

Colletotrichum species에 의한 진균성 각막염 1예

송상훈¹, 박준정², 신교선¹, 주세익¹, 이광자², 이규원², 이 현¹, 김의중¹

서울대학병원 진단검사의학과¹, 제일안과병원²

*Colletotrichum*은 주로 식물에 진균증을 유발하는 병원체이나 최근 인체 감염증이 산발적으로 보고되고 있는데 그 대부분이 진균성 각막염으로 전세계적으로 아주 드물게 보고되고 있다. 63세 여자 환자가 벼 잎사귀에 의한 외상 후 좌안의 이물감과 눈물흘림이 발생하였다. 내원 당시 시력이 감소되어 있었고 세극등검사(slit lamp examination)에서 각막 궤양과 전방(anterior chamber)의 염증 소견을 보였다. 그림염색에서는 다수의 균사가 보였고 진균배양검사에서는 컵모양의 자실체(acervuli)와 낫모양의 중격이 없는 분생포자(conidia)를 가지고 빠르게 자라는 사상균이 관찰되었다. 28S rDNA D1-D2 domain 염기서열분석으로 *Colletotrichum species*로 동정되었다. 환자는 amphotericin과 natamycin 점안액으로 치료되었으나 급성 녹내장이 합병되었다. 본 증례는 우리나라에서 최초로 보고하는 *Colletotrichum*에 의한 각막염으로 향후 진균성 각막염의 감별시 다른 진균들과 함께 고려해야 함을 시사한다.

서 론

각막염은 안구 질환과 실명의 흔한 원인이다. 특히 농업 중심으로 하는 개발도상국에서는 외상에 의한 각막 궤양 및 동반된 감염은 실명의 중요한 원인이 된다[1]. 따라서 감염의 원인을 조기에 발견하여 적절한 치료를 함으로써 전방축농(hypopyon), 실명과 같은 합병증을 예방할 수 있다.

진균에 의한 각막염은 전세계적으로 발생하나 주로 열대지방과 아열대지방에서 발생하며 세균에 의한 각막염과 마찬가지로 적절한 치료를 하지 않으면 심한 시력 손실이나 실명을 일으킬 수 있다. 각막염의 원인이 되는 진균들 중에서 *Fusarium*과 *Aspergillus*가 가장 흔한 원인균이나 *Curvularia*나 *Acremonium* 등의 다른 진균들도 각막염을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있다[2,3]. 국내의 경우 한 대학병원에서 조사한 바에 의하면 총 14예의 진균성 각막염에서 *Fusarium species* (5예)와 *Alternaria species* (5예)가 가장 흔하게 동정되었으나 *Aspergillus flavus*, *Curvularia species*, *Acremonium species*도 1예씩 동정되었다[4]. 이 중 11예(78.6%)에서 각막 외상의 병력이 있었고 10예(71.4%)는 농부 또는 옥외 노동자였다. 또한 22개 대학병원에서 1995년에서 1999년까지 진균성 각막염 환자를 대상으로 역학조사한 바에 의하면 *Fusarium* (29.0%),

Aspergillus (24.6%), *Candida* (15.9%), *Alternaria* (10.1%), *Acremonium* (5.8%) 등이 분리되었고 40세 이상, 직업이 농업, 당뇨 환자에서 유의하게 높은 발병률을 보였다[5].

이러한 진균성 각막염 중 *Colletotrichum*에 의한 각막염은 현재까지 전세계적으로 30 증례 내외로 매우 드물게 보고되고 있으며 국내에서는 아직까지 보고된 바 없다. 저자들은 63세 여자 농부의 좌안에서 벼 잎사귀에 의한 외상 후 발병한 *Colletotrichum species*에 의한 각막염 1예를 국내에서 처음으로 경험하였기에 문헌 고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

이전에 건강하던 63세 여자 환자가 내원 2주 전에 벼 잎사귀에 좌안의 외상을 당했다. 내원 1주 전부터 인근 안과 의원 방문하여 각막궤양으로 진단받고 항생제 점안하였으나 증상이 악화되어 좌안의 이물감과 눈물흘림을 주소로 안과병원으로 전원하였다. 환자는 과거력상 특이 소견은 없었고 입원 당시 시행한 내과적 검사에서도 특이 소견은 발견되지 않았다.

