

신이식 환자에서 발생한 *Nocardia elegans* 폐농양 1예

울산의대 서울아산병원 내과학교실¹, 진단검사의학교실², 외과학교실³

박기호¹ · 고선영² · 오련¹ · 김탁¹ · 조오현¹ · 김양수¹ · 우준희¹ · 한덕종³ · 성홍섭² · 김미나²

A Case of Lung Abscess Caused by *Nocardia elegans* in a Kidney Transplantation Recipient

Ki Ho Park, M.D.¹, Sun-Young Ko, M.D.², Ryan Oh, M.D.¹, Tark Kim, M.D.¹, Oh Hyun Cho, M.D.¹

Yang Soo Kim, M.D.¹, Jun Hee Woo, M.D.¹, Duck Jong Han, M.D.³, Heungsung Sung, M.D.² and Mi-Na Kim, M.D.²

Departments of Internal Medicine¹, Laboratory Medicine², and Surgery³, Asan Medical Center

University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

Nocardiosis is well-known opportunistic infection in immunocompromised patients. The timely diagnosis and treatment, however, is still a difficult problem. Recently, as newer molecular techniques, particularly 16S rRNA sequencing, are implemented, the diagnosis and management of the infection are improving. We report a case of lung abscess in a 39-year-old-man who underwent kidney transplantation. He was diagnosed of *Nocardia elegans* by 16S rRNA sequencing and was cured of the infection with appropriate antibiotic therapy.

Key Words : *Nocardia elegans*, Nocardiosis, Lung abscess

서론

노카르디아(*Nocardia* species)는 각종 면역저하 환자에서 기회 감염의 원인균으로 잘 알려져 있다(1, 2).

노카르디아 감염은 여러 장기를 침범할 수 있어 초기 증상이 다양하며, 임상 검체에서 균의 배양과 동정이 어려워 시기 적절한 진단과 치료가 쉽지 않다. 그러나 최근 수년간 분자생물학이 발달하면서 전세계적으로 25종 이상의 노카르디아가 새로 발견되었고, 분자생물학적 진단기술이 임상에도 도입되면서 노카르디아 감염의 진단과 치료는 새로운 전환점을 맞고 있다(3, 6).

국내에서는 이식 후 발생한 노카르디아 감염이 보고되어 왔으나 분리된 균종은 몇 가지 균종에 제한되었고 유전자 염기서열 분석에 의하여 균종을 정확히 확인한 경우는 많지 않았다. 저자들은 신장 이식 후에 발생한 *Nocardia elegans*에 의한 감염을 국내에서 처음 경험하였고 16S 리보솜 RNA 염기서열 분석을 통하여 균종을 조기에 확인하고 적

절히 치료하였기에 문헌 고찰과 함께 보고하는 바이다.

증례

환자 : 남자 39세

주소 : 내원 1개월 전 발생한 기침

현병력 : 환자는 6개월 전 만성 신부전으로 신장 이식을 받고 cyclosporine 200 mg 2회/일, mycophenolate mofetil 540 mg 2회/일, methylprednisolone 10 mg/일 복용 중이었다. 이식 후 *Pneumocystis jirovecii* 폐렴 예방 목적으로 trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMX) 160 mg/80 mg 주 3회 경구로 7개월째 복용 중이었다. 내원 1개월 전부터 기침, 전신 쇠약감, 근육통과 간헐적인 열감이 발생하여 시행한 흉부 방사선 사진에서 다발성 폐 종괴가 발견되어 입원하였다.

진찰 소견 : 입원 당시 활력징후는 혈압 150/102 mmHg, 체온 36.4℃, 맥박수 102회/분, 호흡수 20회/분이었다. 급성 병색을 보였으나 의식은 명료하였다. 심박동은 규칙적이었고 심잡음은 들리지 않았다. 호흡음은 정상이었으며 수포음이나 천명음은 들리지 않았다.

검사실 소견 : 일반혈액검사상 백혈구 9,500/mm³, 혈색소 15.0 g/dL, 혈소판 111,000/mm³이었고, C-반응단백은 69.8 mg/L로 증가되어 있었다. 생화학 검사 결과 혈청 총

Submitted 5 December, 2007 Accepted 11 February, 2008

Correspondence : Heungsung Sung, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, 388-1 Pungnap2-dong, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea
Tel : 82-2-3010-4499, Fax : 82-2-478-0884

E-mail : sung@amc.seoul.kr

단백 4.9 g/dL, 알부민 2.3 g/dL, 총 빌리루빈 1.4 mg/dL, AST/ALT 38/16 IU/L, 혈액요소질소 26 mg/dL, 크레아티닌 1.3 mg/dL, 혈당 130 mg/dL이었다.

