

# 서울市內 初中高等學校 土壤으로부터 非定型 Mycobacteria 와 Nocardia의 分離 및 生化學的 同定

中央大學校 醫科大學 微生物學教室

崔哲淳·梁容泰

=Abstract=

## Isolation and Identification of Opportunist Mycobacteria and Nocardia from Soil Specimens of School Ground in Seoul City

Chul Soon Choi and Yong Tae Yang

*Department of Microbiology, Chung-Ang University College of Medicine*

There have been increasing reports of mycobacterioses in man and animals caused by "atypical" or "opportunistic" mycobacteria. At the present, "opportunistic mycobacterioses" are not generally responsive to antituberculosis drugs, and therefore, create considerable problems with regard to chemotherapy and control measures. In recent years studies have been made to isolate opportunistic mycobacteria from soil, house-dusts and tap-water.

It seemed quite interesting to define the extent of circumstantial presence of "opportunistic" mycobacteria and nocardia in the soils of school-ground of primary schools and middle-high schools. This communication is the results of pilot study to isolate and identify "opportunistic" mycobacteria and nocardia from 504 soil specimens of 72 schools in Seoul City.

1. Of a total of 59 isolates from 504 soil specimens tested, 32 strains were identified as opportunistic mycobacteria and 27 strains as nocardia.

2. Isolation rates of opportunistic mycobacteria by the areas (of specimen collection) were as follows: 36.4% in the southern area of Han-River, 33.3% in the central area, 22.7% in the outskirt area and 16.6% in the intermediate area. There observed no apparent difference in the isolation rates both between the areas and between primary schools and middle-high schools. However, a significant difference was noted in the isolation rates between the places of soil sampling in a given school ( $P < 0.05$ ), i.e., the highest was the soil of refuge heaps (15.2%), and tap-water pole area (11.1%), the school-lavatory entrance (9.7%), the school gate entrance (5.5%), and iron-bar play ground (2.7%). The soil specimens from the center of school ground and from school building entrance yielded none of mycobacterial isolates.

3. Isolation rates of nocardia by the areas were as follows: 33.3% in the central area, 31.8% in the outskirt area, 27.3% in the southern areas of Han-River and 11.1% in the intermediate area. As in the case of mycobacterial isolates, there observed no apparent differences in the isolation rates both between the areas and between primary schools and middle-high schools, but a significant differ-

\* This work was supported in part by the Korean Traders Scholarship Foundation Research Grant (No. 259, 1975).

ence was noted between the places of soil sampling ( $P < 0.05$ ), i.e., the highest was the soil of school building entrance (15.2%), and of school gate entrance (6.9%), refuge heaps (5.5%), iron-bar play ground (4.1%), the school-lavatory entrance (2.7%) and tap-water pole area (2.7%), respectively. The soil specimens from the center of school-ground yielded none of nocardia isolates.

4. Of the 32 strains of isolated mycobacteria, 15 strains were slow-growing mycobacteria and the remaining 17 strains belonged to the rapid growers. Of the 15 slow-growers, 4 strains were *M. scrofulaceum-szulgai* complex, 3 *M. gordonae*, 4 *M. terrae-triviale* complex, 2 *M. avium-intracellulare-xenopi* complex, and 2 unclassified schotochromogens. Of the 17 strains of rapid growers, 12 were *M. diernhoferi*, 2 *M. fortuitum-peregrinum* complex, 2 *M. vaccae* and one *M. flavescens*.

5. Of the 27 strains of nocardia isolated, 11 strains were *N. transvalensis*, 5 *N. convoluta*, 5 *N. erythropolis*, one *N. vaccinii*, one *N. polychromogens-paraffinae* complex and 4 untypable strains of orange-pigmented nocardia spp.

## 緒 論

오늘날 결핵증에 대한 豫防管理와 各種 抗結核劑의 開發로서 人結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)과 牛結核菌(*M. bovis*)에 依한 사람과 動物의 定型結核症(tuberculosis)의 發生은 漸次 減少되어가는 추세인데 反하여 지금까지 開發된 大部分의 抗結核劑에 先天性 耐性을 갖는 非定型抗酸菌(atypical mycobacteria)에 依한 非定型 또는 機病性抗酸菌症(atypical or opportunist mycobacterioses)의 發生報告가 增加되고 있다. 특히 이들은 臨床所見과 X-線檢査所見이 定型結核症과 鑑別診斷이 되지 않고있어 結核症의 豫防管理및 治療에 있어서 “機病性抗酸菌”에 對한 傳染病學의 研究의 重要性이 增大되고 있다.

지금까지 알려진 機病性抗酸菌症의 原因菌은 임상세 菌학적연구의 면의상 Runyon(1959)의 方法에 依하여 4 群으로 分類되고 있다. 卽 I群 光色呈菌(photochromogens), II群 色呈菌(schotochromogens), III群 非色呈菌(nonchromogens)과 IV群 早育菌(rapid grower)이다. I群은 病原菌으로서 *M. kansasii* (Hauduroy, 1955)와 *M. marinum*(Aronson, 1926)이 있으며, II群은 *M. scrofulaceum*(Prissick 및 Masson, 1956)과 *M. szulgai*(Marks et al., 1972)의 病原菌과 非病原性 *M. gordonae*(Bojalil et al. 1962)가 있다. III群은 *M. avium*(Chester, 1901), *M. intracellulare*(Runyon, 1967), *M. xenopi*(Schwabacher, 1959)의 病原菌과 *M. gastri*, “J”(Wayne, 1962), *M. triviale*, “V”(Kubica, 1968), *M. terrae*, “Radish”(Wayne, 1962)등의 非病原菌이 포함된다. IV群은 病原菌으로서 *M. fortuitum*

