

Distribution and Clinical Significance of Nontuberculous Mycobacteria Identified by High Performance Liquid Chromatography in Clinical Specimens

Joseph Jeong, Sung-Ryul Kim, Chulhun L. Chang¹, Seon Ho Lee

Department of Laboratory Medicine, Ulsan University Hospital, Ulsan;

¹Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Pusan National University, Busan, Korea

Background: Infections caused by nontuberculous mycobacteria (NTM) are significantly increasing over the last decade. Due to the uncertainty in the clinical significance of these organisms, their effective diagnosis and treatment has been challenging. The purpose of this study was to investigate the distribution and clinical significance of NTM in clinical specimens.

Methods: Acid-fast culture positive 3,107 clinical specimens were identified by mycolic acid analysis using high performance liquid chromatography (HPLC.) The HPLC patterns of 384 NTM strains were compared with those of standard mycobacterium species. Clinical significance of NTM was investigated by a retrospective study including acid-fast stain and culture, medical history, symptoms and signs, radiological and other laboratory findings, pathologic findings, response to treatment, and follow-up study, and was confirmed according to the guideline of American Thoracic Society.

Results: Among the 3,107 *Mycobacterium*-positive specimens, 384 (12.4%) were found to be positive for NTM. Of these, 367 (95.6%) were successfully identified by HPLC as 19 different species, each of which comprising 0.3% to 15.9% of the total NTM. Studies on the pathogenic role of NTM showed that 0~79.6% of each species or 0~100% of isolates from each specimen could be considered clinically significant.

Conclusion: HPLC method is highly discriminative for the identification of NTM in clinical specimens. When NTM is isolated from clinical specimens in the Ulsan area, the findings from this study could serve as a database on which to determine its clinical significance depending on species type and also specimen type. (Korean J Clin Microbiol 2008;11:34-42)

Key Words: *Mycobacterium*, Nontuberculous mycobacteria, HPLC, Mycobacterial identification, Pathogenic rate

서 론

Nontuberculous mycobacteria (NTM)는 atypical mycobacteria, mycobacteria other than tuberculosis 또는 environmental mycobacteria로도 알려져 있으며[1], 인간과 동물 및 조류의 기회 감염균이다[2].

NTM에 의한 인체 감염증의 증가 추세는 전 세계적으로 중요한 관심이 되고 있으며, 개발도상국과 선진국 모두에서 증가하고 있다[3]. 후천성면역결핍증의 증가와 면역억제 요법의 일반화에 따라 지난 20년간 NTM에 의한 감염증은 미국과 유럽의 경우 25~50%까지 증가하였으며[3-5], 2000년대 국내조사들에서는 10~22%로 증가하였다[6-9]. 또한 최근에는 면역억

제 환자뿐만 아니라 정상 면역능을 가진 사람에서도 *M. avium complex*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum*, *M. malmoense*, *M. genavence*, *M. ulcerans*, *M. marinum* 및 *M. haemophilum* 등의 검출 빈도가 증가하고 있다 [2,5,10-13].

NTM은 생활 환경에 널리 분포하고 있어서 임상 검체에서 분리되어도 병원성을 판단하기 힘들며[3,14]. 동시에 일반적으로 결핵균에 유효하다고 알려진 항결핵제들이 NTM에는 효과가 없는 경우가 많고, NTM의 종류에 따라 치료가 다른 경우가 많으므로[5,15-16], 임상 검체에서 NTM의 균종 분포와 병원성에 대한 조사는 환자의 적절한 진단과 치료 방침 수립에 대단히 중요하다.

그러나 현재까지 임상 검체에서 NTM의 균종 분포와 병원성에 대한 대규모 조사는 매우 드물다. 우리나라의 경우에도 대한결핵협회와 3차 의료기관을 포함한 대부분의 의료기관에서 NTM의 균종 감별을 위해 전통적인 생화학법이나 단순중합 효소연쇄반응법, 유전자소식자법 등을 많이 사용하기 때문에

Received 20 October, 2007, Accepted 26 February, 2008

Correspondence: Seon Ho Lee, Department of Laboratory Medicine, Ulsan University Hospital, Jeonha-dong, Dong-gu, Ulsan 682-714, Korea. (Tel) 82-52-250-7273, (Fax) 82-52-250-8269, (E-mail) joeseph@uuh.ulsan.kr, 690519@hitel.net

[4,17-19], 다양한 NTM을 모두 검출할 수 없고, 이로 인해 NTM의 균종 분포와 병원성률에 대한 장기간의 조사는 찾아보기 힘들다.

이에 본 연구에서는 균종 감별에 빠르고 정확하다고 알려진 high performance liquid chromatography (HPLC)법으로 울산 지역 임상 검체에서 검출된 NTM을 동정하여 균종 분포를 확인하고[9,20-24], 균종에 따른 병원성률을 조사하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2002년 1월부터 2006년 12월까지 5년간 울산대학교병원 진단검사의학과에 항산균 배양이 의뢰된 검체 중에서 수탁검사를 제외하고 초진이거나 최근 6개월간 동일 검체의 항산균 배양 검사에서 음성으로 판정되었던 환자의 초기 3회 항산균 배양 검사 결과로 제한하였다.

12,821명의 25,044검체를 항산균 배양의 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 권고안에 따라 고체 배지인 3% 오가와 배지(Eiken, Japan)와 액체 배지인 Mycobacteria Growth Indicator Tube (Becton Dickinson, Sparks, Md, USA)에 각각 접종하였다. 여기에서 1,342명의 3,107검체들이 두 배지 중 한 개 이상에서 항산균 배양 양성으로 확인되었다. 이들 중 집락의 육안적 성장, 광반응성, HPLC 동정법 등으로 NTM이 확인된 201명의 384검체(객담 244, 기관지 흡인액 29, 소변 25, 흉수액 23, 피부조직 22, 림프절 19, 농 9, 뇌척수액 6, 위장관 흡인액 3, 골수 3, 관절액 1)들을 대상으로 하였다.

