

Distribution and Antibiotic Susceptibility Patterns of Genus *Mycobacterium* at a Private Hospital, Korea

Sung Kyun Hong¹, Sung-Ho Hur² and Hee-Kyung Seong^{2,†}

¹Department of Clinical Laboratory Science, Sanggae Paik Hospital, Inje University, Seoul 139-707, Korea

²Department of Medical Laboratory Science, Dong-Eui Institute of Technology, Busan 614-715, Korea

Mycobacterium isolates were retrospectively identified, antibiotics susceptibility test results and basic clinical data were analyzed for the 715, excepted 308 in 1,023 specimens, from a mycobacterial laboratory at a tertiary care hospital from September 2002 to December 2008. Their male to female ratio was 1.12 to 1 (379 male, 336 female). The median age of study population was 47 years (range from 10 to 93 years). Distribution of *Mycobacterium* species was 90.1% of total were isolates *Mycobacterium tuberculosis*, and 9.9% of the total non-tuberculosis *Mycobacterium* isolated, and Among nontuberculosis *Mycobacterium* isolates, 60.6% were *Mycobacterium avium* complex, 14.1% were isolates *Mycobacterium abscessus*, and 12.7% were isolates *Mycobacterium intracellulare*. Among 526 *Mycobacterium tuberculosis* isolates, 81.7% isolates were susceptible to first line antibiotics, 18.3% were resistant to one or more antibiotics. Non-tuberculosis *Mycobacterium* isolates, all were resistant to two or more antibiotics. Multi-antibiotic resistant tuberculosis rate was show 10.2% of total specimens. Isolated *Mycobacterium* species, 19.2% were multi-antibiotic resistant tuberculosis, and the rate of nontuberculosis *Mycobacterium* resistant to isoniazid and rifampin was very highly 84.5%. Thus among acid fast bacilli culture positive cases, *Mycobacterium tuberculosis* and non-tuberculosis *Mycobacterium* were must exactly identification and antibiotic sensitivity test. It was considered to help to select of the antibiotic in preventive medicine.

Key Words: *Mycobacterium*, Private hospital, Distribution, Antibiotic susceptibility

서 론

결핵은 주로 항산성 세균인 결핵균 *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)이 감염된 작은 비말이 폐에 흡입됨으로써 일으키는 감염증으로, 의학사에 있어서 단일질병으로는 가장 많은 연구가 이루어진 만성 감염성 질환이다. 이 질환은 항결핵화학요법의 발달과 더불어 활발한 결핵 퇴치 사업 등으로 인하여 결핵 이완율과 사망률이 매우 감소되고 있었으나 최근 후천성면역결핍증 환자를 위시

하여 면역기능이 저하된 환자들이 증가함에 따라 결핵이 재활성화 되거나 동시 감염되는 경우가 많고, 다 약제내성 결핵균이 출현함에 따라 결핵에 대한 관심이 더욱 고조되고 있다 (Nowak, 1995).

세계보건기구 (World Health Organization, WHO) 발표에 따르면, 전 세계 인구의 약 1/3인 17억 정도가 결핵균에 감염되어 있으며, 매년 800만 명 정도의 새로운 환자가 발생하고 있다고 한다 (Lopez and Murray, 1998). 우리나라에서는 1962년부터 전국 보건소를 근간으로 한 국가 결핵관리 사업이 시행되고 있으며 1995년의 전국결핵실태조사 결과보고서에 의하면 결핵의 유병율이 1965년 5.1%에서 1995년 1.0%로 감소되어 개발도상국 중 국가 결핵관리가 성공적으로 이루어진 국가로 인정받고 있다 (Scientific Committee in Korean academy of tuberculosis and respiratory disease, 1995). 하지만 WHO 추계를 적용하면, 2000년을 기준으로 우리나라 도말양성 신환율이 63%이

*Received: February 15, 2013 / Revised: April 25, 2013

Accepted: May 6, 2013

†Corresponding author: Hee-Kyung Seong. Department of Medical Laboratory Science, Dong-Eui Institute of Technology Busan 614-715, Korea.

Tel: +82-51-860-3525, e-mail: hkseong_kr@hanmail.net

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

고 1/2 이상이 되는 민간 부분 치료 환자를 제외한 공공 부문 치료 성공률이 82%, 신환 신고율은 47% 수준으로 아직도 여전히 전국적으로 45만 명에 달하는 결핵 환자가 있는 것으로 보고되고 있으며 1995년도 대한결핵협회의 제7차 전국결핵실태조사연구에서 결핵이 우리나라 10대 사망원인 중 9위로 연간 약 4천명의 환자가 결핵으로 사망하고 있으므로 결핵 감시체계 관리는 국민보건에서 여전히 중요한 부분으로 생각된다고 하였다 (Scientific Committee in Korean academy of tuberculosis and respiratory disease, 1995).

최근 약제내성균의 조기발견을 위해 약제내성균에 대한 분자유전학적인 연구가 활발히 이뤄지고 있지만, 이러한 방법들은 경제적인 효율성 측면과 장비구입의 어려움으로 실제 임상에서 이용하는 것이 쉽지가 않고 임상적으로 배양된 검체를 이용한 구식적인 방법이 주로 이용하고 있으나 치료의 처방을 결정해야 하는 치료 초기에는 결과를 얻을 수가 없는 문제점이 있어 오랜 기간 동안에 얻어진 수많은 자료에 근거한 경험적 표준처방을 실시할 수밖에 없는데 (Son et al., 2001) 1990년대까지 국내에 보고되었던 결핵실태조사의 대부분은 보건소를 중심으로 한 1차 공공의료의 결핵실태이고 민간의료 및 3차 의료기관의 결핵실태는 많은 부분이 누락되어 보고자마다 약제내성 결핵실태는 많은 차이를 보여주었다 (Son et al., 2001; Koh et al., 1999).

