

# 실험동물에 유발시킨 피부사상균증에 대한 연구

영남대학교 의과대학 피부과학교실 · 미생물학교실\*  
최종수 · 황계영 · 김기홍 · 김성광\* · 정재규\*

경북대학교 의과대학 피부과학교실

서 순 봉

## 서 론

피부사상균증을 연구하기 위하여는 실험동물에 접종하는 in vivo 검사가 필수적이다. Bloch와 Massini (1909)가 최초로 동물 및 자선에 피부사상균을 접종한 이래 12種를 대상으로한 실험이 널리 행하여진 적이 있으나<sup>1, 2)</sup> 윤리적인 문제, 실험비의 증가, 감염원의 제약, 변수의 규격화 곤란 등의 이라분제로 동물실험이 보편화되는 추세이다.

접종의 성공여부는 피부사상균의 병원성 및 접종량, 접종방법, 실험동물의 감수성 등의 여러 요소에 의해 좌우된다. 또한 다른 실험결과와 비교하려면 이 요소들의 표준화가 지체된다. 1970년대에 비로소 감염원의 정량적 접종이 시작되었고<sup>3-6)</sup> 피부손상을 줄이고 실험을 단순화 및 표준화하려는 접종방법의 개발이 이루어져왔다.<sup>5, 7, 8)</sup> 국내에서는 피부사상균이나 *Pityrosporum ovale* 등을 인체 및 동물에 감염시킨 실험보고가 많지 않으며 대부분 정량적접종이 이루어지지 않았다.<sup>9-12)</sup>

이에 저자들은 접종방법을 표준화하기 위하여 *Nannizzia gypsea* "1" 및 *Arthroderma benhamiae* "1"의 표준균주를 여러 실험동물에 접종하여 (1) 피부사상균의 접종량, (2) 피부손상의 정도, (3) 실험동물의 종류가 감염률, 임상증상 및 경피에 미치는 영향을 비교자 실험을 실시하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 접종균

동경대학에서 분양받아 인공배양상에 계대배양하

여온 *Nannizzia gypsea* "1"주 VUT 4005 (이하 *N. gypsea*)와 *Arthroderma benhamiae* "1"주 KV 26678 (이하 *A. benhamiae*)를 사용하였다.

### 2. 포자의 정량적 분리

상기 균주를 Sabouraud 포도당 한천배지에 28°C에서 2주간 배양하였다.

Reinhardt 등<sup>3)</sup>과 Tagami 등<sup>4)</sup>의 방법을 이용하여 포자를 분리후 적정농도로 만들었다. 이분 요약하면 표 1과 같다.

Table 1. Preparation of the fungal inoculum

1. Fungal mycelial mat(2 week culture)
2. Harvest with PBS containing 0.01% Tween 80
3. Ground with a mortar & pestle for 10 minutes
4. Filter through 8 layers of gauze
5. Centrifuge at 2,500 rpm for 5 minutes
6. Wash with antibiotic solution(0.005% chloramphenicol and 0.05% cycloheximide)
7. Mix on vortex mixer for 5 minutes
8. Wash twice in sterile PBS
9. Standardize using hemocytometer

*N. gypsea*는 가제로 이화되지 않았으나 대부분자가 포자용액의 대부분이었고 소분생자 및 균사는 5% 이하였다. *A. benhamiae*의 포자용액은 소분생자로만 이루어졌다.

3. 대상동물

1986년 6월부터 8월까지 내구지내에 위치한 영남 의대 농물실에서 무 실험에 사용한 동물은 1마리씩 분리 사육하였다.

집중기포(체중 1.5~2.0kg), 집중기너팍(350~500g), rat(350~400g), mouse(25~40g)의 4종을 암수 구분없이 3마리씩 백히어 사용하였다. 모든 동물은 실험당시 피부진증이 없었다.

