

16S Ribosomal RNA로 진단한 *Nocardia brasiliensis*에 의한 파종성 피부 노카르디아증 1예

연세대학교 의과대학 피부과학교실 및 피부생물학연구소, 진단검사의학교실 및 세균내성연구소¹

신정우 · 권연숙 · 김희정 · 박용정¹ · 이경원¹ · 이광훈

A Case of Disseminated Cutaneous Nocardiosis due to *Nocardia brasiliensis* Diagnosed by Fine Needle Aspiration Biopsy and 16S Ribosomal RNA Sequencing

Jung U Shin, M.D., Yeon Sook Kwon, M.D., Hee Jung Kim, M.D., Yongjung Park, M.D.¹,
Kyungwon Lee, M.D.¹, Kwang Hoon Lee, M.D.

Department of Dermatology and Cutaneous Biology Research Institute, Department of Laboratory Medicine and Research Institute of Bacterial Resistance¹, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Nocardiosis is a rare, life-threatening infection in the immunocompromised host. The causative bacteria are members of the genus *Nocardia* and are filamentous gram-positive bacilli that usually infect the lung, skin, and central nervous systems. Cutaneous nocardiosis presents as a disseminated infection or as a primary infection resulting from inoculation. Isolation of *Nocardia* from clinical specimens and identification of species is difficult and needs the expertise of a microbiologist. These infections are particularly important because of the associated high risk of dissemination. Hence, prompt identification of this organism is crucial. Herein we report a case of disseminated nocardiosis caused by *N. brasiliensis* in a 64-year-old man diagnosed by fine needle aspiration (FNA) and 16S ribosomal RNA sequencing. The patient was treated with trimethoprim plus sulfamethoxazole, imipenem, and amikacin with an improvement of symptoms. (Korean J Dermatol 2009;47(9):1024~1028)

Key Words: Cutaneous, Nocardiosis, *N. brasiliensis*

서론

*Nocardia*는 그람 양성 호기성 방선균으로 드물게 감염되나, 면역력이 저하된 환자에 감염 시 생명을 위협할 수 있다. 주로 폐, 피부 그리고 중추신경계에 감염을 일으키며 화농성 육아종성 질환의 양상으로 나타난다. 피부의 노카르디아증은 파종성 감염의 증상의 하나로 나타나거나, 직접 접촉에 의한 원발성 감염의 형태로 나타난다. 임상적으로 가장 흔하게 동정되는 균은 *Nocardia asteroides*이며 원발성 피부감염의 가장 흔한 균주는 *N. brasiliensis*이다^{1,2}. *Nocardia*에 의한 감염은 드물지만 파종성이 강하고 특징적인 약물 내성과 높은 사망률을 보이므로 빠른 진단에 중요

하다^{1,4}. 면역력이 저하된 환자들에서 감염의 위험이 증가하며 최근 암 환자들이 증가함에 따라 항암치료에 의한 면역저하 환자들이 증가 추세에 있어 노카르디아증도 더 증가할 것으로 생각된다. 이에 저자들은 피부과 의사로서 피부 노카르디아증의 임상양상을 잘 알고 초기에 진단을 내리는 것이 중요할 것으로 생각되어 16S ribosomal RNA로 균주를 진단한 증례를 보고하고자 한다.

증례

환자: 한○○, 64세, 남자

주소: 왼팔의 압통성 홍반성 결절

현병력: 본인 중앙 내과 입원 중 수일 전부터 발생한 왼팔의 압통성 홍반성 결절을 주소로 피부과에 협진 의뢰됨.

과거력 및 가족력: 악성 흉선종의 폐 전이, 간 전이, 뼈 전이로 항암치료 중임. 병변 발생 전 피부에 특별한 외상의 병력은 없었음.

이학적 소견: 전신 상태는 양호하였고 피부 증상 이외

<접수: 2009. 6. 29, 수정: 2009. 7. 20, 게재허가: 2009. 8. 2.>

교신저자: 이광훈

주소: 120-752 서울시 서대문구 신촌동 134번지
연세대학교 의과대학 피부과학교실

전화: 02)2228-2080, Fax: 02)393-9157

E-mail: kwanglee@yuhs.ac

특기 사항 없음.

피부 소견: 왼팔에 단독으로 발생한 2×2 cm 크기의 홍반성 결절(Fig. 1) 및 양쪽 무릎의 미만성 홍반 및 부종

병리 조직학적 소견: 조직 생검 소견 상 진피의 림프구 및 조직구의 혈관 주변 침윤 외에는 특이 소견 보이지 않았다(Fig. 2).