방사선 소견 : 흉부 전산화 단층 촬영에서 양측 폐의 상엽에 종괴가 2개 있었다. 좌상엽엔 5 cm 크기의 공동을 형성한 종괴가 우상엽엔 공동이 없는 3 cm 크기의 종괴가 관찰되었다(Fig 1A). 중추신경계의 감염을 배제하기 위하여 뇌 자기공명영상 촬영을 시행하였으나 특이 소견은 없었다. 진단을 위해 우상엽의 종괴에 대해 경피적 세침 흡인술을 시행하여 흡인액을 얻었다.

미생물 검사 소견 : 흡인된 검체를 35℃, 5% CO₂의 호기성 조건에서 혈액 찬천 배지에 3일간 배양하였다. 1-2 mm 크기의 백색 또는 회백색을 띠고 표면이 거칠며 불규칙한 집락이 관찰되었고(Fig. 2A), 그람염색에서 염주알 모양의 그람 양성 막대균이 보였다(Fig. 2B). 항산균 염색 결과는 음성, modified Kinyoun 염색은 양성이었다. 생화학 검사상 catalase와 urease는 양성하였고, tyrosine, xanthine, casein 가수분해 검사는 음성이었다.

배양 결과에 따라 *Nocardia* species에 의한 감염으로 추정 진단하였고 순수 분리된 집락에서 GenElute Bacterial Genomic DNA 키트(Sigma, St. Louis, Mo, USA)로 DNA를 추출한 후 16S 리보솜 RNA의 519-1,146번째 염기 부위를 증폭하였다. 시발체의 염기서열은 519F 5'-CAGCAGC CGCGTAATAG-3', 1,146R 5'-GGGGCATGATGACT TGACGTC-3'이었으며, 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR) 조건은 기존 문헌을 따랐다(4). PCR 산물은 Power Gel Extraction kit (TaKaRa Bio Inc.,

Shiga, Japan)로 정제한 후 마크로젠(서울, 대한민국)에 의뢰하여 염기서열을 분석하였다. 이때 염기서열 분석은 ABI Prism BigDyeTM Terminator Cycle Sequencing Kit와 ABI Prism[®] 3700XL Analyzer (96 capillary type)을 이용하여 제조사의 지침에 따라 시행하였다. 얻어진 16S 리보솜 RNA 염기서열을 BLAST database(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>)와 비교한 결과 *N. elegans* IMMIB N-403 균주(GenBank accession no. AJ854058)와 650 bp 부위 전체(100%)가 일치하여 가장 높은 상동성을 보였다.

Mueller-Hinton agar에서 디스크 확산법으로 감수성 검사를 시행한 결과 erythromycin, imipenem, cefotaxime, amikacin, ampicillin, minocycline, amoxicillin/clavulanate에 감수성을 보였고, TMP/SMX, ciprofloxacin, ceftriaxone, gentamicin, tobramycin에 내성을 보였다(6). 환자 치료가 종료된 시점에서 Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) guideline에 따른 액체배지희석법으로 감수성 검사를 확인한 결과 TMP/SMX의 최소억제농도(minimum inhibition concentration, MIC)가 1/19 µg/mL로 감수성이었던 점을 제외하고는 디스크 확산법의 결과와 동일하였다(7).

치료 및 임상 경과 : 상기 소견으로 *N. elegans*에 의한 폐농양으로 진단하고 기존에 *P. jirovecii* 폐렴 예방 목적으로 사용 중이던 TMP/SMX를 노카르디아 감염의 치료 용량인 160 mg/80 mg 하루 2회 경구 투여로 증량하였고 더불어 amikacin 15 mg/kg/day을 병합하였다. TMP/SMX과 amikacin 병합 치료 1주째에 항균제 감수성 결과가 보고되었고 감수성 결과에 따라 TMP/SMX을 imipenem/

