

Pityrosporum 균속의 항진균제에 대한 연구

경산대학 부속 한방병원, 경산대학교 보건과학과*, 대구 가톨릭피부과의원**

정병천† · 노병의* · 방용준**

국문초록: *Pityrosporum* spp.은 1952년 Vanbreuseghem가 전풍환자에서 분리한 *Pityrosporum* spp.를 round form, elongated form 및 oval form으로 구분하고 이중 round form를 *Pityrosporum* (*P.*) *orbiculare*라 하고 oval form를 *P. ovale*에 해당된다고 하였다. 현재 *Pityrosporum* 균속에는 *P. orbiculare*, *P. ovale*, *P. pachydermatis*가 있고, 이 중 *P. orbiculare*와 *P. ovale*는 호지방성으로 배양시 일반적인 진균배지에 올리브 기름을 첨가하여 37°C에 배양하면 효모양의 집락을 형성하며 cholesterol, cholesterol ester가 첨가된 배지와 전풍환자에서는 균사를 볼 수 있다. *Pityrosporum* spp.도 *Candida* spp. 처럼 효모기 (yeast phase)는 비병원성이고 균사기 (mycelial phase)에는 병원성이 있으며 균의 분리는 전풍환자에서 뿐만 아니라 건강한 성인에서도 90%이상 배양되는 인체에 정상적으로 존재하는 상재균이기도 하다. 이러한 배양 조건 때문에 *Pityrosporum* 균속의 항진균제에 대한 연구는 드물다. 이에 현재 사용되고 있는 ketoconazole, itraconazole, selenium sulfide, sodium thiosulfate의 MIC 검사를 한 결과 ketoconazole은 0.05~0.8µg ml⁻¹로 itraconazole, selenium sulfite 및 sodium thiosulfate보다 ketoconazole이 MIC가 가장 낮게 나타난다. *P. orbiculare*의 대한 각 약제의 MIC를 비교해 보면 4종의 약제 전부에서 ketoconazole이 낮았으며, 건강한 인에서 분리한 균주가 전풍환자에서 분리한 균주보다 MIC₅₀, MIC₉₀에서 모두 낮았다. *P. ovale*에 대한 경구용 및 국소용 항진균제의 MIC₅₀, MIC₉₀에서도 *P. orbiculare*보다 현저히 낮은 MIC를 보였다.

서 론

Genus *Pityrosporum*에는 *Pityrosporum* (이하 *P.*) *orbiculare*, *P. ovale*, *P. pachydermatis*가 있다¹⁵⁾. 이 중 *P. orbiculare*와 *P. ovale*는 친 지방성으로 성장에 지방성분이 필요하며 인체에 정상균총으로 존재하거나 때때로 병원성 균으로 전풍, 여드름 또는 비듬의 원인이 되기도 한다. McGinley¹²⁾는 *Pityrosporum*도 *Candida*처럼 효모기 (yeast phase)는 비병원적이고 균사기 (mycelial phase)로 변형되어 병변을 초래한다고 주장하였고 Burke⁶⁾ 등이 효모기에서 균사기로 변형되는데 관여하는 인자로 lymphokine 형성의 결핍, 유전적 소인, 부신피질 호르몬제 투여, 다한증 (多汗症), 항면역제 치료, 영양실조 등을 들었다. Robert¹⁶⁾ 등은 특수균

사가 균사를 형성하고 균사에 감수성이 있는 사람이 감염되어 병변을 일으킨다고 하였다. *Pityrosporum* spp. 감염증의 치료는 진신치료와 국소치료로 구분하며 진신치료에 사용하는 항진균제로서 ketoconazole, itraconazole과 국소치료제로 miconazole, clotrimazole, propylene glycol, sodium thiosulfate, selenium sulfide 등이 사용되며 이러한 약제를 사용할 때는 감수성 검사를 하여 적정약제를 선택하여 치료에 사용되도록 하여야 하나 배양이 까다로움이 있어 널리 사용되고 있지 않고 있다. *Pityrosporum*에 대한 약제 최저억제농도 검사는 1979년 Faergemann과 Fredriksson⁹⁾ 의해 처음 이루어졌으며 이후 많이 보고되고 있으나 약제의 종류가 다양하지 못하고 최근에 개발된 항진균제에 대한 연구는 드물다. 이에 본 연구에서는 *Pityrosporum* 치료에 많이 사용되는 항진균제의 효능과 최근에 개발된 항진균제에 대한 최저 발육 억제 농도를 조사하여 치료에 적절한 약제를 선택하는 데 도움을 주고자 *Pityrosporum*

* 논문접수 1997년 3월 31일, 수정재접수 1997년 5월 27일.

