

분자유전학적 방법으로 확진된 *Scedosporium apiospermum* 각막염 1예

윤서영 · 김신영 · 이경아 · 김희정

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실

A Case of *Scedosporium apiospermum* Keratitis Confirmed by a Molecular Genetic Method

Seoyoung Yoon, M.D., Sinyoung Kim, M.D., Kyung-A Lee, M.D., and Heejung Kim, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

A 54-yr-old male, who was treated by chemotherapy for gastric cancer 15 months ago, presented to Yongdong Severance Hospital, Seoul, with complaints of pain in his right eye caused by a foreign body from the ground in the previous week. He had been treated with topical and oral antibacterial in addition to antifungal agents, but did not show significant clinical improvement. After a positive corneal culture with mold, topical amphotericin B was added to the initial regimen. The mold was identified as *Scedosporium apiospermum* by macroscopic and microscopic morphologies and the nucleotide sequences of a fungal PCR product showing 99% homology with those of *S. apiospermum* (EF151349). He recovered with good results at 25 days after corneal epithelial debridement. The early diagnosis of *S. apiospermum* keratitis is very important for proper treatment. It is recommended that molecular diagnostic methods such as fungal PCR and sequencing be done with conventional cultures whenever a fungal infection is suspected. (*Korean J Lab Med* 2008;28:307-11)

Key Words : *Scedosporium apiospermum*, Fungal keratitis, Fungal PCR

서 론

Scedosporium 균속은 자연환경 내에 널리 분포하여 토양이나 오염된 물에서 흔히 분리되는 사상균으로, 이 중 *S. apiospermum*과 *S. prolificans*의 두 가지 균종이 주로 인체 내 감염을 유발한다. *S. apiospermum*은 흑색 사상균이며 ascomycota인 *Pseudallescheria boydii*의 무성세대로 알려져 있으며 *S. prolificans*와는 형태학적 특성과 cycloheximide에의 성장 억제 유무 등으로 감별된다. 이들 균종은 과거 결핵 감염력이 있거

나 기관지확장증으로 인한 폐 손상이 있는 환자의 호흡기 내에 상재하여 진균증을 형성하거나, 손상된 피부나 연조직의 국소감염을 유발할 수 있다[1, 2]. 파종성 감염은 주로 면역 기능이 약화된 자에서 발생하며, 국내에서도 간 이식 후 발생한 *S. apiospermum*의 파종성 감염으로 사망에 이른 보고가 있다[3]. 궤양성 각막염의 6-53%는 진균에 의해 발생하고 *Fusarium solani*, 그 외의 *Fusarium* 종, *Aspergillus* 종, 그리고 *Curvularia* 종이 흔한 원인균이며, *S. apiospermum*에 의한 각막염은 매우 드물다[4, 5]. 이에 저자들은 위암으로 항암요법을 받은 적이 있는 54세 남자에게 발생한 *S. apiospermum* 각막염 1예를 분자유전학적 방법으로 진단하고 문헌 고찰과 함께 보고하는 바이다.

접 수 : 2008년 3월 26일 접수번호 : KJLM2126
수정본접수 : 2008년 5월 8일
게재승인일 : 2008년 5월 8일
교신저자 : 김희정
우 449-930 경기도 용인시 처인구 역북동 405
연세의료원 용인세브란스병원 진단검사의학과
전화 : 031-331-8755, Fax : 031-335-5551
E-mail : hjkim12@yuhs.ac

증례

54세 남자환자가 내원 2일 전 콘크리트 이물이 우안에 들어

간 이후부터 생긴 통증을 주소로 개인병원을 방문하였다. 환자는 15개월 전 위암으로 근치위부분절제술과 위십이지장연결술을 받고 6차례 항암화학요법을 받은 병력이 있었고 최근 건강한 상태로 지내고 있었다. 개인병원에서 경구용 항균제와 ofloxacin 점안액을 투여받았으나 증상이 호전되지 않아 2007년 11월 영동세브란스병원 안과 외래에 내원하였다.

내원 당시 시행한 이학적 검사상 나안 시력과 안압은 양안 모두 정상이었고, 우안에 중등도의 결막 충혈이 있었으며 세극등 검사상 각막 중앙 하부에 2.5×2.5 mm 크기의 궤양, 깃털상 간질 침윤이 주변부 부종과 함께 관찰되었다. 환자 병력과 임상 양상을 근거로 화학물질로 의한 2차 변성에 따른 궤양으로 판단

하였고 각막 궤양 부위의 세균 및 진균 배양을 시행한 후에 경험적으로 levofloxacin 점안액과 cefixime, flumarin, cefazolin 경구 항균제, itraconazole을 경구 투여하였다. 치료 3일째까지 환자 상태가 호전되지 않았고, 배양 검사상 사상균이 보고되어 amphotericin B 점안액을 추가하였다.

