

Fungemia due to *Exophiala dermatitidis*

Eun Sun Jeong, Jong Hee Shin, Myung Geun Shin,
Soon Pal Suh, Dong Wook Ryang

Department of Laboratory Medicine, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

We report a rare case of fungemia due to *Exophiala (Wangiella) dermatitidis* in a 4-month-old female infant who was admitted to an intensive care unit with sudden infant death syndrome (SIDS). *E. dermatitidis* was repeatedly isolated from blood cultures (on the 28th and 32nd day of hospitalization) of the patient, who died on the 44th day of hospitalization. The fungus was identified by its morphological char-

acteristics and DNA sequencing of both the D1/D2 domain and the ITS region of rDNA. To our knowledge, this is the first reported case of *E. dermatitidis* fungemia in Korea. (Korean J Clin Microbiol 2010;13: 135-139)

Key Words: *Exophiala (Wangiella) dermatitidis*, Fungemia, ITS, Sequencing

서 론

*Exophiala dermatitidis*는 흑색 효모양 진균으로서 흙, 물 및 인체 대변 등의 환경에 주로 존재하며 드물게 인체감염을 일으킨다[1,2]. 이 균은 주로 면역저하 환자에서 피부 및 피하 조직을 침범하는 흑색진균증(pheohyphomycosis)을 유발하며[2], 드물게 복막투석연관 복막염[3]이나 전신감염[4] 등을 유발한다. 특히 이 균은 젊고 건강한 사람에서 치명적 중추신경계 감염을 유발함이 보고되었는데, 이 증례들은 국내 1인을 포함하여 모두 아시아인이었다[4]. 국내에서의 감염 보고는 매우 드물어 현재까지 이 균에 의한 중추신경계 감염 1예[4]와 피부 감염 2예[5], 간조직 감염[6] 등 총 4예가 보고된 바 있다. 저자들은 중환자실에서 입원중인 생후 4개월된 환자의 혈액배양에서 2회 연속 분리된 흑색진균을 핵산 염기순서분석법과 형태학적 방법으로 *E. dermatitidis*로 동정하였기에 국내에서 발생한 *E. dermatitidis* 진균혈증의 첫 증례로 보고하는 바이다.

증 례

생후 138일 된 6.3 kg의 여아가 영아급사증후군의 임상 진단 하에 타병원에서 심폐소생술 후 혼수상태로 내원하였다. 본원 내원시 기관삽관된 상태였으며 저산소성 뇌증으로 진단되어 중환자실에서 중심정맥관 삽입 및 인공호흡기치료와 함께 보존적

인 치료를 시행하였다. 내원시 동맥혈가스검사상 pH 7.008, PCO₂ 17.5 mmHg, PO₂ 321 mmHg, HCO₃⁻ 4.2 mmol/L, 동맥 혈산소포화도 99.3%, 총혈구계산 상 백혈구 25,300/mm³, 혈색소 12.0 g/dL, 적혈구용적백분율 35.7%, 혈소판 369,000/mm³, AST 808 U/L, ALT 289 U/L, CRP <0.3 mg/dL이었다.