2. 방법

1) NTM의 동정 및 균종 분포: 고체 및 액체 배지 중 한 개 이상의 배지에서 항산균 배양 양성으로 판정된 경우, mycobacteria의 균종 특이적 mycolic acid를 HPLC법으로 분석하여 얻은 패턴을 표준균주들의 패턴과 비교 후 동정하여 균종 분포를 조사하였다[22-24]. 표준균주들은 American Type Culture Collection (ATCC) 표준균주 28종과 Korean Type Culture Collection (KTCC) 표준균주 5종 등 총 33종을 사용하였다[9].

HPLC 분석에 사용된 구성물로 용제를 분출시키는 펌프와 기화시키는 분사기를 포함하는 본체는 Waters 2690 separation module (Waters, Milford, MA, USA)을, 분리를 위한 컬럼은 reverse phase analytical cartridge column, 3.9 × 75 mm, packed with 3 μm silica (Nova-Pak C18) 컬럼을, 검출을 위한 자외선 검출기는 photodiode array detector (Waters, Milford, MA, USA)를 이용하였다. 내부 고분자량 및 저분자량 표준물질로는 각각 *p*-bromophenyl ester와 6,7-dimethoxy-4-coumarinylmethyl ester를 사용하였다.

분석 과정은 먼저 methanolic potassium hydroxide를 가하여

mycobacteria 세포를 분해하여 비누화시키고, 클로로포름을 용매로 지방산을 추출하였다. 추출한 성분에 potassium bicarbonate를 가하여 기화시키고, 지방산의 파생물을 정제한 후 컬럼을 통과시켜 자외선 검출기로 HPLC 패턴을 검출하였다. 검출된 HPLC 패턴은 모두 저분자량과 고분자량 표준물질의 peak들 사이에 나타난 특징적인 cluster 패턴을 이용하여 분류하였다. 각 cluster 그룹에 속하는 균주는 각각의 cluster내의 peak 수, peak 유지 시간 및 peak 높이 비율을 기준으로 표준균주들의 HPLC 패턴과 비교하여 최종 동정하고 균종 분포를 조사하였다.

표준균주에 의한 분류에서 single-cluster 그룹에는 *M. asiaticum*, *M. bovis*, *M. gastri*, *M. goodii*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. szulgai*, *M. triviale* 및 *M. tuberculosis complex* 등의 9종이, double-cluster 그룹에는 *M. abscessus*, *M. acapulcensis*, *M. agri*, *M. avium*, *M. celatum*, *M. chelonae*, *M. diernhoferi*, *M. flavescens*, *M. fortuitum*, *M. gilvum*, *M. intracellulare*, *M. mucogenicum*, *M. nonchromogenicum*, *M. peregrinum*, *M. phlei*, *M. porcinum*, *M. scrofulaceum*, *M. smegmatis*, *M. terrae* 및 *M. xenopi* 등의 20종이, triple-cluster 그룹에는 *M. austroafricanum*, *M. pulveris*, *M. simiae* 및 *M. vaccae* 등의 4종이 각각 포함되었다. 네 개 이상의 peak cluster를 가지는 multi-cluster 그룹은 현재까지 병원성 유무가 확인되지 않은 그룹에 속하여 제외하였다[21-22]. HPLC 패턴이 표준균주 33종의 어느 것과도 일치하지 않는 경우 unclassified NTM으로 분류하여 균종 분포에 포함시켰다.

2) NTM의 병원성 판정: 동정된 NTM의 병원성 판정을 위해 항산균 염색과 배양 결과 외에 환자의 병력, 징후 및 증상, 방사선학적 소견, 다른 검사실 소견, 병리조직학적 소견, 치료에 대한 반응, 경과 관찰 등을 후향적으로 조사하여 임상적인 감염증으로 판정된 경우를 골라내었다. 이 중 1997년 American Thoracic Society (ATS)에서 발표한 지침에 따라 세밀한 임상적 및 실험적인 검사로도 다른 원인이 확실하지 않으면서 단순 흉부 방사선 검사상 침윤성 병변이 보이는 경우, 같은 종류의 NTM이 반복해서 3회 이상 검출되면서 적어도 1회 이상은 군집락이 5개 이상으로 배양되는 경우, 또는 농양, 뇌척수액, 조직 생검 등 무균적 상태로 채취한 검체에서 NTM이 배양된 경우에 한하여 병원성이 있는 것으로 판정하였다[25].

결 과

1. HPLC법에 의한 NTM의 동정

Mycobacteria 표준균주 33종과 NTM으로 확인된 384검체(환자수로는 201명)의 HPLC 검사에서 mycolic acid peak들이 모두 저분자량과 고분자량 표준물질의 peak들 사이에 특징적인 single, double 및 triple-cluster로 나타났다.

384검체 중 367검체(95.6%)의 HPLC 패턴은 표준균주 33종 중 어느 한 패턴과 일치하여 해당 표준균주의 균종으로 동정하였고, 균 집락을 확인하여 최종 동정하였다. 나머지 17검체(4.4%)의 HPLC 패턴은 표준균주들과 일치하는 패턴이 없어 unclassified NTM으로 분류하였다.

