심상성 여드름의 면포에서 *Malassezia* 효모균의 분리

전북대학교 의과대학 피부과학교실

강 성 호 · 김 한 욱

=Abstract=

The Isolation of *Malassezia* Yeasts in the Comedones of Acne Vulgaris

Sung Ho Kang and Han Uk Kim

Department of Dermatology, Chonbuk National University Medical School Chonju, Korea

Background: Both *Malassezia* yeast and *Propionibacterium acnes* form part of the normal flora of the human skin and hair follicles. The former is the etiological agent of *Malassezia (Pityrosporum)* folliculitis and the latter is one of the major factors in the pathogenesis of acne vulgaris. These two follicular diseases can coexist on a certain area of the skin, but there have been few reports about their coexistence in the literature.

Objective: The aim of this work was to investigate the distribution of *Malassezia* yeasts in the comedones of patients clinically diagnosed as acne vulgaris for elucidation of the coexistence of the two diseases, and for information on the predominance of the colonized *Malassezia* species and on relationship between certain species and *Malassezia* folliculitis.

Methods: The spore load in the comedonal plugs of 32 patients with acne vulgaris was graded using direct microscopy of KOH/Parker ink mounts. The comedonal specimens were cultured on Leeming & Notman's media and the isolated *Malassezia* yeasts were identified to species level by their colony morphologies, microscopic morphologies and physiological characteristics.

Results: On direct microscopy, 8 of 32 patients (25%) showed a 4+ spore load, which is considered as a diagnostic grading index of *Malassezia* folliculitis. The predominant *Malassezia (M.)* species from 32 patients with acne vulgaris were *M. restricta, M. globosa, M. furfur* in descending order. Three strains of *M. restricta*, 4 strains of *M. globosa*, 2 strains of *M. furfur*, and 1 strain of *M. obtusa* were isolated from the comedones of the 8 patients with 4+ spore load.

Conclusion: This study shows that *Malassezia* folliculitis might coexist with acne vulgaris on the face, but there was no relationship between certain species and *Malassezia* folliculitis. The results suggest that antibiotic resistant acne vulgaris should be examined by direct microscopy of KOH/Parker ink mounts to confirm the coexistence of *Malassezia* folliculitis and acne vulgaris.

[Kor J Med Mycol 4(1): 33-39]

Key Words: *Malassezia* yeasts, Comedones, KOH/Parker ink mounts

---

*본 논문의 요지는 1998년 10월 28일 제 50차 대한피부과학회 추계학술대회에서 포스터로 발표되었음.

†별책 요청 저자: 김한욱, 561-712 전북 전주시 덕진구 금암동 634-18 전북대학교 의과대학 피부과학교실

서 론

심상성 여드름은 모피지선의 만성 염증성 질환으로 면포, 구진, 농포가 특징이며 낭종과 결절이 관찰될 수 있다. 이 질환은 피지분비가 많은 부위인 얼굴, 목, 등, 가슴에 호발하며 주로 사춘기의 시작과 함께 발생된다[1~3]. *Malassezia (Pityrosporum)* 모낭염은 소양성의 구진과 농포가 주된 병변으로 주로 체간에 호발하며 면포형성이 없다는 점에서 심상성 여드름과 감별될 수 있다고 알려져 왔다[4~9]. 그러나 *Malassezia* 균종은 면포형성도 가능하며[10], *Malassezia* 모낭염이 안면에서도 관찰될 수 있고, 심상성 여드름과도 혼재되어 발생될 수도 있다[9,11~13].

사람의 모피지선에는 *Propionibacterium acnes*와 *Malassezia* 균종이 함께 상재하고 있기[14~18] 때문에 심상성 여드름과 *Malassezia* 모낭염이 피부의 어느 한 부위에서 혼재되어 발생될 수 있으며, *Malassezia* 균종의 면포형성능 때문에 임상적으로 심상성 여드름으로 진단된 면포성 병변이 실제로는 *Malassezia* 모낭염의 병변일 가능성도 배제할 수는 없다. 따라서 저자들은 여드름을 주소로 내원한 환자들의 안면부 면포에서 *Malassezia* 효모균의 등급별 분포를 관찰하여 *Malassezia* 모낭염의 진균학적 진단기준 (4+의 포자등급)[9]에 일치하는 환자 수를 조사하여 여드름 치료시 항진균제의 부가적 치료에 대한 유용성을 제시하고자 본 연구를 시작하였고, 아울러 균종의 분류를 시행하여 면포에서 흔히 분리되는 균종을 알아보고 *Malassezia* 모낭염과의 관련성을 조사하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

