

조갑진균증의 진단 방법으로서 조갑판 PAS 염색 및 GMS 염색의 유용성에 대한 연구

고려대학교 의과대학 피부과학교실

전 지 현 · 김 일 환

=Abstract=

The Evaluation of Usefulness of PAS Stain and GMS Stain as Clinical Diagnostic Methods of Tinea unguium

Jiehyun Jeon and Il-Hwan Kim

Department of Dermatology, College of Medicine, Korea University, Ansan, Korea

Background: Tinea unguium is a common problem seen in clinical practice. Considering the many differential diagnoses of dystrophic nails, it is important to make a definitive diagnosis of dermatophyte infection before the initiation of antifungal therapy. Potassium hydroxide (KOH) preparation and fungal culture, which are commonly used in the diagnosis of these infections, often yield false-negative results. Recent reports have suggested that nail plate biopsy (Bx) using periodic acid-Schiff (PAS) (Bx/PAS) stain may be a very sensitive technique for the diagnosis of tinea unguium.

Objective: The purpose of this study was to evaluate the usefulness of PAS and Grocott's methenamine silver (GMS) staining of nail specimen in the diagnosis of tinea unguium as a standard method.

Methods: We evaluated 75 nail specimens from suspected tinea unguium using KOH preparation, biopsy using periodic acid-Schiff stain, and Grocott's methenamine silver stain.

Results: Of the 75 nails which were negative on potassium hydroxide mounting, 43 and 39 cases were tested positive respectively on periodic acid-Schiff stain and Grocott's methenamine silver stain.

Conclusion: Bx/PAS and Bx/GMS are the sensitive methods for the diagnosis of tinea unguium. They are indicated if clinical suspicion of onychomycosis is high and KOH preparation shows no fungal elements. [*Kor J Med Mycol* 2005; 10(1): 30-34]

Key Words: Rabbits, Tinea unguium, Periodic acid-Schiff stain, Grocott's methenamine silver stain

서 론

조갑이형성을 보이는 질환들은 임상적으로 매우

†별책 요청 저자: 김일환, 425-020 경기도 안산시 고잔동 516번지, 고려대학교 안산병원 피부과
전화: (031) 412-5986, Fax: (031) 412-5184
e-mail: kumcihk@korea.ac.kr

*본 논문의 요지는 2004년 4월 21일 제 54차 대한피부과학회 춘계학술대회에서 발표하였음.

흔한 질환으로서 조갑백선을 포함하여 건선, 편평태선 (lichen planus), 원형탈모증 (alopecia areata), 다리 어병 (Darier's disease), 케라틴육아종 (keratin granuloma), 외상에 의한 조갑변형 (traumatic nail dystrophies), 전신질환이나 조갑화장품 등의 사용과 연관된 조갑이상 등등이 있으며 조갑이형성 질환 중에서 50%가 진균감염에 의한 조갑진균증인 것으로 생각된다¹. 조갑진균증 (onychomycosis)은 피부사상균 (dermatophytes), 효모균 (yeasts), 비피부사상균성 사

상균 (nondermatophytic molds) 등에 의해 유발되는 조갑의 진균성 감염증으로 전체 조갑질환의 약 20%를 차지하는 흔한 감염증이며², 조갑백선 (tinea unguium)은 피부사상균에 의한 조갑진균증으로 조갑진균증에 조갑백선이 포함된다³. 최근 노령인구의 증가, 항생제나 면역억제제 사용, 후천성 면역결핍증 환자의 증가, 수영장이나 체육 헬스장 등의 이용으로 진균에의 노출 가능성이 많아짐에 따라 조갑진균증이 증가하고 있다⁴⁻⁶.