한편, 비결핵항산균 (*Non tuberculous mycobacterium*, NTM)은 1882년 코흐가 결핵균을 발견하고 오래되지 않아 인간에게도 질병을 일으킬 수 있는 균으로 인식되기 시작하였고 (Marras and Daley, 2002) 이후 여러 보고를 통해 병원성이 증명되어 왔으나 폐질환에서의 역할 및 병인에 대해서는 최근 후천성면역결핍증에서 기회감염증이 주요 원인균으로 인식되기 시작하면서 그 중요성이 강조되기 시작하였다 (Aerg et al., 1998). 또한 우리나라는 결핵 발병 가능성이 높은 노인인구도 크게 증가하고 있고 20대의 결핵 발생률도 현저히 높아 획기적 개선의 노력이 없이는 결핵의 조기 근절은 희망사항일 뿐이다. 또, Human Immunodeficiency Virus (HIV) 감염자의 증가 추세도 뚜렷하며 그 다발 연령층이 20~30대로 우리나라 결핵 다발 연령층과도 중복되며 성인의 대부분이 결핵에 감염되어 있는 상황을 고려하면 향후 결핵관리에 심각한 문제를 야기할 소지가 충분하다. 국내에서는 과거부터 항산균 도말양성은 결핵으로 간주될 정도로 결핵의 빈도가 높고 NTM증의 빈도가 낮았으나, NTM증 전국 실태조사

에서 학술위원의 보고에 의하면 1990년 이후 NTM의 분리율 및 질병 빈도가 빠른 속도로 증가하고 있음을 알 수 있다 (Scientific Committee in Korean academy of tuberculosis and respiratory disease, 1995; Lew, 1999). 이러한 수적 증가는 NTM 배양의 절대적 증가뿐만 아니라 전체적인 항산균에 대한 NTM 분리 비율의 증가를 의미하는 것으로 생각된다 (Lamden et al., 1996; Koh et al., 2003). 최근의 국내자료에 의하면 항산균 도말양성 객담에서 NTM의 분리 비율이 약 10%에 해당한다 (Koh et al., 2003). 특히, MTB와 NTM은 치료과정에서 초기 항생제의 선택이 매우 중요하기 때문에 정확한 감별 및 동정을 하여야 한다. 따라서 본 연구에서는 *Mycobacterium* 속의 분리 빈도 및 분포를 확인하고 분리된 각각의 균종별로 항결핵제에 대한 내성양상을 파악함으로써 균종별에 따른 치료를 위한 항생제 선택에 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

연구대상 및 기간

2002년 9월부터 2008년 12월 31일까지 서울시내 1개 대학병원에 내원한 환자 중 항산균 검사를 실시한 초회 진료 환자를 대상으로 진단검사의학과 미생물부로 의뢰된 검체들 중에서 항산성균이 배양되어 *Mycobacterium* 약제감수성검사와 동정검사를 실시한 검체를 대상으로 후향적으로 의무기록을 통하여 진단 시 연령, 성별, 항산성균 도말검사와 배양결과, 약제감수성검사 결과, 진단명, 거주지를 조사하였다.

본 연구에서는 *Mycobacterium* species로 판단되는 균이 배양되어 대한결핵협회 결핵연구원으로 의뢰한 검체 중 동일 환자의 초회 감수성검사를 초과하는 감수성검사 검체 (253건)를 제외시켰으며, 대한결핵협회로 의뢰된 검체 중 검체 배양 시 적은 수가 자라서 동정검사와 감수성검사를 실시하기 위해 재 배양 실시 후 자라지 않은 검체 (16건)는 제외를 시켰으며, 대한결핵협회 결핵연구원으로 의뢰 후에 배지에 문제가 발생해서 검사를 못한 검체 (16건)도 제외를 시켰다. 감수성검사와 동정검사를 같이 의뢰하지 않은 검체 (21건)도 제외를 시켰다. 동정검사 시 1종 이상의 균이 분리된 검체 (1건)도 제외를 시켰으며, *Mycobacterium* 균종이 아닌 다른 종으로 분리된 검체 (1건)도 제외를 시켰다.

결과적으로 총 1,023건의 검체 중에서 검사에 적합한 715건의 검체만을 가지고 검사를 실시하였다.

연구방법

객담 및 기관지 세척액 검체 전처리: 검사실에 도착한 검체는 객담과 다른 검체를 동일한 양의 4% NaOH를 넣고, 객담과 4% NaOH가 혼합된 검체를 Vortex Mixer (Jeil science Co., Seoul, Korea)로 30초 동안 진탕을 하였으며, 이후 멸균증류수를 혼합된 검체에 부은 후 원심분리기 (Guboda, Japan)를 이용하여 3,300 rpm 4°C에서 20분간 원심분리하며, 상층액은 버리고 침전물을 멸균된 스포이트를 이용하여 slide에 도말하고 2% Ogawa 배지 (Korea National Tuberculosis Association, Seoul, Korea)에 접종을 한다. 도말된 슬라이드는 슬라이드 건조기 (Hanil Science Indus., Seoul, Korea)에서 65°C 2시간 또는 85°C 1시간 건조를 시켰다 (Kent and Kubica, 1985, Robert et al., 1991).

검사방법

항산균 도말검사: 고정된 슬라이드를 Aerospray® 7720 AFB slide stainer (Wescor Inc., Paris, France) 형광 염색 자동화기기를 이용하여 형광 염색을 실시하였다. 염색순서는 Auramine Rhodamine (Truant, et al., 1962)시약으로 염색을 하고, 수세를 하고 HCl-Alcohol (Wescor, Inc., Paris, France)로 탈색을 하고, 대조 염색으로 Potassium Permanganate (멸균증류수 1,800 ml에 Potassium Permanganate 원액 (Wescor, Inc., Paris, France) 200 ml를 넣어서 제조, 여과 후 냉암소에서 보관)를 이용해 염색을 하고, 수세를 하고 약 800 rpm에서 원심분리를 해서 유리슬라이드에 도말하고 건조하였다. 도말검사 결과의 보고는 미국질병예방통제센터와 미국흉부학회의 기준에 따라 acid fast bacilli의 수를 현광 현미경으로 200배로 검경을 했다. 본 연구에서는 trace 이상을 도말양성으로 정의하였다 (Centers for disease Control and Prevention, CDC, 2000; American Thoracic Society, ATM, 2000).

배양법: 전 처리된 검체를 2% Ogawa medium 사면에 접종한 후 뚜껑을 느슨하게 닫고 37°C incubator (Jeio Tech Co., Korea)에 24시간이 지난 후에 뚜껑을 꼭 닫은 뒤에 배지를 세워 1주일에 한번 씩 매주 8주간 관찰하여 집락이 나타나면, 양성으로 판정하였다 (Ogawa et al., 1960; Kent and Kubica, 1985; Robert et al., 1991).