1996년 3월부터 1997년 11월까지 전북대학병원 피부과에 내원한 전형적인 심상성 여드름 환자 32명 (남자 15명, 여자 17명)을 대상으로 하였다 (Table 1). 이들의 연령은 13세~51세 (평균 29세)로 30대 미만이 29명을 차지하였다.

2. 연구 방법

1) 직접도말검사 (Direct microscopy)

면포성 병변에서 면포적출기를 이용하여 면포를 채취하였으며, 검사의 민감도를 높이기 위해 3개의 면포를 검사하였다. 채취된 3개의 면포에 10% KOH/Parker ink[19]를 떨어뜨린 후 광학현미경 400배 시야에서 *Malassezia* 효모균 포자의 등급별 분포를 관찰하였다. 포자의 등급별 분포는 Jacinto-Jamora 등[9]이 제안한 방법을 이용하였다. 즉 1~2개의 포자가 단독으로 보이는 경우를 (1+), 2~6개의 포자가 군집을 이루거나 3~12개의 포자가 단독으로 보이는 경우를 (2+), 7~12개의 포자가 군집을 이루거나 13~20개의 포자가 단독으로 보이는 경우를 (3+), 13개 이상의 포자가 군집을 이루거나 21개 이상의 포자가 단독으로 보이는 경우를 (4+)로 하였다 (Fig. 1).

2) *Malassezia* 균종의 분류

(1) Leeming과 Notman 배지[20]의 준비

증류수 1000 ml에 glycerol monostearate (BDH, Merck Ltd., Poole, BH15 1TD, England) 0.5 g, bacteriological peptone (Oxoid, Unipath Ltd., Basingstoke, Hampshire, England) 10 g, glucose (Oxoid) 5 g, yeast extract (Oxoid) 0.1 g, ox bile (Oxoid) 4 g, agar No.1 (Oxoid) 12 g, Tween 60 (Sigma, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, U.S.A.) 0.5 ml 그리고 glycerol (Sigma) 1 ml을 넣고 잘 녹인 후 20분간 멸균하였다. 멸균 후 cycloheximide (Sigma) 200 mg, chloramphenicol (Sigma) 50 mg 및 고지방 우유 (남양3.4) 5 ml을 첨가하여 충분히 혼합한 후 즉시 Petri dish에 분주하고 사용시까지 냉장고에 보관하였다.

(2) 면포성 병변에서 채취한 가검물의 배양

세개의 면포에서 면포적출기를 이용하여 채취된 검체를 증류수 1000 μl에 넣고 1분간 진탕기 (vortex mixer)에 진탕시켰다. 진탕된 용액 100 μl를 취해 Leeming과 Notman 배지에 접종한 후 34℃에서 약 2주간 배양하였다.

(3) 배양된 *Malassezia*의 동정[21]

배양 분리된 *Malassezia* 균주를 집락의 현미경

Table 1. Age and sex distribution of 32 patients with acne vulgaris

Age (years)	Male	Female
10~19	11	8
20~29	3	7
≥30	1	2
Total	15	17

Table 2. Key to species of the genus *Malassezia*

Type species: *Malassezia furfur* (Robin) Baillon 1889	
On glucose/peptone agar	
Growth	*M. pachydermatis*
No growth	
Catalase reaction negative	*M. restricta*
Catalase reaction positive	
On glucose/peptone agar with 0.5% Tween 40 or 60	
No growth	
Long cylindrical cells; growth at 37℃	*M. obtusa*
Spherical cells; usually no growth at 37℃	*M. globosa*
Growth	
On glucose/peptone agar with 0.1% Tween 80	
No growth	*M. slooffiae*
Growth	
On glucose/peptone agar with 10% Tween 20	
No growth	*M. sympodialis*
Growth	*M. furfur*