4. 접종방법

각 실험동물의 배부의 털을 전기면도기로 제거한 후 좌우대칭으로 4가지의 피부조건(칼에 의한 긁힘, 칼에 의한 소파, 강제망모, 인진면도기에 의한 면도)을 각각 1cm<sup>2</sup>에 가하였다. 각 동물의 피육에는 *N. gypsea*, 우측에는 *A. benhamiae*의 포자용액을 대칭으로 도포후 지면진코시켰다. 기포에는 *N. gypsea*를 25, 250, 2,500, 25,000 포자/cm<sup>2</sup>, *A. benhamiae*를 250, 2,500, 25,000, 250,000 포자/cm<sup>2</sup>씩 접종하였고, 기너팍, rat, mouse에는 *N. gypsea*를 250, 2,500 포자/cm<sup>2</sup>, *A. benhamiae*를 2,500, 25,000 포자/cm<sup>2</sup>씩 접종하였다.

5. 실험결과와 판정기준

접종후 2일 길직으로 지면진유될 때까지 다음 사항을 비교하였다.

- 1) 홍반 : +1 일분홍색, +2 적분홍색, +3 적색, +4 적시색.
- 2) 인진 및 가피 : 집중면적의 30%미만을 +1, 30~60%를 +2, 60~90%를 +3, 90%이상을 +4로 표시.
- 3) 면적 : 홍반, 인진, 가피 등이 나타난 면적을 cm<sup>2</sup>로 표시.
- 4) 병명의 소실 : 홍반, 인진, 가피 등이 완전히 없어진 시기

성 적

1. 포자농도

*N. gypsea*는 기포에서 강제망모시 25포자/cm<sup>2</sup>에 시술 한히 감염되지 않았으나 250 및 2,500포자/cm<sup>2</sup>에서는 1/3이, 25,000포자농도에서는 2/3이 각각 감염되었다. 단절면도무위는 모든 포자농도에서 감염되었고, 단절면도무위는 25,000포자/cm<sup>2</sup>에서도 감염되

Table 2. Infectivity of *N. gypsea* “+”

Animal	(N)	25 spore/cm <sup>2</sup>				250				2,500				25,000			
		A	P	E	S	A	P	E	S	A	P	E	S	A	P	E	S
Rabbit	(3)	3*	2	0	0	3	2	1	0	3	2	1	0	3	3	2	0
Guinea pig	(3)					3	2	1	0	3	2	2	0				
Rat	(3)					2	1	0	0	3	3	2	0				
Mouse	(3)					0	0	0	0	0	0	0	0				

A : abrasion                      P : pricking                      E : epilation                      S : shaving

\* Number of infected animals.

Table 3. Infectivity of *A. benhamiae* “+”

Animal	(N)	250 spore/cm <sup>2</sup>				2,500				25,000				250,000			
		A	P	E	S	A	P	E	S	A	P	E	S	A	P	E	S
Rabbit	(3)	3*	2	1	0	3	3	1	0	3	3	2	1	3	3	3	3
Guinea pig	(3)					3	3	3	1	3	3	3	1				
Rat	(3)					3	1	1	0	3	2	3	0				
Mouse	(3)					0	0	0	0	0	0	0	0				

