에게 발견된 균종, 나이, 성별, 기저 질환, 흉부 방사선 소견 등을 조사하였다.

결 과 :

항산균 배양(AFB culture)양성 균주 중 99개 검체에서 NTM동정이 의뢰되었고, 이중 23명의 환자에서 24개 균주(24.2%)의 NTM이 확인되었다. 확인된 검체는 객담에서 19균주, 기관지세척액에서 4균주, 대장액(colon fluid)에서 1균주가 분리되었다. 24개의 검체에서 MAC이 13균주(54.2%)로 가장 많은 비율을 차지 하였고 *M. szulgai*가 3균주(12.5%), *M. kansasii*, *M. malmoense*가 2균주(8.3%), *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. scrofulaceum*도 각각 1균주(4%)씩 분리되었고 1균주는 분류되지 않은 균주였다. 23명의 환자 중 ATS 폐감염 기준에 부합되는 NTM 감염 환자는

총 11명(45.8%)이었으며, 평균 연령은 61세(38-76세)였다. MAC이 6균주(54.5%)로 가장 많고, *M. szulgai*가 2균주(18.2%), *M. abscessus*, *M. kansasii* 등이 1균주(9.1%)였다. MAC이 분리된 환자 13명 중 6명(46.1%) 그리고 *M. szulgai*가 분리된 환자 3명 중 2명(67%), *M. chelonae complex*가 2명 중 1명(50%)이 임상적 의의가 있는 NTM 폐질환을 가지고 있었다. 환자들의 기저질환은 악성종양이 6명이며 그 중 5명이 폐암 환자였고 폐결핵의 과거력을 가진 사람은 4명이었다. 흉부 방사선 촬영으로 분류한 결과 파괴성 폐형태(destructed lung pattern)은 3명, 공동성 종괴 형태(cavitary mass pattern)은 3명, 결절형(nodular pattern)이 2명(흉수동반 포함), 망상결절형(reticulonodular pattern), 경화형(consolidation pattern), 기관지확장형(bronchiectasis pattern)이 각각 1명 관찰되었다.

결 론 :

부산소재 한 대학병원에서도 다양한 형태의 NTM 폐질환이 발생하였고, 균종의 빈도는 MAC이 가장 많은 비율을 차지 하였고 *M. szulgai*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. scrofulaceum*순이었다.