Table 3. Result of grading of spore loads with direct microscopy of KOH/Parker ink mounts of comedonal plugs

Spore load	Number of patients (%)
−	13 (40)
1+	5 (16)
2+	1 (3)
3+	5 (16)
4+	8 (25)
Total	32 (100)

Spore load per high power field (x400)[9]: −, no spores; 1+, 1 to 2 single spores, no clusters; 2+, 2 to 6 spores in clusters or if dispered, 3 to 12 single spores; 3+, 7 to 12 spores in clusters or if dispered, 13 to 20 single spores; 4+, clusters of more than 13 spores or if dispered, 21 single spores to innumerable.

소견, 5% H_2O_2 (동양화학공업주식회사, 서울, 한국)를 이용한 catalase 반응검사, 각종 배지에서의 발육유무 (0.5% Tween 60이 첨가된 2% glucose/1% peptone 배지, 0.1% Tween 80이 첨가된 2% glucose/1% peptone 배지, 10% Tween 20이 첨가된 2% glucose/1% peptone 배지, 지방성분을 첨가하지 않은 2% glucose/1% peptone 배지), 37℃에서의 발육유무 등의 결과를 종합하여 Gueho 등의 분류지표 (Table 2)에 따라 동정하였다.

결 과

1. 직접도말검사에 의한 *Malassezia* 효모균의 등급별 분포 (Table 3)

심상성 여드름 환자 32명의 면포에서 *Malassezia* 효모균의 등급이 1+인 사람은 5명 (16%), 2+는 1명 (3%), 3+는 5명 (16%) 그리고 4+는 8명 (25%)이었고, *Malassezia* 효모균이 관찰되지 않은 사람은 13명 (40%)이었다.

2. *Malassezia* 균종의 분류 (Fig. 2∼6) 및 *Malassezia* 모낭염과의 관련성 (Table 4, 5)

32명의 심상성 여드름 환자로부터 채취한 검체를 Leeming과 Notman의 배지에 접종한 결과 19명의 환자에서 *Malassezia* 효모균의 집락이 관찰되었고, 13명의 환자에서는 집락이 관찰되지 않았다. 직접도말검사상 *Malassezia* 효모균이 관찰된 19명의 환자 중 14명은 한 가지 균종만이 관찰되었고 (*Malassezia* <*M.*> *restricta*, 9명; *M. globosa*, 4명; *M. furfur*, 1명), 5명에서는 2가지 균종 (*M. furfur*와 *M. globosa*, 3명; *M. restricta*와 *M. obtusa*, 1명; *M. sympodialis*와 *M. globosa*, 1명)이 동시에 관찰되었다. *Malassezia* 모낭염의 진단기준[9]인 4+의 등급별 분포를 보인 8명의 환자에서는 *M. restricta* 3주, *M. globosa* 3주, *M. furfur* 2주, *M. obtusa* 1주가 각각 분리되어 균종과 *Malassezia* 모

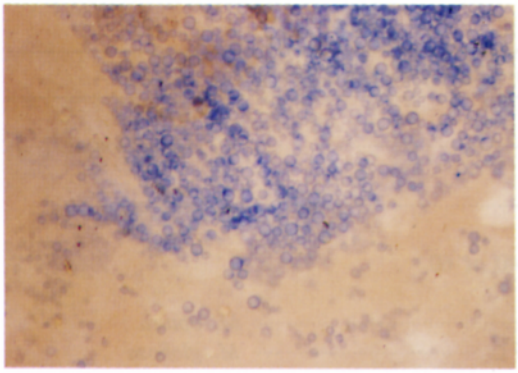

Fig. 1. The cluster of *Malassezia* spores (4+) on direct microscopic examination (KOH/Parker ink preparation, ×385).