각막 궤양의 찰과 표본 검체는 혈액 한천, 초콜릿 한천, thio-glycollate 증균 배지에 접종하여 35°C에서 배양하였고, Sabouraud dextrose 한천에 접종하여 30°C에 배양하였다. 배양 3일 후 혈액 한천과 Sabouraud dextrose 한천에서 연한 회색의 솜털 같은 집락을 관찰하였다(Fig. 1). 집락은 시간이 지남에 따라 진한 회색으로 변하였고 배지 뒷면은 회색에서 회갈색으

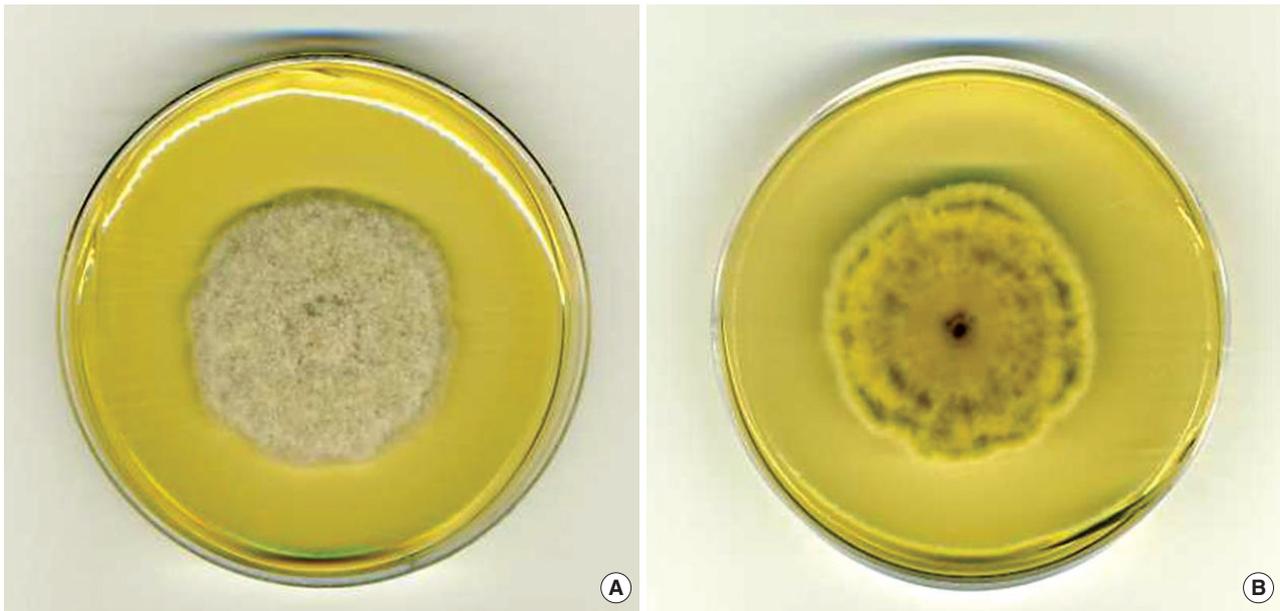


Fig. 1. Dark gray colored cottony colony on Sabouraud dextrose agar after incubation for 2 weeks at 30°C; front (A), back (B).