내원 당일 발열이 있어 내원 당일 및 2일, 13일에 시행한 혈액배양에서는 균이 자라지 않았으며, 내원 2일 실시한 요배양에서 *Escherichia coli*가 10⁵CFU/mL 이상 분리되었다. 내원시 시행한 흉부방사선 검사상에서는 이상소견은 없었다. 내원 2일부터 26일 사이에 clindamycin, netilmicin 및 ceftizoxime 등의 항균제를 사용하였다. 그 후 지속적인 항균제 치료에도 불구하고 발열은 지속되었고 내원 28일과 32일에 시행한 혈액배양에서 배양 4일 후 호기성 배지에서 균이 자랐다. 배양된 균은 혈액한천배지에서 흰색의 작은 집락이었고 그람염색상 효모균으로 칸디다와 감별이 어려웠으며, potato dextrose agar (PDA)에 다시 접종하여 30°C에서 배양한 결과 느리게 증식되는 양상으로 처음엔 흰색의 작은 집락을 보였으나 약 2주 정도가 되었을 때 점차 점액성의 진한 검은색으로 변하였고 배지 뒷면 또한 검은색으로 변하였다(Fig. 1). 이 균은 nitrate assimilation 음성이었으며 42°C에서 성장하였다. 슬라이드 배양 후 lactophenol cotton blue 염색을 한 결과, 격벽이 있는 갈색의 균사와 동일 색의 효모균이 다수 관찰되었다. 분생자병은 실린더 모양으로 끝이 둥글었고 여기에서 생산된 분생자는 단세포성으로 둥글거나 난원형으로 분생자 가지의 끝에 공처럼 모여있거나 옆에 쌓여 있는 특징적인 모양을 보였다(Fig. 2). Clinical and Laboratory Standards Institute M27법에 의한 생체 외 항진균제 검사를 시행한 결과, 각 항진균제의 MIC는 amphotericin B 0.5 µg/mL, fluconazole 8 µg/mL, itraconazole 0.06 µg/mL, voriconazole

Received 12 January, 2010, Revised 13 July, 2010

Accepted 20 August, 2010

Correspondence: Jong Hee Shin, Department of Laboratory Medicine, Chonnam National University Medical School, 671 Jebong-ro, Dong-gu, Gwangju 501-757, Korea. (Tel) 82-62-220-5342, (Fax) 82-62-224-2518, (E-mail) shinjh@chonnam.ac.kr

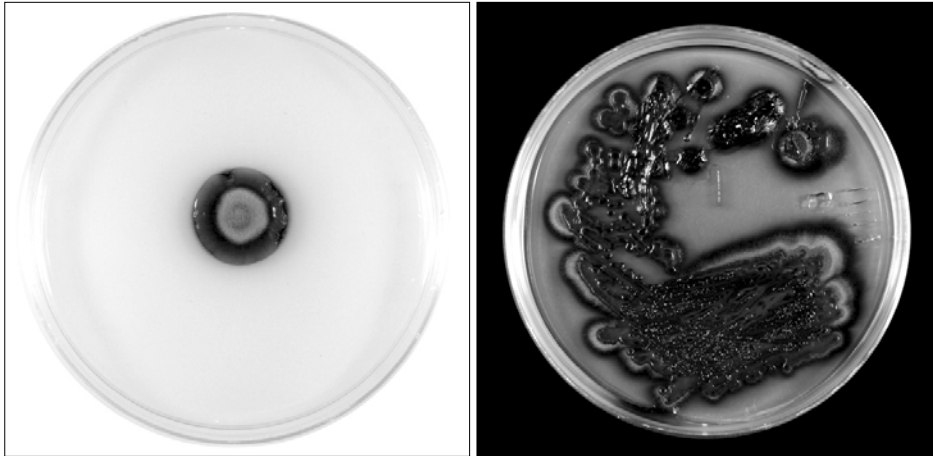


Fig. 1. Two weeks after incubation at 30°C on the potato dextrose agar, the colonies appeared as black, reverse black, wet, and mucoid.

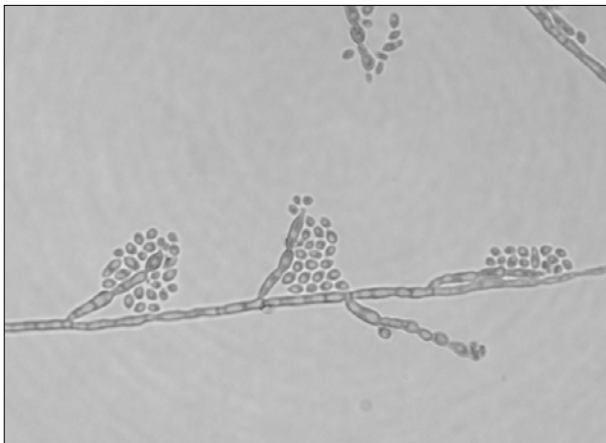


Fig. 2. Microscopically, septate, and pale olivaceous hyphae and black yeast synanarmorphs were found. Conidiogenous cells were cylindrical, with rounded apices producing one-celled conidia. Round to ovoid, pale brown conidia accumulated in balls or slipped down the side of conidiophores (Lactophenol cotton blue stain, $\times 400$).

