

Etest를 이용한 피부사상균의 항진균제 감수성 검사

동국대학교 의과대학 피부과학교실, 진단검사의학교실¹

강교신 · 서무규 · 하경임¹

= Abstract =

Antifungal Susceptibility Testing of Dermatophytes Using Etest

Gyo Shin Kang, Moo Kyu Suh and Gyoung Yim Ha¹

Departments of Dermatology & Laboratory Medicine¹, College of Medicine,
Dongguk University, Gyeongju, Korea

Background: It is necessary to perform antifungal susceptibility testing of dermatophytes. Etest (AB Biodisk, Sweden) is a rapid, easy-to-perform in-vitro antifungal susceptibility test.

Objective: The purpose of this study was to investigate the minimal inhibitory concentration (MICs) of dermatophytes isolated from skin using Etest.

Methods: 21 species of dermatophytes (12 strains of *T. rubrum*, 7 strains of *T. mentagrophytes*, *M. canis* and *M. gypseum*) and two standard strains (*Aspergillus flavus* KCTC 6905, *Aspergillus fumigatus* KCTC 6145) were tested MIC endpoints of Etest for itraconazole (ITZ) and amphotericin B (AMB) were read after 72, 96, and 120 hours incubation for each strains on RPMI 1640 agar.

Results: MIC of ITZ was 0.12~0.47 µg/mL on *T. rubrum*, 0.012~1.0 µg/mL on *T. mentagrophytes*, 0.012 µg/mL on *M. canis*, and 0.023 µg/mL on *M. gypseum*. MIC of AMB was 0.094~0.5 µg/mL on *T. rubrum*, 0.032~1.0 µg/mL on *T. mentagrophytes*, 0.19 µg/mL on *M. canis*, and 0.032 µg/mL on *M. gypseum*. One strain of *T. mentagrophytes* isolated from patient with tinea pedis showed ITZ-resistant.

Conclusion: This study showed that Etest represented a simple and efficacious method for antifungal susceptibility testing of dermatophytes. [Kor J Med Mycol 2010; 15(3): 124-133]

Key Words: Etest, Dermatophytes

서 론

피부사상균 (dermatophytes)은 인간이나 동물의 피부, 손발톱, 모발 등의 각화된 조직에 침범하여 손발톱백선, 발백선, 머리백선, 몸백선 등의 백선증 (dermatophytosis)을 일으키며, 대부분생자나 소

분생자의 발생유무, 형태 및 배열에 따라 백선균 (*Trichophyton*), 소포자균 (*Microsporum*) 및 표피균 (*Epidermophyton*)의 3군속으로 분류된다¹⁻⁴. 국내에서 현재까지 환자들로부터 분리된 피부사상균은 *Trichophyton(T.) rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. verrucosum*, *T. tonsurans*, *Microsporum(M.) canis*, *M. gypseum*, *Epidermophyton(E.) floccosum* 등 11종이 확인되었다¹.

피부사상균에 의한 감염증이 최근 증가되고 있으며⁵⁻⁸, 특히 면역저하 환자에서는 더 심하고 광범위한 감염을 보인다⁹⁻¹¹. 피부사상균에 의한 감염증의 치료는 일반적으로 국소 항진균제에 잘

접 수 일: 2010년 7월 4일, 수정일: 2010년 8월 28일
최종승인일: 2010년 8월 30일
[†]별책 요청 저자: 서무규, 780-350 경북 경주시 석장동 1090-1, 동국대학교 경주병원 피부과
전화: (054) 770-8268, Fax: (054) 773-1581
e-mail: smg@dongguk.ac.kr

Table 1. List of dermatophyte strains studied

Species	Original code	No. of strains	Source (No.)
<i>T. rubrum</i>	-	11	Tinea unguium (11)
<i>T. rubrum</i>	IFM 45646	1	Japan (1)
<i>T. mentagrophytes</i>	-	5	Tinea unguium (1) Tinea pedis (2) Tinea corporis (2)
<i>T. mentagrophytes var mentagrophytes</i>	IFM 45110	1	Japan (1)
<i>T. mentagrophytes var interdigitale</i>	IFM 40742	1	Japan (1)
<i>M. canis</i>	-	1	Tinea capitis (1)
<i>M. gypseum</i>	-	1	Tinea corporis (1)
Total		21	