내원 당시 환자의 우안 나안 시력은 1.0, 좌안 나안 시력은 0.4로 감소되어 있었고 좌안에서 시행한 세극등검사(slit lamp examination)에서 좌안의 각막궤양과 전방(anterior chamber)의 염증 소견이 관찰되었다(Fig. 1A). 이에 세균성 또는 진균성 각막 궤양을 의심하여 도말검사와 세균 및 진균 배양검사를 시행하였으며, fortified vancomycin 5% 점안액 및 ofloxacin 안연고, amphotericin 0.125% 점안액, atropine 1% 점안액으로 국소 치료를 시작하였고 ofloxacin 100mg tid 및 itraconazole 100mg bid 경

접 수 일: 06/3/17 게재승인일: 06/5/3

교신저자: 김의중

(110-744)서울시 종로구 연건동 28번지

서울대학병원 진단검사의학과

TEL: (02)2072-3500 FAX: (02)764-3698

E-mail: euichong@snu.ac.kr

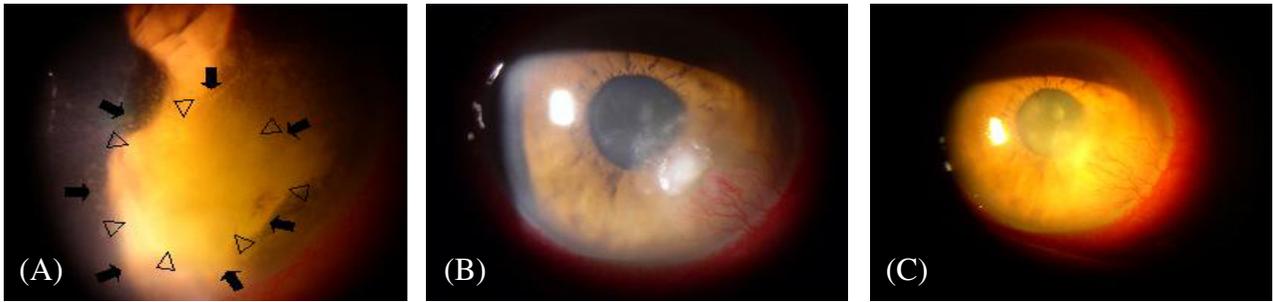


Fig. 1. Slit lamp examination photographs. (A) Corneal epithelial defect (arrow) and stromal infiltrate (arrow head) at presentation; (B) The size of corneal epithelial defect and stromal infiltrate were decreased and corneal neovascularization appeared. (17 days after discharge); (C) Healed epithelial defect and increased neovascularization (27 days after discharge).