0.125 $\mu\text{g/mL}$, caspofungin 2 $\mu\text{g/mL}$, micafungin 8 $\mu\text{g/mL}$ 이었다.

원인균은 Vitek II (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)에서는 *Stephanoascus ciferrii* (87.47%)로, API 20C (Biomérieux, France)에서 *Candida lusitanae* (98.2%)로 동정되었으며, 정확한 진균 동정을 위하여 균집락에서 핵산을 추출한 후 핵산염기 순서 분석을 실시하였다. 염기순서 분석은 ITS (internal transcribed spacer, 5.8S rRNA gene 포함) 부위와 large-subunit rRNA gene (26S rRNA region) D1/D2 domain 부위의 두 부위를 목표로 하여 두 가지의 primer 쌍 pITS-F와 pITS-R[7] 및 NL1과 NL4[8]를 이용하여 시행하였는데, Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) 데이터베이스를 통해 모두 *E. dermatitidis* (GenBank Accession number AY663828.1)의 염기순

서와 100% 일치하는 결과를 얻었다.

Neighbor-joining algorithm을 이용한 계통분석도(pylogenetic analysis) 상으로도 *E. dermatitidis* (AY663828.1)과 100% 일치하는 결과를 보였으며 *Exophiala*의 유성생식형(teleomorph)인 *Capronia epimyces*와도 100% 일치하는 결과를 보였다(Fig. 3) [9].

환아는 내원시부터 전신 상태가 매우 좋지 않아 중심정맥관 제거나 항진균제 치료 등의 적극적인 치료를 시행하지 않았고 내원 44일째 다장기부전으로 사망하였다.

고 찰

*E. dermatitidis*는 드물게 진균혈증을 유발하는데 현재까지 국내에서는 이 균에 의한 균혈증이 보고된 바 없고, 외국의 경우 총 7예의 진균혈증이 보고되어 있다[10]. *E. dermatitidis*에 의한 7예의 진균혈증을 살펴보면 기저질환은 백혈병, 유방암, 폐암 등의 악성질환과 화상, 장절제술 후, HIV 감염 등이었고 나이는 1.5세부터 61세까지 다양한 분포(소아 4명, 성인 3명)를 보였다. 현재까지 보고된 총 7예의 진균혈증의 경우 모든 환자들이 공통적으로 중심정맥관을 사용하고 있었고 일부는 중심정맥관 연관 진균혈증으로 보고된 바 있다[10]. 본 증례의 경우도 중심정맥관을 사용하고 있었으나 중심정맥관을 통한 혈액 정량배양을 따로 시행하지 않았고, 환자가 사망한 관계로 중심정맥관 tip 배양이 이루어지지 않아 중심정맥관 연관 진균혈증 유무를 판단할 수 없었으나[11] 장기간의 입원과 항진균제 치료, 중심정맥관 사용과 영양급사증후군으로 인한 면역저하상태가 진균혈증을 일으킨 요인으로 생각되었다.

*E. dermatitidis*는 인체처럼 따뜻한 곳에 잘 생존하여 내이(inner ears), 폐, 기관지 혹은 장내에 집락형성(colonization)할 수도 있으며, 또 낭성섬유증(cystic fibrosis) 환자의 폐나 설사환자의 변에서 증상 없이 규칙적으로 분리될 수도 있다[12]. 또한