약제감수성검사: 감수성검사는 Lowenstein-Jensen (Becton, Dickinson and Company, USA)배지를 이용한 절대농도법

Table 1. General characteristics of patients

Characteristics	Division	Frequencies (%)
Sex	Male	379 (53)
	Female	336 (47)
Age	10~19	34 (4.8)
	20~29	137 (19.2)
	30~39	108 (15.1)
	40~49	121 (16.9)
	50~59	88 (12.3)
	60~69	93 (13.0)
	More than 70	134 (18.7)
Specimen	Sputum	579 (81.0)
	Bronchial Washing Fluid	124 (17.3)
	Others	12 (1.7)
Medical examination	Internal Medicine	650 (90.9)
	Emergency Room	18 (2.5)
	Others	47 (6.6)
Residence	Seoul North Area	559 (78.2)
	Seoul South Area	9 (1.3)
	Gyeongsang-do	19 (2.7)
	Cheonra-do	7 (1.0)
	Chungcheong-do	10 (1.4)
	Gyeonggi-do	107 (15.0)
	Others	4 (0.6)

을 사용하였다 (Canetti et al., 1969). 감수성으로 판정할 수 있는 약제에 따른 MIC는 다음과 같다. Isoniazid (INH) 0.2 µg/mL, rifampicin (REP) 40 µg/mL, ethambutol (EMB) 2 µg/mL, streptomycin (SM) 10 µg/mL, kanamycin (KM) 40 µg/mL, prothionamide (PTH) 40 µg/mL, cycloserin (CS) 40 µg/mL, para-amino salicylic acid (PAS) 1 µg/mL, ofloxacin (OFX) 2.5 µg/mL, capreomycin (CPM) 10 µg/mL이었다.

동정검사: 동정검사는 *rpoB* 유전자의 Polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism 분석방법을 이용하여 실시하였다 (Devallos, 1997).

결 과

연구 대상자의 일반적 특성

검사 대상자에 대한 환자의 일반적 특성은 Table 1과 같다. 성별로 구분하면 남자는 53%, 여자는 47%이다. 연구 대상자의 성별은 남자가 여자보다 6%가 많았다.

Table 2. Distribution of sex and age

Division	Age (year)							Total		
	10~19	20~29	30~39	40~49	50~59	60~69	More than 70			
Sex	M	Cases	15	56	54	82	58	60	54	379
		%	2.0	7.8	7.6	11.5	8.1	8.4	7.6	53.0
	F	Cases	19	81	54	39	30	33	80	336
		%	2.7	11.3	7.6	5.5	4.2	4.6	11.1	47.0
Total	Cases	34	137	108	121	88	93	134	715	
	%	4.8	19.2	15.1	16.9	12.3	13	18.7	100	

나이에 따라 발생 빈도를 보면, 20~29세가 발생 빈도가 19.2%로 가장 높았으며 10~19세가 4.8%로 가장 낮은 추세를 보였다. 나이의 중앙값은 47세 (14~93세)였다. 검체는 객담 검체가 81%를 차지했다. 진료과로는 내과가 90.9%를 차지했으며 거주지는 강북지역에서 78.2%와 경기지역에 15% 거주하고 있었다 (Table 1).

성별과 연령의 발생 빈도

성별에 따른 연령별 발생 빈도에 대한 분석을 하면 Table 2와 같다. 성별에 대한 연령별 발생 빈도에 대한 분석에서 20~29세에 가장 높은 19.2%가 감염율을 나타내었으며 그때 남성이 7.8%, 여성이 11.8%가 발생하였고, 0~19세에서 가장 낮은 4.8%가 발생하였고, 70세 이상에서 18.7%, 40~49세 16.9% 각각 발생하였다. 전체적인 남녀성비에 따른 감염율에서 10세에서 39세까지는 여성이 높거나 같았으나 40세에서 69세까지는 남성의 감염율이 높았으며 70세 이상에서는 여성이 높았다 (Table 2).

Mycobacterium의 분포도

본 연구는 715명의 환자 검체를 대상으로 실시한 분포도는 Table 3과 같았다.

총건수 중에 MTB가 90.1%를 차지했으며, NTM 균주가 9.9%를 차지했다. 분리된 NTM 균주 중에서는 *M. avium*이 60.6%, *M. abscessus* 14.1%, *M. intracellulare* 12.7%, *M. fortuitum complex* 5.6%, *M. kansasii* 4.2%, *M. gordonae*와 *M. terrae*가 각각 1.4%였다.

배양기간에 따른 Mycobacterium 속

Mycobacterium 속의 배양기간에 대한 것을 분석한 결과에서 MTB는 분리균종 644균주 중에서 4주 이하에 배양된 것이 55.5% (397균주), 5주에서 6주까지는 22.8%

Table 3. Isolation of *Mycobacterium* spp. in patient specimens

Division	No. of Isolation (%)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	644 (90.1)
<i>M. avium</i>	43 (60.6)
<i>M. abscessus</i>	10 (14.1)
<i>M. intracellulare</i>	9 (12.7)
Non-tuberculosis <i>Mycobacterium</i>	
<i>M. fortuitum complex</i>	4 (5.6)
<i>M. kansasii</i>	3 (4.2)
<i>M. gordonae</i>	1 (1.4)
<i>M. terrae</i>	1 (1.4)
Total strains of NTM	71 (9.9)

(163균주) 그리고 7주 이상은 11.8% (84균주)로 나타났으며, NTM 중에서는 *M. abscessus*는 배양 4주 이하에 0.7%, 6주 이상에서 0.6%가 각각 분리되었고, *M. avium*은 4주 이하에서 0.4%, 6~7주 이상에서 4.2% 각각 배양되었다. *M. intracellulare* 균주는 6주 이상에서 1.2%가 배양되었다.

MTB와 NTM 균종의 약제내성 빈도

Mycobacterium 속의 MTB와 NTM 균종에 대해서 통상 검사에 사용되고 있는 10종류의 항결핵제 중에서 약제내성빈도에서 644균주의 MTB 균종은 81.7% (526균주)가 감수성을 보였으며, 1종의 항생제에 내성을 나타내는 것은 8.1% (52균주), 2종 3.9% (25균주), 3종 2.6% (17균주) 그리고 4종 이상에서 8종류는 전체의 3.7% (24균주)를 나타내었다.

71균주의 NTM 균종은 10종의 모든 항결핵제에 감수성을 보이는 경우는 없었으며, 최소 한 개 이상의 약제에 대해 내성을 보이는 것으로 나타났다. 항결핵제 중에서 6종류 이상에서 대부분 내성을 보였고 균종별로는

Table 4. Distribution of antibiotic resistance of *M. tuberculosis* (644 strains) and Non-tuberculous *Mycobacterium* (71 strains)

Strain	Antibiotics										
	INH	REP	SM	EMB	KM	CPM	PTH	CS	PAS	OFX	
<i>M. tuberculosis</i>	14.7*	8.5	3.4	6.5	1.6	2.2	1.0	0.6	1.7	0.9	
<i>M. abscessus</i>	14.1	14.1	14.1	14.1	12.7	14.1	14.1	14.1	14.1	14.1	
<i>M. avium</i>	60.6	52.1	54.9	60.6	26.8	60.6	52.1	9.9	60.6	60.6	
<i>M. fortuitum complex</i>	5.6	5.6	5.6	5.6	1.4	0	2.8	5.6	5.6	0	
NTM <i>M. goodnae</i>	1.4	0	1.4	0	0	0	0	0	1.4	0	
<i>M. intracellulare</i>	12.7	12.7	9.9	12.7	2.8	12.7	11.3	5.7	12.7	12.7	
<i>M. kanasii</i>	4.2	0	0	0	1.4	0	0	1.4	4.2	1.4	
<i>M. terrae</i>	1.4	0	0	0	1.4	0	0	1.4	1.4	1.4	

NTM, Non-tuberculous *Mycobacterium*; *,%; INH, isoniazid; REP, rifampicin; SM, streptomycin; EMB, ethambutol; KM, kanamycin; CPM, capreomycin; PTH, prothionamide; CS, cycloserin; PAS, para-amino salicylic acid; OFX, ofloxacin.