임상 검체에서 분리된 NTM을 HPLC법을 이용하여 동정하였을 때 unclassified NTM을 제외하고 19종의 NTM이 동정되었으며, single-cluster 그룹에는 *M. asiaticum*, *M. gordonae*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. szulgai* 및 *M. triviale* 등 6종이, double-cluster 그룹에는 *M. abscessus*, *M. acapulensis*, *M. avium*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. intracellulare*, *M. mucogenicum*, *M. nonchromogenicum*, *M. peregrinum*, *M. scrofulaceum*, *M. terrae* 및 *M. xenopi* 등 12종이, triple-cluster 그룹에는 *M. simiae* 1종이 각각 포함되었고, multi-cluster 그룹은 검출되지 않았다.

2. 임상검체에서 검출된 NTM의 균종분포

항산균 배양 양성인 1,342명의 3,107검체 중 NTM으로 확인된 것은 201명의 384검체로 항산균 배양 양성 검체 중 NTM의 비율은 검체수로는 12.4%, 환자수로는 15.0%였다.

균종별로는 *M. kansasii* 61건(15.9%), *M. intracellulare* 49건(12.8%), *M. gordonae* 44건(11.5%), *M. avium* 38건(9.9%), *M. fortuitum* 34건(8.9%), *M. abscessus* 25건(6.5%), *M. peregrinum* 22건(5.7%), *M. szulgai* 19건(5.0%), *M. marinum* 14건(3.7%), *M. mucogenicum* 14건(3.7%), *M. xenopi* 10건(2.6%), *M. terrae* 8건(2.1%), *M. scrofulaceum* 7건(1.8%), *M. chelonae* 6건(1.6%), *M. triviale* 5건(1.3%), *M. simiae* 4건(1.0%), *M. acapulensis* 3건(0.8%), *M. asiaticum* 3건(0.8%), *M. nonchromogenicum* 1건(0.3%) 및 unclassified NTM 17건(4.4%)의 분포를 보였다(Table 1).

검체별로는 객담 244 (63.5%), 기관지 흡인액 29 (7.6%), 소변 25 (6.5%), 흉수액 23 (6.0%), 피부조직 22 (5.7%), 림프절 19 (5.0%), 농 9 (2.3%), 뇌척수액 6 (1.6%), 위장관 흡인액 3 (0.8%), 골수 3 (0.8%), 관절액 1 (0.3%)검체 등의 빈도순으로 NTM이 검출되었다. 객담, 기관지 흡인액, 흉수액을 포함하는 호흡기계 검체가 296검체(77.1%)였고, 소변, 피부조직, 림프절, 농, 뇌척수액, 위장관 흡인액, 골수, 관절액 등의 비호흡기계 검체가 88검체(22.9%)였다.

5% 이상 검출된 *M. kansasii*, *M. intracellulare*, *M. gordonae*, *M. avium*, *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. peregrinum* 및 *M. szulgai*를 1년 단위로 분석했을 때 각 균종별 검출률은 차이가 없었다(Table 2).

3. 임상검체에서 검출된 NTM의 병원성을 조사

임상 검체에서 NTM이 검출된 경우, 균종 및 검체 종류에 따

Table 2. Annual distribution of eight nontuberculous *Mycobacterium* species, each comprising more than 5% of the total

<i>Mycobacterium</i> species	Year					Total
	2002	2003	2004	2005	2006	
<i>M. kansasii</i>	12	12	14	11	12	61
<i>M. intracellulare</i>	9	10	9	9	12	49
<i>M. gordonae</i>	10	9	7	10	8	44
<i>M. avium</i>	7	8	8	9	7	38
<i>M. fortuitum</i>	6	6	8	7	7	34
<i>M. abscessus</i>	5	4	5	5	6	25
<i>M. peregrinum</i>	3	5	4	4	6	22
<i>M. szulgai</i>	5	4	2	4	4	19
Total	57	58	57	59	62	293

라 감염을 유발한 병원성률이 달랐다(Table 3).

균종별 병원성률은 *M. kansasii* 62.3%, *M. intracellulare* 79.6%, *M. gordonae* 18.2%, *M. avium* 63.2%, *M. fortuitum* 32.4%, *M. abscessus* 56.0%, *M. peregrinum* 31.8%, *M. szulgai* 47.4%, *M. marinum* 71.4%, *M. mucogenicum* 35.7%, *M. xenopi* 40.0%, *M. terrae* 37.5%, *M. scrofulaceum* 14.3%, *M. chelonae* 33.3%, *M. triviale* 40.0%, *M. simiae* 25.0%, *M. acapulensis* 0%, *M. asiaticum* 33.3%, *M. nonchromogenicum* 0% 및 unclassified NTM 17.7%의 분포를 보였다.

검체별 병원성률은 객담 40.2%, 기관지 흡인액 75.9%, 소변 0%, 흉수액 78.3%, 피부조직 63.6%, 림프절 89.5%, 농 44.4%, 뇌척수액 100%, 위장관 흡인액 0%, 골수 100% 및 관절액 0%였다. 특히, 소변 검체의 경우 *M. gordonae* 15건, *M. fortuitum* 2건, *M. peregrinum* 2건, *M. mucogenicum* 2건, *M. simiae* 1건, *M. acapulensis* 1건, *M. asiaticum* 1건 및 unclassified NTM 1건 등 총 25건이, 위장관 흡인액의 경우 *M. gordonae* 1건, *M. fortuitum* 1건 및 unclassified NTM 1건 등 총 3건이, 관절액의 경우 *M. gordonae* 1건이 검출되었으나 감염을 유발한 것으로 판정된 균주는 없었다.

고 찰

NTM은 현재까지 91종 이상이 알려져 있으며[26], 물, 토양, 공기 및 환자 등에서 검출된 NTM 중 현재까지 알려진 균종에 포함되지 않는 경우가 30%에까지 이른다고 알려져 있다[27].