(Cruz, 1938), *M. chelonae-abscessus*(Moore 및 Frerichs, 1953)가 있으며 非病原菌으로서 *M. phlei*(Lehmann 및 Neumann, 1899), *M. smegmatis*(Lehmann 및 Neumann, 1899), *M. chelonae-chelonae*(Bergey et al., 1923), *M. thamnopheos*(Aronson, 1926), *M. flavescens* (Bojalil et al., 1962), *M. peregrinum*(Bojalil et al., 1962), *M. vaccae*(Bönicke 및 Zuhasz, 1964) 및 *M. diernhoferi*(Bönicke 및 Zuhasz, 1964) 등이 있다.

定型結核菌 以外の 機病性抗酸菌은 사람과 사람間의 傳染이 확실히 않으며 發生率에 있어서도 地域間에 현저한 差異를 보이며 土壤(Wolinsky 및 Ryneerson, 1968; Kleeberg 및 Nel, 1969; Reznikov 및 Leggo, 1974), 住宅의 먼지(Dawson, 1971), 연못(Kazda, 1967) 및 上水道水(Mills, 1972) 등에서 많이 分離되고 있어 이와같은 生活環境物이 傳染源인 것으로 推測되고 있다.

著者들은 初中高等學校 運動場 土壤의 抗酸菌에 의한 汚染度를 測定하여 學童 및 學校保健環境調查와 機病性抗酸菌症의 豫防管理에 必要한 基礎資料를 얻고져 서울市內 初中高等學校 72個校의 504例의 土壤을 對象으로 抗酸染色性細菌(mycobacteria와 nocardia)의 分離와 細菌學의 同定을 實施하고 成績을 報告한다.

## 實驗資料 및 方法

### 1. 土 壤

서울市廳을 中心으로한 都心地域, 中間地域, 邊두리 地域 및 江南地域의 初中高等學校를 對象으로 校門入口, 運動場, 玄關入口, 便所주위, 水道水 및 井戶水주위, 丸籠공기장 주위 및 栢物場의 7個 場所를 選定하여

各場所別로 3個處의 土壤을 採取混合하였다. 土壤은 地表로부터 2cm 아래의 土壤을 場所別로 約 10.gm씩 採取하여 비닐봉지에 밀봉하여 실온에 보존 하면서 1주일 이내에 사용하였다. 各地域別 初中高等學校別 土壤採取數는 表 1과 같다.

Table 1. Primary and middle-high schools from which soil samples were collected.

Location	No. of primary school	No. of middle-high school	Total
Central area	10	11	21
Intermediate area	8	10	18
Outskirt area	9	13	22
Southern area of Han-River	3	8	11
Total	30	42	72

## 2. 抗酸染色性細菌의 分離

土壤 1 teaspoon(6~7gm)을 15ml의 멸균된 0.01% tween-80 수용액에 부유시켜 기계적으로 30분간 진탕하여 실온에서 하루밤 정치하였다. 다음날 상청액 3ml를 취하여 同量의 2倍 濃度 tryptose soy broth(BBL)에 옮겨 37°C 부리기 내에서 4時間 發芽培養하였다. 이것을 다시 同量의 4% NaOH 수용액을 가하여 실온에서 15분간 살균처리한 다음 1N HCl 수용액으로 중화시키고 3,000rpm에서 20分間 원심하였다. 상청액을 버리고 침전물에 penicillin 수용액(500u/ml) 0.6ml를 가하여 가볍게 진탕한 후 3個의 Löwenstein-Jensen's (L-J) egg medium의 斜面에 1, 2, 3 滴式 접종한 후 사면으로 눕힌채 37°C에서 3週間 培養하였다. 모든 培養菌體는 Ziehl-Neelsen(ZN) 方法으로 抗酸染色性을 調査하고 陽性인 것만을 L-J 사면에 계대배양하였다.

## 3. 抗酸菌의 同定

抗酸菌은 L-J 斜面 또는 Sabouraud dextrose agar 平板培地에 培養하여 定型的菌絲를 보이는 것을 nocardia로, 菌絲가 없이 均等한 抗酸染色性을 보이는 것을 mycobacteria로 간주하였다. Mycobacteria와 nocardia는 生化學的 性狀에 依한 2分 分類法으로 同定하였다(Bergey's manual, 1974).

(1) 發育期日 : Mycobacteria는 L-J 사면배지상의

初代分離培養日과 初代培養時에 5日 以上에 發育하는 것을 速育抗酸菌(rapid grower)으로 하고 5日 以上의 發育期日을 要하는 것을 遲育抗酸菌(slow grower)으로 分類하였다.

(2) Catalase 生成試驗 : Kubica 및 Pool(1960)의 熟安定 catalase 生成試驗法에 依하여 實施했다. 卽 L-J 사면 3週 發育菌을 2-3 loop씩 따서 1/15M 인산완충액(PB) (pH 7.0) 0.5ml가 든 스크류캡 시험관에 부유시켜 68°C의 항온조에서 20분간 가온한 후에 실온으로 식힌 다음 tween-peroxide 혼합액(10% tween 80 수용액과 동량의 30% 과산화수소 혼합액) 0.5ml를 가할때 포말이 생기는 것을 陽性으로 하였다.