*M. abscessus*가 9종 이상 모두에 내성을 나타내어 NTM 중의 14.1% 내성 빈도를 보였고, *M. avium*은 6종 이상의 모두에서 NTM 중의 60.6%, 그리고 *M. intracellulare*는 7종 이상에서 모두 내성을 보여 NTM 중에서는 12.7%의 약제내성빈도를 나타내었다. *M. fortuitum complex*가 6종 이상의 항결핵제에 모두 내성을 보였고, 그 외는 2종에서 5종 정도의 내성을 보였다.

MTB와 NTM 균종의 약제별 내성 정도

MTB 644균주와 NTM 71균주 중에서 내성을 보인 각각 118균주와 71균주에 대한 약제별 내성 빈도는 Table 4와 같았다. *M. tuberculosis*는 isoniazid (INH)에 14.7%, rifampicin (REP) 8.5%, ethambutol (EMB) 6.5% 순으로 내성을 보였다. *M. abscessus*는 모든 약제에 대해서 약 14% 정도의 내성률을 보였으며, *M. avium*은 cycloserin (CS) 9.9%를 제외하고 kanamycin (KM)에서 26.8%와 그 외 항생제에 대해서는 대부분 50~60% 정도의 높은 내성을 보였다. *M. intracellulare*는 KM에서 2.8%, CS 5.7%의 내성을 보였고 다른 약제에서는 9.9~12.7%의 내성률을 보였다. 2종류 이상의 항생제에 내성을 보이는 다제내성률은 각각 MTB 10.2%와 NTM 100%를 보였다.

고찰

1965년도에 시작되어 30년간 매 5년 단위로 시행되어 온 제6차 전국결핵실태조사에서는 결핵 유병율, 내성 및 다제내성 결핵의 유병율 모두가 현저하게 감소된 것으로 보고되었으나 (Hong et al., 1993) 한국의 질병관리본부에 따르면 1995년 이후 지금까지는 국가결핵감시체계에 보

고된 신환자 발생 및 통계청의 자료에서 나타난 결핵 사망률 이외 결핵전반의 추이를 알 수 있는 자료가 없는 실정이다 (Korean Center for Disease Control and Prevention, KCDC, 2003). 또한, 효과가 완벽하게 증명된 결핵 예방 백신이 없는 현 상황에서 결핵 환자의 조기발견과 효율적인 치료는 국가결핵관리사업의 핵심이다. 우선 결핵균의 조기진단을 위하여 미국흉부학회와 가이드라인 및 한국의 질병관리본부의 지침에 의해서 흉부방사선촬영과 객담검사를 시행하고 있으며, 흉부방사선촬영에서 폐결핵이 의심되는 환자는 2회의 객담을 수집하여 도말검사를 시행하고, 2회의 도말검사 결과가 모두 음성일 때는 1회의 배양검사를 시행하도록 하고 있다 (ATM, 2000; KCDC, 2004, 2006). 배양검사를 통해 결핵균을 반드시 확인하지 않더라도 객담 도말양성인 경우 폐결핵으로 진단되어 *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)의 분리에 주력을 하고 있었으나 최근에는 Non-tuberculosis *Mycobacterium* (NTM)에 의한 폐질환의 가능성이 높은 것으로 진단되고 있다. 결핵의 치료과정에서 항생제에 대한 내성획득속도가 빠르게 진행되고 있어 치료에 어려움을 겪고 있다. 특히 MTB와 NTM 감염에 있어서 NTM의 감별은 기존 MTB와는 항생제의 치료방향이 다르므로 반드시 정확한 분리 및 동정이 되어야 항생제의 선택에 오류를 줄여 효율적인 치료를 할 수 있다 (Griffith et al., 2007).

한편, 우리나라의 경우 MTB와 NTM의 동정에 있어서 대부분의 민간 종합병원에서는 통상 도말검사와 배양검사를 함께 실시하고 있지만 미국처럼 모든 환자에서 3회 이상의 도말과 배양검사를 실시하는 것은 아니고 NTM이 배양되더라도 균 동정을 꼭 시행하지는 않고 있는 실정이다 (Kim et al., 1999; Chang et al., 2001). 결국 아직도 우

리나라에서는 항산균 배양검사로부터 *Mycobacterium* 균 종이 분리되는 비율에 대해서는 정확하게 보고된 바가 없으며, 특히 임상검체로부터 분리된 전체 *Mycobacterium* 중에서 NTM이 차지하는 비율이 어느 정도인지 대해서도 알려져 있지 않은 실정이다. 1980년대 초까지만 하더라도 국내에서 분리되는 *Mycobacterium*은 97~98% 이상이 결핵균이었다 (Hong et al., 1993). 1990년대 이후 몇몇 대학병원에서의 보고에 따르면 NTM이 분리되는 비율이 증가하여 일부 병원에서는 최근 임상에서 분리되는 *Mycobacterium* 속 중 NTM이 차지하는 비율이 20~30%까지 이르고 있다 (Park et al., 1991; Nah et al., 1997; Lee et al., 2002; Koh et al., 2003). 또한 1981년부터 1994년까지 대한결핵협회로 의뢰된 검체 중 NTM이 동정된 158에 대한 한국결핵 및 호흡기학회 조사위원회에서도 동정된 NTM의 84%가 1990년 이후에 분리된 점 등을 고려하면, 국내에서 1990년대 이후 임상검체로부터 분리된 *Mycobacterium* 속 중 NTM의 비율이 증가하고 있다고 추정할 수 있다 (Scientific Committee in Korean academy of tuberculosis and respiratory disease, 1995). 국내의 다른 연구에서는 1980년대 NTM 폐질환에 대한 몇몇 증례 보고 (Kim et al., 1982; Kim et al., 1985), 1990년 이후 임상검체에서 배양된 NTM의 균종별 분포와 폐질환을 가진 환자들에서의 원인균의 분포에 대한 몇몇 연구가 있다 (Lew et al., 1992; Bai et al., 1993).