현재까지 NTM의 균종 분포를 확인하기 위한 검출 방법으로 널리 이용되고 있는 전통적인 생화학적 방법은 민감도가 낮거나 검출에 오랜 시간이 걸리고, 균종 단계까지 동정하기 어렵다. 또한 NTM의 균종 감별에 빠르고 정확하다고 알려진 중합효소연쇄반응법, 유전자소식자법 등을 많이 사용하고 있으나, 이 방법들은 오염에 의한 위양성률이 높거나, 다양한 NTM을

모두 검출할 수 없거나, 각 균종별로 검사를 시행해야 하는 단점들이 있다[6,8,28-32]. 반면, HPLC를 이용한 결핵균 및 NTM 동정법은 균종 특이적 mycolic acid를 분석하여 얻은 HPLC 패턴을 표준균주들의 HPLC 패턴과 대조하여 동정하는 방법으로 상기의 단점들이 상당 부분 극복된 정확한 방법으로 알려져 있다[9,21-24]. 그러나 HPLC 장비가 비교적 고가이며 숙련된 검사자가 시행해야 하므로, 현재 검사실에서 HPLC 장비를 이용하고 있어야만 NTM 동정에 쉽게 적용할 수 있는 단점도 있다.

본 연구에서는 NTM의 균종 분포를 확인하기 위해 33종의 mycobacteria 표준균주를 이용한 HPLC법으로 동정하였는데, 384검체 중 367검체의 HPLC 패턴이 표준균주 33종 중 어느 한 패턴과 일치하여 95.6%의 동정 성공률을 보였고, 이는 rRNA, hsp65 및 rpoB를 이용한 신 등[6]의 연구에서의 65%, PCR을 이용한 이 등[33]의 연구에서의 87% 보다 높았으며, PCR-RFLP법을 이용한 박 등[31]의 연구에서의 98.3% 보다는 낮았다.

임상 검체에서 분리된 NTM은 unclassified NTM을 제외하고 19종이 동정되었고, single-cluster 그룹에는 6종이, double-cluster 그룹에는 12종이, triple-cluster 그룹에는 1종이 각각 포함되었고, multi-cluster 그룹은 검출되지 않았다.

1960년대 NTM의 국내 빈도[34-35]는 배양 양성 검체 중 1% 미만으로, 1970년 김 등[36]의 연구에는 객담에서 분리한 NTM은 2.7%로 보고되어 있는데, 본 연구에서는 NTM이 384건(201명)으로 배양 양성 검체의 12.4%로 나타나 70년대 이후 국내에서도 NTM의 검출률이 대대히 증가한 것을 확인할 수 있었다. 또한 최근의 NTM 검출률 조사를 살펴보면 2002년 서울아산병원의 21.9%[7], 2006년 서울대병원의 21.5%[6] 보다는 낮았으며, 2003년 삼성서울병원의 10.3%[8] 보다는 높아 환자 혹은 연구 시기 등에 따라 차이가 있었다.

또한 임상 검체에서 분리되는 NTM의 종별 빈도와 균종 분포에 관한 보고도 많지 않은데, 1995년 대한결핵 및 호흡기학회에서 조사한 NTM 전국 실태조사[4]에서는 1981년부터 1994년까지 14년간 대한결핵협회 결핵연구원에 의뢰된 검체 중 총 158검체에서 NTM을 검출하였는데, 한 검체에서 두 균주의 NTM이 동시 배양되어 총 159건의 NTM을 전통적인 생화학적 방법으로 동정하였다. 이 조사에서 NTM의 균주 분포는 *M. avium-intracellulare* 104건(65.2%), *M. fortuitum* 20건(12.7%), *M. chelonae* 15건(9.5%), *M. gordonae* 7건(4.4%), *M. terrae* 5건(3.2%), *M. scrofulaceum* 3건(1.9%), *M. kansasii* 2건(1.3%), *M. szulgai* 2건(1.3%), *M. avium-intracellulare*와 *terrae*가 동시에 분리된 1건(0.6%)이었다. 이에 반해 본 연구에서는 2002년 1월부터 2006년 12월까지 5년간 울산 지역에서 검출된 NTM이 384건으로 1981년부터 14년간 전국적으로 검출한 159건의 2.5배에 육박하는 정도의 많은 검출 건수를 확인할 수 있었다.

1995년 대한결핵 및 호흡기학회에서 조사한 NTM 전국 실태

조사[4]의 검출된 균종은 총 8종임에 반해 본 연구의 임상검체에서 검출된 NTM의 종류는 총 19종으로 증가하였는데, 이는 다양한 NTM 감염증이 증가 추세에 있기 때문으로 판단된다. 그러나 본 연구에서 5% 이상 검출된 *M. kansasii*, *M. intracellulare*, *M. gordonae*, *M. avium*, *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. peregrinum* 및 *M. szulgai*를 1년 단위로 분석했을 때 각 균종별 검출률은 유의한 차이가 없어 NTM의 증가는 outbreak 보다는 지속적인 감염증의 증가 추세 때문으로 판단된다.