진균에 의한 조갑진균증의 치료에는 부작용의 잠재성이 있는 장기간의 경구 항진균제 복용이 필요하기에 감염의 정확한 진단이 요구되고, 따라서 여러 조갑이형성을 보이는 질환으로부터 조갑진균증을 감별할 수 있는 진단검사가 필요하다. 감별은 피부사상균을 증명함으로써 이루어지는데 현재까지 KOH 도말검사 및 진균배양검사 등이 확진을 위한 표준진단검사로 이용되고 있으나 외래에서 빠르고 정확한 진단을 내리기 위해 사용되기에는 양성율이 낮거나 시간이 많이 걸리는 등의 단점이 많다. 따라서 진균을 각각 붉은색과 검은색으로 염색시키는 특징을 이용하여 저자들은 조갑판의 Periodic acid-Schiff (PAS) stain 및 Grocott's methenamine silver (GMS) staining 이 조갑진균증의 기존 검사들의 단점을 보완하는 주요 확진 수단으로 사용될 수 있을 것으로 생각되어 표준화된 방법으로서의 두 방법의 유용성을 알아보고자 연구를 시행하였다.

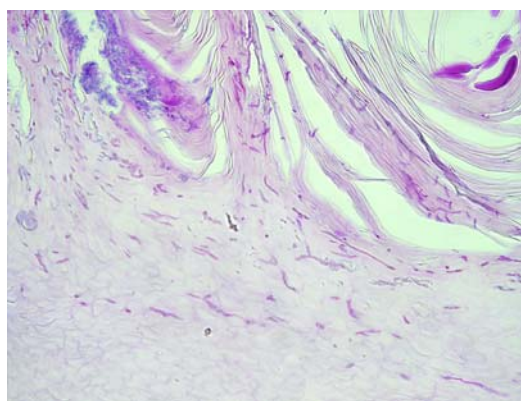


Fig. 1. Purple-red fungal structures as demonstrated by periodic acid-Schiff histological examination of the nail ($\times 200$).

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

2003년 10월부터 2004년 8월까지 고려대학교 안산병원 피부과의 조갑클리닉에 내원하였거나 자문 의뢰된 환자 중 임상적으로 조갑진균증이 의심되어 다른 조갑질환과의 감별이 필요하였으나 외래 진료실에서 시행한 KOH 도말검사서 음성으로 나온 75개의 조갑을 대상으로 하였으며, 동일환자에서 발톱 및 손톱 모두 검사하였던 경우는 각각 1례로 계산하였다.

2. 방법

1) KOH 도말검사

조갑 아래쪽면에서 인설을 채취하여 20% KOH 용액으로 처리한 후 진균 요소를 현미경으로 검경

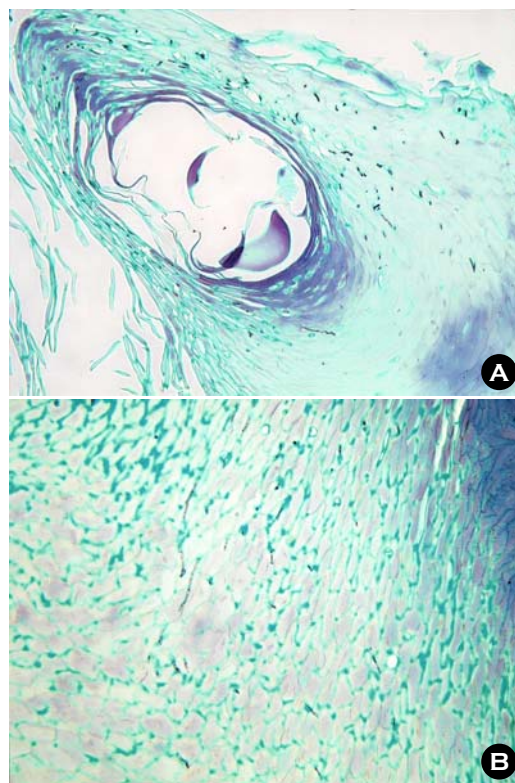


Fig. 2. Black filamentous hyphae on Grocott's methenamine silver stain of the nail (A: $\times 100$, B: $\times 200$).