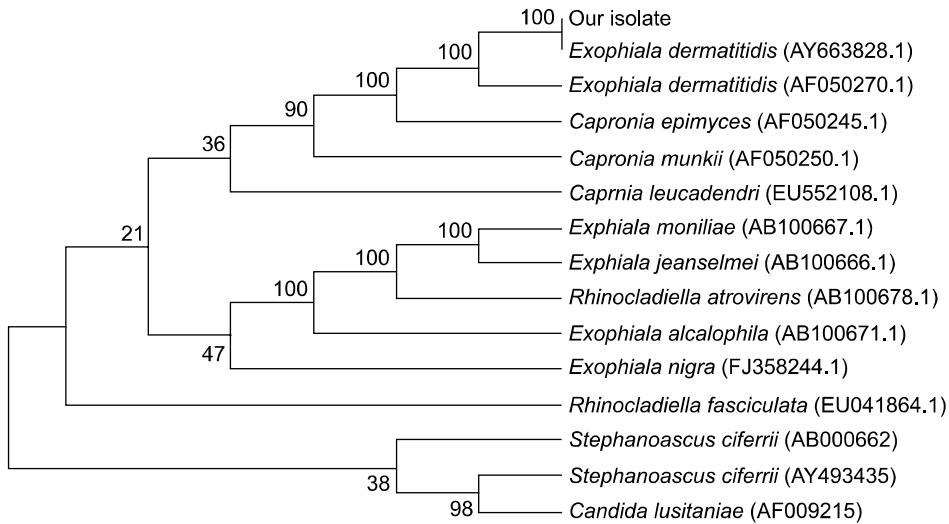


Fig. 3. A phylogenetic tree of *Exophiala* and neighboring species, constructed by using neighbor-joining algorithm.

이 균은 최근 소아에서 간접법으로 인한 간경화가 보고되었으며[6] 오염된 정맥 주사제를 투여한 후 노인에서 병원감염성 가유행(pseudoepidemics)이 보고된 바 있다[13]. 따라서 본 환자의 경우 중환자실에 입원한 동안 환자 체내에 집락형성한 균이 혈액성으로 퍼져 진균혈증을 유발하였거나 외인성으로 환경에 있던 균이 중심정맥관을 통해 혈류감염을 유발하였을 가능성도 있다. 현재까지 보고된 총 7예의 진균혈증의 경우 중심정맥관을 제거하거나 동시에 항진균제를 투여함으로써 모두 회복되었다. 그러나 본 증례의 경우 전신상태가 입원 당시부터 좋지 않아 적극적 치료를 하지 않았고 항진균제 치료나 중심정맥관 제거를 하지 않았다. 따라서 본 증례는 *E. dermatitidis*에 의한 진균혈증이 적극적 치료를 하지 않는 경우 인체에 치명적일 수도 있음을 처음으로 보여주었다.

흑색효모균은 생활환 중 일정시기에 효모처럼 발아 세포를 생산할 수 있는 다양한 흑색 진균을 일컫는다. 이들은 임상 검체에서 매우 드물게 분리되며, 생체의 배양에서 처음에는 효모균 모양을 보이다가 점차 균사형 진균으로 변하기 때문에 검사실에서 이들 균종을 신속하고 정확하게 동정하고 감별하기는 쉽지 않다. 여기에 속하는 균종으로는 *Aureobasidium pullulans*, *Hormonema dematioides*, *Exophiala jeanselmei*, *Exophiala moniliae*, *Exophiala spinifera*, *Phaeoannelomyces werneckii*, *Phaeosclera dematioides*, *Sarcinomyces phaeomuriformis* 및 *Exophiala dermatitidis* 등이 있다. 이들 흑색효모균 중 *E. dermatitidis*는 각종 인체감염과 연관되어 가장 흔하게 임상 검체에서 분리될 수 있는 흑색효모균이다[14]. 본 증례의 경우 원인균은 염기순서 분석 결과와 형태학적 특성 이외에도 42°C에서 자라고, nitrate assimilation 음성이면서 집락이 매우 점액성인 3가지 특징으로 다른 *Exophiala* 균종과 감별할 수 있었다.