참 고 문 헌

- American Thoracic Society. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculosis mycobacteria. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:940-53.
- Falkinham JO 3rd. Nontuberculous mycobacteria in the environment. *Clin Chest Med* 2002;23:529-51.
- Wolinsky E. Nontuberculous mycobacteria and associated diseases. *Am Rev Respir Dis* 1979;119:107-59.
- British Thoracic Society. Management of opportunistic mycobacterial infections: Joint Tuberculosis Committee guidelines 1999. *Thorax* 2000;55:210-8.
- American Thoracic Society. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:S1-25.
- Catanzaro A. Diagnosis, differentiating colonization, infection, and disease. *Clin Chest Med* 2002;23:599-601.
- American Thoracic Society. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1376-95.
- Tenover FC, Crawford JT, Huebner RE, Geiter LJ, Horsburgh CR Jr, Good RC. The resurgence of tuberculosis: is your laboratory ready? *J Clin Microbiol* 1993;31:767-70.
- Park HK, Jang HJ, Song ES, Chang CH, Lee MK, Jeong SH, et al. Detection and genotyping of mycobacterium species from clinical isolates and specimens by oligonucleotide array. *J Clin Microbiol* 2005. (In press)
- Runyon EH. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med Clin North Am* 1959;43:273-90.
- Lee HW, Cho BW, Kang MS, Kim JS, Lee JW, Nahm CH, et al. Mycolic acid analysis for identification of mycobacterium spp. using high-performance liquid chromatography. *Korean J Clin Pathol* 1998; 18:77-84.
- Lee H, Park HJ, Cho SN, Bai GH, Kim SJ. Species identification of mycobacteria by PCR-restriction fragment length polymorphism of the rpoB gene. *J Clin Microbiol* 2000;38:2966-71.
- Shin DH. New diagnostic methods in identification of nontuberculous mycobacteria. *Korean J Med* 2003; 65:1-3.
- Koh WJ, Kwon OJ, Ham HS, Shu GY, Chung MP, Kim HJ, et al. Clinical significance of nontuberculous mycobacteria isolated from respiratory specimens. *Korean J Med* 2003;65:10-21.
- Corbett EL, Blumberg L, Churchyard GJ, Moloji N, Mallory K, Clayton T, et al. Nontuberculous mycobacteria: defining disease in a prospective cohort of South African miners. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:15-21.
- Lew WJ. 비결핵항산균증의 임상상 및 국내현황. *Tuberc Respir Dis* 2002;53(Suppl 2):83-7.
- Lee HW, Kim MN, Shim TS, Bai GH, Pai CH. Nontuberculous mycobacterial pulmonary infection in immunocompetent patients. *Tuberc Respir Dis* 2002;53:173-82.
- O'Brien RJ, Geiter LJ, Snider DE Jr. The epidemiology of nontuberculous mycobacterial diseases in the United States: results from a national survey. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:1007-14.
- Scientific Committee in Korean Academy of Tuberculosis and Respiratory Disease. National survey of mycobacterial diseases other than tuberculosis in Korea. *Tuberc Respir Dis* 1995;42:277-94.
- Koh WJ, Kwon OJ, Kang EH, Jeon IS, Pyun YJ, Ham HS, et al. Clinical characteristics of the patients with mycobacterium avium complex pulmonary disease. *Tuberc Respir Dis* 2003;54:33-44.
- Embil J, Warren P, Yakrus M, Stark R, Corne S, Forrest D, et al. Pulmonary illness associated with exposure to mycobacterium-avium complex in hot

- tub water: hypersensitivity pneumonitis or infection? Chest 1997;111:813-6.
22. Evans SA, Colville A, Evans AJ, Crisp AJ, Johnston ID. Pulmonary *Mycobacterium kansasii* infection: comparison of the clinical features, treatment and outcome with pulmonary tuberculosis. Thorax 1996; 51:1248-52.
 23. Daley CL, Griffith DE. Pulmonary disease caused by rapidly growing mycobacteria. Clin Chest Med 2002;23:623-32.
 24. Griffith DE, Girard WM, Wallace RJ Jr. Clinical features of pulmonary disease caused by rapidly growing mycobacteria: an analysis of 154 patients. Am Rev Respir Dis 1993;147:1271-8.
 25. Kim EK, Sim TS, Im CM, Lee SD, Go Y, Kim WS, et al. Clinical manifestations of pulmonary infection due to rapidly growing nontuberculous mycobacteria. Tuberc Respir Dis 2003;54:283-94.
 26. Koh WJ, Kwon OJ, Kang EH, Jeon IS, Pyun YJ, Ham HS, et al. Clinical and radiographic characteristics of 12 patients with *mycobacterium abscessus* pulmonary disease. Tuberc Respir Dis 2003;54:45-56.
 27. Dylewski JS, Zackon HM, Latour AH, Berry GR. *Mycobacterium szulgai*: an unusual pathogen. Rev Infect Dis 1987;9:578-80.
 28. Ikeue T, Watanabe S, Sugita T, Horikawa S, Suzuki Y, Nishiyama H, et al. Pulmonary infection caused by *Mycobacterium szulgai*: a case report. Kekkaku 2002;77:427-31.
 29. France AJ, McLeod DT, Calder MA, Seaton A. *Mycobacterium malmoeense* infections in Scotland: an increasing problem. Thorax 1987;42:593-5.
 30. Gribertz AR, Damsker B, Marchevsky A, Bottone EJ. Nontuberculous mycobacteria in pleural fluid: assessment of clinical significance. Chest 1985;87:495-8.
-