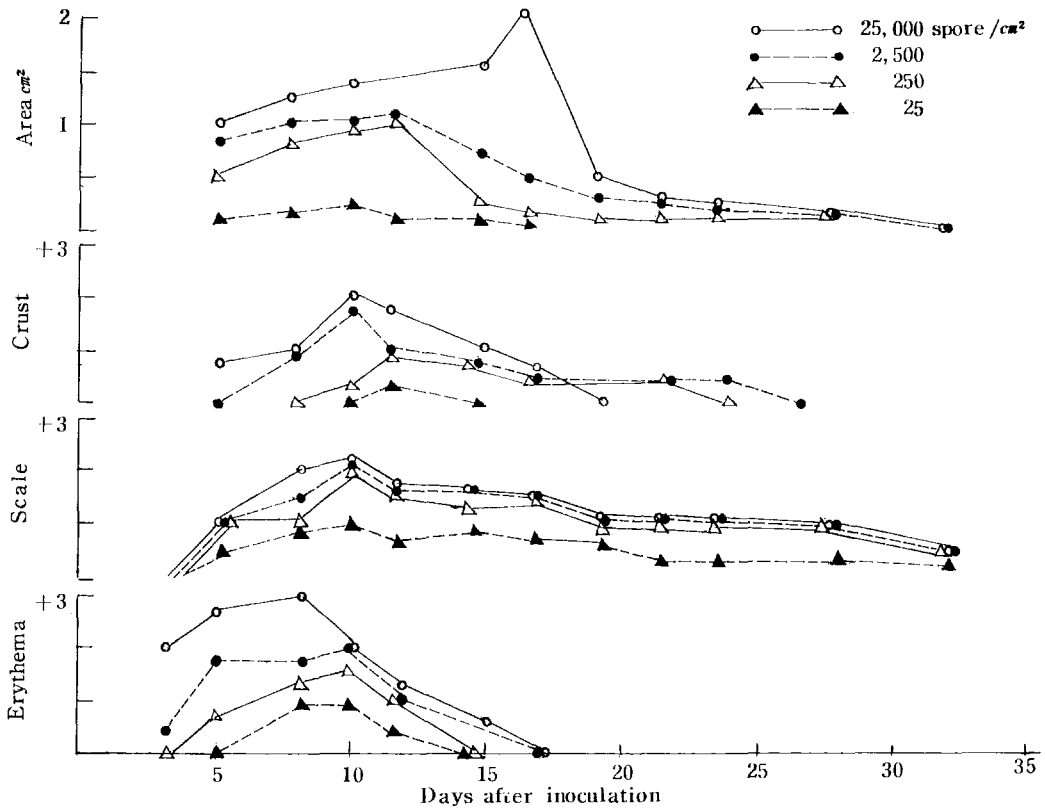
A : abrasion                      P : pricking                      E : epilation                      S : shaving

\* Number of infected animals.

**Table 4.** Dose-response relationships in abraded rabbit (days)

Clinical Parameter	<i>N. gypsea</i>				<i>A. benhamiae</i>			
	*2.5×10 <sup>1</sup>	2.5×10 <sup>2</sup>	2.5×10 <sup>3</sup>	2.5×10 <sup>4</sup>	2.5×10 <sup>2</sup>	2.5×10 <sup>3</sup>	2.5×10 <sup>4</sup>	2.5×10 <sup>5</sup>
% Infection	100	100	100	100	100	100	100	100
first measurable	6	5	3	3	5	4	3	3
maximal erythema	10	10	8	7	9	7	5	5
maximal scale	12	12	11	10	10	10	8	8
maximal crust	12	14	10	12	11	11	10	10
maximal size	11	12	11	16	8	9	9	10
Clearing	25	30	30	32	22	24	27	24

\* Inoculated number of spores/cm<sup>2</sup>



**Fig. 1.** Dose-response relationships in the rabbit infected with *N. gypsea* by abrasion.

지 않았다(Table 2). *A. benhamiae* 는 강제발모 시 250 및 2,500 포자/cm<sup>2</sup>에서 1/3이, 25,000포자/cm<sup>2</sup>에서 2/3가, 250,000 포자/cm<sup>2</sup>에서 3/3이 감염되어있다. 단순면도부위는 25,000포자/cm<sup>2</sup>에서 1/3이, 250,000포자/cm<sup>2</sup>에서 3/3이 감염되었다(Table 3). 따라서 포자농도가 높을수록 감염이 잘 되었다. 특히 단

순면도, 강제발모 등의 미약한 피부손상을 가한 곳은 포자농도에 비례하여 감염이 잘 되었다.

포자농도가 높을수록 병변이 조기에 출현하였다. 또한 홍반, 인설, 기피가 최고도에 도달하는 시간이 짧았으며 병변이 넓게 퍼졌고 더 오래 지속되었다 (Table 4, Fig. 1).

2. 피부손상의 정도

기토, 거니퓰, rat에서 피부손상을 많이 가할수록 감염이 잘 되었다. 난찰부위는 낮은 포자농도에 시도 대부분 감염되었고 조파, 경계반고, 단순연도의 순으로 감염이 잘 되었다. 단순연도 부위는 높은 포자농도에서도 감염률이 낮았다(Table 2, 3).