또한 본 연구의 균종 분포에서는 *M. avium*과 *M. intracellulare*를 포함하는 *M. avium* complex의 경우 검출 빈도는 22.7%로 가장 높지만 1995년 대한결핵 및 호흡기학회에서 조사한 NTM 전국 실태조사[4]에서의 65.2%에 비해 상대적으로 감소하였고, *M. fortuitum*과 *M. chelonae* 등의 경우에도 본 연구에서의 빈도는 각각 8.9%, 1.6%로 1995년 대한결핵 및 호흡기학회에서 조사한 NTM 전국 실태조사[4]의 12.7%, 9.5%에 비해 상대적으로 감소하였다. 반면 1995년 NTM 전국 실태조사[4]와 비교해 *M. kansasii*는 1.3%에서 15.9%로, *M. gordonae*는 4.4%에서 11.5%로, *M. abscessus*는 0%에서 6.5%로, *M. peregrinum*은 0%에서 5.7%로, *M. szulgai*는 1.3%에서 5.0%로, *M. marinum*과 *M. mucogenicum*은 0%에서 3.7%로, *M. xenopi*는 0%에서 2.6%로 증가하였다. 2006년 고 등[37]의 연구에서는 NTM 폐질환자의 원인균은 *M. avium* complex (48%)와 *M. abscessus* (33%)가 가장 많은 반면, 본 연구에서는 *M. kansasii* 증가가 특징적인데, 이는 본 연구에서 호흡기 및 비호흡기의 모든 검체를 대상으로 검사하였고, NTM의 지역적인 분포 특성 등이 원인으로 판단된다[38]. 또한 이 증감 추세는 미국의 질병관리센터에서 1993년부터 1996년까지 조사한 NTM 증감 추세[39]와 유사하며, 이는 세계적으로 다양한 NTM 감염증이 증가 추세에 있기 때문인 것으로 판단된다.

본 연구에서의 NTM의 검체별 빈도는 객담 244 (63.5%), 기관지 흡인액 29 (7.6%), 소변 25 (6.5%), 흉수액 23 (6.0%), 피부조직 22 (5.7%), 림프절 19 (5.0%), 농 9 (2.3%), 뇌척수액 6 (1.6%), 위장관 흡인액 3 (0.8%), 골수 3 (0.8%), 관절액 1 (0.3%)검체 등의 순으로 나타났다. 객담, 기관지 흡인액, 흉수액을 포함하는 호흡기계 검체에서 296검체(77.1%)가 검출되어 NTM도 결핵과 같이 호흡기계에서 가장 많이 검출되었고, 비호흡기계에서는 소변, 피부조직, 림프절, 농, 뇌척수액, 위장관 흡인액, 골수, 관절액 등의 다양한 검체에서 검출되었다.

임상검체에서 검출된 NTM의 병원성률은 조사 기간과 지역에 따라 다양하며, 일반적으로 약 30%로 알려져 있는데, 본 연구에서는 균종 및 검체 종류에 따라 다양한 병원성률을 보였다. 임상 검체에서 검출된 384검체의 NTM 중 182검체가 병원성 균주로 판정되어 NTM의 총 병원성률은 47.4%였다. 이는 2003년 고 등[8]이 2002년 6개월간 163명의 환자를 대상으로 한 조사의 25.9%보다 현저히 높으며, 1987년 O'Brien 등[28]이

미국 국내 조사로 시행되어 10,161건의 NTM 분석을 통해 발표한 40%와 비슷하거나 높은 병원성률이었다. 본 연구에서는 2002년부터 5년간의 검체를 대상으로 하였기 때문에 병원성 판정에 1997년 ATS 기준을 적용하였는데, 배양 횟수가 3회 이상에서 2회 이상으로 수정된 2007년 기준을 적용하면 병원성률이 더 높아질 것으로 판단된다[40].

균종별로 병원성률을 분석하면 *M. intracellulare* 79.6%, *M. marinum* 71.4%, *M. avium* 63.2%, *M. kansasii* 62.3%, *M. abscessus* 56%의 순으로 50% 이상의 병원성률을 보였고, *M. szlugai* 47.4%, *M. xenopi* 40%, *M. triviale* 40%, *M. terrae* 37.5%, *M. mucogenicum* 35.7%, *M. chelonae* 33.3%, *M. asiaticum* 33.3%, *M. fortuitum* 32.3%, *M. peregrinum* 31.8%의 순으로 30~50%의 병원성률을 보였다. 30% 이하의 병원성률을 보인 균종은 *M. simiae* 25%, *M. gordonae* 18.2%, *M. scrofulaceum* 14.3%의 순이었다. Unclassified NTM의 경우에는 17.7%의 병원성률을 보였고, *M. acapulensis*와 *M. nonchromogenicum*은 모두 0%의 병원성률을 보였다.

2003년 고 등[8]의 조사에서는 *M. intracellulare* 64%, *M. kansasii* 50%, *M. abscessus* 46%, *M. avium* 25%, *M. chelonae* 25%의 순으로 병원성률이 높다고 보고하였는데, 검출된 NTM이 163검체에 불과하고 검출된 NTM의 종류가 적어 본 연구의 결과와는 차이를 보이는 것으로 판단된다. 또한 1987년 O'Brien 등[28]이 미국에서 NTM의 병원성률은 *M. marinum* 88%, *M. kansasii* 75%, *M. szlugai* 57%, *M. avium* complex 47%, *M. abscessus* 56%, *M. xenopi* 25%, *M. scrofulaceum* 22%, *M. simiae* 21%, *M. fortuitum* 18%의 순이라고 보고한 것과 비교하면 국가별로도 병원성률에 차이가 있음을 알 수 있다.

본 연구에서 검체별 병원성률은 뇌척수액과 골수에서 검출된 경우 100%의 병원성률을 보였고, 림프절 89.5%, 흉수액 78.3%, 기관지 흡인액 75.9%, 피부조직 63.6%, 농 44.4%, 객담 40.2%의 순으로 병원성률이 높았다. 객담, 기관지 흡인액, 흉수액을 포함하는 호흡기계 296검체 중에서 병원성으로 판정된 경우는 138검체로 병원성률은 46.6%였고, 비호흡기계에서는 소변, 피부조직, 림프절, 농, 뇌척수액, 위장관 흡인액, 골수, 관절액 등에서의 총 88검체 중 병원성으로 판정된 경우는 44검체로 병원성률은 50%였다. 특히 소변, 위장관 세척액 및 관절액에서는 총 29건이 검출되었으나 병원성으로 판정된 균주가 없었기 때문에 소변에서 NTM이 검출될 경우 병원성이 없는 것으로 판단되었다.