T: *Trichophyton*, M: *Microsporium*

IFM: Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University, Japan

반응하나 광범위한 감염이나 손발톱백선 또는 머리백선에서는 장기간 항진균제의 전신투여를 요하며 적절한 항진균제 치료에 저항하여 재발하는 경우도 있어¹²⁻¹⁸, 피부사상균에 의한 감염증에서도 항진균제 감수성 검사가 필요하게 되었다. 피부사상균에 대한 항진균제 감수성 검사는 예전부터 액체배지 희석법이 사용되어 왔으나 시간과 노력이 많이 들어 검사실에서 일상적 검사로 시행하기 어려운 점이 많다^{19,20}. 항진균제 감수성 검사로 최근 개발된 Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden)는 항진균제가 농도별로 연속적으로 묻혀진 플라스틱 strip을 한천배지 위에 올려놓고 배지확산법으로 타원형 억제대를 읽어 최저억제농도 (minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정하여 감수성을 보는 검사로, 피부사상균에서도 액체배지 희석법에 의한 감수성 결과와도 일치율이 높고 간편하고 시간이 적게 들며 쉽게 사용할 수 있는 장점이 있다는 보고들이 있다²¹⁻²³.

이에 저자는 피부사상균에 의한 감염증 치료에 참고로 삼고자 백선증 환자에서 분리된 피부사상균을 대상으로 항진균제인 itraconazole (이하 ITZ), amphotericin B (이하 AMB)에 대한 감수성 검사로 RPMI 1640 배지를 이용하여 Etest를 시행하여 각각의 MIC를 측정하여 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

1. 재료

동국대학교 경주병원에 내원한 백선증 환자 중 임상적으로 백선증이 의심되는 피부병변에서 KOH 검사로 균사가 발견되고 진균배양에서 진균이 배양된 18명의 환자에서 분리된 4균종 18균주 (*T. rubrum* 11주, *T. mentagrophytes* 5주, *M. canis* 1주, *M. gypseum* 1주)의 피부사상균과 일본 지바대학교 진균의학연구소에서 분양 받은 피부사상균 2균종 3주 (*T. rubrum* IFM 45626, *T. mentagrophytes var mentagrophytes* IFM 45110, *T. mentagrophytes var interdigitale* IFM 40742)를 포함하여 총 21주를 대상으로 하였으며 환자들의 임상양상은 Table 1과 같다. 정도관리를 위하여 표준균주로는 한국생물자원센터에서 분양받은 *Aspergillus(A.) flavus* KCTC 6905와 *A. fumigatus* KCTC 6145를 사용하였다. 본원에서 분리균주의 동정은 진균의 육안적 형태 및 현미경적 소견으로 하였다.

2. 방법

1) 균점종액

피부사상균 균주 및 표준균주는 각 균주별로

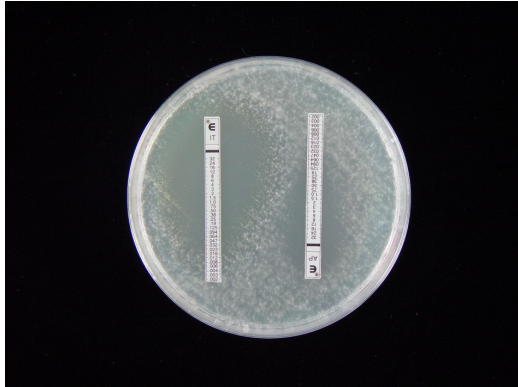


Fig. 1. Susceptibility of *T. rubrum* IV to itraconazole (left) and amphotericin B (right) determined by Etest.

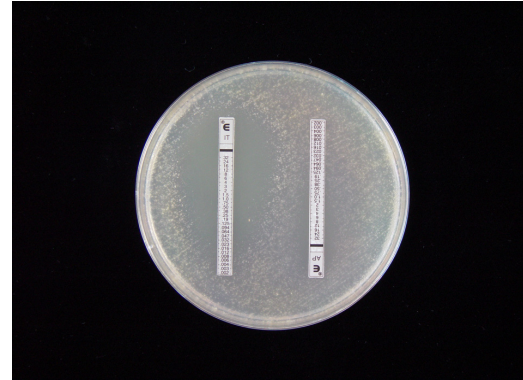


Fig. 2. Susceptibility of *T. mentagrophytes* VI to itraconazole (left) and amphotericin B (right) determined by Etest.