† 별책요청저자

spp. 감염 치료 약으로 현재 사용하고 있는 4종의 항진균제의 최저 발육 억제 농도를 조사하여 결과를 얻고자 한다.

재료 및 방법

1. 균 주

가톨릭 피부과의원에 내원한 전풍환자 5명의 피부와 정상인의 피부 및 두부에서 채취한 인설을 10% KOH + Park blue ink (1:1 비율) 혼합 용액으로 직접도말검사를 하여 24시간 방치한 후 현미경 400배율에서 진균을 확인한 후 나머지 인설을 potato dextrose agar 평판배지에 접종한 후 올리브유를 증첩하여 37℃에서 2주간 배양하여 자란 집락을 사용하였다. 실험에 사용한 균주는 총 18주 (전풍환자 피부에서 분리된 *P. orbiculare* 5균주, 정상인 두부 및 피부에서 분리된 *P. orbiculare*, *P. ovale* 각각 5균주)와 대조균으로 미국 균주보존협회에서 구입한 표준균주 (*P. orbiculare* ATCC 42132, *P. ovale* ATCC 14521, *P. pachydermatis* ATCC 14522)를 대조균주로 사용하였다.

2. 항진균제 및 용매

항진균제는 전신요법 항진균제인 ketoconazole (粉末. 안선제약), itraconazole (粉末. 안선제약), 국소요법 항진균제인 selenium sulfide (溶液. 태평양화학), sodium thiosulfate (結晶. 흥진약품) 등 4종

류를 사용하였다. Sodium thiosulfate는 증류수에 용해하였고 ketoconazole, itraconazole, selenium sulfide는 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 각각 용해하였다.

3. 배지 및 감수성 시험

감수성 시험에 사용한 배지는 Faergemann⁸⁾의 방법 (peptone 10gm, agar 18gm, dextrose 40mg, yeast extract 0.1gm, glycerol 2.5gm, Tween-80 2ml, 올리브유 20ml, 증류수 1000ml)에 따라 처방하여 고압증기멸균한 후 60℃에서 약제를 2배수 희석법으로 여러 농도의 평판 배지를 만들어 사용하였다. 배지에 접종한 균량은 ml당 10⁵CFU (colony forming units)의 농도가 되도록 접종한 후 37℃에서 4일간 배양한 후 육안적으로 보아 성장이 억제될 때 이를 감수성이 있는 것으로 판정하였다. 또한 약제를 용해할 때 사용한 용액이 약제 최저 발육 억제 농도에 영향을 끼치는지 알기 위해 약제 용해 용액만 배지에 첨가하여 대조균으로 배양하였다.

결 과

1. *Pityrosporum* 균속의 MIC

경구용 항진균제의 MIC는 *P. orbiculare* 10주 중 ketoconazole 0.05μg ml⁻¹농도에서 4주가 감수성을 보이기 시작하여 0.08μg ml⁻¹에서 전 균주

Table 1. Antifungal activity of Ketoconazole, Itraconazole, Sodium Thiosulfate & Selenium Sulfide against *Pityrosporum* spp

Fungus	No. of susceptible strains at indicated concentration																			
	Oral Antifungal (μg ml ⁻¹)										Topical Antifungal (mg ml ⁻¹)									
	Ketoconazole					Itraconazole					S. sulfide					S. thiosulfate				
	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	0.05	0.1	0.2	0.4	3.2	0.01	0.05	0.1	0.2	0.3	10	30	50	100	200
<i>P. orbi</i> (N=10)	4	1	3	1	1	3	2	1	1	3	-	3	3	3	1	3	3	1	2	1
<i>P. oovale</i> (N=5)	2	2	1	-	-	1	3	1	-	-	2	3	-	-	-	2	2	1	-	-
Controls																				
<i>P. orbi</i> (ATCC 42132)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-
<i>P. ovale</i> (ATCC 14521)	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-
<i>P. pachi</i> (TCC 14522)	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-