본 연구에서는 2002년 9월부터 2008년 12월까지 6년 6개월 기간 동안 연구대상의 병원에 내원한 환자를 대상으로 후향적 연구방법으로 결핵의심 환자의 검체에서 *Mycobacterium* 속의 분리양상 및 내성률을 확인하였으며 구체적으로 성별, 나이, 거주지, 검체의 종류 및 진료부서로 구분하였다. 연구 대상자의 일반적 특성에서 연령은 평균 47세이며 성별은 전체적으로 여성에 비하여 남자의 분리건수가 많으나 10세에서 39세와 70세 이상에서는 여성이 높거나 같았고, 40세에서 69세까지는 남성이 훨씬 높았다. 이는 사회 활동이 왕성한 연령층에서 감염기회가 많은 것으로 생각되며, 70세 이상에서 여자가 더 많이 발생한 것은 세계보건기구 (WHO, 2006)의 건강보고서에서 제시하고 있듯이 여자가 남자보다 평균 수명이 더 높기 때문으로 생각되었다. 거주지 별 발생률을 살펴보면, 전체 715건 중에서 주소미상인 4건을 제외한 711건 중에 78.2%가 서울의 강북지역에서 거주를 하고 있으며 경기도가 15%가 거주를 하고 있었다. 병원의 지리적인 특성인 것으로 생각되며, 검체 별 발생률은 객담과 기관지 세

척액 검체가 전체 건수 중 81%를 차지했다. 진료과별 특성을 보면 내과가 전체 의뢰과의 90.9%를 차지했다. 이는 주로 호흡기 질환의 진료를 위한 환자로 결핵의 진단을 위하여 호흡기검체인 객담을 대상으로 하였기 때문이었다. *Mycobacterium* 속의 분포에서 분리된 715균주는 MTB와 NTM가 각각 90.1%와 9.9%로 나타났다. MTB인 경우는 과거 97~98%보다 분리율이 낮았고 상대적으로 NTM의 비율이 높은 것으로 나타났다. 최근 국내 연구에서 NTM은 2002년에서 2003년의 2년간 호흡기검체에서 NTM의 분리 비율은 17% (Koh et al., 2006)와 2003에서 2005년까지 7.4% (Jun et al., 2009)가 분리된 것으로 보고하고 있어 같은 연구에서 오히려 검출율이 감소하였으나 본 연구의 9.9%는 연구대상은 다르나 NTM의 검출이 점점 증가함을 알 수 있었다. 그러나 1990년대의 국내 연구에서 20~30%가 분리되었다는 결과는 NTM의 동정이 명확하게 정립되지 않았던 결과일 것으로 생각되었다.

한편, 국외에서는 항산균 도말양성 객담에서 NTM의 분리 비율은 국가와 지역 그리고 연구된 시기에 따라 달랐다. 아시아와 아프리카 등 결핵의 유병율이 높은 지역에서는 객담 항산균 도말양성은 대부분 폐결핵을 의미한다 (Kevy et al., 1989). 하지만 미국 등 상대적으로 NTM 폐질환의 빈도가 높은 국가에서는 상황이 같지 않았다. 호주에서의 한 보고에서는 항산균 도말양성 객담에서 약 50% 정도가 NTM이 분리된다고 하였다 (Haverkort, 2003; Tomson, 2010).

미국에서는 지역과 보고된 시기에 따라 항산균 도말양성 객담에서 NTM의 분리 비율이 낮게는 1.7% (Wood et al., 1984), 3.5% (Gordin and Slutkin, 1990), 8.5% (Yajko et al., 1994) 등으로 보고되었지만, 최근 보고에 의하면 Colorado 지역에서는 24.8% (Stone et al., 1997), Texas 지역에서는 48.5% (Wright et al., 1998)까지 항산균 도말양성 객담에서 NTM이 분리된다고 한다. 실제로 James 등은 미국의 워싱턴대학병원에서 시행된 9,604개의 도말검사 중 양성 검체에서 결핵진단의 위양성률은 50%로 높아 선별검사로서 제한점이 있음을 보고하였다 (Stone et al., 1997). 2000년 미국 CDC는 객담 항산균 도말검사서 양성을 보인 경우에 핵산증폭검사를 시행하여 도말과 핵산증폭검사가 모두 양성이면 폐결핵으로 잠정진단하고, 만일 도말양성, 핵산증폭검사 음성이면 검체 내에 inhibitor가 있는지 검사하여 inhibitor가 없다면 NTM에 감염된 것으로 잠정진단 후 최종 진단은 배양결과를 가지고 판단하도록 권장하게 되었다 (CDC, 2000, 2009). 이러한 이유 때문에

미국에서는 폐결핵의 진단에 핵산증폭검사가 상대적으로 광범위하게 이용되고 있다 (Schluger, 2001). 지리적으로 가까운 중국의 상해인 경우 NTM에 대한 최근 연구결과에서는 2005년부터 2008년간의 조사에서 4.3~6.4% 정도로 검출되었고 (Wang et al., 2010), 네덜란드는 임상검체 중에서 2.5% (van Ingenavan et al., 2010), 영국인 경우는 1995년에서 2008년까지의 분리율은 0.9~2.9% (Foo et al., 2009; Moore et al., 2010)로 보고하고 있어 본 연구 뿐만 아니라 국내의 타 연구의 결과보다 낮은 분리율을 보이고 있다. 우리와 가까운 중국은 국내의 결과 보다 낮지만 유럽보다는 높았다.

배양기간에 따른 *Mycobacterium* 속의 배양속도에서 MTB는 4주 이하에 배양된 것이 55.5%이었고, NTM은 10균주로 1.4%로 나타났다. NTM 중에서 *M. abscessus*는 배양 초기 0.7%, 말기 0.6%가 분리배양 되었으며 *M. avium*은 초기에 0.7%와 5~7주 이상으로 5.3% 정도로 대부분 늦게 배양되었다.