3. 실험동물의 종

두가지의 피부자상균에 대한 감수성은 거니퓰, 기

토, rat의 순으로 높았고 mouse에서는 전혀 감염되지 않았다(Table 2, 3).

기토는 거니퓰에 비해 홍반 및 인선의 정도가 심하였고 홍반, 인선, 가피가 최고도에 도달하는 시간이 길었으며 평면이 더 오래 지속되었다(Table 5, Fig. 2, 3). 기토 및 거니퓰에 비해 rat은 홍반, 인선의 정도가 미약하였고 가피가 거의 형성되지 않았으며 평면이 조기에 소실되었다(Table 5, Fig. 2, 3).

Table 5. Comparison clinical parameters between animals inoculated 2,500spores/cm<sup>2</sup> with abrasion(days)

Clinical Parameter	<i>N. gypsea</i>			<i>A. benhamiae</i>		
	Rabbit	Guinea pig	Rat	Rabbit	Guinea pig	Rat
% Infection	100	100	100	100	100	100
first measurable	3	2	2	4	2	2
maximal erythema	8	6	6	7	5	6
maximal scale	10	10	10	10	6	6
maximal crust	10	10	-	11	8	6
maximal size	11	10	8	9	8	6
Clearing	32	25	15	22	16	14

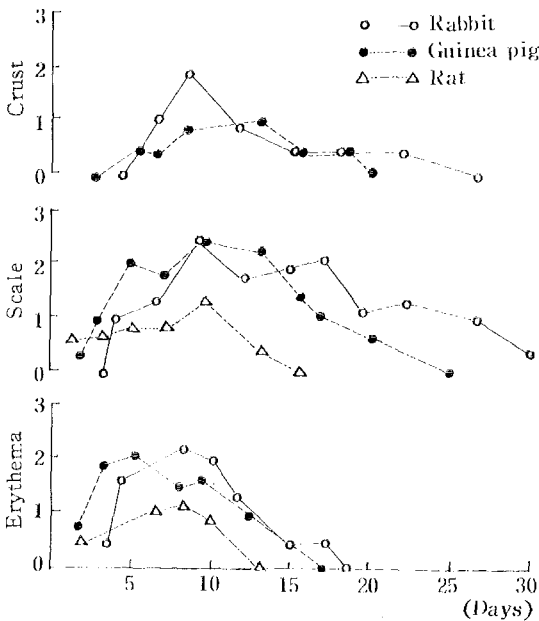


Fig 2. Comparison of erythema, scale, and crust in animals infected with *N. gypsea* "1"(2,500spores/cm<sup>2</sup>, abraded).

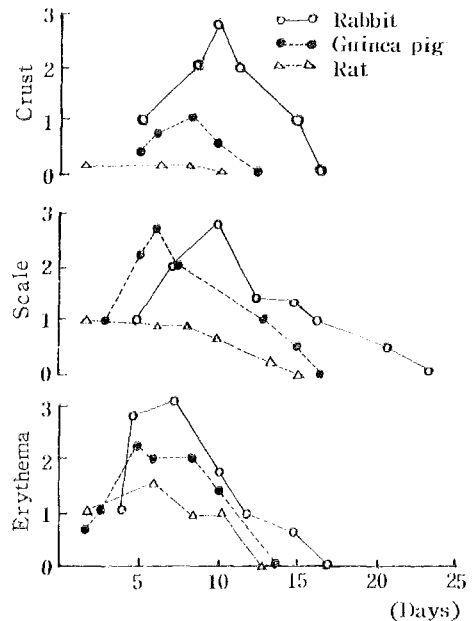


Fig 3. Comparison of erythema, scale, and crust in animals infected with *A. benhamiae* "1"(2,500spores/cm<sup>2</sup>, abraded).