P. orbi: *P. orbiculare*, *P. pachi*: *P. pachydermatis*

S. sulfide: Selenium sulfide, S. thiosulfate: Sodium thiosulfate.

Table 2. MIC of Antifungal Agents against *Pityrosporum orbiculare* Isolated from Normal Individuals and Tinea versicolor Patients

Fungus	Antifungal drug minimal inhibitory concentration			
	Oral Antifungal ($\mu\text{g ml}^{-1}$)		Topical Antifungal (mg ml^{-1})	
	Ketoconazole	Itraconazole	S. sulfide	S. thiosulfate
Normal individual				
Range	0.05~0.8	0.05~3.2	0.02~0.16	10~100
MIC ₅₀	0.037	0.07	0.05	30
MIC ₉₀	0.15	0.8	0.12	75
Tinea versicolor				
Range	0.05~0.8	0.05~3.2	0.04~0.32	10~200
MIC ₅₀	0.15	0.6	0.12	40
MIC ₉₀	0.6	2.4	0.24	150

가 감수성을 보였으며 itraconazole은 $0.05\mu\text{g ml}^{-1}$ 에서 3주가 감수성을 보이기 시작하여 $3.2\mu\text{g ml}^{-1}$ 에서 전 균주가 억제되었다. *P. ovale* 5주는 ketoconazole $0.05\mu\text{g ml}^{-1}$ 농도에서 2주가 감수성을 보이기 시작하여 $0.2\mu\text{g ml}^{-1}$ 에서 전 균주가 억제되었고, itraconazole은 $0.02\mu\text{g ml}^{-1}$ 에서 1주가 감수성을 보이기 시작하여 $0.2\mu\text{g ml}^{-1}$ 에서 전 균주가 억제되었다. 국소용 항진균제는 *P. orbiculare*가 selenium sulfite 0.05mg ml^{-1} 에서 감수성을 보이기 시작하여 0.3mg ml^{-1} 에서 모두 억제되었고, *P. ovale*는 0.01mg ml^{-1} 에서 감수성을 보이기 시작하여 0.05mg ml^{-1} 에서 모두 억제되었다. sodium thiosulfate는 $10\sim 200\text{mg ml}^{-1}$ 의 MIC 범위를 보였으며, *P. ovale*는 $10\sim 50\text{mg ml}^{-1}$ 의 MIC 범위를 보였다 (Table 1).

2. *Pityrosporum orbiculare*의 MIC

건강인과 전풍환자 병변에서 분리된 *P. orbiculare*의 MIC를 보면 경구용 항진균제 ketoconazole이 건강인에서 분리된 균주가 MIC₅₀ $0.037\mu\text{g ml}^{-1}$ 이고, 전풍환자에서 분리된 균주가 MIC₅₀ $0.15\mu\text{g ml}^{-1}$ 이었으며, MIC₉₀은 각각 $0.15\mu\text{g ml}^{-1}$, $0.15\mu\text{g ml}^{-1}$ 이었다. itraconazole은 건강인에서 분리된 균주가 MIC₅₀ $0.07\mu\text{g ml}^{-1}$ 이고, 전풍환자에서 분리된 균주가 MIC₅₀ $0.6\mu\text{g ml}^{-1}$, MIC₉₀은 각각 $0.8\mu\text{g ml}^{-1}$, $2.4\mu\text{g ml}^{-1}$ 이었다. Selenium sulfite은 건강인에서 분리된 균주가 MIC₅₀ 0.05mg ml^{-1} 이고, 전풍환자에서 분리된 균주가 MIC₅₀ 0.12mg ml^{-1} 이였으며, MIC₉₀은 각각 0.12mg ml^{-1} , 0.24mg ml^{-1} 이었다. Sodium thiosulfate은 건강인에서 분리된 균주가 MIC₅₀ 30mg ml^{-1} 이고, 전풍

Table 3. MIC of Antifungal Drug Agents *Pityrosporum ovale*

Antifungal	Minimal inhibitory concentration		
	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Oral Antifungal ($\mu\text{g ml}^{-1}$)			
Ketoconazole	0.05~0.2	0.075	0.15
Itraconazole	0.05~0.2	0.075	0.15
Topical Antifungal (mg ml^{-1})			
S. sulfide	0.01~0.04	0.015	0.03
S. thiosulfate	10~50	20	40

환자에서 분리된 균주가 MIC₅₀ 40mg ml^{-1} , MIC₉₀은 각각 75mg ml^{-1} , 150mg ml^{-1} 이었다 (Table 2).