3개씩 potato dextrose agar (이하 PDA) 사면배지에서 35°C, 습윤상태로 3~4주간 계대배양 하였다. 균집락이 충분히 성장한 PDA 사면배지에서 멸균증류수 4~5 ml를 가한 후 멸균 파스퇴르 피펫으로 균집락을 긁어서 피부사상균의 포자 (microconidia)를 부유시켰다. 균사를 제거하기 위하여 멸균된 여과지 (Whatman filter paper, No. 40)와 5 ml 직경의 삼각 유리깔대기 (5 ml-sized triangular glass funnel)를 사용하여 균집락 부유액을 멸균시험관으로 여과시켜 진균의 포자만 부유된 균집종 여과액을 준비하였다. Etest를 시행하기 전에 접종할 균집락 여과액을 530 nm에서 투과도 측정, MacFarland 탁도 측정 및 Hemocytometer를 이용한 수기법으로 항진균제 감수성 검사를 위한 균집종액의 포자수를 측정하였다. 수기법으로 측정된 포자의 수가 1×10^5 /ml 이하인 경우에는 균집락 여과액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 상층액을 1/3~1/2 제거한 후 침전물 (pellet)을 재부유시켜 포자의 수를 농축한 균집종액으로 항진균제 감수성 검사를 시행하였다.

2) 균집종, 배지 및 배양조건

피부사상균의 항진균제 감수성 검사를 위한 Etest용 배지는 RPMI 1640 배지 (Gibo, Grand island, NY, USA)를 사용하였다. RPMI 1640 배지는 L-glutamine 8.4 g, 0.165 M morpholinopropane-sulphonic acid (MOPS) 분말 34.5 g, Dextrose (Fisher

Scierotific, Fair Lawn, NJ, USA) 20 g, Bactoagar (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 15 g을 증류수 1 L에 잘 용해시킨 후 pH 7.0으로 맞추어 121°C에서 15분간 가압 멸균하였다. Etest를 위하여 110 mm 크기의 멸균 평판배지를 사용하였고 배지액은 평판배지 깊이가 4.0 ± 0.5 mm가 되도록 하였다. 항진균제 감수성 검사를 위해 준비한 균집종액을 멸균된 면봉으로 적신 후 RPMI 1640 평판배지에 3방향으로 골고루 바른 후 실온에 15분간 두어 배지 표면이 마른 후 Etest strip (AB Biodisk, Solna, Sweden)을 항진균제의 저농도 표시가 있는 쪽부터 배지 위에 놓았다. 110 mm 평판배지에 ITZ과 AMB Etest strip을 서로 농도가 엇갈리는 방향으로 2장을 놓은 후 35°C 습윤상태로 72시간에서 120시간까지 배양하였다. 처음 예비실험에서는 ITZ과 fluconazole (이하 FCZ) Etest strip을 사용하였으나 FCZ에 대해서는 피부사상균 모두 균성장이 억제되지 않아 AMB로 교체하여 본 실험을 시행하였다

3) Etest의 MIC 판독 및 감수성 판정

배양 72시간, 96시간, 그리고 120시간 후 평판배지에서 Etest strip을 중심으로 균의 성장이 완전히 억제되어 생긴 타원형 억제대의 경계가 Etest strip 눈금과 만나는 교차점을 MIC로 판정하였다 (Fig. 1, 2). 매 검사시 표준균주를 사용하여 정도 관리를 하였다. 피부사상균의 항진균제에 대한

감수성 판정 기준을 보면 항진균제에 대한 내성 기준이 부족하여 ITZ에 대해서는 Caligiome 등²⁴과 같이 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 이전의 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)의 *Candida* 균종에 대한 기준에 따라 ITZ의 MIC가 1 µg/mL 이상을 내성으로 판정하였으며, AMB에 대해서는 Vanden Bossche 등²⁵의 흑색진균에 대한 기준에 따라 AMB의 MIC가 4 mg/ml 이상을 내성으로 판정하였다.

결 과

1. 표준균주의 항진균제에 대한 MIC 성적

표준균주인 *A. flavus* KCTC 6905와 *A. fumigatus*

Table 2. MICs of antifungal agents for two KCTC strains determined by Etest on RPMI 1640 agar

KCTC strain	Antifungal agent	MIC (µg/mL) by Etest ^a
<i>Aspergillus flavus</i>	ITZ	0.023~0.032
KCTC 6905	AMB	0.19~0.25
<i>Aspergillus fumigatus</i>	ITZ	0.38~0.50
KCTC 6145	AMB	0.047~0.064

^aMIC was determined on RPMI 1640 agar after 72 hours
ITZ: itraconazole, AMB: amphotericin B
KCTC: Korean Collection for Type Cultures

KCTC 6145 모두 72시간 배양 후 MIC 범위가 ITZ에 대하여 0.0023~0.50 µg/mL, AMB에 대하여 0.047~0.25 µg/mL이었으며, 반복해서 시험한 결과 ±1 grade 내의 범위 내에서 동일한 결과를 얻어 정도관리 범위내 속하였다 (Table 2).