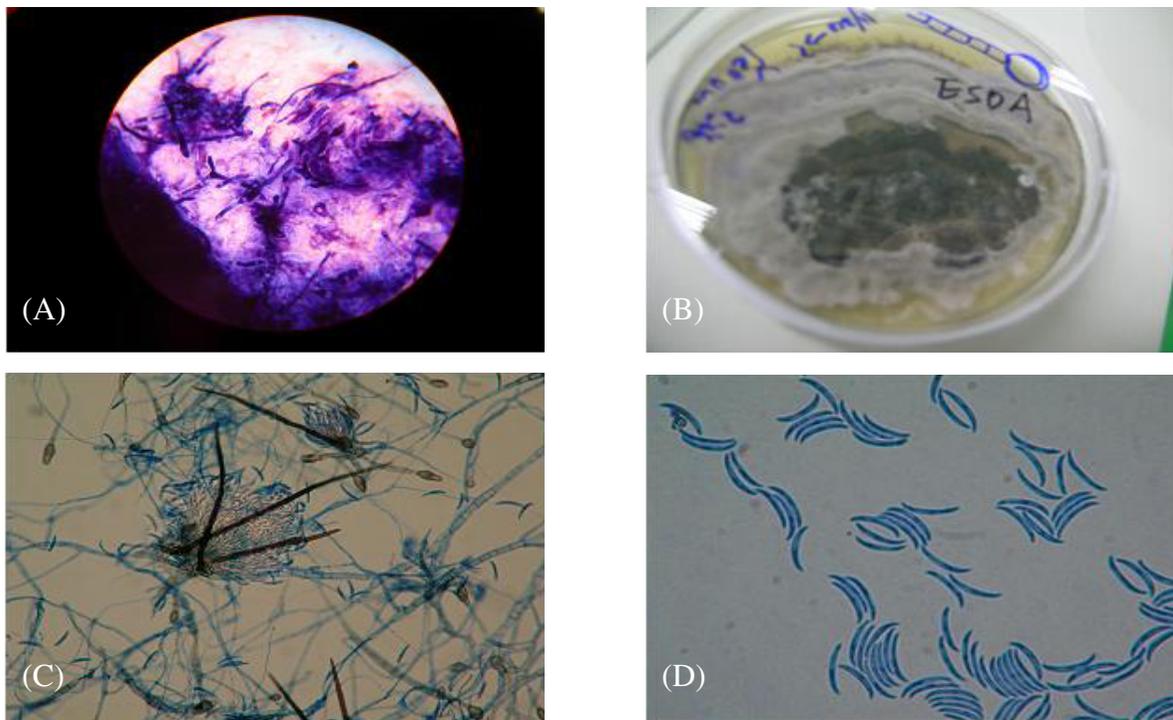


Fig. 2. Microscopic and colony morphology of the fungus from the patient's corneal scraping. (A) Numerous hyphae on Gram stain of corneal scrapings ($\times 1,000$); (B) Dark colony with aerial mycelium on Emmons' Saubouraud dextrose agar; (C) Septate and hyaline hyphae, acervuli, setae, appressoria, and conidia (lactophenol cotton blue stain, $\times 400$); (D) Falcate and nonseptate conidia ($2 \times 13 \mu\text{m}$) (lactophenol cotton blue stain, $\times 1,000$).

구 투여하였다. 그러나 치료에도 불구하고 궤양이 진행하는 양상을 보였고 염증 반응도 증가하였으며 전방축농이 관찰되어 내원 2일 후부터 3세대 cephalosporin 정주 및 aminoglycoside 근주 투여를 병행하였다. 입원 당시 각막 표면을 긁어서 시행한 일반 세균배양 검사에서 자라는 균은 없었으나 그람 염색에서 다수의 균사가 관찰되었다 (Fig. 2A).

본원에 의뢰된 진균배양검사에서는 Emmons' Saubouraud

dextrose agar 배지, Saubouraud dextrose chloramphenicol agar 배지, Cornmeal agar 배지 모두에서 빠르게 증식하는 사상균(mold)이 자랐다. 앞면은 취회색을 띠며 검은색 색소침착과 함께 공기균사체(aerial mycelium)가 자랐으며 뒷면은 검은색이었다(Fig. 2B). Lactophenol cotton blue 염색에서는 중격이 있는 투명한 균사(septate, hyaline hyphae)와 함께 컵 모양의 자실체(fruiting body, acervuli) 및 *Fusarium* species에서 관찰되는 것과 유사한 형태의 낮