(3) Tween 80 가수분해시험 : Wayne(1962)의 방법에 의하여 실시했다. 卽 L-J사면 발육균을 직경 3mm loop로 따서 멸균 tween 80 基質(1/15M PB(pH 7.0); 100ml, tween 80; 0.5ml 및 0.1% phenol 수용액; 2ml의 혼합액) 4ml가 든 스크류캡 시험관에 부유시켜 37°C 부리기 내에서 1, 5, 및 10일간 반응시킬때 5日 內에 호박색 또는 적색을 보이는 것을 陽性으로 하고 10日까지 變化가 없는 것을 陰性으로 하였다.

(4) 硝酸鹽還元試驗 : Kubica 및 Dye(1967)의 방법에依했다. 卽 L-J사면 3週 發育菌을 1 loop씩 따서 멸균증류수 2~3 滴과 혼합부유시켜 1/100M NaNO<sub>2</sub> 인산완충액(1/45M PB, pH 7.0) 2ml를 가하여 진탕후 37°C 항온조내에서 2시간 작용시켰다. 여기에 3倍희석 농염산수용액 1滴, 0.2% sulfanilamide 수용액 2滴, 0.1% N-naphthylethylenediamine dihydrochloride 수용액 2滴을 각각 가할때 赤色을 물하는 것을 陽性으로 判定하였다. 陰性인 變遇는 亞鉛粉沫을 소량 가하여 反應되지 않는 硝酸鹽이 亞硝酸鹽으로 還元하여 赤色化하는 것을 확인하였다. 이때 反應되지 않는 것은 1次反應이 陽性인 것으로 간주하였다.

(5) Urease 生成試驗 : Wolinsky 및 Ryneason(1968)의 방법에 의하여였다. 卽 L-J 사면발육균을 loop로 따서 1.3mg의 urea와 0.0001% phenol red를 함유하는 7H10 agar(Difco)의 사면에 도말하여 37°C에서 3주간 배양할때 發育菌주위가 赤色化하는 것을 陽性으로 하였다.

(6) MacConkey agar 發育 : L-J 사면 발육균을 MacConkey agar에 이식 배양할때 5日 이내에 발육하는 것을 MacConkey agar 發育菌으로 하였다.

(7) 色素生成試驗 : L-J배지에 계대하고 이를 aluminum foil로 밀봉하여 37°C에서 1주간 배양한 다음 색소생성 유무를 조사하였다. 다시 aluminum foil을

**Table 2.** Isolation of mycobacteria from soil samples of primary school and middle-high school

Area	Primary school		Middle-high school		Total	
	No. of schools	No. of soil samples	No. of schools	No. of soil samples	No. of schools	No. of soil samples
Central	3/9(33.3)*	5/63(7.9)	4/12(33.3)	7/84(8.3)	7/21(33.3)	12/147(8.2)
Intermediate	0/8	0/56	3/10(30.0)	3/70(4.2)	3/18(16.6)	3/126(2.4)
Outskirt	3/11(27.2)	4/77(5.2)	2/11(18.1)	6/77(7.8)	5/22(22.7)	10/154(6.5)
Southern area of Han-River	2/3(66.6)	3/21(14.2)	2/8(25.0)	4/56(7.0)	4/11(36.4)	7/77(9.1)
Total	8/31(25.8)	12/217(5.5)	11/41(26.8)	20/287(6.9)	19/72(26.3)	32/504(6.3)

\* No. of schools or soil samples with positive growth / mycobacteria / total numbers of schools or soil samples tested and percentage in the parenthesis.

**Table 3.** Isolation of nocardia from the soil samples of primary school and middle-high school

Area	Primary school		Middle-high school		Total	
	No. of schools	No. of soil samples	No. of schools	No. of soil samples	No. of schools	No. of soil samples
Central	3/9(33.3)*	4/63(6.3)	4/12(33.3)	10/70(11.9)	7/21(33.3)	4/147(9.5)
Intermediate	1/8(12.5)	1/56(1.7)	1/10(10.0)	1/70(1.4)	2/18(11.1)	2/126(1.6)
Outskirt	4/11(36.3)	4/77(5.2)	3/11(27.2)	3/77(3.8)	7/22(31.8)	7/154(4.5)
Southern area of Han-River	1/3(33.3)	1/21(4.7)	2/8(25.0)	3/56(5.3)	3/11(27.3)	4/77(5.2)
Total	9/31(29.0)	10/217(4.5)	10/41(24.3)	17/287(5.9)	19/72(26.3)	27/504(5.4)

\* No. of schools or soil samples with positive growth of nocardia/total numbers of schools or soil samples tested and percentage in the parenthesis.

벗기고 60 watt lamp를 20cm의 거리에서 1시간 조사한 후 다시 37°C 암실에서 18시간 계속 배양하였다. 이때 광선에 노출시킨 것과 노출되지 않은 것 사이의 색소형성을 比較하여 光色呈菌, 色呈菌, 非色呈菌群으로 分類하였다.

(8) NaCl 및 Penicillin 耐性試驗: 7H10 agar (Difco)에 食鹽 또는 penicillin(5u/ml)을 加한 平板培地에 Sabouraud broth 또는 TB broth에 1週일간 배양된 것을 도말하여 종이 테이프로 밀봉하여 37°C 부란기안에서 2주일간 배양하였다.