2. 분리 동정된 흑색진균 균주들의 MIC 성적

T. rubrum 본원 분리균주 11주 중 5주는 72시간 배양 후 MIC 범위가 ITZ에 대하여 0.023~0.064 µg/mL, AMB에 0.047~0.25 µg/mL이었고, *T. rubrum* 본원 분리균주 나머지 6주는 96시간 배양 후 MIC 범위가 ITZ에 대하여 0.023~0.47 µg/mL, AMB에 0.094~0.5 µg/mL이었고, 일본균주인 *T. rubrum* IFM 45626 1주는 96시간 배양 후 MIC가 ITZ에 대하여 0.012 µg/mL, AMB에 0.094 µg/mL이었다. *T. mentagrophytes* 본원 분리균주 5주 중 4주는 72시간 배양 후 MIC 범위가 ITZ에 대하여 0.012~1.0 µg/mL, AMB에 0.032~1.0 µg/mL이었고, *T. mentagrophytes* 본원 분리균주 나머지 1주는 120시간 배양 후 MIC가 ITZ에 대하여 0.012 µg/mL, AMB에 0.094 µg/mL이었고, 일본균주인 *T. mentagrophytes* IFM 45110 1주는 72시간 배양 후 MIC가 ITZ에 대하여 0.016 µg/mL, AMB에 0.032이었다. 그리고 *M. canis* 본원 분리균주 1주는 120시간 배양 후 MIC가 ITZ에 대하여 0.012 µg/mL, AMB에 0.19 µg/mL이었고, *M.*

Table 3. MICs of antifungal agents for dermatophytes determined by Etest on RPMI 1640 agar at different reading times

Species	Antifungal agent	MIC (µg/mL) by Etest		
		72 hour	96 hour	120 hour
<i>T. rubrum</i>	I	ITZ	0.023	
		AMB	0.5	
<i>T. rubrum</i>	II	ITZ	0.064	
		AMB	0.19	
<i>T. rubrum</i>	III	ITZ	0.47	
		AMB	0.38	
<i>T. rubrum</i>	IV	ITZ	0.064	
		AMB	0.25	

Table 3. Continued

Species		Antifungal agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$) by Etest		
			72 hour	96 hour	120 hour
<i>T. rubrum</i>	V	ITZ		0.032	
		AMB		0.25	
<i>T. rubrum</i>	VI	ITZ	0.047		
		AMB	0.064		
<i>T. rubrum</i>	VII	ITZ	0.032		
		AMB	0.047		
<i>T. rubrum</i>	VIII	ITZ	0.064		
		AMB	0.25		
<i>T. rubrum</i>	IX	ITZ	0.023		
		AMB	0.094		
<i>T. rubrum</i>	X	ITZ		0.023	
		AMB		0.094	
<i>T. rubrum</i>	XI	ITZ	0.032		
		AMB	0.125		
<i>T. rubrum</i> IFM 45626	XII	ITZ		0.012	
		AMB		0.094	
<i>T. mentagrophytes</i>	I	ITZ	0.47		
		AMB	1.0		
<i>T. mentagrophytes</i>	II	ITZ	1.0 ^R		
		AMB	0.94		
<i>T. mentagrophytes</i>	III	ITZ	0.47		
		AMB	1.0		
<i>T. mentagrophytes</i>	IV	ITZ			0.012
		AMB			0.094
<i>T. mentagrophytes</i>	V	ITZ	0.012		
		AMB	0.032		
<i>T. mentagrophytes</i> var <i>T. mentagrophytes</i> IFM 45110	VI	ITZ	0.012		
		AMB	0.75		
<i>T. mentagrophytes</i> var <i>T. mentagrophytes</i> IFM 40742	VII	ITZ	0.016		
		AMB	0.032		
<i>M. canis</i>	I	ITZ			0.012
		AMB			0.19
<i>M. gypseum</i>	I	ITZ	0.023		
		AMB	0.032		

ITZ: itraconazole, AMB: amphotericin B, ^R: resistant
T: *Trichophyton*, M: *Microsporum*

gypseum 본원 분리균주 1주는 72시간 배양 후 MIC가 ITZ에 대하여 0.032 µg/mL, AMB에 0.032 µg/mL이었다 (Table 3, 4).

3. 피부사상균 균주들의 항진균제 감수성

Caligiore 등²⁴과 Van Bossche 등²⁵의 감수성 판정 기준에 따르면 AMB에는 MIC가 1.0 µg/mL 이하로 *T. rubrum* 12주, *T. mentagrophytes* 7주, *M. canis* 및 *M. gypseum* 각각 1주 모두 감수성을 보였다. ITZ에는 MIC가 1.0 µg/mL 미만으로 *T. rubrum* 12주, *T. mentagrophytes* 6주, *M. canis* 및

M. gypseum 각각 1주는 감수성을 보였으나 *T. mentagrophytes* 본원 분리균주 1주에서는 MIC가 1.0 µg/mL로 내성을 보였고 임상형은 발백선이었다 (Table 3, 5).

고 찰

피부사상균은 세계적으로 42종의 균종이 밝혀져 있으며 자연활동범위가 사람, 동물, 혹은 토양에 따라 사람친화성 (anthropophilic), 동물친화성 (zoophilic), 또는 흙친화성 (geophilic)으로 3가지 생태학적군으로 나누지만 3군 모두 인체에 감염을 일으킬 수 있다¹².