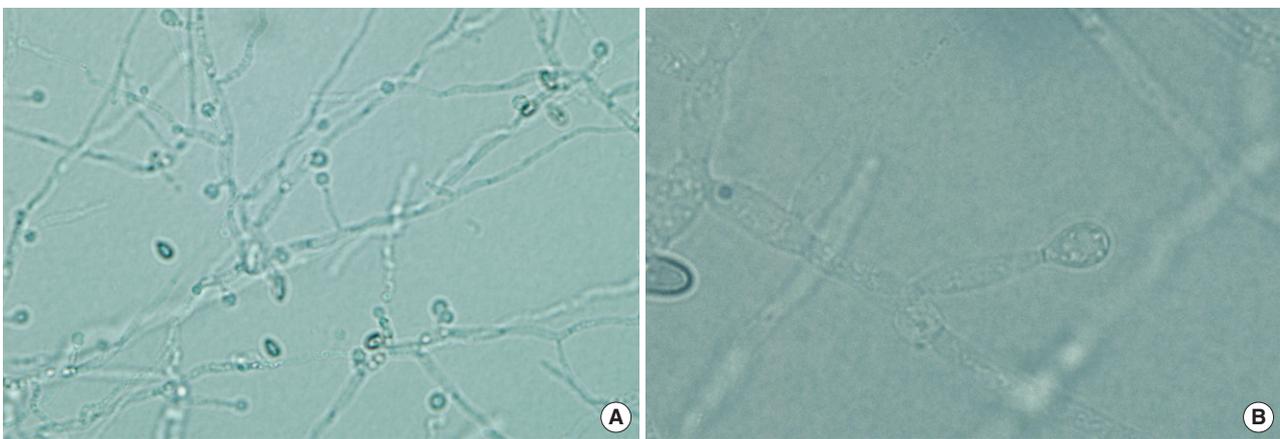


Fig. 2. Microscopic morphology of *Scedosporium apiospermum* showing septate hyphae with simple long and short conidiophores (A). Conidiophore with annellation and solitary oval conidium (B) (Lactophenol cotton blue stain, (A) × 400, (B) original magnification × 1,000).

로 변화하였다. 집락은 lactophenol cotton blue 염색을 시행하여 격벽이 분명한 균사, 길고 가는 분생자병(conidiophore), 환상대(annellide)와 난원형의 분생포자(conidia)를 확인하였으며 자낭과(ascomata)는 관찰할 수 없었다. 환상대는 균사와 분생자병의 끝에 위치하였고, 분생포자는 한쪽 끝이 좁아지다 갑자기 잘린 모양(truncated)으로 환상대의 끝에 하나 혹은 몇 개씩 붙어있거나, 균사에서 직접 나오기도 하였다(Fig. 2). 이러한 형태학적 특성과 cycloheximide에 의해 성장이 억제되지 않는 점, 25°C에서 3주간 배양한 이후에도 유성생식기의 특징이 나타나지 않은 점 등으로 미루어 *S. apiospermum*으로 동정하였다[2]. 분자생물학적 동정을 위하여 White 등[6]의 방법으로 PCR을 시행하였다. 간단히 살펴보면, 집락에서 핵산을 추출한 후, internal transcribed spacer (ITS) 부위 시발체(ITS1, 5'-TCCG-TAGGTGAACCTGCGG-3'; ITS4, 5'-TCCTCCGCTTATT-GATATGC-3')를 이용하여 ITS-1, 5.8S rRNA와 ITS-2 부분을 증폭하여 520 bp의 증폭산물을 얻었다. PCR 증폭산물의 염기순서를 분석한 결과 *S. apiospermum*의 염기순서(EF151349)와 99% 일치율을 보였다.

치료 7일째 환자의 우안 궤양에 간질 침윤은 감소하였으나 상피 부종은 심해져서, 치료 10일째에 상피 죽은조직제거술을 시행하였다. 이후 amphotericin B 점안액, natamycin 점안액과 경구 itraconazole을 25일간 계속 사용하여 점차 호전되었다.

고 찰

*S. apiospermum*에 의한 각막염은 매우 드물어, 1994년 미국 남부 지역에서 발생한 125예의 진균성 각막염 중 1예(0.8%)만이 *S. apiospermum*에 의한 것으로 보고하였다[5, 7, 8]. 또한 1999년부터 6년간의 중국 북부지역에서 배양으로 확인된 1,056예의 감염성 각막염 중 진균에 의한 각막염은 596예(56.4%)였으며, *S. apiospermum*에 의한 각막염은 5예(0.8%)에 불과하였다[9]. 1995년에서 2000년까지 국내에서 시행된 다기관 연구에서 원인균이 규명된 698예의 감염성 각막염 중 진균성 각막염이 82예(11.7%)였고 그 중 *S. apiospermum*은 1예였다[10].