**Table 6.** Comparison of clinical parameters between *N. gypsea* “+” and *A. benhamiae* “+” (inoculated 2,500 spores/cm<sup>2</sup> with abrasion)

Clinical Parameter	Rabbit		Guinea pig		Rat	
	NG*	AB*	NG	AB	NG	AB
Lesion first measurable	3	4	2	2	2	2
Erythema						
maximum degree	+2	+3	+2	+2	+1	+1
day of maximum	8	7	6	5	6	6
Scale						
maximum degree	+2	+3	+2	+3	+1	+1
day of maximum	10	10	10	6	10	6
Crust						
maximum degree	+2	+3	+1	+1	0	+1
Area						
maximum (cm <sup>2</sup> )	1	1	1	1	1	1
day of maximum	11	9	10	8	8	6
Clearing (day)	32	22	25	16	15	14

\* *N. gypsea* “+”, *A. benhamiae* “+”

#### 4. 經 過

*N. gypsea* 에 비해 *A. benhamiae* 에서 감염이 더 잘되고 (Table 2, 3), 홍반, 인설, 가피 등이 조기에 나타나며 그 정도가 심하였다 (Table 6, Fig. 2, 3).

#### 5. 經 과

두 실험 동물에서 접종시킨 부위만큼만 병변이 발생하였으나 높은 포자농도에서는 접종부위의 2배 정도도 퍼졌다. 모든 동물에서 병변은 탈모만을 남기면서 자연소멸이 되었고 탈모도 그 후에 회복되었다.

### 고 찰

피부사상균의 동물에 대한 접종이 성공적으로 이루어지기 위해서는 숙주의 요소, 피부사상균의 요소, 환경적 요소 등이 관계한다.

숙주의 피부는 외부균의 감염을 이기기 위한 방어 기전의 하나로 피부표면의 건조상태를 유지하고 있다. 접종을 위해서는 이의 제거가 진행되어야 한다. 따라서 효과적인 습도의 유지가 접종의 중요조건이며 피부에 손상을 가하는 방법과 발병하는 방법이 있다. 접종시 피부에 손상을 가하는 것은 감염물을 높이는 방법<sup>2)</sup> 피부손상에 의한 표피증식, 입증반응, serum

factor의 노출 등을 일으켜 피부사상균증의 경과에 영향을 미친다.<sup>2)</sup> 또한 피부손상의 정도를 항상 균일하고 일정하게 가하기 어렵다. 이에 비해 접종부위를 발병하는 방법은 소량의 포자에도 쉽게 감염을 일으키고 피부손상에 의한 변화가 없으며 실험결과를 객관화할 수 있다.<sup>3)</sup> 그러나 발병하는 조치가 매우 번거로우며 실험동물의 사망률이 높아지는 단점이 있다. 따라서 강제탈모나 번도 등의 최소한의 피부손상을 가하고 높은 농도의 균을 접종하는 것이 간단하면서 오차를 줄일 수 있는 방법이다.<sup>3)</sup> 본 실험의 결과도 강제탈모부위에 25,000/cm<sup>2</sup> 이상을 접종하는 것이 가장 적합함을 나타냈다.

접종된 균자보다는 포자가 감염을 일으키는데 더 중요하고<sup>3)</sup> 포자만을 분리하면 정량적으로 접종하는 것이 가능하다.<sup>3, 4)</sup> 본 실험에서는 Reinhardt 등<sup>3)</sup> 및 Tagami 등<sup>4)</sup>의 방법을 이용하여 포자를 분리할 수 있었고 *N. gypsea* 는 가제로 이과하지 않았지만 소분생자 및 균사가 소량 포함된 비교적 순수한 배분생자 용액을 얻을 수 있었다.

고농도의 포자용액은 포자수를 정확하게 계산하기 곤란하고 저농도의 포자용액은 도포후 건조시키는데 시간이 많이 소요되므로 *N. gypsea* 를 100,000포자/cm<sup>2</sup>보다 많이 접종하는 것은 비효율적이다.

동일한 균종 및 동일한 균주일지라도 숙주 및 배양조건에 따라 병원성이 다르다.<sup>5)</sup> 본 실험에 서

용된 피부사상균은 표준균주이나 장기간 인공매지에 서 계대배양하였으므로 토양, 동물 또는 사람으로부터 직접 감염되는 경우에는 차이가 있을 것으로 추정되며 앞으로 규명되어야 할 과제이다.