피부사상균에 의한 감염증의 치료제로는 griseofulvin, ketoconazole, itraconazole, terbinafine, fluconazole 등의 항진균제가 있으나² 손발톱백선이나 머리백선 등에 적절한 항진균제 치료에 저항하여 재발하는 경우가 있어¹²⁻¹⁸ 피부사상균에 대한 항진균제 감수성 검사가 필요하게 되었다.

항진균제 감수성 검사에는 액체배지 희석법, 디스크 확산법, 유세포 분석기 분석법 등이 있으나 표준방법인 액체배지 희석법은 시간과 노력이 많이 들어서 검사실에서 일상적인 검사로 시행하기 어려운 점이 많다^{19,20}. 최근에는 표준방법인 액체배지 희석법의 감수성 결과와도 일치율이 높고 간편한 배지확산법인 Etest가 개발되어 사용되

Table 4. The ranges of MICs for dermatophytes determined by Etest on RPMI 1640 agar

Species (no. of strains)	Antifungal agent	MIC (µg/mL) by Etest
<i>T. rubrum</i> (12)	ITZ	0.012~0.47
	AMB	0.094~0.5
<i>T. mentagrophytes</i> (7)	ITZ	0.012~1.0 ^R
	AMB	0.032~1.0
<i>M. canis</i> (1)	ITZ	0.012
	AMB	0.19
<i>M. gypseum</i> (1)	ITZ	0.023
	AMB	0.032

ITZ: itraconazole, AMB: amphotericin B, ^R: one resistant strain

T: *Trichophyton*, M: *Microsporum*

Table 5. Susceptibility pattern of dermatophytes

Species (no. of strains)	Antifungal agent	Susceptible (%)	Resistant (%)
<i>T. rubrum</i> (12)	ITZ	12 (100.0)	0 (0.0)
	AMB	12 (100.0)	0 (0.0)
<i>T. mentagrophytes</i> (7)	ITZ	6 (85.7)	1 (14.3)
	AMB	7 (100.0)	0 (0.0)
<i>M. canis</i> (1)	ITZ	1 (100.0)	0 (0.0)
	AMB	1 (100.0)	0 (0.0)
<i>M. gypseum</i> (1)	ITZ	1 (100.0)	0 (0.0)
	AMB	1 (100.0)	0 (0.0)

ITZ: itraconazole, AMB: amphotericin B

T: *Trichophyton*, M: *Microsporum*

고 있다²⁶⁻³⁰. 피부사상균에 대한 감수성 검사는 2002년 사상균 (filamentous fungi, molds)에 대해서 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 액체배지 회석법인 M38-A31법이 표준방법으로 제시된 이후 표준화를 위한 여러 논문들의 시도가 시작되어^{5,7,32-38} 이전 연구에서 얻은 자료와 비교는 힘들게 되었다. 피부사상균에 대한 항진균제 감수성 검사 중 Etest를 이용한 연구로는 현재까지 2003년 Fernandez-Torres 등²¹이 피부사상균 30주의 ITZ, AMB, ketoconazole (이하 KTZ) 및 FCZ에 대한 감수성 검사를 처음 보고한 이후 2007년 Da Salva Barros 등²², 2008년 Mendez 등²³의 추가 보고가 있다.

본 연구에서도 새로운 항진균제 감수성 검사인 Etest법을 이용하여 백선증 환자에서 분리된 피부사상균 4균종을 대상으로 항진균제 감수성 검사를 시행하였는데, 초기 예비실험에서 피부사상균 4균종에 대한 항진균제로 ITZ, FCZ 및 AMB 3가지로 실험하였으나 Fernandez-Torres 등²¹과 마찬가지로 FCZ에 대한 MIC가 모두 250 µg/mL 이상으로 균성장이 억제되지 않아, 본 실험에서는 항진균제로 FCZ는 제외하고 ITZ과 AMB 2가지만 사용하였다.