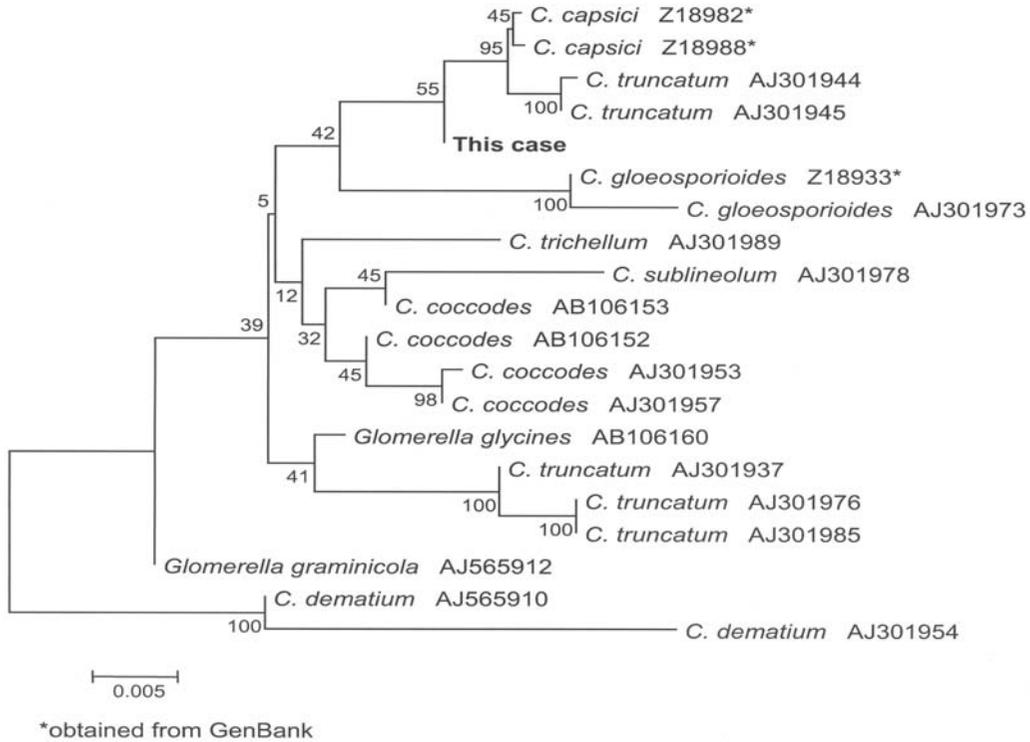


Fig. 3. Unrooted neighbor-joining tree of 20 sequences of 28S rDNA D1-D2 regions. The branch lengths are proportional to genetic distance, which is indicated by the bar. Bootstrap values (percentages of 1,000 replications) are indicated at the internodes.

모양(falcate)의 중격이 없는 분생포자(conidia) 및 진하게 염색되며 끝이 날카로운 setae가 관찰되었다(Fig. 2C, 2D).

상기의 형태학적 소견으로 *Colletotrichum dematium*이 가장 의심되었으나 정확한 동정을 위해 최근에 본원에서 시행하고 있는 28S rDNA 유전자의 D1-D2 부위의 염기서열 분석(sequencing)을 시행하였다. 배양된 집락에서 QiAamp DNA Mini kit (QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA)를 이용해서 DNA를 분리한 후 시발체로는 이전에 보고된 방법[6]에서 사용된 것과 같은 NL-1 (5' - GCATATCA-ATAAGCGGAGGAAAAG)과 NL-4 (5' -GGTCCGTGT-TTCAAGACGG)를 사용하여 중합효소연쇄반응을 실시하였으며, 염기서열 분석은 ABI 3100 (Applied Biosystems, Foster, CA, USA)을 이용했다. BLAST search를 실시한 후 *C. capsici* (100%), *C. truncatum* (100%), *C. coccodes* (98%), *C. dematium* (98%) 등 가장 유사한 염기서열을 갖는 20개의 균종을 대상으로 neighbor-joining 방법으로 MEGA version 3.1 (Kumar, Tamura, Nei 2004) 프로그램을 사용하여 계통발생학적 분석을 시행하였다. Kimura two-parameter distance 모델과 pairwise deletion of

gaps 옵션을 이용하여 계통도를 그렸고 1,000번 반복한 bootstrap 분석으로 평가하였다(Fig. 3).

환자는 내원 4일 후부터 amphotericin 점안액과 natamycin 점안액을 병용 투여하였으며 이후 임상 경과가 호전되었으며 각막 상피가 치유되는 양상과 염증 반응이 감소되는 소견도 관찰되어 내원 15일 후 퇴원하였고, 뒤이어 외래에서 경과 관찰하였다.