검사실 소견: 일반 혈액 및 일반 화학 검사에서 특이 사항 없었으며, 조직검사 부위와 동일한 피부 병변에서 시행한 미세 침 흡인 검체를 혈액 한천 배지에 접종하여 30°C 항온기에서 5일간 배양한 결과, 하얗고 건조한 양상의 집락을 확인할 수 있었음. 배양된 집락의 도말염색 결과 그람양성 사상균이 관찰되었으며 항산성 염색에서 음성이었으나 변형 항산성 염색에서 양성 소견이 관찰됨(Fig. 3). 배양된 집락에 대한 생화학적 동정 시험에서 casein 가수분

해 양성, adenine 및 xanthine 가수분해 음성 소견이 관찰됨. 잘 형성된 집락으로부터 bacterial DNA를 추출하여 16S rRNA 증폭을 위한 시발체(Forward: 5'-AGAGTTTGA-TCCTGGCTCAG-3', Reverse: 5'-AAGGAGGTGATCCAGC-CGCA-3')를 사용하여 PCR을 시행하였으며, 약 1,400 b.p.의 증폭된 DNA를 ABI BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (dye-terminator method)를 이용하여 증폭한 후 ABI 3730xl DNA analyzer로 염기서열을 분석하였음. 분석된 결과를 Basic Local Alignment Search Tool을 이용하여 NCBI GenBank의 염기서열과 대조한 결과 *N. brasiliensis*와 99% 일치하는 소견을 보임(Fig. 4). 또한 항균제 감수성 시험에서 amikacin, amoxicillin-clavulanate, linezolid,



Fig. 1. A 2×2 cm sized erythematous nodule on the left forearm

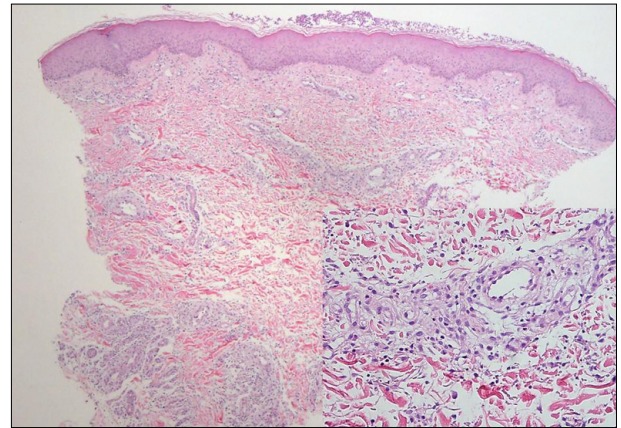


Fig. 2. Superficial and deep, interstitial and perivascular lymphohistiocyte infiltration in the dermis (H&E, ×40). Inset: A high power view reveals infiltration of inflammatory cells, especially lymphocytes and histiocytes (H&E, ×200).

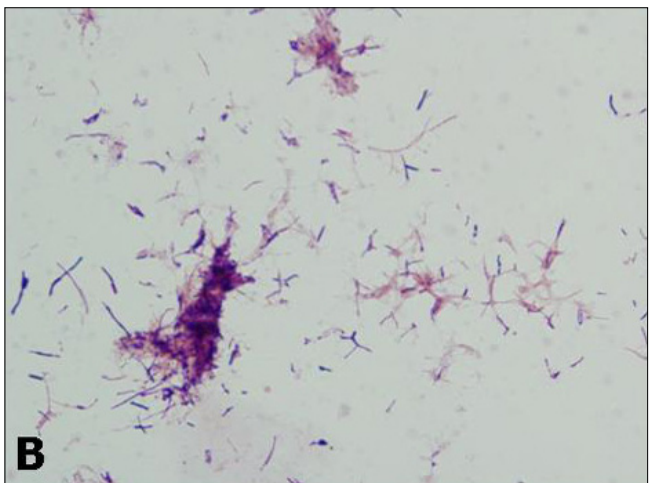


Fig. 3. (A) Culture on blood agar plate for 5 days showed typical white dry colony. (B) Gram staining of cultured colony showed branching gram-positive rods.



Fig. 4. Nucleic acid extract prepared from well-isolated bacterial colonies are subjected to PCR then matched to the NCBI GenBank data base. The sequence data confirmed the presence of *N. brasiliensis*.