Table 1. Age and sex of the patients

Age	Sex	
	Male (%)	Female (%)
0~9	1 (%)	5 (%)
10~19	1 (%)	3 (%)
20~29	4 (%)	1 (%)
30~39	4 (%)	6 (%)
40~49	6 (%)	15 (%)
50~59	4 (%)	6 (%)
60~69	4 (%)	3 (%)
70~79	1 (%)	1 (%)
≥80	0 (%)	1 (%)
Total (=66)	25 (100%)	41 (100%)

하였으며, 음성인 결과에 대해서는 KOH 도말검사를 2회 실시하였다.

2) PAS 염색과 GMS 염색

KOH 도말검사서 음성으로 나온 조갑들 중에서 조갑판 일부를 손발톱깡기를 이용하여 손톱 혹은 발톱 두께 전부를 물어 조갑의 끝에서부터 약 2 내지 3 mm 정도 채취하여 탈회과정을 거쳐 PAS 염색과 GMS 염색을 시행하였다. 제작된 조직슬라이드를 현미경으로 검경하여 PAS 염색인 경우 붉게 염색되는 진균 요소를 찾고, GMS 염색인 경우에는 검게 염색되는 진균 요소들을 확인하여 양성 혹은 음성으로 판단하였다 (Fig. 1 & 2A, 2B).

3) 판독 및 진단

PAS 및 GMS로 염색된 조직슬라이드를 현미경으로 검사하여 진균 요소들을 확인하였으며, 병리과 전문의의 판독 결과가 양성인 경우와 피부과 전문의 2인의 판독이 일치된 경우 최종 확진 하였다.

결 과

1. 환자의 특성 (Table 1)

이번 연구에 포함된 환자는 총 66명으로 남자 25명, 여자 41명이었으며 평균 나이는 41.3세였다. 연령 분포는 3세에서 82세 사이였으며, 남녀 모두 40대 연령군에 해당하는 환자수가 남자 6명, 여자 15

Table 2. Number of infected nails as demonstrated by the Histopathological methods

	Positive (%)	Negative (%)	Total (%)
PAS stain	43 (100%)	32 (100%)	75 (100%)
GMS stain	39 (100%)	36 (100%)	75 (100%)

명으로 제일 많았고, 남자 환자의 평균 나이는 43.8세로 여자 환자의 평균 나이 39.7세보다 많았다.

2. 양성율 (Table 2)

(1) PAS 염색

KOH 도말검사서 음성으로 나왔던 75개의 조갑 중에서 43에서 양성으로 나와 57.3%의 양성율을 보였다.

(2) GMS 염색

KOH 도말검사서 음성으로 나왔던 75개의 조갑 중에서 39에서 양성으로 나와 52.0%의 양성율을 보였다.

고 찰

조갑진균증은 미용상과 기능상의 장애, 자연치유가 되지 않는 점, 노인들의 건강과 복지에의 장애, 그리고 대중 목욕시설에서 타인으로의 오염을 줄이기 위하여 치료하는 것이 좋다⁷. 그러나 조갑진균증 중에서 특히 발톱 조갑진균증은 항진균제의 개발에도 불구하고 아직도 약 20% 정도의 치료 실패율을 보이며^{8,9}, 최근 조갑진균증이 증가하는 경향이 있다.

국내 조갑진균증의 배양 양성율은 19.4~48.6% 정도 된다¹⁰⁻¹³. 조갑진균증을 다른 조갑병변과 감별하는 방법으로는 KOH 도말검사, 진균배양검사 (fungal culture), PAS 염색법을 이용한 조직병리학적 염색 방법 (histopathological staining), 그리고 병변조갑에서 잘라낸 가검물을 KOH 용액으로 연화시켜 분쇄, 도말한 다음 periodic acid-Schiff 반응 후 현미경하에서 진균성분을 관찰하는 일명 KONCPA (KOH+Nail Clipping+PAS) 검사 등이 있으며, KONCPA와 Bx/PAS staining은 진균배양검사와 KOH 도말검사의 민감도 (sensitivity)와 특이도 (specificity)가 낮아 이를 높여보고자 고안된 방법들이다. KOH 도말검사와 진