### 實驗成績

#### 1. 地域別 學校別 抗酸染色性細菌의 分離

都心地域, 中間地域, 邊두리地域 및 江南地域의 初中高等學校의 土壤으로부터의 抗酸染色性細菌의 分離成績은 表 2와 같다.

即, 72個 初中高等學校로부터 수집한 504例의 土壤으로부터 mycobacteria가 分離된 곳은 19個校(26.3%)이었으며 地域別로 分離率은 江南地域 36.4%, 都心地域 33.3%, 邊두리地域 22.7%, 中間地域 16.6% 이었다. 504例의 土壤材料中 32個 土壤(6.3%)에서 mycobacteria가 分離되었으며 地域別로 江南地域 9.1%, 都心地域 8.2%, 邊두리地域 6.5%, 中間地域 2.4% 이었다. 그러나 統計의으로는 地域間에 有意差가 없었으며 ( $X^2_3=0.381 < 6.25 = P 0.05$ ), 初-中高等學校間에도 有意差가 없었다( $t_6=0.362 < 3.707 = P 0.01$ ).

表 3에서 보는 바와 같이 不均等한 抗酸染色성과 平板培地에 菌絲를 보이는 nocardia는 72個校 土壤中 19個校(26.3%)에서 分離되었으며 504例의 土壤材料中 27例(5.4%)에서 菌이 分離되었다. Nocardia의 地域間分離率은 mycobacteria에서와 같이 有意差가 없었으며 ( $X^2_3=1.10 < 6.25 = P 0.05$ ), 初-中高等學校間에도 有意差가 認定되지 않았다( $t_6=0.676 < 3.707 = P 0.01$ ).

**Table 4.** Isolation of mycobactesia and nocardia according to the place of soil sampling in 72 schools

Place	Mycobacteria	Nocardia	Total
School gate	4( 5.5)*	5( 6.9)	9(12.5)
School ground	—	—	—
School building-entrance	—	11(15.2)	11(15.2)
School-lavatory	7( 9.7)	2( 2.7)	9(12.5)
Tap-water pole	8(11.1)	2( 2.7)	10(13.8)
Iron-bar play-ground	2( 2.7)	3( 4.1)	5( 6.9)
Refuge heaps	11(15.2)	4( 5.5)	15(20.8)
Total	32( 6.3)	27( 5.3)	59(11.7)

\* No. of soil samples with positive growth of mycobacteria or nocardia and percentage in the parenthesis.

**Table 5.** Biochemical properties of 15 slow-growing mycobacteria isolated from soil specimens

Strain No.	Urease	Nitrate reduction	Catalase 68°C	Tween 80 hydrolysis	Pigmentation*	NaCl tolerance (5%)	MacConkey agar growth	Species presumed
29-50	++	—	++	—	S	—	—	<i>M. scrofulaceum-szulgai</i> group
41-60	+	—	++	—	S	—	—	
43-10	++	—	++	—	S	—	—	
46-40	++	—	+	—	S	—	—	
2-7	—	—	++	++	S	—	—	<i>M. gordonae</i>
4-5	—	—	++	++	S	—	—	
35-4	—	—	++	++	S	—	—	
3-7	—	##	+	++	N	—	—	<i>M. terrae-triviale</i> complex
30-7	—	+	+	++	N	—	—	
59-5	—	++	++	++	N	—	—	
60-5	—	++	++	++	N	—	—	
30-5	—	++	—	—	S	—	—	Schotochromogens
47-1	—	+	+	—	S	—	—	
30-72	—	—	##	—	N	—	—	<i>M. avium-intracellulare-xenopi</i> complex
59-52	—	—	++	—	N	—	—	

\* S; schotochromogens; N: nonchromogens

## 2. 土壤採取場所別 抗酸性細菌의 分離

72 個校의 校門入口, 運動場, 玄關入口, 便所, 水道水 또는 井戶水, 철봉 및 구기장 그리고 汚物場으로부터 採取한 土壤 504例에 對한 mycobacteria와 nocardia의 分離率은 表 4와 같다.

即, 土壤採取場所別 mycobacteria의 分離率은 汚物

場 15.2%, 水道水주위 11.1%, 便所入口 9.7%, 校門入口 5.5%, 철봉구기장 2.7%의 順이었으며, 運動場과 玄關入口에서는 分離 할 수 없었다. 場所間의 菌分離率에서 高度의 有意差가 認定되었다( $X^2=18.52 > 16.81 = P 0.05$ ).

Nocardia는 玄關入口土壤에서 15.2%, 校門入口 6.9%, 汚物場 5.5%, 철봉구기장 4.1%, 便所 및 水道水

Table 6. Biochemical properties of 17 rapid-growing mycobacteria isolated from soil specimens

Strain No.	Urease	Nitrate reduction	Catalase 68°C	Tween 80 hydrolysis	Pigmentation*	NaCl tolerance	MacConKey agar growth	Species presumed
3-73	++	+++	—	—	N/P	—	—	
4-72	+	+	—	—	N	—	—	
60-51	+	+	—	—	N	—	—	
2-732	++	—	—	—	Y	—	—	
29-52	++	—	—	—	Y	—	—	
41-92	++	—	—	—	Y	—	—	<i>M. diernhoferi</i>
46-42	+	—	—	—	Y	—	—	
35-41	+	—	—	—	Y	—	—	
2-73	++	—	—	—	O	—	—	
30-51	++	—	—	—	O	—	—	
4-54	++	++	—	—	O	—	—	
50-42	—	+++	—	—	O	—	—	
30-72	++	++	++	++	Y	++	—	<i>M. vaccae</i>
52-11	+++	—	++	++	YO	++	—	
25-32	++	++	++	+	N	++	++	<i>M. fortuitum-peregrinum</i> complex
53-51	+	++	+	—	N	++	+++	
47-12	+++	+	+	+	Y	+	—	<i>M. flavescens</i>