최근에는 많은 검사실에서 진균의 동정에 유전자 염기순서 분석법을 사용하기 시작하였다. 이는 기존의 생화학적 및 형태

학적 동정법을 보완하고 결과가 지체되는 것을 방지하는 등 유용성이 있다[15]. 본 증례에서 혈액배양에서 2회 분리된 효모균은 초기에 칸디다로 생각되었으나 Vitek II에 의해 매우 드문 *S. ciferrii* (87.47%)로 동정되었고 이는 API 20C 동정결과(*C. lusitanae*)와 일치하지 않았다. 따라서 진균 동정에 가장 유용하다고 알려진 ITS 부위와 D1/D2 domains 부위의 염기순서 분석을 실시하였다[7,8]. 염기순서 분석 결과, 본 균주는 두 부위 모두에서 *E. dermatitidis*와 100% 일치한 결과를 보여 쉽게 동정되었다. 또 이 균은 배양 2주 정도 후 점차 검은 색의 사상형 진균으로 변하여 슬라이드 배양을 실시하였고 형태학적으로도 *E. dermatitidis*임을 확인할 수 있었다.

*E. dermatitidis*는 항진균제 내성이 드물며 itraconazole, voriconazole과 terbinafine 등의 항진균제에 낮은 MIC를 보이는 것으로 알려져 있다[16]. 본 증례에서 분리된 원인균의 항진균제 감수성 검사 소견은 amphotericin B (MIC, 0.5 µg/mL), voriconazole (0.125 µg/mL) 등에 감수성이나 fluconazole에 대해 감수성이 저하되어 있었고(8 µg/mL), caspofungin (2 µg/mL), micafungin (8 µg/mL) 등의 echinocandin 항진균제에는 생체 외 내성을 나타낼 수 있음을 보여주었다.

요약하면, 본 증례는 중환자실에서 입원중인 생후 4개월된 환아에서 발생한 *E. dermatitidis* 진균혈증의 국내 첫 증례로서, 혈액배양에서 분리된 진균이 일반적인 효모균 동정제품으로 잘 동정이 되지 않는 경우 흑색효모균 등의 가능성을 고려하여 신속하고 정확한 균 동정을 위해서 유전자 염기순서 분석이 필요하며 진균혈증 의심시에 초기에 적극적인 치료가 환자의 예후에 중요한 영향을 미침을 보여주었다.