본 실험에서 피부사상균 균주 및 표준균주는 포자형성을 유도하기 위하여 다른 보고자들²¹⁻²³과 마찬가지로 potato dextrose agar에 계대배

Table 6. Comparison of antifungal susceptibility test using Etest of dermatophytes

		Fernandez-Torres et al ²¹ (2003)	Da Salva Barros et al ²² (2007)	Mendez et al ²³ (2008)	Author (2010)
Testing strains Number (species)		30 (5)	39 (1)	46 (3)	21 (4)
Subculture		Potato dextrose agar 10~15 days, 28 °C	Potato dextrose agar 7 days, 28 °C	Potato dextrose agar 7~15 days, 28 °C	Potato dextrose agar 21~28 days, 35 °C
Test media		RPMI 1640 agar	RPMI 1640 agar	RPMI 1640 agar	RPMI 1640 agar
Incubation		Microconidia	Microconidia	Microconidia	Microconidia
Incubation temperature		28 °C	28 °C	35 °C	35 °C
Incubation period		72, 96 hours	96 hours	48, 72 hours	72, 96, 120 hours
MIC (µg/mL)					
<i>T. rubrum</i>	ITZ	0.06~1.0 ^R	0.125~32 ^R	0.02~16 ^R	0.012~0.47
	AMB	0.5~2.0	-	-	0.094~0.5
	FCZ	8~>256 ^R	>256 ^R	0.38~256 ^R	>256 ^R
<i>T. mentagrophytes</i>	ITZ	0.01~0.5	-	0.02~1.5 ^R	0.012~1.0 ^R
	AMB	0.5~2.0	-	-	0.032~1.0
	FCZ	>256 ^R	-	0.125~256 ^R	>256 ^R
<i>M. canis</i>	ITZ	0.25~1.0 ^R	-	-	0.012
	AMB	0.5~2.0	-	-	0.19
	FCZ	>256 ^R	-	-	>256 ^R
<i>M. gypseum</i>	ITZ	-	-	0.12~1.0 ^R	0.023
	AMB	-	-	-	0.032
	FCZ	-	-	1.0~256 ^R	>256 ^R

ITZ: itraconazole, AMB: amphotericin B, FCZ: fluconazole
T: *Trichophyton*, M: *Microsporum*, R: one resistant strain

양 하였으며, 정도관리를 위하여 표준균주로는 Mendez 등³⁴과 같이 *A. flavus*와 *A. fumigatus*를 사용하였고, *T. rubrum*과 *T. mentagrophytes*는 여과지에서 균사를 제거 후 여과된 포자수가 너무 적어서 300 rpm에서 10분간 원심분리 후 상층액을 1/3~1/2 제거한 후 침전물을 재부유시켜 포자수를 농축한 균집중액으로 항진균제 감수성 검사를 시행하였다. 또한 Etest용 배지는 다른 보고자^{21~23}와 마찬가지로 RPMI 1640 배지를 사용하였고, 배양온도와 기간은 Mendez 등²³과 같이 35°C에서 72시간 (3일) 배양하였으나, *T. rubrum* 7주는 96시간 (4일), *T. mentagrophytes* 1주와 *M. canis* 1주는 120시간 (5일)까지 배양하여 MIC를 측정하였다. 본 실험에서 피부사상균 균주의 항진균제 MIC 및 감수성 결과를 보면 AMB에 대한 MIC는 1.0 µg/mL 이하로 *T. rubrum* 12주, *T. mentagrophytes* 7주, *M. canis* 및 *M. gypseum* 각각 1주 모두 감수성을 보였고, ITZ에 대한 MIC는 *T. mentagrophytes* 7주 중 1주만 1.0 µg/mL로 내성을 보였고 나머지 균주들은 1.0 µg/mL 미만으로 감수성을 보였다. 본 연구와 다른 보고들^{21~23}을 비교해 보면 (Table 6) 본 연구와 마찬가지로 다른 보고들^{21~23}에서도 모두 ITZ에는 내성을 보인 피부사상균 균주가 있었으나 AMB에 대해서는 Fernandez-Torres 등의 보고에서도 내성을 보인 균주가 없었다.

이상으로 Etest법으로 RPMI 배지를 이용하여 피부사상균 균주에 대한 MIC를 판정할 수 있었고, 항진균제 감수성 검사로 검사실에서 일상적 검사로 시행할 수 있을 것으로 생각되며, 향후 더 많은 피부사상균균에 대한 실험으로 내성균주 출현을 조사해 볼 필요가 있을 것으로 생각된다.