3. *P. ovale*의 MIC

건강인에서 분리된 *P. ovale*의 MIC는 경구용 항진균제에서 ketoconazole 및 itraconazole이 모두 $0.05\sim 0.2\mu\text{g ml}^{-1}$ 범위이었고, MIC₅₀도 각각 $0.075\mu\text{g ml}^{-1}$, MIC₉₀은 각각 $0.15\mu\text{g ml}^{-1}$, 이었다. 국소용 항진균제는 selenium sulfite가 MIC₅₀ 0.015mg ml^{-1} 이고, MIC₉₀은 각각 0.03mg ml^{-1} 이었다. sodium thiosulfate는 건강인에서 분리된 균주가 MIC₅₀ 30mg ml^{-1} 이고, 전풍환자에서 분리된 균주가 MIC₅₀ 20mg ml^{-1} , MIC₉₀은 40mg ml^{-1} 이었다 (Table 3).

고 찰

Pityrosporum spp.은 1951 Gordon¹⁰⁾이 처음으로

*Pityrosporum orbiculare*를 명명하였고, 1966년 Keddie¹⁸⁾ 등은 초미세구조상 *Melasszia furfur*와 *P. orbiculare*가 동일 균임을 증명하였다. 1952년 Vanbreuseghem⁹⁾은 전풍환자에서 분리한 *Pityrosporum*을 round form, elongated form, oval form의 3형으로 분류하고 이중 round form를 *P. orbiculare*, oval form를 *P. ovale*에 해당한다고 하였다. 한편 Alexander, Tanaka^{5,7)} 등이 ouchterlony gel diffusion test, fluorescent antibody technique 등을 이용하여 *P. orbiculare*와 *P. ovale*의 유사한 항원성을 증명하여 양 균주가 서로 병형 된다고 하였으며 Porro¹⁴⁾ 등도 배양시 양 균주가 동일한 균사를 형성함을 입증하였다. 현재 *Pityrosporum* 균속에는 *Pityrosporum orbiculare*, *P. ovale*, *P. pachydermatis*가 있고, 이 중 *P. orbiculare*와 *P. ovale*는 호지방성이며 피부에서 지질공급원은 피지선에서 분비하는 triglyceride 와 free fatty acid 이고 각질층에는 각화된 세포에서 유래되는 cholesterol과 cholesterol ester가 지질공급원이 된다⁷⁾. 배양시 일반적인 진균배지에 올리브 기름을 첨가하여 37℃에 배양하면 효모양의 집락을 형성하며 현미경하에서 세포는 구형, 난형의 출아세포를 볼 수 있다. 일반배지에서는 효모형만 볼 수 있고 cholesterol, cholesterol ester가 첨가된 배지와 전풍환자에서는 균사형으로 성장한다. *Pityrosporum* spp. 감염의 분리는 전풍환자에서 뿐만 아니라 건강한 성인에서도 90~100% 배양할 수 있으나 5세 이하에서는 분리되는 경우는 드물고 *P. pachydermatis*은 동물에서 분리되며 배양시 지질이 필요없다^{4,13)}. *Pityrosporum* spp.으로 발생한 질병의 치료는 드물게는 치료에 반응을 보이지 않거나 약 중단후 즉시 재발하는 경우가 있고, 조직내의 약제 농도가 충분하지 않아서 초래되는 수가 많으나 약제에 대한 원인균의 자체의 저항에 기인할 때도 있다. 현재 *Pityrosporum* spp.에 관련된 질병의 치료에 사용되고 있는 경구용 약제는 1980년 중반이후에 우리 나라에 도입되어 널리 사용되고 있다. 이러한 약제의 적절한 선택은 *Pityrosporum* spp.을 배양하여 각종 약제에 대한 감수성 검사를 시행하는 것이 좋으나 세균의 경우와는 달리 신뢰성 객관성 재현성이 있는 표준화된 시험 방법이 없고 그 수기가 복잡한 관계로 임상에 상용되지는 못하고 있는 실정이다. 특히 *Pityrosporum*은 Sabouraud dextrose agar에 배양이 되지 않으므로 약제 감수성에 대한 연구가 드물