퇴원 17일 후 시행한 세극등검사서 각막 상피의 결손 및 각막실질 침윤과 함께 각막 신생 혈관의 증식이 관찰되었고(Fig. 1B), 퇴원 27일 후 시행한 검사에서는 각막 상피의 결손은 치유되었으나 각막 신생 혈관이 더욱 증식하였다(Fig. 1C). 퇴원 34일 후 시행한 세극등검사에서는 전방에 섬유소 삼출물(fibrin exudates)의 형성과 소실되었던 전방축농이 다시 관찰되어 염증 반응이 증가된 것으로 판단되었으며 독소에 의한 염증 반응 또는 진균성 안내염(endophthalmitis)을 의심하여 3차 의료기관으로 전원하였다. 이후 항생제 및 항진균제 투여로 염증 반응이 소실되었고 각막의 병변도 치유되었다. 환자는 입원 중 발생한 두터운 섬유소 삼출물에 의한 동공 차단에 의해 유발된 급성 녹내장에 대하여 수술적 주변홍채절제술

(surgical peripheral iridectomy)을 시행받고 안압 조절 중이다.

고 찰

*Colletotrichum*은 Deuteromycotina 아문(subdivision), Coelomycetes 강(class), Melanconiales 목(order)에 속하는 전형적인 식물의 병원성 진균으로 주로 곡류, 목초, 콩류, 야채류, 다년생 농작물 등에서 anthracosis, 괴사, 잎의 반점, 과일의 부패 등을 유발한다. 아직까지는 명확히 분류 기준이 마련되어 있지 않은데 주로 자실체, 분생포자, setae, appressoria의 형태학적 특징에 따라 수실에서 수백종으로 보고되고 있다.

이 중 사람에서 감염을 일으키는 것은 현재까지 전세계적으로 5종이 보고되었는데 이들은 *Colletotrichum coccodes*, *C. crassipes*, *C. dematium*, *C. gloeosporioides*, *C. graminicola*이다. 가장 흔한 질환은 각막염이고 외상에 의한 감염이 주된 원인이다. Fernandez 등[7]은 미국 Florida의 한 병원에서 1980년에서 2001년까지 배양 검사에서 진균성 각막염으로 진단받은 360명의 환자들의 자료를 후향적으로 조사한 결과 10명(2.8%)에서 *Colletotrichum*이 원인 진균이라고 보고하였고, 또한 이들 10명 중 8명에서는 이전에 외상이 있었으나 3명에서는 인슐린의존성당뇨병, 2명은 국소 스테로이드 제제를 사용하고 있어 전신 또는 국소적 면역기능 억제가 위험인자가 될 수 있음을 시사하였다. 이 밖에도 각막염으로 진단받은 환자들의 자료를 후향적으로 조사한 결과에 의하면 진균 감염이 원인인 경우가 많은데, 미생물에 의한 각막염이 의심되는 환자의 32.5%(378/1164명)에서 원인균이 진균으로 밝혀졌고 이 중 *Fusarium* species (40.7%), *Aspergillus flavus* (18.3%), *Aspergillus fumigatus* (10.6%), *Curvularia* species (8.7%)가 대부분의 원인 진균이었으나 *Colletotrichum dematium* (1.6%) 또는 *Colletotrichum speciosum* (0.3%)도 동정되었다[8]. 그 외 각막염에 관한 산발적인 증례보고들이 있었다[9,10]. 우리나라의 경우에도 과거 농업이 중심 산업이었으므로 보고되지 않은 진균성 각막염과 이로 인한 합병증이 많이 있었을 것으로 추정되는데, 본 증례의 경우는 기저 질환이 없는 사람이 벼 잎사귀에 의해 외상을 입은 후 발생한 것으로 질병의 발생과 경과, 치료 과정 등이 상기의 증례들과 매우 유사하다고 할 수 있다.

피하감염 또는 전신감염을 일으킨 증례들도 5예 정도 보고되었는데 혈액중양 치료를 위한 화학요법(3예), 신장 이식 후 면역억제치료(1예), 스테로이드 복용 중의 외상(1예) 등으로 모두 면역기능이 저하된 환자에서 발생하였다[11-13].