참 고 문 헌

1. Nachman S, Alpan O, Malowitz R, Spitzer ED. Catheter-associated

- fungemia due to *Wangiella (Exophiala) dermatitidis*. J Clin Microbiol 1996;34:1011-3.
2. Hohl PE, Holley HP Jr, Prevost E, Ajello L, Padhye AA. Infections due to *Wangiella dermatitidis* in humans: report of the first documented case from the United States and a review of the literature. Rev Infect Dis 1983;5:854-64.
 3. Vlassopoulos D, Kouppari G, Arvanitis D, Papaefstathiou K, Dounavis A, Velegraki A, et al. *Wangiella dermatitidis* peritonitis in a CAPD patient. Perit Dial Int 2001;21:96-7.
 4. Chang CL, Kim DS, Park DJ, Kim HJ, Lee CH, Shin JH. Acute cerebral phaeohyphomycosis due to *Wangiella dermatitidis* accompanied by cerebrospinal fluid eosinophilia. J Clin Microbiol 2000;38:1965-6.
 5. Kim DS, Yoon YM, Kim SW. Phaeohyphomycosis due to *Exophiala dermatitidis* successfully treated with itraconazole. Korean J Med Mycol 1999;4:79-83.
 6. Hong KH, Kim JW, Jang SJ, Yu E, Kim EC. Liver cirrhosis caused by *Exophiala dermatitidis*. J Med Microbiol 2009;58:674-7.
 7. Sugita T, Nishikawa A, Ikeda R, Shinoda T. Identification of medically relevant *Trichosporon* species based on sequences of internal transcribed spacer regions and construction of a database for *Trichosporon* identification. J Clin Microbiol 1999;37:1985-93.
 8. 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.
 9. Untereiner WA. Fruiting studies in species of *Capronia* (Herpo-trichiellaceae). Antonie Van Leeuwenhoek 1995;68:3-17.
 10. Al-Obaid I, Ahmad S, Khan ZU, Dinesh B, Hejab HM. Catheter-associated fungemia due to *Exophiala oligosperma* in a leukemic child and review of fungemia cases caused by *Exophiala species*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006;25:729-32.
 11. Lim WH, Shin JH, Suh SP, Ryang DW. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis using differential quantitative blood cultures. Korean J Clin Pathol 1998;18:208-14.
 12. de Hoog GS, Matos T, Sudhadham M, Luijsterburg KF, Haase G. Intestinal prevalence of the neurotropic black yeast *Exophiala (Wangiella) dermatitidis* in healthy and impaired individuals. Mycoses 2005;48:142-5.
 13. Woollons A, Darley CR, Pandian S, Arnstein P, Blackee J, Paul J. Phaeohyphomycosis caused by *Exophiala dermatitidis* following intra-articular steroid injection. Br J Dermatol 1996;135:475-7.
 14. de Hoog GS and Vitale RG. *Bipolaris, Exophiala, Scedosporium, Sporothrix*, and Other Dematiaceous Fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Jeorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed, Washington D.C.; ASM Press, 2007: 1898-917.
 15. Petti CA. Detection and identification of microorganisms by gene amplification and sequencing. Clin Infect Dis 2007;44:1108-14.
 16. Vitale RG, De Hoog GS, Verweij PE. In vitro activity of amphotericin B, itraconazole, terbinafine and 5-fluorocytosine against *Exophiala spinifera* and evaluation of post-antifungal effects. Med Mycol 2003;41:301-7.

=국문초록=

***Exophiala (Wangiella) dermatitidis*에 의한 진균혈증 1예**

전남대학교 의과대학 진단검사의학교실

정은선, 신종희, 신명근, 서순팔, 양동욱

*Exophiala (Wangiella) dermatitidis*는 생체외 배양에서 처음에는 효모균 모양을 보이다가 점차 균사형 진균으로 변할 수 있는 흑색 진균으로 통상적 검사방법으로는 동정이 매우 어렵다. 국내에서는 이 균에 의한 뇌척수막염 1예 및 피부 감염 2예, 간조직 감염 1예 등이 보고된 바 있으나 아직 균혈증의 보고는 없다. 저자들은 영아급사증후군으로 병원에 입원 중인 생후 4개월 된 여아에서 *E. dermatitidis*에 의한 진균혈증을 경험하였기에 보고하는 바이다. 원인 진균은 입원 후 28일과 32일에 시행한 호기성 혈액배양에서 두 번 분리되었는데, API 20C (Biomerieux, France)에서 *Candida lusitana* (98.2%)으로, Vitek II (Biomerieux, France)에서는 *Stephanoascus ciferrii* (87.47%)로 동정된 반면, D1/D2 domain (26s rRNA region)과 ITS 부위 유전자 염기순서분석에서 둘 다 *E. dermatitidis*와 100% 일치하는 결과를 얻었다. 이 균은 배양 초기에는 칸디다와 감별이 어려운 효모균이었으나 2주 이상 배양 후 점차 검은 색의 사상형 진균으로 변하였고 슬라이드 배양에서 격벽이 있는 갈색 균사와 특징적인 실린더 모양의 분생자병에서 생성된 분생자가 공처럼 모여 있는 *E. dermatitidis*의 특징을 보였다. 환아는 항진균제 치료가 불가능하였으며 전신 상태의 악화로 내원 44일째 다장기부전으로 사망하였다. 본 증례는 국내에서 *E. dermatitidis* 진균혈증에 관한 첫 증례보고이다. [대한임상미생물학회지 2010;13:135-139]

교신저자 : 신종희, 501-757, 광주시 동구 제봉로 671

전남대학교병원 진단검사의학과

Tel: 062-220-5342, Fax: 062-224-2518

E-mail: shinjh@chonnam.ac.kr