다. 이에 현재 널리 사용되고 있는 4종의 약제의 감수성을 검사한 결과 ketoconazole 0.05~0.8 μ g ml⁻¹, itraconazole 0.05~3.2 μ g ml⁻¹, selenium sulfide 0.01~0.3mg ml⁻¹, sodium thiosulfate 10~200mg ml⁻¹로 ketoconazole이 가장 낮게 나타났다. 전풍환자 및 건강인 에서 분리된 *P. orbiculare*의 대한 MIC는 ketoconazole 건강인에서 분리된 균주가 MIC₅₀ 0.037 μ g ml⁻¹, MIC₉₀ 0.15 μ g ml⁻¹ 이었으며, 전풍환자에서 분리된 균주는 MIC₅₀ 0.15 μ g ml⁻¹, MIC₉₀ 0.8 μ g ml⁻¹ 으로 실험에 사용한 4종의 약제 중 가장 낮게 나타났다. 또한 건강인 으로부터 분리된 균주가 실험에 사용한 모든 약제에서 전풍환자에서 분리한 균주보다 MIC가 낮았다. *P. orbiculare*의 MIC에 대한 국내 다른 보고와 비교하면 계¹⁾ 등의 sodium thiosulfate 7.5~500mg ml⁻¹, selenium sulfite 0.04~1.25mg ml⁻¹ 와 이³⁾ 등의 ketoconazole 0.01~6.4 μ g ml⁻¹, itraconazole 0.05~3.2 μ g ml⁻¹, sodium thiosulfate 1~300mg ml⁻¹, Selenium의 sulfite 0.2~1.28mg ml⁻¹으로 본 실험이 이러한 약제의 MIC가 낮았다.

*P. ovale*에 대한 경구용 및 국소용 항진균제의 MIC₅₀, MIC₉₀에서도 *P. orbiculare*보다 현저히 낮은 MIC를 보였다. Fraergemann⁸⁾은 *P. ovale*에 대한 ketoconazole의 MIC를 0.02~0.05 μ g ml⁻¹ 보다는 높았으나, Van Cutsem¹⁹⁾, 서²⁾ 등의 1 μ g ml⁻¹ 보다는 낮았다. 전체적으로 보아 *P. ovale*가 *P. orbiculare*보다 약제에 더욱 민감한 것으로 나타났다. 진균의 항진균제에 대한 감수성 검사시에는 피검약제와 균종에 따라 배지의 종류 및 pH에 따라서 MIC 차이가 많으며, 약제도 그 역가에 최대한 손상이 가지 않게 희석방법에 각별히 주의할 필요가 있는 등 그 과정이 복잡하고 번거로우나 장차 이에 대해 장기간에 걸친 지속적인 추시를 함으로써 내성균주의 출현에 대비함과 아울러 임상적 치료에도 도움을 줄 수 있으리라 생각된다. 아울러 이러한 연구가 *Pityrosporum*과 관련된 질병을 미리 예방하는 데도 도움을 줄 수 있으리라고 생각된다

참 고 문 헌

1. 계영철, 신용우, 김수남 (1983): *Pityrosporum orbiculare*에 대한 수종약물의 최저억제농도에 관한 연구. 대피지, 21: 179-187.
2. 서응주 (1990): 국내에서 분리된 진균의 항진