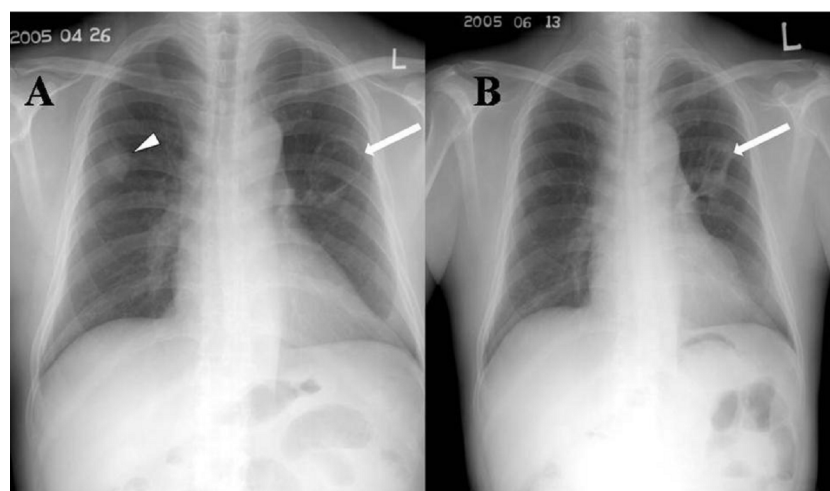


Fig. 1. (A) Initial chest radiograph showed hazy, irregular density in the RUL and a thin-walled cavitory lesion in the LUL. (B) Chest radiograph four weeks later following combination therapy with imipenem/cilastatin. The hazy density disappeared (arrow heads), and cavitory lesion decreased in size (arrow).

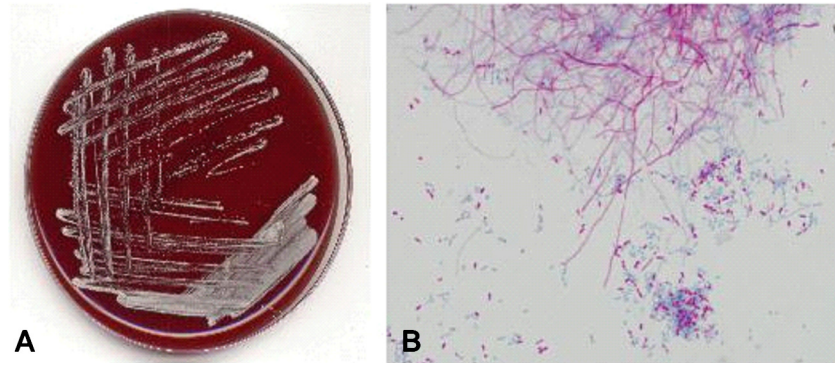


Fig. 2. (A) Colonial morphology of *Nocardia elegans* on a blood agar plate after three days of incubation. White-gray colonies with aerial hyphae have grown on the plate. (B) Modified Kinyoun stain from a blood agar plate after three days of incubation; many long-branching forms were stained positive for modified acid-fast. Some coccal forms are also present.

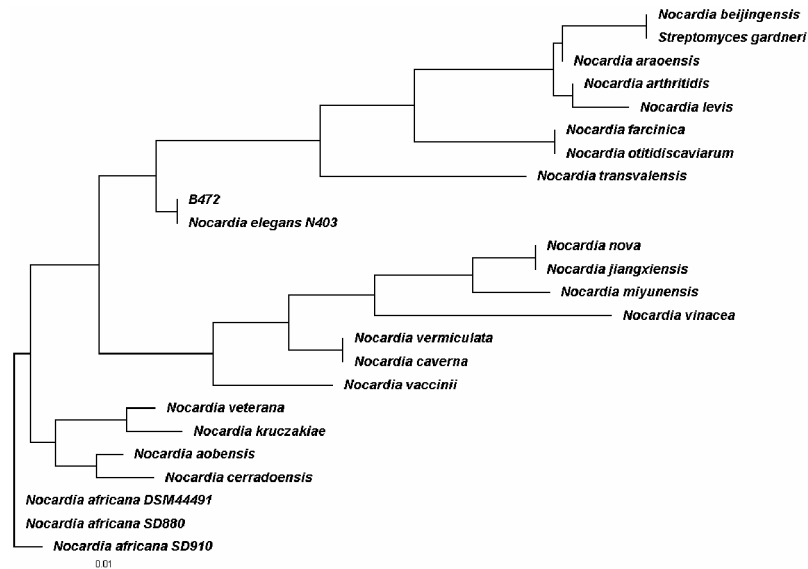


Figure 3. Unrooted tree showing the phylogenetic relationships of the current isolate (B472) and the closely related *Nocardia* species. The tree constructed using the neighbour-joining method based on a comparison of 650 nucleotides. A scale of "0.1" indicates 0.1 nucleotide substitutions per site.

cilastatin 250 mg q 6hr으로 교체하여 3주간 병합 치료하였다. 이후 증상 및 방사선 소견이 호전되었으며(Fig. 1B), amoxicillin/clavulanate 750 mg 하루 3회 경구로 교체하여 1년간 복용 후 치료 종결하였다. 치료 종결 후 현재까지 1년간 재발 없이 외래 경과 관찰 중이다.