균배양검사의 단점으로는 위음성, 위양성율이 높고 숙련성이 요구되며 배양법의 경우 시간이 오래 걸린다는 것이다. 그러나 이들 방법은 모두 검사의 시행 과정에서 환자에게 상처를 입히지 않으며 배양법을 통해서도 원인 진균을 감별하여 알아낼 수 있다는 장점이 있다. 1948년 Sagher에 의해 소개된 PAS 염색을 통한 조갑백선 진단에 대한 연구¹⁴는 그 이후에도 많이 이루어졌으며 장점으로는 검사 방법이 간편하고 쉬우며 특이도와 민감도가 높고 상대적으로 결과의 확인까지 소요되는 시간이 짧으며 검사의 시행과정에서 환자에게 해가 없고 검사 시행자의 숙련도에 덜 좌우되며 기타 간섭 요소가 거의 없다는 점들이 있다.

저자들의 경우 외래 진료시 2회까지 실시했던 KOH 도말검사에서도 음성으로 판명된 75개의 대상 조갑들 중에서 PAS 염색인 경우에는 43개에서 GMS 염색인 경우에는 39개에서 진균 요소가 확인되었다. 이는 시간의 제한이 있는 외래 진료 환경에서 KOH 도말검사만으로 진단 도구로 이용했을 경우 놓쳤을 조갑의 진균감염을 반수 이상 찾아낸 것으로 이러한 진단율의 상승은 치료 효과의 극대화로 이어질 수 있다고 하겠다. 특히 이제까지의 조갑진균증의 병리조직학적 검사 방법에 관한 연구에서는 주로 PAS 염색법의 유용성에 대해서만 언급하였으며 그에 대한 연구만을 시행하였다. 그러나 저자들이 최초로, PAS 염색과 달리 주로 진균 요소만을 검은색으로 염색하는 GMS 염색법을 이용하여 시행한 조갑판의 GMS 염색의 경우도 PAS 염색과 비슷한 양성율을 보였으며 KOH 도말검사와 비교하여 진단검사 방법으로서의 유의성을 보였다. 따라서 GMS 염색 역시 조갑진균증의 조직병리학적 진단에 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

현재 비용면에서는 조갑판의 병리조직학적 염색을 통한 진단 방법이 진균배양검사나 KOH 도말검사에 비교하여 다소 비싼 편이나 조갑진균증으로 진단될 경우, 이의 치료를 위해 약을 약 3개월 정도 복용해야 한다는 점과 약물복용에 부수되는 간기능 손상 및 약물 반응 등의 위험요소를 고려할 때에는 조갑이형성이 초래된 손톱과 발톱에서의 조갑진균증의 정확한 진단이 필요하기에 이런 점을 고려해 보면 조갑진균증의 진단에서 치료까지의 전체적으

로 수용할 수 있는 정도라고 생각된다.

조갑판의 PAS 염색과 GMS 염색 방법이 염색의 결과로 보여지는 진균의 생명력은 알 수 없으며 또한 진균 균주를 알 수가 없다는 단점 혹은 문제점은 균동정을 원하는 경우 기존의 배양검사를 추가함으로써 해결할 수 있다. 그리고 검사를 위해서는 적당한 조갑판의 길이가 필요하기 때문에 진료 당시 환자 조갑의 길이가 검사 가능 여부에 영향을 끼치며 때로는 환자의 조갑 길이가 충분하지 않을 때 환자에게 상처를 줄 수 있거나 검사가 불가능한 경우도 있다. 이러한 경우 큐벳을 이용하여 조갑판을 끊어서 검사물을 채취할 수도 있겠다. 검사를 시행할 때에 고려해야 하는 것은 두꺼워진 조갑을 손톱톱깡기를 이용하여 잘라낼 경우, 진료실에서 사용할 수 있도록 두꺼워진 조갑의 두께를 감당할 수 있는 소독된 기구와 조갑이 잘리는 순간 튀지 않게 할 수 있는 주변장치가 필요하다는 점이다.