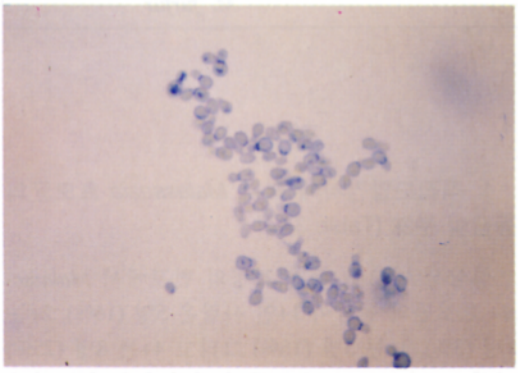

Fig. 2. *M. restricta*: Small spherical or oval cells with buds formed on relative narrow base (KOH/Parker ink preparation, ×950).

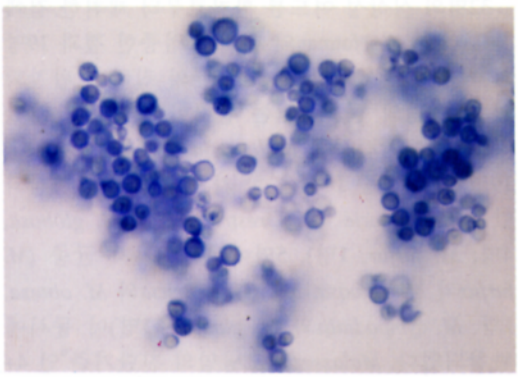

Fig. 3. *M. globosa*: Spherical circular cells with buds formed on narrow base (KOH/Parker ink preparation, ×950).

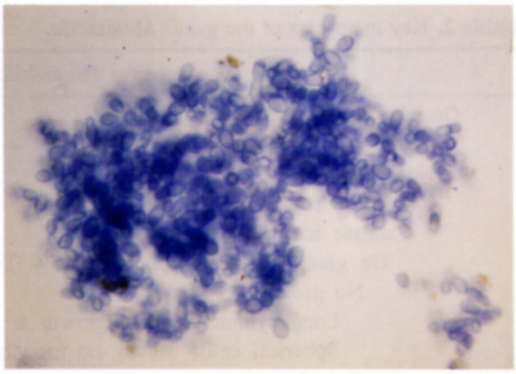

Fig. 4. *M. furfur*: Variable in size and shape with large, oval, cylindrical cells or spherical cells; buds formed on a broad base (KOH/Parker ink preparation, ×950).

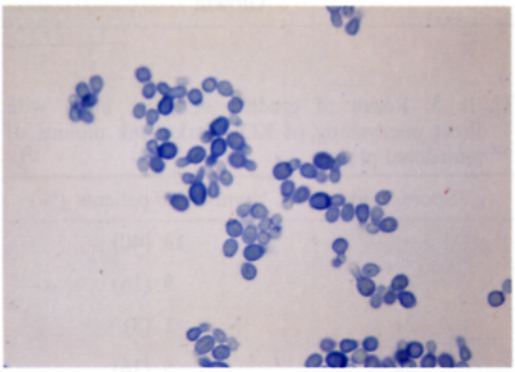

Fig. 5. *M. sympodialis*: Ovoid to globose cells with base of the bud narrower than mother cell but equal in width to the bud; repetitive or sympodial budding (KOH/Parker ink preparation, ×950).

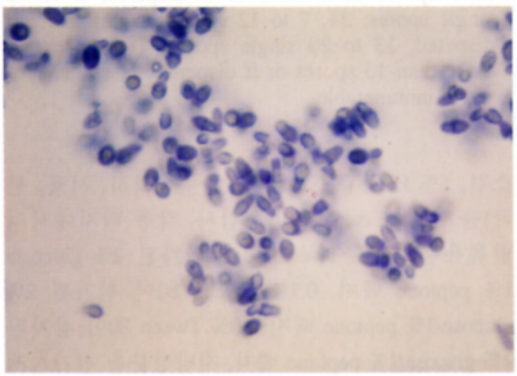

Fig. 6. *M. obtusa*: Large and cylindrical cells with buds formed on a broad base (KOH/Parker ink preparation, ×950).

Table 4. Identification of *Malassezia* species from comedones of acne vulgaris

Growth of *Malassezia* species	Number of patients (%)
No growth	13 (41)
M. restricta	9 (28)
M. globosa	4 (13)
M. furfur	1 (3)
M. furfur & M. globosa	3 (9)
M. restricta & M. obtusa	1 (3)
M. sympodialis & M. globosa	1 (3)
Total	32 (100)

낭염과의 상관관계는 찾을 수 없었다.