고 찰

노카르디아는 호기성 방선균 중 가장 흔하게 감염을 일으키는 염주알 모양의 그람 양성 막대균이다. 주로 장기간 스테로이드 치료를 받은 환자, 악성 종양 환자, 선천성 면

역 결핍증 환자, 이식 환자와 같이 면역 기능이 저하된 환자에서 감염을 일으킨다(1, 2). 국내에서는 이식 환자, 특히 신이식 환자들에서 발생한 예가 많았다.

이식 환자에서 노카르디아 감염의 위험 인자로는 고용량의 스테로이드 치료를 받은 경우, 거대세포바이러스 질환이 있었던 경우, calcineurin inhibitor의 평균 혈중 농도가 높은 경우(tacrolimus >15 µg/mL, cyclosporine >300 ng/mL) 등이 알려져 있다(8). 본 증례의 경우는 진단 당시 cyclosporine 혈중 농도가 945 ng/mL로 높게 유지되고 있었다.

노카르디아는 주로 폐를 침범하고, 그 외에 중추신경계,

피부도 침범할 수 있다(2, 8). 폐를 침범할 경우 다양한 방사선 소견을 보이며 급성, 아급성, 만성 of 다양한 임상양상으로 발현할 수 있어 폐결핵이나 침습성 진균 감염으로 오인하는 경우가 흔하다.

노카르디아 감염은 균 배양이 까다로워서 진단이 늦지는 경우가 많다. 더욱이 생화학적 방법으로 균종을 구분하기가 어려워 균종을 동정하지 못하거나 잘못 동정할 수도 있다. 그러나 최근 분자생물학의 발달로 유전자 수준에서 50종 이상의 *Nocardia* spp.가 비교적 정확하게 동정이 가능해졌고, 이에 따라 새로운 균종들이 속속 발견되고, 이들의 인체 감염 증례도 늘고 있다(3, 6). *N. elegans*도 이러한 분자생물학적 진단 기술의 발달로 폐감염이 의심되는 환자의 객담에서 2005년 독일에서 처음 발견되었다. 생화학적으로 acetate만을 에너지원으로 사용하기 때문에 영양분 요구가 까다롭다는 측면에서 *N. elegans*로 명명되었고, DNA 교잡법(hybridization)에 의하여 새로운 균종으로 확인되었다(9). 이후 일본에서 기관지염이 있는 46세 여환의 객담에서 *N. elegans*를 분리하였고 16S 리보솜 RNA 염기서열 분석을 이용하여 균이 동정되었다. 독일과 일본의 두 증례가 객담에서 균을 분리하여 *Nocardia*가 폐 감염을 일으킨 주된 병원균인지 불확실한 반면, 본 증례의 경우는 폐 병변에서 검체를 획득하여 *N. elegans*가 침습적인 폐 감염을 유발한 확실한 증례로 생각된다.

본 증례의 경우도 일본에서 보고된 *N. elegans*의 경우와 같이 16S 리보솜 RNA 염기서열 분석을 통하여 원인균을 동정하였다. 얻어진 16S 리보솜 RNA 염기서열을 BLAST database와 비교한 결과 *N. elegans*와 650 bp 부위 전체(100%)가 일치하여 가장 높은 상동성을 보였고, 다음으로는 *N. africana* DSM 44491 (AY089701)과 650 bp 중 645 bp (99.2%)가 일치하였으며, *N. vermiculata* (AB126873)와 651 bp 중 643 bp (98.8%)가 일치하였다. 염기서열 유사성이 높은 *Nocardia* spp. 20종을 대상으로 neighbour-joining 방법으로 clustalW 프로그램(<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/>)을 사용하여 계통발생학적 분석을 시행하였으며(Fig. 3), 생화학적 반응과 함께 *N. elegans*로 동정할 수 있었다. 다만 본 증례의 경우는 세균 동정에 일반적으로 사용되는 16S 리보솜 RNA의 첫 500 bp 부위가 아닌 650 bp 부위를 사용하였다. *N. elegans*의 16S 리보솜 RNA 첫 500 bp 부위는 *N. africana*, *N. veterana* 등과 1 bp만 차이가 있으나 650 bp 부위는 *N. elegans*와 가장 유사성이 높은 *N. africana*와도 적어도 5 bp 이상 차이가 있어 동정에 유용하기 때문이다. 노카르디아 감염은 균종별로 항균제 감수성 양상이 달라 항균제 감수성 양상으로 균종을 구별하려는 시도가 있었다(10).