상기 증례들은 모두 *Colletotrichum*의 동정에 형태학적 감별을 사용했는데 *Colletotrichum*이 다른 진균들과 구별

되는 특징으로는 acervular conidiomata, 길고 얇은 분생포자, appressoria를 보이며 setae가 나타나기도 한다. 진균성 각막염을 일으킬 수 있는 다른 진균들 중 *Fusarium*은 분생포자의 형태가 낫모양으로 *C. dematium*이나 *C. graminicola*와 유사하나 여러 개의 중격을 갖기 때문에 중격을 갖지 않는 *Colletotrichum*과 구별할 수 있다. *Curvularia*의 경우 conidiophore와 3-5개의 중격이 있으며 약간 구부러진 타원형 또는 넓은 방추형의 분생포자를 갖기 때문에 쉽게 구분이 가능하다. *Acremonium*의 경우에는 phialide 말단에 분생포자의 군집이 특징적이다.

*Colletotrichum*의 종 수준까지 구별하려면 분생포자, appressoria 등의 형태학적 차이를 이용해야 하나 일부 중에서는 관찰되지 않거나 관찰되는 시기가 다를 수 있어서 구별이 어려울 수 있다. 이러한 형태학적 특성에 근거한 동정의 한계를 극복하기 위해 임상적인 문제를 유발한 5개 균종의 ribosomal DNA (rDNA) large-subunit (LSU)의 internal transcribed spacer 1 (ITS1) 부위와 D1-D2 domain의 염기서열분석을 통해 성공적으로 감별할 수 있다는 보고가 있었다[14]. 본 증례의 경우 검사실에서 처음으로 배양된 진균으로 형태학적인 감별에 어려움이 있어서 28S rDNA 유전자의 D1-D2 부위의 염기서열분석을 실시하였고 속 단계까지는 구분이 가능했으나 종 단계까지 감별할 수는 없었다. 진균의 염기서열분석에는 18S rDNA, 26/28S rDNA 와 같은 rDNA의 특정 부위가 주로 이용되고 있으며[15] 특히 본 증례에서 사용한 방법은 종의 감별에 흔히 사용되고 있으나 변종을 구별하는 데에는 한계가 있을 수 있다고 하였다[6].

Guarro 등[9]은 16개의 분리주에 대해 항진균제 감수성 검사를 시행하여 flucytosine과 fluconazole을 제외하고 대체적으로 *Colletotrichum*의 MIC가 낮다고 보고하였으며 이 중 amphotericin이 가장 낮은 MIC를 보여 15개의 분리주가 1 µg/mL 이하의 MIC를 나타냈다. 일반적으로 사상균에는 natamycin이 가장 효과가 있는 것으로 알려져 있으나 매우 비싸고 공급이 원활하지 않아[16] 임상에서 일차선택약으로 사용하는 데에 어려움이 있다. 본 증례의 경우에도 초기에 amphotericin만 사용했을 때는 반응하지 않다가 그람 염색에서 균사가 관찰되어 natamycin 점안액을 사용한 이후 호전되었다. 그러나 처음 증상이 발생하여 방문한 인근 의원에서부터 미생물 검사를 실시하여 항진균제를 사용했다면 염증의 진행을 지연시키고 합병증을 예방할 수 있었으리라 여겨진다.