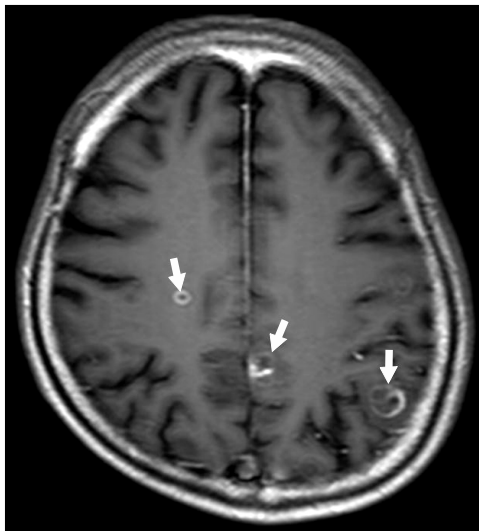


Fig. 5. Brain MRI shows diffusion restricted within the lesions (arrows), which is suggestive of abscess.

trimethoprim-sulfamethoxazole, tobramycin에 감수성, ceftriaxone에 중간내성, clarithromycin에 내성을 보임.

치료 및 경과: 원발성 피부 노카르디아증으로 진단 후 trimethoprim과 sulfamethoxazole 전신 투여로 입원 치료 중 새로운 피부 병변이 무릎에 발생하고 의식이 떨어지는 소견을 보임. 전신성 노카르디아증 여부를 감별 위해 diffusion brain magnetic resonance imaging (MRI)을 시행함. MRI 상에서 조영 증강되는 다수의 병변이 관찰되었으며 농양을 시사하는 소견을 보임(Fig. 5).

원발성 피부 감염에서 시작된 파종성 노카르디아증으로 생각되어 imipenem, amikacin 추가로 사용 후 호전되었으며 현재는 trimethoprim과 sulfamethoxazole로 유지중임.

고 찰

*Nocardia*는 특징적인 육아종성 염증과 굴(sinus)을 형성하며 생명에 치명적인 병을 일으킬 수 있다^{1,2}. *Nocardia*는 70여 가지의 종으로 구성된 호기성 방선균으로 토양에 주로 존재하며 대표적인 균주로는 *N. asteroides*를 비롯하여 *N. brasiliensis*, *N. otitidiscavarium*, *N. nova*, 그리고 *N. farcinica* 등이 있다. 면역력이 저하된 환자에서 잘 발생하며 위험 인자로는 스테로이드의 사용³⁻⁵, 자가면역질환^{3,4}, 만성 알코올 중독^{6,7}, 후천면역결핍증후군⁸, 당뇨⁷, 이식^{3,8}, 고혈압 그리고 혈액암^{3,5} 등이 있다.

피부 노카르디아증은 상처 등으로 인해 직접 감염되는 일차성과 내부 장기로부터 전파되어 발생하는 이차성으로 나뉘게 되며 일차성은 다시 진균증, 표재성 피부형, 피부림프관형으로 나뉘게 된다. 이 중 가장 흔한 형은 이차성 감염이며 주로 폐로부터 전파되어 발생하고 면역력이 저하된 환자에서 주로 발생하며⁹ 원발성 피부 노카르디아증 중에서는 피부림프관형이 가장 흔한 것으로 보고되었다¹⁰.

파종성 감염은 혈행성으로 발생하며 주로는 일차적인 호흡기 감염으로부터 발생하나 피부 감염으로부터 발생하기도 한다. 뇌가 가장 흔하게 전파되는 기관이며² 주로 농양을 형성하게 된다. 파종성 감염의 경우 예후가 좋지 않아 사망률이 40%에서 85%에 달한다^{2,3}.

본 환자에서는 특기할 만한 호흡기 증상이 없었으며 방사선 소견 상 전이된 암 외에는 특이 소견 없었다. 또한 피부에 증상이 가장 먼저 단독으로 발생한 것으로 보아 환자가 기억하지 못하는 외상에 의해 피부 감염이 생긴 후 뇌로 전파되었을 가능성 높을 것으로 생각된다.