결 론

동국대학교 경주병원에 내원한 백선증 환자 중 임상적으로 백선증이 의심되는 피부병변에서 KOH 검사로 균사가 발견되고 진균배양에서 진균이 배양된 18명의 환자에서 분리된 4균종 18

균주 (*T. rubrum* 11주, *T. mentagrophytes* 5주, *M. canis* 1주, *M. gypseum* 1주)의 피부사상균과 일본 지바대학교 진균의학연구소에서 분양 받은 피부사상균 2균종 3주 (*T. rubrum* IFM 45626, *T. mentagrophytes var mentagrophytes* IFM 45110, *T. mentagrophytes var interdigitale* IFM 40742)를 포함하여 총 21주를 대상으로 항진균제인 itraconazole (이하 ITZ), amphotericin B (이하 AMB)에 대한 감수성을 보기 위하여 RPMI 1640배지를 이용하여 Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden)를 시행하여 최저억제농도 (minimal inhibitory concentration, 이하 MIC)를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

피부사상균 균주들의 항진균제에 대한 MIC 성적은 AMB에서는 MIC가 1.0 µg/mL 이하로 *T. rubrum* 12주, *T. mentagrophytes* 7주, *M. canis* 및 *M. gypseum* 각각 1주 모두 감수성을 보였다. ITZ에는 MIC가 1.0 µg/mL 미만으로 *T. rubrum* 12주, *T. mentagrophytes* 6주, *M. canis* 및 *M. gypseum* 각각 1주는 감수성을 보였으나 *T. mentagrophytes* 본원 분리균주 1주에서는 MIC가 1.0 µg/mL로 내성을 보였고 임상형은 발백선이었다.

이상으로 Etest를 이용한 피부사상균의 항진균제 감수성 검사는 시행이 간편하고 유용하였다.

REFERENCES

1. Roh JY, Park SD, Lee JH, Park CJ, Kim HU, Kwon KS, et al. Superficial mycosis. Korean Dermatological Association, Dermatology. 5th ed. Seoul:Ryo moon gak, 2008:346-356
2. Nelson MM, Martin AG, Heffernan MP. Superficial fungal infections: dermatophytosis, onychomycosis, tinea nigra, piedra. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, editors. Fitzpatrick's dermatology in medicine. 6th ed. New York. Mcgraw-Hill, 2003:1989-2005
3. Kwon-Chung KJ, Bennet JE. Medical mycology. Philadelphia, Lea & Febiger 192:105-161
4. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes.

- Clin Microbiol Rev 1995;8:240-259
5. Fernandez-Torres B, Cabanes FJ, Carrillo-Munoz AJ, Esteban A, Inza I, Abarca L, et al. Collaborative evaluation of optimal antifungal susceptibility testing conditions of dermatophytes. J Clin Microbiol 2002; 40:3999-4003
 6. Barchiesi F, Arzeni D, Camiletti V, Simonetti O, Cellini A, Offidani AM, et al. In vitro activity of posaconazole against clinical isolates of dermatophytes. J Clin Microbiol 2001;39:4208-4209
 7. Fernandez-Torres B, Carrillo AJ, Martin E, Palacio A, Moore MK, Valverde A, et al. In vitro activities of 10 antifungal drugs against 508 dermatophyte strains. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:2524-2528
 8. Jessup CJ, Warner J, Isham N, Hasan I, Ghannoum MA. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. J Clin Microbiol 2000;38:341-344
 9. Parro AM, Yosioka MC, Kaminski SK, Palmeira MA, Fischman O, Alchome M. Disseminated dermatophytosis caused by *Microsporium gypseum* in two patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Mycopathologia 1997;137:9-12
 10. Squeo RF, Beer R, Silvers D, Weitzman I, Grossman M. Invasive *Trichophyton rubrum* resembling blastomycosis infection in the immunocompromised host. J Am Acad Dermatol 1998;39:379-380
 11. Tsang P, Hopkins T, Jimenez-Lucho V. Deep dermatophytosis caused by *Trichophyton rubrum* in a patient with AIDS. J Am Acad Dermatol 1996;34: 1090-1091
 12. Santos DA, Hamdan JS. In vitro activities of four antifungal drugs against *Trichophyton rubrum* isolates exhibiting resistance to fluconazole. Mycoses 2007; 50:286-289
 13. Gupta AK, Kohli Y. Evaluation of in vitro resistance in patients with onychomycosis who fail antifungal therapy. Dermatology 2003;207:375-380
 14. Mukherjee PK, Leidich SD, Isham N, Leitner I, Ryder NS, Ghannoum MA. Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:82-86
 15. Burkhart CN, Burkhart CG, Gupta AK. Dermatophytoma: recalcitrance to treatment because of existence of fungal biofilm. J Am Acad Dermatol 2002;47:629-631
 16. Millikan LE. Role of oral antifungal agents for the treatment of superficial fungal infections in immunocompromised patients. Cutis 2001;68(Suppl 1):6-14
 17. Neiwerth M, Korting HC. The use of systemic antimycotics in dermatotherapy. Eur J Dermatol 2000; 10:155-160
 18. Boudghene-Stambouli O, Merad-Boudia A. Antifungal agents in dermatophytic disease: failure of griseofulvin, ketoconazole and itraconazole. Bull Soc Pathol Exot 1990;83:170-176
 19. Arikan S. Current status of antifungal susceptibility testing methods. Med Mycol 2007;45:569-587
 20. Shin JH. Antifungal drug susceptibility. Hanyang Med Rev 2006;26:79-85
 21. Fernandez-Torres B, Carrillo-Munoz A, Ortoneda M, Pujol I, Pastor FJ, Guarro J. Interlaboratory evaluation of the Etest for antifungal susceptibility testing of dermatophytes. Med Mycol 2003;41:125-130
 22. Da Silva Barros ME, de Assis Santos D, Hamdan JS. Antifungal susceptibility testing of *Trichophyton rubrum* by Etest. Arch Dermatol Res 2007;299: 107-109
 23. Mendez CC, Serrano MC, Valverde A, Peman J, Almeida C, Martin-Mazuelos E. Comparison of Etest, disk diffusion and modified CLSI broth microdilution (M38-A) method for in vitro testing of itraconazole, fluconazole, voriconazole against dermatophytes. Med Mycol 2008;46:119-123
 24. Caligiorno RB, Resende MA, Melillo PH, Peluso CP, Carmo FH, Azevedo V. In vitro susceptibility of chromoblastomycosis and phaeohiphomyces agents to antifungal drugs. Med Mycol 1999;37:405-409
 25. Vanden Bossche H, Warnock DW, Dupont B, Kerridge D, Sen Gupta S, Improvisi L, et al. Mechanisms and clinical impact of antifungal drug