그러나 새로운 균종들이 밝혀지고 재분류되면서 같은 항균제 감수성 양상을 보이는 균종도 많아 항균제 감수성 양상만으로 균종을 동정하는 데는 한계가 있다. 따라서 노카르디아 감염이 의심되는 환자는 항균제 감수성 검사와 더불어 본 증례와 같이 분자 생물학적 방법에 의한 균 동정이 중요하다.

노카르디아 폐 감염의 초기 치료는 주사제로 임상적 호전이 있을 때까지 3-6주간 병합 용법 후 호전을 보이면 항균제 감수성 결과에 따라 단일 경구 약제로 전환할 수 있다. 초기 병합 요법에는 TMP/SMX을 포함하여 amikacin, ampicillin/sulbactam, imipenem, meropenem, ceftriaxone, ceftotaxime 등을 사용할 수 있다. 적절한 항균 요법이 시작된 후 임상적인 호전은 대개 2주 안에 일어나며 이후에도 증상이 지속되거나 병변이 진행하면 치료 실패를 고려하여 약제 내성이나 외과적 배농이 필요한 병변 유무를 확인하여야 한다. *N. elegans*의 치료 경험에 대한 보고는 전 세계적으로 아직까지 없었으며(9, 11) 저자들은 일반적으로 알려진 TMP/SMX와 amikacin으로 경험적 치료를 시작하였다. 국내에서 보고된 노카르디아 감염은 TMP/SMX에 대부분 반응이 좋았으나, 본 증례의 경우는 1주간의 TMP/SMX, amikacin 치료에 임상적으로 반응이 없었고 디스크 확산법에 의한 항균제 감수성 또한 내성을 보여 감수성 결과에 따라 항균제를 변경하였다. 그러나 본 증례의 균주는 TMP/SMX에 대한 액체배지희석법 결과 감수성으로 확인되었기 때문에 *Nocardia* spp.에 의한 감염의 적절한 치료를 위해 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)에서 제시하는 액체배지희석법에 의한 감수성 검사가 필요할 것으로 판단하였다(7).

치료의 기간에 대하여 정해진 바는 없으나 노카르디아 폐 감염의 경우는 최대 용량으로 적어도 6주 또는 임상적 호전을 보일 때까지 치료 후 유지 용량으로 6-12개월 치료한다. 그러나 면역기능이 저하되어 있을 경우는 적어도 1년 이상의 치료 기간이 필요하다(2). 본 증례의 경우도 1년간 치료를 시행하였다.

면역 억제제를 복용하고 있는 경우에는 면역 억제제를 중단하는 것이 가장 좋지만 이식 환자와 같이 면역 억제제를 중단할 수 없는 경우에는 면역 억제제 용량을 줄이는 것이 좋다. 본 증례에서는 복용 중이던 cyclosporine을 400 mg/일에서 150 mg/일로 감량하였다.

결론적으로 본 증례는 *N. elegans*에 의한 폐농양의 임상 양상과 치료 경험을 보고한 세계 첫 증례로서, 16S 리보솜 RNA 염기서열 분석을 통해 정확한 균종을 동정하였고 항균제 감수성 결과에 따라 적절히 치료하였기에 문헌 고

찰과 함께 보고하는 바이다.