노카르디아증은 면역 저하 환자에서 높은 사망률을 보이며 균주에 따라 다른 항생제 내성을 보이기 때문에 정확한 조기 진단과 치료가 중요하다. 노카르디아증의 진단을 위해서는 미세흡인 세포검사 방법이 안전하고 효과적인 방법으로 사용된다^{4,11}. 도말 염색에서는 그람양성의 사상균으로 관찰되며, 항산성 염색에서 음성이나 산의 농도를 낮춘 변형 항산성 염색에서는 양성 소견을 보인다. 배양

Table 1. Clinical features of the 3 cutaneous nocardiosis cases in Korea

Case no.	Study	Age/Sex	No. of lesions	Location	Symptom	Extracutaneous involvement	Trauma history	Organism isolation
1	Lee et al. (1999) ¹⁴	42/F	Multiple	Dorsum of foot	—	—	Yes	Biochemical studies
2	In et al. (2008) ¹⁵	70/F	Multiple	Dorsum of hand, forearm, elbow	Pain	Lung	Yes	Not isolated
3	Shin et al. (this report)	64/M	Multiple	Elbow, knee	Pain	Lung, brain	No	16S ribosomal RNA, biochemical studies

소견은 특징적으로 하얗고 건조한 양상의 집락을 보이며 서서히 자라서 균중에 따라 3일에서 2주 이상의 배양 기간이 필요하다. 균주의 동정을 위해 urea hydrolysis, pyrrolidonyl aminopeptidase, gamma-glutamyl aminopeptidase, alpha-mannosidase, alpha glucosidase 등의 생화학적 방법이 쓰이고 있지만 이러한 방법은 시간이 많이 걸리는 단점이 있다. 반면에 16S ribosomal RNA sequencing 방법은 짧은 시간 내에 균을 동정할 수 있어 조기 진단과 치료에 유용하게 사용된 보고가 있다.^{12,13} 본 증례에서는 정확한 진단을 위해 생화학적 검사와 16S ribosomal RNA sequencing을 병행하였으며 두 검사 모두 *N. brasiliensis*에 합당한 결과를 보였다. 하지만 생화학적 검사는 5~7일 정도의 기간이 필요하였던 것에 비하여 16S ribosomal RNA sequencing은 이들 만에 결과를 확인할 수 있어 빠른 진단과 치료의 시작이 가능하였다.

피부 노카르디아증의 조직학적 소견은 일반적으로 비특이적인 육아종과 조직의 괴사 및 섬유화의 소견을 보이나^{14,15} 본 증례와 유사하게 급성 염증반응만을 보인 증례도 보고된 바가 있다.¹⁶ 이는 아마도 육아종 형성 전 병변 발생 초기에 조직검사를 시행하였기 때문일 것으로 사료된다.

노카르디아증의 치료로는 sulfonamide가 가장 오랫동안 주요한 치료제로 사용되어 왔다. 파종성 질환에서는 뇌혈관 장벽(blood-brain barrier)을 잘 통과하는 trimethoprim과 sulfamethoxazole이 좋은 효과를 보인다.¹⁷ 그 외의 다른 노카르디아증에 대한 치료제는 minocycline, augmentin, amikacin, cefuroxime, ceftriaxone, quinolones, imipenem 등이 있다.¹⁸ *Nocardia* 균주마다 다른 약제 내성을 보이는 것으로 알려져있으며 그 중 *N. brasiliensis*는 imipenem과 ceftriaxone에 내성, amoxicillin-clavulanate에는 감수성을 보이며¹⁹ 최근 연구된 바에 의하면 mouse model에서 linezolid가 가장 좋은 치료 효과를 보였다.²⁰ 본 증례에서 분리된 균주의 항균제 감수성 시험에서도 amikacin, amoxicillin-clavulanate, linezolid, trimethoprim-sulfamethoxazole, tobramycin에 감수성, ceftriaxone에 중간내성, clarithromycin에 내성을 보여 상기 문헌들의 보고와 유사하였다.

국내에서는 *nocardia*에 의한 피부 질환에 대하여 2개의 증례 보고가 있으며 그 중 하나는 전신적인 침범을 보였다. 한 보고에서는 생화학적 검사를 통하여 균 동정을 시

행하였으며 다른 보고에서는 균 동정을 시행하지 않았고 미세흡인 세포검사 및 16S RNA sequencing을 통한 조기 진단 및 균주 동정의 예는 보고된 바가 없었다(Table 1). 노카르디아증은 드문 감염이지만 감염되어 파종성 질환으로 발전한 경우 높은 사망률을 보일 수 있으므로 조기 진단이 중요하며 균주마다 약제 내성이 달라 균주의 동정 또한 중요하다고 할 수 있겠다. 이에 저자들은 면역이 저하된 환자에서 홍반성 결절 발생 시 빠른 확진을 위한 방법으로 배양 및 균 동정에 있어 미세흡인 세포검사 및 16S ribosomal RNA가 유용할 것으로 사료되어 보고한다.