고 찰

심상성 여드름은 사춘기에 주로 발생되는 모피지선의 만성 염증성 질환으로, 이의 특징적인 병변인 면포 (comedo)는 모낭상피의 과각화로 인하여 각질과 피지가 정체되어 생성된다[1~3]. *Malassezia (Pityrosporum)* 모낭염은 좀더 나이가 많은 평균 연령 21.5세의 젊은 성인 여자에서 호발한다[5~8]. Abdel-Razek 등[11]은 *Malassezia* 모낭염이 피부과 내원환자의 2.5%, Jacinto-Jamora 등[9]은 16%를 차지한다고 보고하였다. 심상성 여드름과 *Malassezia* 모낭염은 임상양상이 유사하므로 감별이 필요하다. 심상성 여드름은 면포, 구진, 농포, 결절이 얼굴, 목, 등, 가슴 등에 호발하며[1~3], *Malassezia* 모낭염은 구진과 농포가 체간부에 주로 발생하며 소양감을 동반하는 반면, 면포의 형성 및 안면부 발생은 매우 드문 것으로 알려져 있다[5~8]. 그러나 최근들어 *Malassezia* 균종의 면포 형성능력이 증명되었고[10] 또한 여드름 병변과 *Malassezia* 모낭염의 병변이 혼재될 수 있다고[9,11~13] 보고되면서 상기 두 질환의 임상적 감별이 어려워지고 있다. 따라서 두 질환을 감별하기 위해서는 진균학적 검사가 필요하지만 이에 대한 연구는 매우 드물다.

저자들은 심상성 여드름 환자들을 대상으로 여드름 병변과 *Malassezia* 모낭염 병변의 혼재 여부를 알기 위해 면포적출기를 이용한 직접도말검사를 시행하여 *Malassezia* 효모균의 등급별 분포를

Table 5. Relationship between spore load and positive culture

No	Age (yr)	Sex	Spore load	Growth of *Malassezia* species
1	15	M	4+	*M. restricta & M. obtusa*
2	27	F	4+	*M. restricta*
3	51	M	4+	*M. globosa*
4	15	M	4+	*M. furfur & M. globosa*
5	17	F	4+	*M. globosa*
6	27	M	4+	*M. furfur*
7	26	F	4+	*M. restricta*
8	18	M	4+	No growth
9	18	F	3+	*M. globosa*
10	17	F	3+	*M. globosa*
11	21	F	3+	*M. restricta*
12	23	M	3+	*M. sympodialis & M. globosa*
13	17	M	3+	No growth
14	18	M	2+	No growth
15	16	M	1+	*M. restricta*
16	19	M	1+	No growth
17	15	F	1+	No growth
18	17	F	1+	No growth
19	14	F	1+	No growth
20	35	F	−	*M. furfur & M. globosa*
21	17	M	−	*M. furfur & M. globosa*
22	15	M	−	*M. restricta*
23	21	F	−	*M. restricta*
24	17	M	−	*M. restricta*
25	13	F	−	*M. restricta*
26	28	F	−	*M. restricta*
27	22	F	−	No growth
28	18	M	−	No growth
29	25	F	−	No growth
30	43	F	−	No growth
31	20	M	−	No growth
32	18	F	−	No growth