S. apiospermum 각막염은 식물이나 유기물 등에 의한 외상 이후 2차적으로 발생하거나 반복되는 헤르페스성 각막염에 동반될 수 있고, laser-assisted in situ keratomileusis 등의 안과적 시술 이후에도 발생하는 것으로 보고된다[11, 12]. 본 증례의 환자는 15개월 전 위암으로 수술과 항암화학요법을 받아 면역기능의 저하가 있을 것으로 예상되며, 이후에 토양에서 유래

한 이물질에 의한 외상으로 인해 각막염이 발생한 것으로 추측된다. 진균성 각막염은 육안적으로 각막 상피와 전방의 과립성 침윤이 특징이다. 진단을 위해서 각막의 찰과 표본을 이용한 염색, 배양, 생검, fluorescein-conjugated lectins, chitin assay, PCR 등의 방법이 이용된다[13-15]. *S. apiospermum*은 형태학적으로 격벽이 있는 유리질의 균사가 가지를 치는 형태를 보이며 hematoxylinophilic한 것이 다른 사상균과의 차이점이다. 분생포자가 투명한 갈색이고 타원형인 것이 특징이며 비선택적 배지에서 37°C에서 2-4일 이내에 육안적으로 형태를 확인할 수 있을 만큼 성장한다. 또한 *P. boydii*와는 25°C에서 3주간 배양 시 유성생식기의 특징이 나타나지 않는다는 점이 구분되며 cycloheximide를 함유한 배지에서 성장이 억제되지 않는 점이 *S. prolificans*와 구분되는 점이다. 확진을 위하여서는 혈청학적 방법이 없어 대부분 배양 검사에 의존하였으나 최근에는 분자유전학적 방법을 사용하는 것이 권장된다[1]. 분자유전학적 동정 방법은 전통적인 진균 동정 방법과 일치율이 높으며, 배양 검사가 3-4일의 시간이 걸리는 것에 비하여 짧은 시간 내에 동정이 가능한 것이 장점으로 여겨지고 있다. 그러나 검사 방법의 표준화와 기준 염기순서에 대한 정보가 부족한 점 등이 제한점이다[16].

*S. apiospermum*에 의한 각막염의 치료는 경험적으로 바이러스성 혹은 세균성 원인에 대한 치료가 선행되고, 조기 병원체의 규명이 쉽지 않아 성공률은 낮은 편이다[5]. 그러나 각막 천공 등의 경우에 *S. apiospermum*이 동정되는 경우가 많아 빠른 진단이 필수적이다[7].

Scedosporium 균속은 항균제에 대한 내성이 많은 것으로 알려져 있는데 *S. prolificans*가 *S. apiospermum*보다 더 많은 항균제 내성을 나타낸다[17]. *S. apiospermum*은 대개 fluconazole, flucytosine에 내성이고, amphotericin B, itraconazole과 ketoconazole에는 다양한 감수성을 보이며 miconazole에는 감수성이다[18]. 또한 voriconazole의 사용이 *S. apiospermum* 각막염에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 각막염을 포함한 *S. apiospermum* 감염의 적합한 치료법은 지금까지 확립된 것은 없으나, 수술적 치료와 약물 치료를 병용하는 것이 도움이 된다는 보고가 있다[19, 20]. 본 예에서도 amphotericin B 점안액, natamycin 점안액과 경구 itraconazole의 약물 치료와 함께 죽은조직제거술을 실시하여 증상이 호전되었다. 본 저자들은 각막 궤양의 찰과 표본 배양에서 *S. apiospermum*을 검출, 동정하였고, 분자유전학적 방법으로 이를 증명한 첫 예로 보고하는 바이다.