결론적으로 384건의 NTM을 HPLC법으로 동정하여 항산균 배양 양성 검체의 12.4%에 이르는 높은 빈도의 NTM 검출물을 확인하였고, 총 19종의 NTM가 0.3~15.9%의 분포로 검출되었고, 병원성률은 균종별로는 0~79.6%, 검체별로는 0~100%였다. 그러므로 NTM 감염증의 적절한 진단과 치료를 위해서는 변별력이 뛰어난 동정법을 이용하여야 할 것으로 생각되며, 울

산 지역 환자에서 NTM이 검출될 경우 본 연구의 균종 분포와 병원성률 자료가 진단 및 치료 방침 수립에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 울산대학교병원의 지원에 의하여 연구되었음(연구과제 07-019).

참 고 문 헌

- Dawson DJ. Mycobacterial terminology. J Clin Microbiol 2000; 38:3913.
- Primm TP, Lucero CA, Falkinham JO 3rd. Health impacts of environmental mycobacteria. Clin Microbiol Rev 2004;17:98-106.
- Falkinham JO 3rd. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. Clin Microbiol Rev 1996;9:177-215.
- 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: 277-94.
- Olivier KN. Nontuberculous mycobacterial pulmonary disease. Curr Opin Pulm Med 1998;4:148-53.
- Shin S, Kim EC, Yoon JH. Identification of nontuberculous mycobacteria by sequence analysis of the 16S ribosomal RNA, the heat-shock protein 65 and the RNA polymerase β -subunit genes. Korean J Lab Med 2006;26:153-60.
- Lee HW, Kim MN, Shim TS, Bai GH, Pai CH. Nontuberculous mycobacterial pulmonary infection in immunocompetent patients. Tuberc Respir Dis 2002;53:173-82.
- Koh WJ, Kwon OJ, Yu CM, Jeon KM, Suh GY, Chung MP, et al. Recovery rate of nontuberculous mycobacteria from acid-fast-bacilli smear-positive sputum specimen. Tuberc Respir Dis 2003;54:22-32.
- Jeong J, Lee SH, Jeong US, Chang CL, Kim SR. Identification of Mycobacteria using High Performance Liquid Chromatography in Clinical Specimens. Korean J Clin Microbiol 2004;7:148-55.
- Hoffner SE. Pulmonary infections caused by less frequently encountered slow-growing environmental mycobacteria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994;13:937-41.
- Prince DS, Peterson DD, Steiner RM, Gottlieb JE, Scott R, Israel HL, et al. Infection with *Mycobacterium avium* complex in patients without predisposing conditions. N Engl J Med 1989;321:863-8.
- Dobos KM, Quinn FD, Ashford DA, Horsburgh CR, King CH. Emergence of a unique group of necrotizing mycobacterial diseases. Emerg Infect Dis 1999;5:367-78.
- Inderlied CB, Kemper CA, Bermudez LE. The *Mycobacterium avium* complex. Clin Microbiol Rev 1993;6:266-310.
- Wolinsky E. Nontuberculous mycobacteria and associated diseases. Am Rev Respir Dis 1979;119:107-59.
- Wallace RJ Jr, O'Brien R, Glassroth J, Raleigh J, Dutt A. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. Am Rev Respir Dis 1990;142:940-53.
- Phillips MS and von Reyn CF. Nosocomial infections due to nontuberculous mycobacteria. Clin Infect Dis 2001;33:1363-74.
- Wallace RJ Jr, Brown BA, Griffith DE. Nosocomial outbreaks/pseudo-outbreaks caused by nontuberculous mycobacteria. Annu Rev Microbiol 1998;52:453-90.