조사하였다. 본 연구에서는 Jacinto-Jamora 등[9]의 방법을 이용하여 효모균의 등급별 분포를 조사하였으며, 4+의 등급만을 *Malassezia* 모낭염의 진단기준으로 사용하였다. Jacinto-Jamora 등[9]은 2+와 3+의 등급을 *Malassezia* 모낭염을 의심할 수 있는 등급지표로 채택하였으며, 4+ 등급은 *Malassezia* 모낭염의 진단지표로 채택하였다. 본 연구에서 *Malassezia* 모낭염의 진단적 등급별 분포인 4+를 보이는 환자는 8명 (25%)으로 여드름 병변과 *Malassezia* 모낭염 병변이 혼재되어 있음을 확인하였다. 이는 유 등의 보고[12]에서 임상적으로 여드름으로 진단하였던 환자 중 15%에서 4+를 보인 결과보다 높은 빈도를 보였으며, 따라서 심상성 여드름 환자의 치료시 치료에 저항하는 환자는 직접도말검사에 의한 *Malassezia* 모낭염의 가능성을 확인해야 될 것으로 생각된다. 또한 면포성 병변은 심상성 여드름에서만 관찰되는 것이 아니라 *Malassezia* 모낭염에서도 관찰될 수 있음을 지적하고 싶다. 유 등의 보고[12]에서는 안면부 면포에서의 직접도말검사상 *Malassezia* 효모균이 4+를 보인 환자들은 모두 기온과 습도가 높은 여름철에 내원하였으나, 본 연구에서는 이러한 계절적인 영향은 조사하지 않았다. 본 연구에서 *Malassezia* 효모균의 분리빈도가 높은 이유로는 기존에 개인의원, 약국 등에서의 tetracycline 등의 치료가 선행한 후 치료에 빠른 반응을 보이지 않아서 2차 3차로 본원으로 내원하였을 가능성 등을 고려할 수도 있다. tetracycline 등의 항생제 사용은 *Malassezia* 모낭염의 유발요인 중 하나로 알려져 있으며[6,12,23], 추후 이에 대한 연구가 더 필요하리라 생각된다. 현재 *Malassezia* 모낭염의 진단에는 직접도말검사와 병리조직학적 검사가 이용되고 있으나, 본 연구결과는 피부과 외래에서는 면포적출기를 이용한 직접도말검사법이 더욱 유용한 방법[5,9,12]이라는 보고들을 더욱 뒷받침 하는 것이다. 저자는 본 연구에서 *Malassezia* 모낭염이 혼재된 심상성 여드름 환자들에게 항진균제 치료를 시행하지는 못하였지만, 조갑진균증의 치료를 위해 사용한 itraconazole에 의해 심상성 여드름의 면포성 병변이 소실되는 증례들을 경험하였으며, 이들 환자에서 투약전 면포성 병변에서 *Malassezia* 효모균의 등급별 분포가 3+ 이상이었던 경우도 발견하였다 (자료 미제시). 따라서 *Malassezia* 모낭염의 항진균제에 대한 치료 반응도[5,6,23] 부가적인 진단기준으로 생각된다.

1996년 Gueho 등[20]은 *Malassezia (M.)* 속의 효모균을 형태학적, 생리학적 및 분자 생물학적 특성에 따라 7가지 종 (*M. furfur, M. pachydermatis, M. sympodialis, M. globosa, M. obtusa, M. restricta, M. slooffiae*)으로 재분류하였다. *Malassezia* 효모균 중 지질 친화성은 *M. pachydermatis*를 제외한 6가지의 균종에서 관찰되며, 7가지 종의 *Malassezia* 효모균은 모두 단극성 repetitive형 분생자를 형성하는데 *M. sympodialis*는 부가적으로 sympodial형 분생자 형성도 보인다. 본 연구에서는 *M. pachydermatis*와 *M. slooffiae*를 제외한 *M. furfur, M. sympodialis, M. globosa, M. obtusa, M. restricta*의 5가지 균종이 분리되었으며, 5명 (26.3%)에서는 2개의 균종이 분리되었다. 본 연구에서 *Malassezia* 효모균에 대한 4+의 등급별 분포를 보인 사람 8명 중 1명에서는 배양검사상 효모균이 자라지 않았으며, 7명에서 분리된 균주는 *M. restricta, M. globosa, M. furfur, M. obtusa*였고, *Malassezia* 균종과 *Malassezia* 모낭염 발생과의 상관관계는 관찰되지 않았다.

결 론

임상적으로 심상성 여드름으로 진단된 안면부 면포에서 직접도말검사와 배양검사 및 균종의 동정을 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 심상성 여드름 환자 32명에서 직접도말검사를 실시한 결과 8명 (25%)에서 균의 등급별 분포가 4+인 *Malassezia (Pityrosporum)* 모낭염의 진단기준에 부합하였다. 이상의 결과는 통상적인 여드름 치료에 반응을 보이지 않는 환자의 경우 *Malassezia* 모낭염이 혼재되어 있을 가능성을 배제하기 위하여 직접도말검사를 시행하는 것이 필요하리라 생각된다.