참 고 문 헌

- Brown-Elliott BA, Brown JM, Conville PS, Wallace RJ Jr. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. Clin Microbiol Rev 2006; 19:259-282
- McNeil MM, Brown JM. The medically important aerobic actinomycetes: epidemiology and microbiology. Clin Microbiol Rev 1994;7:357-417
- Agterof MJ, van der Bruggen T, Tersmette M, ter Borg EJ, van den Bosch JM, Biesma DH. Nocardiosis: a case series and a mini review of clinical and microbiological features. Neth J Med 2007;65:199-202
- Xi L, Lu C, Zeng F, Chen W, Wu S, Mikami Y. Subcutaneous and brain abscesses caused by *Nocardia farcinica* in China. Chin Med J (Engl) 2000;113:862-864
- Lederman ER, Crum NF. A case series and focused review of nocardiosis: clinical and microbiologic aspects. Medicine (Baltimore) 2004;83:300-313
- Graat HC, Van Ooij A, Day GA, McPhee IB. *Nocardia farcinica* spinal osteomyelitis. Spine 2002;27:E253-257
- Tatti KM, Shieh WJ, Phillips S, Augenbraun M, Rao C, Zaki SR. Molecular diagnosis of *Nocardia farcinica* from a cerebral abscess. Hum Pathol 2006;37:1117-1121
- Mathur S, Sood R, Aron M, Iyer VK, Verma K. Cytologic diagnosis of pulmonary nocardiosis: a report of 3 cases. Acta Cytol 2005;49:567-570
- Kalb RE, Kaplan MH, Grossman ME. Cutaneous nocardiosis.

- osis. Case reports and review. J Am Acad Dermatol 1985; 13:125-133
10. Fukuda H, Saotome A, Usami N, Urushibata O, Mukai H. Lymphocutaneous type of nocardiosis caused by *Nocardia brasiliensis*: a case report and review of primary cutaneous nocardiosis caused by *N. brasiliensis* reported in Japan. J Dermatol 2008;35:346-353
 11. Onuma K, Crespo MM, Dauber JH, Rubin JT, Sudilovsky D. Disseminated nocardiosis diagnosed by fine needle aspiration biopsy: quick and accurate diagnostic approach. Diagn Cytopathol 2006;34:768-771
 12. Han XY, Pham AS, Tarrand JJ, Sood PK, Luthra R. Rapid and accurate identification of mycobacteria by sequencing hypervariable regions of the 16S ribosomal RNA gene. Am J Clin Pathol 2002;118:796-801
 13. Wauters G, Avesani V, Charlier J, Janssens M, Vaneechoutte M, Delmee M. Distribution of *nocardia* species in clinical samples and their routine rapid identification in the laboratory. J Clin Microbiol 2005;43:2624-2628
 14. Lee SH, Suh CW, Choi JH, Sung KJ, Moon KC, Koh JK. A case of primary cutaneous sporotrichoid nocardiosis caused by *nocardia* asteroides. Ann Dermatol (Seoul) 1999; 11:90-93
 15. In SG, Han SH, Shin JU, Choi GS, Chun MH. A case of disseminated nocardiosis secondary to the skin nodules in an elderly women. Ann Dermatol (Seoul) 2008;20:82-85
 16. Garcia-Benitez V, Garcia-Hidalgo L, Archer-Dubon C, Orozco-Topete R. Acute primary superficial cutaneous nocardiosis due to *Nocardia brasiliensis*: a case report in an immunocompromised patient. Int J Dermatol 2002;41:713-714
 17. Huang CC, Lee CC, Chu NS. A case of cerebral nocardiosis successfully treated with trimethoprim-sulfamethoxazole. J Formos Med Assoc 1991;90:407-410
 18. Moylett EH, Pacheco SE, Brown-Elliott BA, Perry TR, Buescher ES, Birmingham MC, et al. Clinical experience with linezolid for the treatment of *nocardia* infection. Clin Infect Dis 2003;36:313-318
 19. Wallace RJ Jr, Nash DR, Johnson WK, Steele LC, Steingrube VA. Beta-lactam resistance in *Nocardia brasiliensis* is mediated by beta-lactamase and reversed in the presence of clavulanic acid. J Infect Dis 1987;156:959-966
 20. Gomez-Flores A, Welsh O, Said-Fernandez S, Lozano-Garza G, Tavarez-Alejandro RE, Vera-Cabrera L. In vitro and in vivo activities of antimicrobials against *Nocardia brasiliensis*. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:832-837