- 균제에 대한 감수성. 경북 대학교 대학원 석사논문.
3. 이국형 (1991): *Pityrosporum* 균속에 대한 항진균제의 최저억제농도. 경북대학교 석사논문.
 4. 진홍상, 한신원 (1982): 정상 피부에서 *Pityrosporum orbiculare* 및 *Pityrosporum ovale*의 빈도. 대피지, **20**: 631-639.
 5. Alexander S (1967): Loss of hair and dandruff. *Br J Dermatol*, **79**: 549-557.
 6. Burke RC (1961): Tinea versicolor susceptible factor and experimental infection in human being. *J Invest Dermatol*, **36**: 389.
 7. Benham R (1989): The cultural characteristics of *pityrosporum ovale* a lipophilic fungus. *J Invest dermatol*, **2**: 187-203.
 8. Faergemann J and Bernanders (1979): The activity in vitro of five different antimycotics against *Pityrosporum orbiculare*. *Acta dermatovener*, **59**: 521.
 9. Faergemann J and Fredriksson T (1981): Experimental infections in rabbits and humans with *pityrosporum orbiculare* and *pityrosporum ovale*. *J Invest Dermatol*, **77**: 314-320.
 10. Gordon MA (1951): Lipophilic yeast-like organisms associated with tinea versicolor. *J Invest Dermatol*, **17**: 267-272.
 11. Keddie FM (1966): Electronmicroscopy of *Malassezia Furfur* in Tinea versicolor. *Saboruudia*, **5**: 134-206.
 12. McGinley KJ, Lantis LR and Marples RR (1970): Microbiology of Tinea Versicolor. *Arch Dermatol*, **120**: 168-171.
 13. Noble WC and Sommerville DA (1974): Microbiology of human skin Vol 1 pp206-210. London, Philadelphia and Toront: WB Saunder.
 14. Porro MN, Passi S and Caprill F (1977): Induction to hyphae in cultures of *Pityrosporum* by cholesterol and cholesterol esters. *J Invest Dermatol*, **69**: 531-534.
 15. Roberts SOB (1969): *Pityrosporum orbiculare*. incidence and distribution in clinically normal skin. *Br J Dermatol*, **81**: 264-269.
 16. Roberts SOB (1969): Pityriasis versicolor. clinical and mycological investigation. *Br J Dermatol*, **81**: 315-326.
 17. Tanaka M and Imamura S (1979): Immunological studies on *pityrosporum* genus and *Malassezia furfur*. *J Invest Dermatol*, **73**: 321-324.
 18. Vanbreuseghem R and De Tiege R (1952): Contribution a l'etude de pityriasis versicolor et de *pityriasis ovale*. *Ann Soc Bel Med Trop*, **32**: 521-531.
 19. Van Cutsem J (1989): Oral, topical and parenteral Antifungal Treatment with Itraconazole in normal and in Immunocompromised animal. *Mycoses*, **32**: 14-34.

=Abstract=

Minimal Inhibitory Concentration of Antifungal Drugs on *Pityrosporum* Species

Beoung-Cheon Jeoung[†], Pyong-Ui Roh* and Young-Jun Bang**

College of Oriental Medicine, Kyungsan University, Taegu 706-060, Korea

*Department of Health Science, Kyungsan University, Kyongbuk 712-240, Korea

**Catholic Skin Clinic, Taegu, 702-200, Korea

Meanwhile *Pityrosporum* species as well as *Candida* species in yeast phase are not pathogenic, *Pityrosporum* in mycelial phase is pathogenic. *Pityrosporum* species can be isolated not only from tinea versicolor patients but also from ninety (90) percent of healthy persons. Minimal inhibitory concentration (MIC) of ketoconazole against *Pityrosporum* spp. was $0.05\sim 0.8\mu\text{g ml}^{-1}$ and the MIC of ketoconazole was the lowest. Of itraconazole, selenium sulfide, sodium thiosulfate and ketoconazole had the lowest MIC against *P. orbiculare*. The *P. orbiculare* strains isolated from healthy persons were inhibited by lower MIC than those isolated from tinea versicolor patients. *P. ovale* strains were inhibited by lower MIC at MIC₅₀ and MIC₉₀ of oral and topical antifungal agents than *P. orbiculare*.

Key Words: *Pityrosporum* species, Antifungal drugs, Minimal inhibitory concentration

[Korean J. Biomed. Lab. Sci., 3(1): 49-54, June, 1997]

[†] Corresponding author