\* N. nonchromogens; P. photochromogens; Y. yellow; O. orange pigmentation

주위 각 2.7%의 順이었으며 mycobacteria에서와 같이 土壤採取場所間에 有意差가 認定되었으나 ( $X_0^2=14.12$ )  $10.64=P 0.05$ ), 運動場土壤으로 부터는 nocardia가 分離되지 않았다.

### 3. 遲育抗酸菌의 生化學的特性

遲育抗酸菌 15株에 對한 生化學의 特性은 表 5와 같다.

生化學의 特性에 依하여 遲育抗酸菌 15株는 *M. scrofulaceum-szulgai* complex 4株, *M. gordonae* 3株, *M. terrae-triviale* complex 4株, *M. avium-intracellulare-xenopi* complex 2株이었으며 2株는 同定할 수 없었으며 II群에 屬하였다.

### 4. 速育抗酸菌의 生化學的特性

速育抗酸菌 17株의 生物化學의 特性은 表 6과 같다. 郎, *M. diernhoferi* 12株, *M. fortuitum-peregrinum* complex 2株, *M. vaccae* 2株, *M. flavescens* 1株이었다.

### 5. Nocardia 27株의 生化學的特性

L-J 또는 Sabouraud dextrose agar에서 菌絲를 보이며 不均等한 抗酸染色性을 보이는 27株의 Nocardia에 對한 生化學의 特性은 表 7과 같다.

郎 27株의 nocardia는 *N. convoluta* 5株, *N. transvalensis* 11株, *N. erythropolis* 5株, *N. vaccinii* 1株, *N. polychromogen-paraffinae* complex 1株이었으며, 4株는 分類할 수 없었으며 orange 色呈 Nocardia spp.들이었다.

### 考 察

機病性抗酸菌症은 人間에 傳染이 確실히 않으며 發生에 있어서도 地域間에 큰 差異를 보이기 때문에 傳染源이 機病性抗酸菌症患者가 아닌 自然環境에 存在할 것이라고 推測되고 있다.

Jefferies et al., (1963), Jones 및 Jenkins(1965), Wolinsky 및 Rynearson(1968)등은 美國의 Florida, Texas, Ohio, Georgia, New Jersey, New York의 土

Table 7. Biochemical properties of 27 strains of nocardia isolated from soil specimens

Strains	Pigmentation*	Nitrate reduction	Catalase 68°C	Tween 80 hydrolysis	NaCl tolerance (7%)	Penicillin agar (5μ/ml)	MacConkey agar growth	Species presumed
5-33	Y	—	+	—	—	+	—	N. transvalensis
21-11	Y	—	+	—	—	±	—	
35-62	Y	+	+	—	—	+	—	
40-32	Y	—	+	—	—	+	—	
52-32	Y	—	##	—	—	+	—	
7-32	Y	—	##	—	—	—	—	
5-341	Y	—	—	—	—	+	—	
8-31	O	—	##	—	—	+	—	
35-31	O	+	+	—	—	##	—	
71-7	O	—	±	—	—	±	—	
12-41	O	—	—	—	—	##	—	
1-26	N	+	—	+	—	##	—	
17-42	N	+	—	+	—	##	—	
31-52	N	##	—	+	—	##	—	
36-71	N	##	—	+	—	##	—	
2-61	N	++	##	+	—	##	—	
20-11	Y	—	—	—	—	—	—	N. erythropolis
35-11	Y	—	NT#	—	—	—	—	
35-71	Y	—	—	—	—	—	—	
53-51	Y	—	—	—	—	—	—	
60-32	Y	—	—	—	—	—	—	
25-33	O	—	—	—	—	—	—	
66-11	O	+	+	—	—	—	—	
68-3	O	+	—	—	—	+	—	
71-7	O	—	+	—	—	+	—	
35-1	Y	+	—	—	—	—	—	N. vaccinii
25-32	Y	+	—	—	+	##	##	N. polychromogens paraffinae

\* Y: Yellow, O: Orange, N: Nonchromogens, # NT: not tested.

壤에서, Ulgenap et al. (1971)은 Turkey에서, Reznikov 및 Leggo(1974)는 濠洲의 土壤에서 病原性 機病性 抗酸菌을 分離하였다. 또한 土壤을 많이 심취하는 畜豚의 正常 淋巴節에서 많이 分離된다는것이 最近 알려져 있다(Kleeberg 및 Nel, 1969; Choi et al., 1974).

機病性抗酸菌 中에서도 最近 사람의 肺結核과 類似한 抗酸菌症의 原因菌인 M. avium-intracellulare-scrofulaceum complex가 濠洲의 Queensland土壤(Rodda

및 Singer, 1963; Reznikov et al., 1971; Reznikov 및 Leggo, 1972, 1974), Georgia (Kubica et al. 1961)의 土壤에서 分離된 것을 血清學的으로 確認同定하였다.