18. Kim HJ, Kim YW, Han SK, Shim YS, Kim KY, Han YC. Application of Polymerase Chain Reaction (PCR) to the Diagnosis of tuberculosis. *Tuberc Respir Dis* 1992;39:517-25.
19. Nah J, Huh JW, Lee SH, Kim BC, Koh YS, Pai CH. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Using a Gene Probe method. *Korean J Clin Pathol* 1997;17:71-8.
20. 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.
21. Butler WR and Guthertz LS. Mycolic acid analysis by high-performance liquid chromatography for identification of *Mycobacterium* species. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:704-26.
22. Butler WR, Jost KC Jr., Kilburn JO. Identification of mycobacteria by high-performance liquid chromatography. *J Clin Microbiol* 1991;29:2468-72.
23. Butler WR, Floyd MM, Silcox V, Cage G, Desmond E, Duffey PS, et al. eds. Mycolic acid pattern standards for HPLC identification of mycobacteria. Atlanta, Ga: Centers for Disease Control and Prevention, U.S. Department of Health and Human Services; 1999: 1-86.
24. Butler WR, Floyd MM, Silcox V, Cage G, Desmond E, Duffey PS, et al. eds. Standardized method for HPLC identification of mycobacteria. Washington, D.C.: U.S. Department of Health and Human Services; 1996:1-99.
25. [No authors listed]. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:S1-25.
26. Euzeby JP ed. List of bacterial names with standing in nomenclature, 1998. London; Society for Systematic and Veterinary Bacteriology, 2002.
27. Tortoli E, Bartoloni A, Böttger EC, Emler S, Garzelli C, Magliano E, et al. Burden of unidentifiable mycobacteria in a reference laboratory. *J Clin Microbiol* 2001;39:4058-65.
28. 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.
29. Noordhoek GT, van Embden JD, Kolk AH. Questionable reliability of the polymerase chain reaction in the detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *N Engl J Med* 1993;329:2036.
30. Reisner BS, Gatson AM, Woods GL. Use of Gen-Probe Accu-Probes to identify *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium tuberculosis* complex, *Mycobacterium kansasii*, and *Mycobacterium gordonae* directly from BACTEC TB broth cultures. *J Clin Microbiol* 1994;32:2995-8.
31. Park CM, Heo SR, Park KU, Song J, Lee JH, Lee CT, et al. Isolation of nontuberculous mycobacteria using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Korean J Lab Med* 2006;26:161-7.
32. Clinical and Laboratory Standards Institute. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Molecular diagnostic methods for infectious diseases. Proposed guideline, 2nd ed. MM3-P2. Wayne, Pa; CLSI, 2005.
33. Lee SD, Lee HY, Kim HC, Kim SY. *Mycobacterium tuberculosis* and nontuberculous mycobacteria by PCR assay. *Korean J Clin Microbiol* 2007;10:135-42.
34. Kim KS, Shin YD, Ahn JW. Epidemiologic study of unclassified mycobacteria. *Tuberc Respir Dis* 1966;13:5-20.
35. Lee SK and Shin YD. Epidemiologic study of atypical mycobacterial infection. *Tuberc Respir Dis* 1967;14:12-38.
36. Kim SC and Kim SC. A Study on Unclassified Mycobacteria Isolated from Human Sputa. *Tuberc Respir Dis* 1970;17:33-42.
37. Koh WJ, Kwon OJ, Jeon K, Kim TS, Lee KS, Park YK, et al. Clinical significance of nontuberculous mycobacteria isolated from respiratory specimens in Korea. *Chest* 2006;129:341-8.
38. Yim JJ, Park YK, Lew WJ, Bai GH, Han SK, Shim YS. *Mycobacterium kansasii* pulmonary diseases in Korea. *J Korean Med Sci* 2005;20:957-60.
39. Centers for Disease Control and Prevention. Nontuberculous mycobacteria reported to the public health laboratory information system by state public health laboratories United States, 1993-6. Atlanta; Centers for Disease Control and Prevention, 1999.
40. 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.

=국문초록=

임상검체에서 High Performance Liquid Chromatography법을 통해 검출된 Nontuberculous Mycobacteria의 균종분포와 병원성률

울산대학교병원 진단검사의학교실, ¹부산대학교 의과대학 진단검사의학교실

정윤성, 김성률, 장철훈¹, 이선희

배경: Nontuberculous mycobacteria (NTM)에 의한 감염증은 증가하고 있으나, 병원성 여부를 판단하기 힘들고, 효과적인 치료가 어렵기 때문에 임상 검체에서 NTM의 균종 분포와 병원성률에 대한 조사는 환자의 적절한 진단과 치료 방침 수립에 대단히 중요하다. 이에 본 연구에서는 HPLC법을 이용하여 NTM을 동정하여 임상검체에서의 NTM의 균종별 분포를 파악하고, 균종 및 검체에 따른 병원성률을 조사하고자 하였다.

방법: 항산균 배양 검사에서 양성이었던 3,107검체를 HPLC법으로 동정하여 NTM으로 확인된 384검체를 대상으로 균종 분포를 확인하였다. 항산균 염색과 배양 결과외에 환자의 병력, 징후 및 증상, 방사선학적 소견, 다른 검사실 소견, 병리 조직학적 소견, 치료에 대한 반응, 추후 경과 관찰 등을 후향적으로 조사하여 임상적인 감염증으로 판정된 경우 중에서 American Thoracic Society에서 발표한 지침에 포함되는 경우를 병원성으로 판정하여 병원성률을 조사하였다.

결과: HPLC법을 이용한 NTM의 동정성공률은 95.6%로 우수하였다. 항산균 배양 양성 검체 중 NTM의 비율은 12.4%였고, 총 19종의 NTM은 0.3~15.9%까지의 분포를 보였고, 병원성률은 균종별로는 0~79.6%, 검체별로는 0~100%였다.

결론: HPLC법은 임상 검체에서 NTM을 동정하는데 우수한 변별력을 보였고, 울산 지역 임상검체에서 NTM이 검출될 경우, 본 연구의 결과를 기초 자료로 균주별, 검체별 병원성률을 추정할 수 있을 것으로 판단된다. [대한임상미생물학회지 2008;11:34-42]

교신저자 : 이선희, 682-714, 울산광역시 동구 전하동 290-3
울산대학교병원 진단검사의학과
Tel: 052-250-7273, Fax: 052-250-8269
E-mail: joseph@uuh.ulsan.kr, 690519@hitel.net

Table 1. Distribution of nontuberculous *Mycobacterium* species from clinical specimens