분리 동정된 71균주의 NTM 중에서 *M. avium*로 분리된 건수는 43주로 60.6%를 보였고 *M. abscessus*가 14.1%, *M. intracellulare*가 12.6% 순으로 분리되었다. 2003년 Koh 등의 NTM 분리율을 살펴보면, *M. avium*이 29.6%, *M. abscessus*가 16.0%로 본 연구의 결과와는 종류별 분리 빈도는 비슷하였으나 (Koh et al., 2003) *M. avium*의 분리율은 본 연구의 결과가 약 30% 정도 크게 높았으며 2006년 Koh 등의 48% 보다는 낮았다 (Koh et al., 2006). *M. abscessus*의 분리율은 본 연구에서는 14.1%로 2003년 Koh 등의 연구에서 16.0%보다 약간 낮았으나 2006년의 33%와는 큰 차이를 나타내었다. 국외인 경우는 중국의 상해는 *M. chelonae* 26.7%, *M. fortuitum* 15.4%, *M. kansasii* 14.2% *M. avium-intracellulare* 13.1%의 순으로 높았고 (Koh et al., 2003; Wang et al., 2010), 네덜란드의 경우 *Mycobacterium abscessus* 31%와 영국인 경우는 *M. avium-intracellulare* 43%로 분리되어 국내의 연구에서 *M. avium*, *M. abscessus*, *M. intracellulare* 등의 순서로 발생 빈도가 높은 것과는 큰 차이를 보였다. 최근 국내의 임상에서 분리되는 NTM 중에서 *M. avium-intracellulare*은 73.2%로 영국의 43%보다도 월등하게 높았다. 특히 *M. avium* complex가 하기도 감염은 일본인 경우 6.0%와 미국 3.5%의 사망률을 보인 것으로 나타나 국내의 73.2%는 감염예방적인 차원에서 관심을 집중해야 할 것으로 생각되었다 (Kurashima, 2010). 각 국가간의 발생 빈도의 차이는 사회적 특성과 지역적 특성에 따라 다르게 나타나는 것으로 생각되었다.

MTB와 NTM 균종의 약제감수성검사에 대한 내성을 보이는 빈도를 살펴보면, MTB으로 분리된 균주 715건 중에서 81.7%가 감수성을 보였으며, 1종의 약제에서부터 8종의 약제에 내성을 보이는 균주 18.3%가 관찰이 되어 규모나 시기적으로 비슷한 2005년도 Choi 등의 연구에서 7.6%로 보고되어 내성 빈도가 상대적으로 아주 높게 나타나 병원과 지역적인 특성에 따라 큰 차이를 보이는 것으로 생각되었다 (Choi et al., 2005). NTM 균종에서는 분리된 71균주 모두 2종 이상의 항생제 내성을 보이는 다제내성균으로 분석되어 다른 연구결과와 비슷하였다 (Scientific Committee in Korean academy of tuberculosis and respiratory disease, 1995; Griffith et al., 2007; Park et al., 2008).

한편, MTB와 NTM 균종의 약제별 내성 정도에서 MTB의 다제내성률은 총 644주 중에서 다제내성약제인 isoniazid와 rifampicin에 동시내성을 보이는 다제내성결핵의 내성률은 8.5%이었다. 다제내성균의 연구를 살펴보면, 1975년 1.1%, 1980년 1.7%, 1985년 8.5%까지 증가하였고, 1990년에는 4.8%로 감소하였으나 1995년엔 5.3%로 다시 증가하여 (Kim, 1993; Lew, 1999), Son 등 (2001)의 조사에서도 9.9%로 나타나 본 연구에서의 10.2%와 거의 비슷하였다. 다제내성결핵은 치료 성공률이 낮고 타인에게 전염시킬 경우 새롭게 감염된 감염자는 다제내성결핵균에 감염되었기 때문에 초기 치료에서 실패할 경우가 많아 다제내성결핵의 증가로 이어질 수 있을 것으로 생각된다. Isoniazid, rifampicin과 streptomycin은 각각의 내성율과 다제내성에 있어서 1995년 연구에서 isoniazid 9.2%, rifampicin 5.3%, 다제내성 5.3%, streptomycin 3.1% (Lew, 1999)이었으나 본 연구에서 isoniazid 14.7%, rifampicin 8.5%, 다제내성 8.5%, streptomycin 3.4%로 1990년대보다 2000년대에 내성획득율이 훨씬 높은 것으로 나타났다. 그러나 2001년 Son 등의 결과에서는 isoniazid 16.5%, rifampicin 11.0%, 다제내성 9.9%로 보고하여 (Son et al., 2001) 본 연구의 결과보다 높게 나타났다. 이러한 결과는 일반적으로 3차 의료기관에 내원 환자는 새로운 환자가 아닌 대개 다른 병원에서 이송되어 온 환자들로 결핵이 이미 치료과정에서 일차적으로 항결핵제에 대한 치료에 실패하였거나 결핵이 이미 진행된 중증도나 중증 환자가 많기 때문으로 생각되었다 (Son et al., 2001). 본 연구에서의 대상병원이 3차기관이기는 하나 1차 내원한 환자를 대상으로 선별하였고, 지역적인 특성과 결핵전문요양기관이 아닌 결과 등으로 생각되었다. 국외 연구에서 중국의 39개 병원을 대상으로 한 연구에서는 1997~2009년

간의 MTB 내성률분석에서 47.1%로 본 연구결과와는 3배 이상 높았다 (Liu et al., 2011).

또한, 본 연구의 NTM 중 비교적 임상에서 분리율이 높은 균종별 항생제 내성에서 *M. abscessus*는 10균주 중 9균주가 사용 항생제 10종류의 모두에 내성을 보였고, *M. avium*은 43균주 중에서 6종류 이상의 항생제에 내성을 보이는 경우가 모두였고 10종류에 내성을 보이는 경우는 5균주 등으로 보아 분리균주 모두가 내성을 보이는 것은 이미 임상현장에서 사용되고 있었던 10종의 항생제가 부적합하거나 MTB와는 달리 별도의 기준을 마련하여야 하는 직면에 처하게 되는 상황으로 2008년 미국 국제진단검사표준 및 임상검사실 품질협회 (Clinical and Laboratory Standard Institute, CLSI)에서는 새로운 NTM의 균종에 따라 Amikacin, Cefoxitin, Ciprofloxacin, Clarithromycin, Doxycycline, Imipenem, Moxifloxacin, Rifampin, Trimethoprim-Sulfamethoxazole, Tobramycin, Ethambutol, Linezolid 종류의 항생제를 사용하도록 권고하고 있다 (CLSI Document M24-A. 2003; M48-A. 2008; Gail et al., 2011). 결국 MTB와 NTM의 정확한 동정은 결핵의 치료 방향설정 및 관리에 매우 중요한 지표가 될 수 있다.

본 연구에서도 분리된 *Mycobacterium* 속 중에서 NTM의 분리가 10% 이상을 보이고 있으므로 염색에서 양성 이 나왔다고 해서 모두 MTB에 의한 결핵이 아닐 수 있으므로 정확한 균 동정 및 감수성검사 결과에 따라 항생제를 정확하게 선택하는 것이 환자의 치료에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 그러므로 대표적인 호흡기 감염을 일으키는 결핵의 주원인 세균인 MTB을 NTM과 정확하게 동정하는 것은 필수적인 것으로 일차적으로 항생제 내성획득율을 줄이고 보다 효율적인 결핵 환자를 관리할 수 있을 것으로 기대된다.