우리나라의 경우는 金 및 金(1971)과 金(1975)에 의하여 全國에 걸쳐 수집된 土壤으로 부터 “非定型抗酸細菌”을 分離報告한 바 있다.

著者들은 1975年 5月부터 7月까지 서울시內 初中 高等學校 72個校를 對象으로 하여 수집한 504例의 토

양에 대하여 抗酸染色性細菌의 分離試驗에서 19個校(26.3%)의 32個 土壤(6.3%)에서 抗酸細菌을 分離할 수 있었다. 또한 本來의 試驗目的은 아니었으나 分離菌中에는 L-J培地에 잘 發育되며 部分的인 抗酸染色性을 가지며 Sabouraud dextrose agar에서 定型的菌絲를 보이는 *Nocardia* spp.가 19個校(26.3%)의 27例의 土壤(5.4%)에서 分離되었다.

本研究에서 初中高等學校의 토양으로 부터의 mycobacteria의 分離率은 金 및 金(1971)과 金(1975)의 報告와 比較하여 현저히 낮았다. 卽, 金 및 金(1971)은 122例의 土壤中 98個 土壤(80.3%)에서, 金(1975)은 120個의 土壤材料中 37個(30.8%) 土壤에서 mycobacteria를 分離 할 수 있었다고 하였다. 그러나 著者들의 경우는 6.3%의 낮은 分離率을 보였으며 이와 같은 差異는 土壤採取場所와 採取當時의 氣候條件等の 여러 가지 環境要因의 差異에 依한 것으로 推則된다. 卽 金 및 金(1971)은 全國 11個 市道の 길쪽, 정원쪽, 및 농장쪽을 對象으로 하였으며, 金(1975)은 江原道와 慶北道の 농촌 쪽을 對象으로 한데 反하여 著者들은 서울市內의 乾燥한 學校內의 土壤을 對象으로 한 差異에서 起因된 것으로 生覺된다. Kubica et al.(1963)은 “非定型抗酸菌”의 토양내분포율은 농촌의 토양이 도시의 토양보다 높다는 것을 보고한 바 있다. 金 및 金(1971)의 國內報告에서도 서울市와 釜山市의 土壤이 他地方에 比하여 分離率이 낮은 것을 관찰할 수 있었다.

著者들의 境遇 서울市內의 都心地域, 中間地域, 邊두리地域 및 江南地域의 4個地域間의 mycobacteria의 分離率은 江南地域 9.1%, 都心地域 8.2%, 邊두리地域 6.5%, 中間地域 2.4%의 順 이었다. 그러나 統計의 으로 區域間의 有意差를 認定할 수 없었다.

初中高等學校間에도 有意差가 없었다. 이와 같이 區域間에 有意差는 없었으나 江南地域이 他 地域에 比하여 약간 높은 것은 漢水以南에는 다른 地域에 比하여 未改發地域이 많으며 토양의 含濕도가 높은 것이 아닌가 生覺되며, 都心地域이 높은 것은 環境汚染도가 높은 것으로 推則된다.

그러나 서울市內 72個校內의 토양채취장소간에는 高度의 有意差가 인정되었다. 卽 7個 장소별 mycobacteria의 分離率은 汚物場이 15.2%로서 가장 높았으며 水道水주위 11.1%, 便所入口 9.7%, 校門入口 5.5%, 철봉구기장 2.7%의 順이었다. 그러나 太陽直射光線의 일조시간이 길며 乾燥한 運動場과 玄關入口의 토양으로 부터는 mycobacteria가 分離되지 않았다.

以上の成績으로 보아 mycobacteria의 토양으로 부터

의 分離率은 토양의 비옥도와 含濕도가 높을수록 분리율도 높을 것으로 思料되었다. 運動場과 玄關入口의 토양에서 抗酸菌 分離가 되지 않은 것은 5~7月の 長期乾燥와 直射光線의 노출에 依한 殺菌作用에 依한 것과 토양을 定型結核菌分離에서와 같이 높은 농도의 알카리처리(4% NaOH)에 依하여 NaOH에 對하여 비교적 저항성이 약한 “非定型抗酸菌”의 殺菌효과도 있었을 것으로 推則된다.

土壤으로 부터 分離된 mycobacteria 32株에 對한 生化學的 特性에 따라 15株는 遲育抗酸菌으로서 *M. scrofulaceum-szulgai* complex 4株(12.5%), *M. gordonae* 3株(9.4%), *M. terrae-triviale* complex(12.5%), *M. avium-intracellulare-xenopi* complex 2株(6.5%) 이었으며 2株(6.3%)는 分類할 수 없는 schotochromogens群 이었다. 速育抗酸菌 17株는 *M. diernhoferi* 12株(37.5%), *M. fortuitum-peregrinum* complex 2株(6.3%), *M. vaccae* 2株(6.3%) 및 *M. flavescens* 1株(3.2%)로 同定되었다.

以上の成績으로 보아 *M. tuberculosis*와 *M. bovis*의 定型結核症의 原因體는 分離할 수 없었으나 病原性이 높으며 肺結核類似病變을 일으키는 *M. scrofulaceum* group, *M. avium-intracellulare-xenopi* group, *M. fortuitum-peregrinum* complex 群이 分離되었다는 것은 學校주위의 토양이 學童의 機病性抗酸菌症의 傳染源이 될 수 있다는 可能性을 시사한다.