- resistance. J Med Vet Mycol 1994;32(Suppl 1):189-202
26. Kim YJ, Suh MK, Ha GY. Azole antifungal susceptibility testing of *Candida* species using E test. Korean J Dermatol 2001;39:654-659
27. Vivas JR, Torres-Rodríguez JM. In vitro antifungal susceptibility of dematiaceous filamentous fungi using the E-test. Rev Esp Quimioter 2001;14:191-197
28. Espinel-Ingroff A. In vitro fungicidal activities of voriconazole, itraconazole, and amphotericin B against opportunistic moniliaceous and dematiaceous fungi. J Clin Microbiol 2001;39:954-958
29. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Diekema DJ. In vitro susceptibility testing of filamentous fungi: comparison of Etest and reference M38-A microdilution methods for determining posaconazole MICs. Diagn Microbiol Infect Dis 2003;45:241-244
30. Ko WT, Suh MK, Ha GY. Antifungal susceptibility testing of dematiaceous fungi using Etest. Korean J Med Mycol 2009;14:163-170
31. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidial-forming filamentous fungi. Approved standard CLSI M38-A. CLSI: Wayne, PA, 2002
32. Ghannoum MA, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Pfaller MA, Rinaldi MG, Lee-Yang W, et al. Intra- and interlaboratory study of a method for testing the antifungal susceptibilities of dermatophytes. J Clin Microbiol 2004;42:2977-2979
33. Carrillo-Muñoz AJ, Cárdenes CD, Carrillo-Orive B, Rodríguez V, Del Valle O, Casals JB, et al. In vitro antifungal activity of voriconazole against dermatophytes and superficial isolates of *Scopulariopsis brevicaulis*. Rev Iberoam Micol 2005;22:110-113
34. Santos DA, Hamdan JS. Evaluation of broth microdilution antifungal susceptibility testing conditions for *Trichophyton rubrum*. J Clin Microbiol 2005;43:1917-1920
35. Santos DA, Barros ME, Hamdan JS. Establishing a method of inoculum preparation for susceptibility testing of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. J Clin Microbiol 2006;44:98-101
36. Ghannoum M, Isham N, Sheehan D. Voriconazole susceptibilities of dermatophyte isolates obtained from a worldwide tinea capitis clinical trial. J Clin Microbiol 2006;44:2579-2580
37. Santos DA, Hamdan JS. In vitro antifungal oral drug and drug-combination activity against onychomycosis causative dermatophytes. Med Mycol 2006;44:357-362
38. Carrillo-Muñoz AJ, Giusiano G, Guarro J, Quindós G, Guardia C, del Valle O, et al. In vitro activity of voriconazole against dermatophytes, *Scopulariopsis brevicaulis* and other opportunistic fungi as agents of onychomycosis. Int J Antimicrob Agents 2007;30:157-161