조갑판의 PAS 염색과 GMS 염색의 선택여부는 주변 조갑기질과 진균 사이의 식별여부에 따라 의사의 개인의 선호나 병리 검사실에서의 염색의 질에 따라 선택할 수 있을 것으로 본다.

저자들은 본 방법이 감별할 병변이 다양하고 환자가 많아 진단에 많은 시간을 소요하기 힘든 외래 진료에서 매우 유용하게 사용될 수 있기를 기대한다.

결 론

조갑판의 PAS 염색과 GMS 염색을 이용한 조갑진균증의 진단에 관한 평가를 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. KOH 도말검사에서도 음성으로 나왔던 75개의 조갑 중에서 PAS 염색에서 43예에서 양성으로 나와 57.3%의 양성율을 보였으며, GMS 염색에서 39예에서 양성으로 나와 52.0%의 양성율을 보였다.
2. 짧은 진료시간 동안 조갑진균증 감염여부를 진단해서 하는 외래환자의 진료상황에서 조갑판의 PAS 염색과 GMS 염색을 이용한 진균 요소를 확인하는 방법이 유용하게 쓰일 수 있음을 확인하였다.
3. 저자들은 조갑판 PAS 염색 및 GMS 염색이 조갑진균증의 기존 검사들의 단점을 보완하는 주요 확진 수단으로 사용할 수 있음을 확인하였고, 외래에

서 기존의 KOH 도말검사나 진균배양검사와 더불어 널리 사용할 수 있으리라 생각한다.

참 고 문 헌

1. Ghannoum MA, Hajjeh RA, Scher R, et al. A large-scale North American study of fungal isolates from nails: the frequency of onychomycosis, fungal distribution, and antifungal susceptibility patterns. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43: 641-648
2. Martin AG, Kobayashi GS. Superficial fungal infection: dermatophytosis, tinea nigra, piedra. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolf K, Austin KF, Goldsmith LA, Katz SI, et al. *Dermatology in general medicine*, 5th ed. New York: McGraw-Hill 1999; 2337-2357
3. 대한피부과학회 교과서 편찬위원회 편저. *피부과학*. 개정 4 판. 서울: 여문각 2001: 316-317
4. Elewski BE, Hay RJ. Novel treatment strategies for superficial mycosis: introduction. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40: S1-2
5. Scher RK. Onychomycosis: a significant medical disorder. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 2-5
6. 서무규. 조갑진균증의 치료 및 예방. *의진균지* 2001; 6: 140-142
7. Roberts DT. Onychomycosis. Current treatment and future challenges. *Br J Dermatol* 1999; 141: 1-4
8. Tosti A, Piraccini BM, Stinchi C, Colombo MD. Relapses of onychomycosis after successful treatment with systemic antifungals: a three-year follow-up. *Dermatology* 1998; 197: 162-166
9. Brautigam M, Weidinger G, Nolting S. Successful treatment of toenail onychomycosis with terbinafine and itraconazole gives long term benefits. *Br Med J* 1998; 317: 1084-1085
10. 김종순, 원영호, 전인기, 김영표. 피부진균증의 임상 및 균학적 관찰 (1988-1990). *대피지* 1992; 30: 68-75
11. 이학규, 서성준, 김명남, 홍창권, 노병인, 표재성. 피부진균증의 임상적 및 균학적 관찰. *대피지* 1993; 31: 559-566
12. 문현주, 이지범, 김성진, 이승철, 원영호. 피부진균증의 임상 및 균학적 관찰 (1991-2000). *의진균지* 2002; 7: 78-85
13. 김성욱, 조백기. 조갑진균증에서 진균배양과 병리조직 소견의 비교 검토. *의진균지* 1997; 2: 31-42
14. Sagher F. Histologic examinations of fungus infections of the nails. *J Invest Dermatol* 1948; 11: 337-354