著者들의 成績에서 교내 토양으로 부터 分離된 mycobacteria의 菌種과 金 및 金(1971)의 도로, 정원 및 농장의 토양에서 분리한 mycobacteria의 菌種을 比較해 볼 때 著者들의 경우는 *M. fortuitum*의 分離率이 6.3%로서 낮고, *M. diernhoferi*의 生化學的 特性을 보이는 것이 37.5%로 높은 反面 金 및 金(1971)은 *M. fortuitum*의 分離率이 29.3%로 높다는 差異 以外에는 非定型遲育抗酸菌種의 分離率은 비슷한 成績을 보였다.

著者들의 實驗에서 사람의 機病性抗酸菌症(肺結核)의 原因菌으로 여러나라에서 問題點으로 되고 있는 *M. avium-intracellulare-xenopi* complex와 *M. scrofulaceum-szulgai* complex가 分離되었다는 것은 우리나라도 다른 나라에서와 같이 現在 알려진 一般結核症中에는 機病性抗酸菌症이 포함될 것이라는 것을 推則케 하며 앞으로 豫防管理 및 治療面에서 “結核症”에 對한 보다 正確한 細菌學的檢査가 實施되어야 할 것이다.

## 結 論

1975年 5月부터 7月까지 서울市內 4個地域의 初



中高等學校로 부터 수집한 토양재료에 對한 mycobacteria와 nocardia의 分離 및 分離菌에 對한 生化學的 特性을 調査하여 다음과 같은 成績을 얻었다.

1. 서울市内 72個 初中高等學校로 부터 수집한 504例의 토양으로 부터 mycobacteria는 19個校(26.3%)에서 32株(6.3%), nocardia는 19個校(26.3%)에서 27株(5.3%)가 分離되었다.

2. 地域別 mycobacteria의 分離率은 江南地域 36.4%, 都心地域 33.3%, 邊두리地域 22.7%, 中間地域 16.6%의 順이었으나 地域間과 初中高等學校間에는 有意差가 없었다. 그러나 토양채취장소간에는 高度의 有意差가 認定되었으며, 汚物場 15.2%, 水道水주위 11.1%, 便所入口 9.7%, 校門入口 5.5%, 철봉구기장 2.7%의 順이었으며 運動場과 玄關入口에서는 分離되지않았다.

3. Nocardia의 地域間的 分離率은 都心地域 33.3%, 邊두리地域 31.8%, 江南地域 27.3%, 中間地域 11.1%의 順이었으며, 地域間이나 初中高等學校間에 有意差가 없었다. 그러나 mycobacteria에서와 같이 토양채취 장소간에는 유의차가 認定되었다. 場所間的 分離率은 玄關入口 15.2%, 校門入口 6.9%, 汚物場 5.5%, 철봉구기장 4.1%, 便所 및 水道水주위 2.7%의 順이었으며 運動場에서는 역시 분리할 수 없었다.

4. Mycobacteria 32株는 速育抗酸菌 15株와 速育抗酸菌 17株 이었으며 速育抗酸菌 15株는 M. scrofulaceum-szulgai complex 4株, M. gordonae 3株, M. terrae-triviale complex 4株, M. avium-intracellulare-xenopi complex 2株와 未分類 schotochromogens 2株 이었다. 速育抗酸菌 17株는 M. diernhoferi 12株 M. vaccae 2株, M. fortuitum-peregrinum complex 2株 및 M. flavecens 1株 이었다.

5. Nocardia 27株는 N. transvalensis 11株, N. convoluta 5株, N. erythropolis 5株, N. vaccinii 및 N. polychromogens-paraffinae 各 1株 이었으며, 4株는 未分類 orange 色呈 nocardia spp. 이었다.

以上の 成績으로보아 初中高等學校 土壤에서 定型結核菌과 病原性 Nocardia는 分離되지 않았으나 機病性抗酸菌으로 간주되는 M. scrofulaceum-szulgai complex와 M. avium-intracellulare-xenopi complex가 分離된다는 것은 校內土壤이 機病性抗酸細菌症의 傳染源이 될 可能性이 있음을 暗示한다고 본다.

## 謝 辭

試驗期間에 토양재료채취에 협조한 중앙대학교 의과

대학 3학년 姜大壽 의 15명과 微生物學敎室 李相東 君과 李光善 양의 協력을 감사합니다.

## REFERENCES

- 1) Aronson, J. D.: *Spontaneous tuberculosis in cold-water fish*, *J. Infect. Dis.*, **39**:315, 1926.
- 2) Bergey et al. (1923): *Cited from "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology"*, 8th ed., 1974.
- 3) Bojalil, L.T., Certon, J. and Trujillo, A.: *Adansoniam classification of mycobacteria*, *J. Gen. Microbiol.*, **29**:333, 1962.
- 4) Bönicke, R. and Zuhasz, (1964): *Cited from "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology"*, 8th ed., 1974.
- 5) Chester (1901): *Cited from Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., 1974.
- 6) Choi, C.S., Yoon, Y.D., Kim, J.H. and Lee, H.S.: *Atypical (opportunistic) mycobacteria isolated from porcine lymphnodes*, *Res. Rep. Off. Rural Develop. (Korea)*, **16**:7, 1974.
- 7) Cruz, J.C.: *Mycobacterium fortuitum novo baeilo acid-resistente patogénico para o homem*, *Act. Med. (Rio de Janeiro)*, **1**:297, 1938.
- 8) Dawson, D.J.: *Potential pathogens among strains of mycobacteria isolated from house dusts*, *Med. J. Aust.*, **1**:679, 1971.
- 9) Hauduroy, P.: *Derniers aspects du monde mycobacteries*, *Masson, Paris*, **73**, 1955.
- 10) Jefferies, M., Prather, E.C., Hardy, A.V. and Wharton, D.J.: *Unclassified mycobacteria cultured from soil*, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **88**:129, 1963.
- 11) Jones, R.J. and Jenkins, D.E.: *Mycobacteria isolated from soil*, *Canad. J. Microbiol.*, **11**:127, 1965.
- 12) Kazda, J.: *Mycobacteria in drinking water causing non-specific sensitivity to tuberculin*, *Part III. (Ger.)*, *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig.*, **203**:199, 1967.
- 13) 金成鎮·金尙材: 韓國土壤으로부터 分離된 未分類抗酸菌에 관한 研究, 結核 및 呼吸器疾患, **18**:

- 19, 1971.
- 14) 金聖光: 土壤에서分離된 抗酸菌의 分類, 病原性 및 怪癖性에 關한 研究, 建國大 碩士學位論文, 1975.
  - 15) Kleeberg, H.H. and Nel, E.E.: *Porcine mycobacteria lymphadenitis*, *J.S. Afr. vet. med. Ass.*, **40**:233, 1969.
  - 16) Kubica, C.P.: *Numerical taxonomy of Group III non-chromogens*, *Bull. Int. Un. Tuberc.*, **40**:39, 1968.
  - 17) Kubica, G.P., Beam, R.E., Palmer, J.W. and Rigdon, A.L.: *The isolation of unclassified (atypical) acid-fast bacilli from soil and water samples collected in the State of Georgia*, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **84**:135, 1961.
  - 18) Kubica, G.P., Beam, E.R. and Palmer, J.W.: *A method for the isolation of unclassified acid-fast bacilli from soil and water*, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **88**:718, 1963.
  - 19) Kubica, G.P. and Dye, W.E.: *Laboratory methods for clinical and public health mycobacteriology*, *Publ. Hlth. Service Publ. No. 15 47*, U.S. Govt. Printing Office, Washington, D.C., **PP. 121**: 122, 1967.
  - 20) Kubica, G.P. and Pool, G.L.: *Studies on the catalase activity of acid-fast bacilli. I. An attempt to subgroup these organisms on the basis of their catalase activities at different temperatures and pH*, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **81**:387, 1960.
  - 21) Lehmann, K.B. and Neumann, R.O.: *Bakteriologische Diagnostik*, L.F. Lehmann Verlag. 1. Munchen, 2. Auf. II Band, 408-413, 1899.
  - 22) Marks, J., Jenkins P.A. and Tsukamura, M.: *Mycobacterium szulgai, a new pathogen*, *Tubercle*, **53**:210, 1972.
  - 23) Mills, C.C.: *Occurrence of mycobacterium other than Mycobacterium tuberculosis in the oral cavity and in sputum*, *Appl. Microbiol.* **24**: 307, 1972.
  - 24) Moore, M. and Frerichs, J.B.: *An unusual, acid-fast infection of the knee with subcutaneous abscess-like lesions of the gluteal region*, *J. Invest. Der.*, **20**:133, 1953.
  - 25) Prissick, F.M. and Masson, A.M.: *Cervical lymphadenitis in children caused by chromogenic mycobacteria*, *Canad. Med. Ass.*, **J. 75**: 798, 1956.
  - 26) Reznikov, M. and Leggo, J.H.: *Modification of Schaefer's procedure for serotyping of organisms of the M. avium-M. intracellulare-M. scrofulaceum complex*, *Appl. Microbiol.*, **23**: 819, 1972.
  - 27) Reznikov, M. and Leggo, J.H.: *Examination of soil in the Brisbane area for organisms of the Mycobacterium avium-intracellulare-scrofulaceum complex*, *Pathology*, **6**:269, 1974.
  - 28) Reznikov, M., Leggo, J.H. and Dawson, D.J.: *Investigations by seroagglutination of strains of the M. intracellulare-M. scrofulaceum group from house-dust and sputum in South Eastern Queensland*, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **104**:951, 1971.
  - 29) Rodda, G.M.J. and Singer, E.: *Nonspecific sensitization to old tuberculin: Cultural studies*, *Tubercle (Edinb.)*, **44**:251, 1963.
  - 30) Runyon, E.H.: *Anonymous mycobacteria in pulmonary disease*, *Med. Clin. Amer.*, **43**:373, 1959.
  - 31) Runyon, E.H.: *Mycobacterium intracellulare*, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **95**:861, 1967.
  - 32) Schwabacher, H.: *A strain of Mycobacterium from skin lesions of a cold blooded animal Xenopus laevis and its relation to atypical acid-fast bacilli in man*, *J. Hyg. (Lond)*, **57**: 57, 1959.
  - 33) Ulgenalp, I., Gorsel, A., Gurdag, G. et al.: *Preliminary work on strains of acid-alcohol resistant bacilli isolated from samples of earth collected in the city of Ankara*, *Bull. Int. Un. Tuberc.*, **46**: 27, 1971.
  - 34) Wayne, L.G.: *Differentiation of mycobacteria by their effect on tween-80*, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **86**:579, 1962.
  - 35) Wolinsky, E. and Rynearson, T.K.: *Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains*, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **94**:1032, 1968.