요 약

15개월 전 위암으로 항암 치료를 받은 병력이 있는 54세 남자가 내원 1주 전 땅에서 유래한 콘크리트 이물이 우안에 들어가 생긴 통증으로 영동세브란스병원에 내원하였다. 항생제 점안액과 경구 항생제, 항진균제를 사용하였으나 호전이 없었다. 배양 결과 사상균이 분리되어 amphotericin B 점안액을 추가로 사용하였다. 형태학적인 특징과 중합효소연쇄반응산물의 염기순서 분석결과 *S. apiospermum*의 염기순서(EF151349)와 99% 일치율을 보였다. 이후 죽은조직제거술을 시행하였으며 내원 25일째 경과가 호전되었다. *S. apiospermum* 각막염의 신속한 진단은 치료에 매우 중요하다. 임상적으로 진균 감염이 의심될 경우 진균 배양과 병행하여 중합효소연쇄반응과 염기순서 분석과 같은 분자 진단 방법을 시행하여 진균 검출 및 동정을 시행하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Verweij PE and Brandt ME. *Aspergillus, Fusarium, and other opportunistic moniliaceous fungi*. In: Murray PR, Baron EJ, et al. eds. Manual of clinical microbiology. 9th ed. Washington DC: ASM press, 2007:1821-2.
2. Cortez KJ, Roilides E, Quiroz-Telles F, Meletiadis J, Antachopoulos C, Knudsen T, et al. Infections caused by *Scedosporium* spp. Clin Microbiol Rev 2008;21:157-97.
3. Chung JW, Park SJ, Sung H, Kim MN, Kim BS, Lee SG. A case of disseminated infection due to *Scedosporium apiospermum* in a liver-transplantation recipient. Korean J Lab Med 2005;25:421-4. (정재우, 박숙자, 성홍섭, 김미나, 김범수, 이승규. 간 이식 후 발생한 *Scedosporium apiospermum* 파종성 감염 1예. 대한진단검사의학회지 2005;25:421-4.)
4. Thomas PA. Mycotic keratitis--an underestimated mycosis. J Med Vet Mycol 1994;32:235-56.
5. Wu Z, Ying H, Yiu S, Irvine J, Smith R. Fungal keratitis caused by *Scedosporium apiospermum*: report of two cases and review of treatment. Cornea 2002;21:519-23.
6. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, et al. eds. PCR protocols: A guide to methods and applications. San Diego: Academic Press, 1990:315-22.
7. Diaz-Valle D, Benitez del Castillo JM, Amor E, Toledano N, Carretero MM, Diaz-Valle T. Severe keratomycosis secondary to *Scedosporium apiospermum*. Cornea 2002;21:516-8.
8. Rosa RH Jr, Miller D, Alfonso EC. The changing spectrum of fungal keratitis in south Florida. Ophthalmology 1994;101:1005-13.
9. Xie L, Zhong W, Shi W, Sun S. Spectrum of fungal keratitis in north China. Ophthalmology 2006;113:1943-8.
10. Hahn YH, Hahn TW, Tchah H, Choi SH, Choi KY, Kim KS, et al. Epidemiology of infectious keratitis (II): a multi-center study. J Korean Ophthalmol Soc 2001;42:247-65. (한영호, 한태원, 차홍원, 최시환, 최기용, 김기산 등. 감염성 각막염의 역학조사(II): 다병원연구. 대한안과 학회지 2001;42:247-65.)
11. Ksiazek SM, Morris DA, Mandelbaum S, Rosenbaum PS. Fungal panophthalmitis secondary to *Scedosporium apiospermum* (*Pseudallescheria boydii*) keratitis. Am J Ophthalmol 1994;118:531-3.
12. Moshirfar M, Welling JD, Feiz V, Holz H, Clinch TE. Infectious and noninfectious keratitis after laser in situ keratomileusis occurrence, management, and visual outcomes. J Cataract Refract Surg 2007;33:474-83.
13. Robin JB, Arffa RC, Avni I, Rao NA. Rapid visualization of three common fungi using fluorescein-conjugated lectins. Invest Ophthalmol Vis Sci 1986;27:500-6.
14. Lamps CA, Oeltmann TN, Collins MJ Jr., Robinson RD, Logan RA, Head WS, et al. Development of a chitin assay for the quantification of fungus. Curr Eye Res 1995;14:637-41.
15. Okhravi N, Adamson P, Mant R, Matheson MM, Midgley G, Towler HM, et al. Polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism mediated detection and speciation of *Candida* spp causing intraocular infection. Invest Ophthalmol Vis Sci 1998;39:859-66.
16. Mancini N, Ossi CM, Perotti M, Carletti S, Gianni C, Paganoni G, et al. Direct sequencing of *Scedosporium apiospermum* DNA in the diagnosis of a case of keratitis. J Med Microbiol 2005;54:897-900.
17. Meletiadis J, Meis JF, Mouton JW, Rodriguez-Tudela JL, Donnelly JP, Verweij PE. In vitro activities of new and conventional antifungal agents against clinical *Scedosporium* isolates. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:62-8.
18. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard M38-A. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.
19. Nesky MA, McDougal EC, Peacock Jr JE. *Pseudallescheria boydii* brain abscess successfully treated with voriconazole and surgical

drainage: case report and literature review of central nervous system pseudallescheriasis. Clin Infect Dis 2000;31:673-7.

20. Linares Sicilia MJ, Santos Lacomba M, Solis Cuesta F, SanchezPe-

draza R, Nievas Gomez T, Casal Roman M. *Scedosporium apiospermum* keratitis. Rev Iberoam Micol 2003;20:68-70.