요 약

노카르디아는 면역 저하 환자에서 발생하는 기회 감염균으로 배양과 균 동정이 복잡하기 때문에 시기 적절한 진단과 치료가 어려울 때가 흔하다. 그러나 최근 16S 리보솜 RNA 염기서열 분석과 같은 새로운 분자생물학적 방법이 도입되면서 노카르디아 감염의 진단과 치료에 많은 도움이 되고 있다. 저자들은 신이식을 받은 39세 남자에서 발생한 *N. elegans*에 의한 폐농양을 경험하였기에 보고하는 바이다. 환자는 항균제 감수성 결과에 따라 적절한 항균제로 치료하였고, 치료 종료 후 1년 동안 재발 없이 외래 경과 관찰 중이다. 본 증례를 통하여 이식 환자와 같은 면역 저하 환자에서 노카르디아 감염의 가능성을 고려하여야 하겠고 분자생물학적 방법에 의한 빠른 균 동정과 적절한 항균제 치료가 중요함을 기억하여야 하겠다.

참 고 문 헌

- 1) Beaman BL, Burnside J, Edwards B, Causey W: *Nocardial infections in the United States, 1972-1974. J Infect Dis* 134:286-9, 1976
- 2) Lerner PI: *Nocardiosis. Clin Infect Dis* 22:891-903, 1996
- 3) Wellinghausen N, Pietzcker T, Kern WV, Essig A, Marre R: *Expanded spectrum of Nocardia species causing clinical nocardiosis detected by molecular methods. Int J Med Microbiol* 292:277-82, 2002
- 4) Relman DA: *Universal bacterial 16S rRNA amplification and sequencing, In: Persing DH, Smith TF, Tenover FC, White TJ, eds. Diagnostic molecular microbiology principles and applications. 1st ed. p 489-95. Washington DC, ASM Press, 1993*
- 5) Woo PC, Ng KH, Lau SK, Yip KT, Fung AM, Leung KW, Tam DM, Que TL, Yuen KY: *Usefulness of the MicroSeq 500 16S ribosomal DNA-based bacterial identification system for identification of clinically significant bacterial isolates with ambiguous biochemical profiles. J Clin Microbiol* 41:1996-2001, 2003
- 6) Nolte FS, Caliendo AM: *Molecular detection and identification of microorganisms, In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yoken RH, eds. Manual of clinical microbiology. 9th ed. p 218. Washington DC, ASM Press. 2007*
- 7) National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): *Susceptibility testing of mycobacteria, Nocardiae, and other aerobic actinomycetes: Approved Standard. NCCLS document M24-A, Wayne, Pennsylvania, USA., NCCLS 2003*
- 8) Peleg AY, Husain S, Qureshi ZA, Silveira FP, Sarumi M, Shutt KA, Kwak EJ, Paterson DL: *Risk factors, clinical characteristics, and outcome of Nocardia infection in organ transplant recipients: a matched case-control study. Clin Infect Dis* 44:1307-14, 2007
- 9) Yassin AF, Brenner S: *Nocardia elegans sp. nov., a member of the Nocardia vaccinii clade isolated from sputum. Int J Syst Evol Microbiol* 55:1505-9, 2005
- 10) Goodfellow M, Orchard VA: *Antibiotic sensitivity of some nocardioform bacteria and its value as a criterion for taxonomy. J Gen Microbiol* 83:375-87, 1974
- 11) Watanabe K, Shinagawa M, Amishima M, Iida S, Yazawa K, Kageyama A, Ando A, Mikami Y: *First clinical isolates of Nocardia carneae, Nocardia elegans, Nocardia paucivorans, Nocardia puris and Nocardia takedensis in Japan. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* 47:85-9, 2006
- 12) Agterof MJ, van der Bruggen T, Tersmette M, ter Borg EJ, van den Bosch JM, Biesma DH: *Nocardiosis: a case series and a mini review of clinical and microbiological features. Neth J Med* 65:199-202, 2007
- 13) Munoz J, Mirelis B, Aragon LM, Gutierrez N, Sanchez F, Espanol M, Esparcia O, Gurgui M, Domingo P, Coll P: *Clinical and microbiological features of nocardiosis 1997-2003. J Med Microbiol* 56:545-50, 2007
- 14) Simpson GL, Stinson EB, Egger MJ, Remington JS: *Nocardial infections in the immunocompromised host: A detailed study in a defined population. Rev Infect Dis* 3:492-507, 1981
- 15) Beaumont RJ: *Trimethoprim as a possible therapy for nocardiosis and melioidosis. Med J Aust* 2:1123-7, 1970
- 16) Choucino C, Goodman SA, Greer JP, Stein RS, Wolff SN, Dummer JS: *Nocardial infections in bone marrow transplant recipients. Clin Infect Dis* 23:1012-9, 1996