다만, 본 연구의 한계는 지역적 편중성, 환자가 본 병원에 내원하기 전에 다른 병원의 진료유무와 처방 내역에 대한 후향적 조사를 할 수 없다는 점, 배양검사와 검체를 채취한 부위에 대한 정확한 균 동정과 내성 정도의 확인의 불일치성 등이 있다. 그러나 본 연구는 민간 의료기관의 정확한 자료가 없는 이 실정에서 6년 6개월간이라는 일정한 기간을 설정하여 시행한 구체적인 결핵검사 결과를 대상으로 했다는 점에 의의를 두고 있다.

REFERENCES

American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification

of tuberculosis in adults and children. Am J Respir Crit Care Med. 2000. 161: 1376-1395.

Anargyros P, Astill DS, Lim IS. Comparison of improved BACTEC and Lowenstein-Jensen media for culture of mycobacteria from clinical specimens. J Clin Microbiol. 1990. 28: 1288-1291.

Averg JA, Yajko DM, Jacobson MA. Eradication of AIDS-related disseminated *Mycobacterium avium* complex infection after 12 months of antimycobacterial therapy combined with highly active antiretroviral therapy. J Infect Dis. 1998. 178: 1446-1449.

Bai GH, Park KS, Kim SJ. Clinically isolated mycobacteria other than *Mycobacterium tuberculosis* from 1980 to 1990 in Korea. J Korean Microbiol. 1993. 28: 1-5.

Canetti G, Fox W, Khomenko A, Mahler HT, Menon NK, Mitchison DA, Rist N, Smelev NA. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. Bull World Health Organ. 1969. 41: 21-43.

Centers for disease Control and Prevention. Use of fluorochrome staining for detecting acid-fast Mycobacteria, 2000. Department of health and human services. Centers for disease control and prevention. Atlanta, GA. 2000. 1-17.

Centers for disease Control and Prevention. Update: Nucleic acid amplification tests for tuberculosis. MMWR 2000. 49: 593-602.

Centers for disease Control and Prevention. Updated guideline for Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculosis. MMWR 2009. 58: 7-10.

Chang CH, Park TS, Kim MN, Lee NY, Lee HJ, Suh JT. Survey on Changes in Mycobacterial Testing Practices in Korean Laboratories. Korean J Clin Microbiol. 2001. 4: 108-114.

Choi SH, Sun WS, Kim MN, Shim TS. The clinical characters, diagnosis, treatment, and outcomes of patients with tuberculosis at a private university hospital in Korea. J Korean Acad Fam Med. 2005. 26: 481-489.

Clark G. Staining procedure. 1973. p225. William and Wilkins Co., Baltimore. 3rd ed.

Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria. Approved Guideline, CLSI document M48-A. Wayne PA. 2008.

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: 2969-2973.
- Foo H, van Hal S, Jelfs P, Gilbert GL. Antimicrobial resistance in non-tuberculous mycobacteria in New South Wales, 2002-2008. *Int J Antimicrob Agents*. 2009. 34: 182-184.
- Gail LW, Barbara ABE, Edward PD, Geraldine SH, Leonid H, Gaby EP, John CR, Richard JW, Nancy GW, Frank GW. Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes. Approved Standard, M24-A2E. 2011. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011. p76.
- Gordin F, Slutkin G. The validity of acid-fast smears in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Arch Pathol Lab Med*. 1990. 114: 1025-1027.
- Griffith, DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, Holland SM, Horsburgh R, Huitt G, Iademarco MF, Iseman M, Olivier K, Ruoss S, von Reyn CF, Wallace RJ, Winthrop K. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007. 175: 367-416.
- Haverkort F. National atypical mycobacteria survey, 2000. *Commun Dis Intell*. 2003. 27: 180-189.
- Heifets L. Qualitative and quantitative drug-susceptibility tests in mycobacteriology. *Am Rev Respir Dis*. 1988. 137: 1217-1222.
- Hong YP, Kim SJ, Kwon DW, Chang SC, Lew WJ, Han YC. The sixth nationwide tuberculosis prevalence survey in Korea, 1990. *Int J Tubercule Lung Dis*. 1993. 74: 323-331.
- Hong YP, Kim SJ, Lew WJ, Lee FK, Han YC. The seventh nationwide tuberculosis prevalence survey in Korea, 1995. *Int J Tubercule Lung Dis*. 1998. 2: 27-36.
- Ji YY, 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 Lab Med*. 2000. 20: 384-391.
- Jun HJ, Jeon KN, Um SW, Kwon OJ, Lee NY, Koh WJ. Nontuberculous mycobacteria isolated during the treatment of pulmonary tuberculosis. *Respiratory Medicine*. 2009. 103: 1936-1940.
- Jung GW, Jeong KO, Min YC, Man EG, Yeong SJ, Pyo JM, Jung KH, Han SW, Park SY, Lee NY. Recovery rate of non-tuberculous mycobacteria from acid-fast-bacilli smear-positive sputum specimens. *Tuber Respir Dis*. 2003. 54: 22-32.
- Kent PT, Kubica GP. Public health mycobacteriology: a Guide for the level III laboratory. 1985. 21: 654-668. Center for Disease Control, Atlanta.
- Kevy H, Feldman C, Sacho H, van der Meulen H, Kallenbach J, Koornhof H. A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Chest*. 1989. 95: 1193-1197.
- Kim HJ, Oh H, Lee WY, Kim SJ. Case Report: Report of a case of pulmonary mycobacteriosis caused by *Mycobacterium chelonae* subsp. abscessus. *Tuber Respir Dis*. 1985. 32: 54-57.
- Kim MN, Lee SH, Yang SE, Pai CH. Mycobacterial testing in hospital laboratories in Korea: Results of a survey of 40 university or tertiary-care hospitals. *Korean J Clin Pathol*. 1999. 19: 86-91.
- Kim SJ. Drug Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Korea. *Korean Chemothera*. 1993. 11: 34-39.
- Koh HK, Kang YJ, Lim SY, Shin JW, Choi JS, Yoo JH, Kim JY, Park W, Choi BW, Hue SH. Predictors of drug-resistance in patients with pulmonary tuberculosis. *Tuber Respir Dis*. 1999. 46: 311-316.
- Koh WJ, Kwon OJ, Yu CM. Recovery rate of nontuberculous mycobacteria from acid-fast-bacilli smear positive sputum specimens. *Tuber Respir Dis*. 2003. 54: 22-32.
- Koh WJ, Kwon OJ, Jeon K, Kim TS, Lee KS, Park YK, Bai GH. Clinical significance of nontuberculous mycobacteria isolated from respiratory specimens in Korea. *Chest*. 2006. 129: 341-348.
- Korean Center for Disease Control and Prevention. Assessment of tuberculosis control work in Korea, 2003. Korean Center for Disease Control and Prevention. 2003.
- Korean Center for Disease Control and Prevention. Guidelines for the control of tuberculosis, 2004. Korean Center for Disease Control and Prevention. 2004.
- Kurashima A. Japanese new guidelines for nontuberculous mycobacterial pulmonary disease. *Kekkaku*. 2010. 85: 87-93.
- Lamden K, Watson JM, Knerer G, Ryan MJ, Jenkins PA. Opportunist mycobacteria in England and Wales: 1982 to 1994. *Commun Dis Rep CDR Rev*. 1996. 6: 147-151.
- Lee HW, Kim MN, Sim TS, Bae GH, Bae JH. Nontuberculous mycobacterial pulmonary infection in immunocompetent patients. *Tuber Respir Dis*. 2002. 53: 173-182.
- Lew WJ, Ahn DI, Yoon YJ, Cho JS, Kwon DW, Kim SJ, Hong YP. Clinical Experience on Mycobacterial Diseases Other Than tuberculosis. *Tuber Respir Dis*. 1992. 39: 425-432.
- Lew WJ. Tuberculosis situation in Korea. *Tuber Respir Dis*. 1999. 46: 301-310.
- Liu CH, Li HM, Li L, Hu YL, Wang Q, Yang N, Wang S, Zhu B. Anti-tuberculosis drug resistance patterns and trends in a tuberculosis referral hospital, 1997-2009. *Epidemiol Infect*.