2. 면포에서 분리된 균주는 *M. restricta, M. globosa, M. furfur* 등 이었으며, *Malassezia* 모낭염의 발생과 특정 균종과의 사이에는 특별한 관계는 없는 것으로 생각되었고, 3+ 이상의 등급별 분포를 보이는 경우는 배양 양성율도 높았다.

참 고 문 헌

1. 대한피부과학회 간행위원회. 피부과학, 개정 3판. 서울: 여문각, 1994: 383-389
2. Arnold HL, Odom RB, James WD. Andrew's

disease of the skin. 8th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1990: 250-267
3. Strauss JS. Sebaceous glands. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, et al, eds. Dermatology in general medicine, 4th ed. New York: McGraw-Hill Book, 1993: 709-721
4. Potter BS, Burgoon DF, Johnson WC. *Pityrosporum* folliculitis. Arch Dermatol 1973; 107: 388-391
5. Back O, Faergemann J, Hornqvist R. *Pityrosporum* folliculitis, a common disease of the young and middle-aged. J Am Acad Dermatol 1985; 12: 56-61
6. Jillson OF. *Pityrosporum* folliculitis. Cutis 1985; 35: 226-227
7. Faergemann J, Johansson S, Back O, Scheynius A. An immunologic and cultural study of *Pityrosporum* folliculitis. J Am Acad Dermatol 1986; 14: 429-433
8. Lee JD, Yi JY, Kim SY, Cho BK, Houh W. *Pityrosporum* folliculitis: clinical and histopathological observation. Ann Dermatol 1990; 2: 83-88
9. Jacinto-Jamora S, Tamesis J, Katigbak ML. *Pityrosporum* folliculitis in the Philippines: Diagnosis, prevalence and management. J Am Acad Dermatol 1991; 24: 693-696
10. Weary PE. Comedogenic potential of the lipid extract of *Pityrosporum ovale*. Arch Dermatol 1970; 102: 84-91
11. Abdel-Razek M, Fadaly G, Abdel-Raheim M, Al-Morsy F. *Pityrosporum (Malassezia)* folliculitis in Saudi Arabia: diagnosis and therapeutic trials. Clin Exp Dermatol 1995; 20: 406-409
12. 유희준, 김윤석, 양홍윤 등. 스테로이드 여드름과 여드름양 발진에서 *Malassezia (Pityrosporum)* 효모균의 출현빈도. 대한의진균학회지 1998; 3: 24-32
13. Faergemann J. *Pityrosporum* yeasts-what's new? Mycoses 1997; 40(suppl.1): 29-32
14. Wolff HH, Plewig G, Januschke E. Ultrastructure and microflora in follicles and comedones. Hautarzt 1976; 27: 432-440 (Abstract)
15. Faergemann J, Maibach HI. The *Pityrosporum* yeasts: their role as pathogens. Int J Dermatol 1984; 23: 463-465
16. Leeming JP, Holland KT, Cuncliffe WJ. The microbial ecology of pilosebaceous units isolated human skin. J Gen Microbiol 1984; 130: 803-807
17. Leeming JP, Holland KT, Cuncliffe WJ. The microbial colonization of imflamed acne vulgaris lesions. Br J Dermatol 1988; 118: 203-208
18. Roth RR, James WD. Microbiology of the skin: resident flora, ecology, infection. J Am Acad Dermatol 1989; 20: 367-390
19. Cohen MM. A simple procedure for staining tinea versicolor (*M. furfur*) with fountain pen ink. J Invest Dermatol 1954; 22: 9-10
20. Leeming JP, Notman FH. Improved methods for isolation and enumeration of *Malassezia furfur* from human skin. J Clin Microbiol 1987; 25: 2017-2019
21. Gueho E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. Antonie van Leeuwenhoek 1996; 69: 337-355
22. 안규중. *Malassezia* 속의 계통 분류. 대한의진균학회지 1998; 3: 81-88
23. Ford GP, Ive FA, Midgley G. *Pityrosporum* folliculitis and ketoconazole. Br J Dermatol 1982; 107: 691-695