Mycobacterium species	Specimen											
	Sputum	Bronchial aspiration	Urine	Pleural fluid	Skin tissue	Lymph node	Pus	CSF	Gastric aspiration	Bone marrow	Joint fluid	Total (%)
M. kansasii (%)	39 (10.16)	9 (2.34)	0 (0)	5 (1.30)	0 (0)	6 (1.56)	1 (0.26)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	61 (15.89)
M. intracellulare (%)	33 (8.59)	6 (1.56)	0 (0)	2 (0.52)	2 (0.52)	3 (0.78)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	2 (0.21)	0 (0)	49 (12.76)
M. goodiae (%)	21 (5.47)	3 (0.78)	15 (3.91)	2 (0.52)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	1 (0.26)	44 (11.46)
M. avium (%)	25 (6.51)	2 (0.52)	0 (0)	2 (0.52)	2 (0.52)	3 (0.78)	3 (0.78)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	38 (9.90)
M. fortuitum (%)	24 (6.25)	1 (0.26)	2 (0.52)	3 (0.78)	1 (0.26)	1 (0.26)	1 (0.26)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	34 (8.85)
M. abscessus (%)	19 (4.95)	2 (0.52)	0 (0)	2 (0.52)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0.52)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	25 (6.51)
M. peregrinum (%)	16 (4.17)	1 (0.26)	2 (0.52)	1 (0.26)	0 (0)	2 (0.52)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	22 (5.73)
M. szulgai (%)	14 (3.65)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.26)	2 (0.52)	2 (0.52)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	19 (4.95)
M. marinum (%)	4 (1.04)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8 (2.08)	0 (0)	2 (0.52)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	14 (3.65)
M. mucogenicum (%)	9 (2.34)	1 (0.26)	2 (0.52)	1 (0.26)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	14 (3.65)
M. xenopi (%)	2 (0.56)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8 (2.08)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10 (2.60)
M. terrae (%)	6 (1.56)	1 (0.26)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8 (2.08)
M. scrofulaceum (%)	5 (1.30)	1 (0.26)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (1.82)
M. chelonae (%)	4 (1.04)	1 (0.26)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (1.56)
M. triviale (%)	4 (1.04)	0 (0)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5 (1.30)
M. simiae (%)	3 (0.78)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (1.04)
M. apulsensis (%)	2 (0.52)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (0.78)
M. asiaticum (%)	2 (0.52)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (0.78)
M. nonchromogenicum (%)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.26)
Unclassified NTM (%)	11 (2.86)	1 (0.26)	1 (0.26)	1 (0.26)	1 (0.26)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	1 (0.26)	0 (0)	0 (0)	17 (4.43)
Total	244 (63.54)	29 (7.55)	25 (6.51)	23 (5.99)	22 (5.73)	19 (4.95)	9 (2.34)	6 (1.56)	3 (0.78)	3 (0.78)	1 (0.26)	384 (100)

Table 3. Clinical significance of nontuberculous *Mycobacterium* species from clinical specimens

Pathogenic <i>Mycobacterium</i> species	Specimen											
	Sputum	Bronchial aspiration	Urine	Pleural fluid	Skin tissue	Lymph node	Pus	CSF	Gastric aspiration	Bone marrow	Joint fluid	Total (%)
<i>M. kansasii</i> (%)	18 (46.15)	8 (88.89)	0 (ND)	4 (80.00)	0 (ND)	6 (100)	1 (100)	1 (100)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	38 (62.30)
<i>M. intracellulare</i> (%)	24 (72.73)	5 (83.33)	0 (ND)	2 (100)	2 (0.52)	3 (100)	0 (ND)	1 (100)	0 (ND)	2 (100)	0 (ND)	39 (79.59)
<i>M. goodii</i> (%)	5 (23.81)	1 (33.33)	0 (0)	1 (50.00)	0 (ND)	1 (100)	0 (ND)	0 (ND)	0 (0)	0 (ND)	0 (0)	8 (18.18)
<i>M. avium</i> (%)	13 (52.00)	2 (100)	0 (ND)	2 (100)	2 (100)	2 (66.67)	2 (66.67)	0 (ND)	0 (ND)	1 (100)	0 (ND)	24 (63.16)
<i>M. fortuitum</i> (%)	7 (29.17)	1 (100)	0 (0)	2 (66.67)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (ND)	0 (0)	0 (ND)	0 (ND)	11 (32.35)
<i>M. abscessus</i> (%)	9 (47.37)	2 (100)	0 (ND)	1 (50.00)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	2 (100)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	14 (56.00)
<i>M. peregrinum</i> (%)	5 (31.25)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (ND)	1 (50.00)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	7 (31.82)
<i>M. szulgai</i> (%)	6 (42.86)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	1 (100)	0 (0)	2 (100)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	9 (47.37)
<i>M. marinum</i> (%)	2 (50.00)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	7 (87.50)	0 (ND)	1 (50.00)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	10 (71.43)
<i>M. mucogenicum</i> (%)	2 (22.22)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (ND)	1 (100)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	5 (35.71)
<i>M. xenopi</i> (%)	1 (50.00)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	3 (37.50)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	4 (40.00)
<i>M. terrae</i> (%)	1 (16.67)	1 (100)	0 (ND)	1 (100)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	3 (37.50)
<i>M. scrofulaceum</i> (%)	0 (0)	0 (0)	0 (ND)	1 (100)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	1 (14.29)
<i>M. chelonae</i> (%)	1 (25.00)	1 (100)	0 (ND)	0 (0)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	2 (33.33)
<i>M. triviale</i> (%)	1 (25.00)	0 (ND)	0 (ND)	1 (100)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	2 (40.00)
<i>M. simiae</i> (%)	1 (33.33)	0 (ND)	0 (0)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	1 (25.00)
<i>M. abscessus</i> (%)	0 (0)	0 (ND)	0 (0)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (0)
<i>M. asiaticum</i> (%)	1 (50.00)	0 (ND)	0 (0)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	1 (33.33)
<i>M. nonchromogenicum</i> (%)	0 (0)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (ND)	0 (0)
Unclassified NTM (%)	1 (9.09)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (ND)	0 (ND)	0 (0)	0 (ND)	0 (ND)	3 (17.65)
Total	98 (40.16)	22 (75.86)	0 (0)	18 (78.26)	14 (63.64)	17 (89.47)	4 (44.44)	6 (100)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	182 (47.40)

Abbreviation: ND, not detected.