2011. 139: 1909-1918.
- Lopez AD, Murray CC. The Global Burden of Disease, 1990-2020. *Nat. Med.* 1998. 4: 1241-1243.
- Marras TK, Daley CL. Epidemiology of human pulmonary infection with nontuberculous mycobacteria. *Clin Chest Med.* 2002. 23: 553-567.
- Matthaei E. Simplified Fluorescence Microscopy of Tubercle Bacilli. *J Gen Microbiol.* 1950. 4: 393-398.
- Moore JE, Kruijshaar ME, Ormerod LP, Drobniewski F, Abubakar I. Increasing reports of non-tuberculous mycobacteria in England, Wales and Northern Ireland, 1995-2006. *BMC Public Health.* 2010. 10: 1471-2458.
- Nah J, Huh JW, Lee SH, Kim BC, Koh YS, Pai CH. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex using a gene probe method. *Korean J Lab Med.* 1997. 17: 71-78.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Susceptibility testing of mycobacteria, nocardiae, and other aerobic actinomycetes; approved standard. Document M24-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA. 2003. 23: 25-32.
- Nowak R. WHO calls for action against TB. *Science.* 1995. 267: 17-63.
- Ogawa T, Ueno T, Takakura S. A two-layer medium for quantitative culture of tubercle bacilli. First report: Experiments to establish a two-layer medium. *Kekkaku.* 1960. 35: 187-192.
- Park HS, Jhin DI, Jeong YS, Kwon OH. Effect of N-acetyl-L-cysteine decontamination on the contamination rate of medium and culture positive rate on *Mycobacterium*. *Korean Qual Assur Clin Lab.* 1991. 13: 223-228.
- Park S, Kim S, Park EM, Kim H, Kwon OJ, Chang CL, Lew WJ, Park YK, Koh WJ. In Vitro Antimicrobial Susceptibility of *Mycobacterium abscessus* in Korea. *J Korean Med Sci.* 2008. 23: 49-52.
- Robert GD, Koneman EW, Kim YK. *Mycobacterium*. In Balows A, Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HD, and Shadomy HJ, Manual of Clinical Microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington DC. 1991. 304-339.
- Schluger NW. Changing approaches to the diagnosis of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001. 164: 2020-2024.
- Scientific Committee in Korean Academy of Tuberculosis and Respiratory Diseases. National survey of mycobacterial diseases other than tuberculosis in Korea. *Tuberc Respir Dis.* 1995. 42: 277-294.
- Son CH, Yang DG, No MS, Jeong JS, Lee H, Lee GN, Choe PJ, Lee SG, Jang GY, Choe IS. Prevalence of drug-resistances in patients with pulmonary tuberculosis and its association with clinical characteristics at one tertiary R hospital in Pusan, Korea. *Tuber Respir Dis.* 2001. 51: 416-425.
- Stone BL, Burman WJ, Hildred MV, Jarboe EA, Reves RR, Wilson ML. The diagnostic yield of acid-fast-bacillus smear-positive sputum specimens. *J Clin Microbiol.* 1997. 35: 1030-1031.
- Thomson RM. Changing epidemiology of pulmonary non-tuberculous mycobacteria infections. *Emerg Infect Dis.* 2010. 16: 1576-1583.
- Truant JP, Brett WA, Thomas W Jr. Fluorescence microscopy of tubercle bacilli stained with auramine and rhodamine. *Henry Ford Hosp Med Bull.* 1962. 10: 287-296.
- van Ingena J, van der Laanb T, Dekhuijzena R, Boeree M, van Soolingen D. In vitro drug susceptibility of 2275 clinical non-tuberculous *Mycobacterium* isolates of 49 species in The Netherlands. *Int J Antimicrob Agents.* 2010. 35: 169-173.
- Wang HX, Yue J, Han M, Yang JH, Gao RL, Jing LJ, Yang SS, Zhao YL. Nontuberculous mycobacteria: susceptibility pattern and prevalence rate in Shanghai from 2005 to 2008. *Chin Med J.* 2010. 123: 184-187.
- WHO. The world health report 2006-Working together for health. World Health Organization. Geneva. 2006. 169-177.
- Wood GL, Lipsky BA, Gates J, Tenover FC. Factors affecting the clinical value of microscopy for acid-fast bacilli. *Rev Infect Dis.* 1984. 6: 214-222.
- Wright PW, Wallace RJ Jr, Wright NW, Brown BA, Griffith DE. Sensitivity of fluorochrome microscopy for detection of *Mycobacterium tuberculosis* versus nontuberculosis mycobacteria. *J Clin. Microbiol.* 1998. 36: 1046-1049.
- Yajko DM, Nassos PS, Sanders CA, Madei JJ, Hadley WK. High predictive value of the acid-fast smear for *Mycobacterium tuberculosis* despite the high prevalence of *Mycobacterium avium* complex in respiratory specimens. *Clin Infect Dis.* 1994. 19: 334-336.