*Colletotrichum*은 주로 식물에 감염하는 병원성 진균이지만 사람에서도 질병을 유발할 수 있다. 초기에 발견하여 적절한 치료를 하면 심각한 합병증을 예방할 수 있으므로 각막염이 의심되는 환자에서 초기에 도말검사, 세균 및 진균 배양검사와 같은 미생물 검사를 실시한다면 치료의 방향을 설정하는데 도움이 될 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Whitcher JP and Srinivasan M. Corneal ulceration in the developing world-a silent epidemic. Br J Ophthalmol 1997;81:622-3.
2. Leck AK, Thomas PA, Hagan M, Kaliyamurthy J, Ackuaku E, John M, et al. Aetiology of suppurative corneal ulcers in Ghana and south India, and epidemiology of fungal keratitis. Br J Ophthalmol 2002;86:1211-5.
3. Laspina F, Samudio M, Cibils D, Ta CN, Farina N, Sanabria R, et al. Epidemiological characteristics of microbiological results on patients with infectious corneal ulcers: a 13-year survey in Paraguay. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2004;42:204-9.
4. Suh MK, Sung YO, Yoon KS, Bang JS, Cho HT, Ahn Y, et al. A clinical and mycological study of 14 cases with mycotic keratitis. Korean J Med Mycol 1998;3:33-8.
5. Hahn YH, Lee DJ, Kim MS, Choi SH, Kim JD. Epidemiology of fungal keratitis in Korea. J Korean Ophthalmol Soc 2000;41:1499-1508.
6. Kurtzman CP and Robnett CJ. Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 5' end of the large-subunit (26S) ribosomal DNA gene. J Clin Microbiol 1997;35:1216-23.
7. Fernandez V, Dursun D, Miller D, Alfonso EC. *Colletotrichum* keratitis. Am J Ophthalmol 2002; 134:435-8.
8. Kaliyamurthy J, Kalavathy CM, Ramalingam MD, Prasanth DA, Jesudasan CA, Thomas PA. Keratitis due to a coelomycetous fungus: case reports and review of the literature. Cornea 2004;23:3-12.
9. Yamamoto N, Matsumoto T, Ishibashi Y. Fungal keratitis caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Cornea 2001;20:902-3.
10. Mendiratta DK, Thamke D, Shukla AK, Narang P. Keratitis due to *Colletotrichum dematium*-a case report. Indian J Med Microbiol 2005;23:56-8.
11. O'Quinn RP, Hoffmann JL, Boyd AS. *Colletotrichum* species as emerging opportunistic fungal pathogens: a report of 3 cases of phaeohyphomycosis and review. J Am Acad Dermatol 2001;45:56-61.
12. Guarro J, Svidzinski TE, Zaror L, Forjaz MH, Gene J, Fischman O. Subcutaneous hyalohyphomycosis caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. J Clin Microbiol 1998;36:3060-5.
13. Castro LGM, da Silva Lacaz C, Guarro J, Gene J, Heins-Vaccari EM, de Freitas Leite RS, et al. Phaeohyphomycotic cyst caused by *Colletotrichum crassipes*. J Clin Microbiol 2001;39:2321-4.
14. Cano J, Guarro J, Gene J. Molecular and morphological identification of *Colletotrichum* species of clinical interest. J Clin Microbiol 2004;42:2450-4.
15. Valente P, Ramos JP, Leoncini O. Sequencing as a tool in yeast molecular taxonomy. Can J Microbiol 1999;45:949-58.
16. Srinivasan M. Fungal keratitis. Curr Opin Ophthalmol 2004;15:321-7.

A Case of Fungal Keratitis Caused by *Colletotrichum* Species

Sang Hoon Song¹, Joon Jeong Park², Kyo Sun Shin¹, Sae Ik Joo¹,
Gwang Ja Lee², Kyoo Won Lee², Hyun Lee¹, and Eui Chong Kim¹

*Department of Laboratory Medicine¹, Seoul National University Hospital, Seoul;
and Department of Ophthalmology², Cheil Eye Hospital, Daegu, Korea*

Colletotrichum is mainly a fungal pathogen of plants, but sporadic cases of human infection have been reported recently. Most of them are fungal keratitis and only a few cases have been reported worldwide. A 63-year-old female farmer developed foreign body sensation and watering in her left eye following trauma by rice leaves. At presentation, her visual acuity decreased and corneal ulcer and inflammation in anterior chamber were observed on a slit lamp examination. Numerous hyphae were found on Gram stain and a rapidly growing mold with cup-shaped acervuli and falcate and nonseptate conidia was observed on fungal culture. As morphological findings did not lead to definite differentiation of the organism, sequencing of the D1-D2 domain of 28S rDNA was performed. It proved to be *Colletotrichum* species and the patient was treated with amphotericin and natamycin eye drop, but complicated by acute glaucoma. This is the first report of *Colletotrichum* keratitis in Korea and suggests that its infection should be considered in patients with fungal keratitis. (*Korean J Clin Microbiol* 2006;9(2):131-136)

Keywords: *Colletotrichum*, Fungal keratitis, 28S rDNA sequencing

Address reprint requests to : Eui-Chong Kim, M.D., Department of Laboratory Medicine, Seoul National University Hospital,
28 Yongon-Dong, Chongno-gu, Seoul 110-744, Korea.
TEL. +82-2-2072-3500 FAX. +82-2-764-3698 E-mail: euichong@snu.ac.kr