피부사상균에 대한 감수성은 동물의 종 및 개체 (strain)에 따라 차이가 있다. 또한 한 동물에서도 피부주기,<sup>10)</sup> 면역의 회복여부,<sup>11)</sup> 건강상태에 따라 감수성이 변한다. 본 실험에서는 거니뿔, 가토, rat의 준으로 감수성이 높았고 mouse에서는 전혀 집중되지 않았다. 짐승 또는 개체 미상의 동물을 사용하였으므로 일반화하기는 힘들지만 감염률, 병변의 정도, 회복기간 등을 고려할 때 거니뿔과 가토가 rat 보다 실험동물로 유리하다. Mouse는 높은 포자농도와 심한 피부증상에도 감염되지 않았다. 이는 사용된 mouse의 개체 및 실험당시의 피부주기와 관계있을 것으로 추정된다.

피부사상균의 동물실험은 피부의 손상정도, 접촉시킨 균의 양 및 동물의 종에 따라 차이가 생기므로 피부사상균의 병원성을 비교할 때에도 이들 요소의 표준화가 필요한 것으로 사료된다.

### 요 약

피부사상균종의 집중방법을 표준화하기 위하여 *N. gypsea* “+”와 *A. benhamiae* “+”를 가토, 거니뿔, rat, mouse에 정량적으로 접종하여 다음의 결과를 얻었다.

1. 포자의 농도가 높을수록 감염률이 높았고 임상 양상이 심하고 일찍 나타나서 오래 지속되었다.
2. 난전, 소리, 강제발모, 탈출번도의 준으로 감염이 잘되어 피부증상의 정도에 비례함을 알 수 있었다.
3. 피부사상균에 대한 감수성은 거니뿔, 가토, rat의 준으로 높았고 mouse는 전혀 감염되지 않았다.
4. *N. gypsea* “+”에 비해 *A. benhamiae* “+”는 감염률이 높고 임상양상이 더 심하고 빨리 진행되어 초기에 조실되었다.

### 참 고 문 헌

1. Bloch, B. and Massini, R. : Studien ueber Immunitaet und Ueberempfindlichkeit bei Hlyphomyzetenerkrankungen. Z. Med. Mikrobiol. Immun. 13 : 68, 1909.
2. Kligman, A.M. : The pathogenesis of ti-nea capitis due to *Microsporum audouini*

- and *Microsporum canis*. J. Invest. Dermatol. 18 : 231, 1952.
3. Reinhardt, J. H., Allen, A. M., Gunnison, D., and Akers, W.A. : Experimental human *Trichophyton mentagrophytes* infections. J. Invest. Dermatol. 63 : 419-422, 1974.
4. Greenberg, J. H., King, R. D., Krebs, S., and Field, R. : A quantitative dermatophyte infection model in the guinea pig—a parallel to the quantitated human infection model. J. Invest. Dermatol. 67 : 704-708, 1976.
5. Knight, A.G. : A review of experimental human fungus infections. J. Invest. Dermatol. 59 : 354-358, 1972.
6. Tagami, H., Watanabe, S., and Ofuji, S. : Trichophyitin contact sensitivity in guinea pigs with experimental dermatohytosis induced by a new inoculation method. J. Invest. Dermatol. 61 : 237-241, 1973.
7. Chittasobhon, N. and Smith, J.M.B. : The production of experimental dermatophyte lesions in guinea pigs. J. Invest. Dermatol. 73 : 198-201, 1979.
8. Kerbs, S. and Allen, A. M. : Effect of occlusion on *Trichophyton mentagrophytes* infections in guinea pigs. J. Invest. Dermatol. 71 : 301-304, 1978.
9. 김기홍, 서준봉 : *Microsporum gypseum* complex의 교배형과 진균학적 성상. 대한피부과학회지 19 : 835-846, 1981.
10. Chin, H. S. : Experimental dermatitis by *Pityrosporum ovale* in guinea pigs. K. J. Dermatol. 21 : 563-569, 1983.
11. 김형남, 황진욱 : 수중 zoophilic dermatophytes의 병원성에 관한 연구. 대한피부과학회지 20 : 189-200, 1982.
12. 이정복, 이민선, 이광훈, 송동훈 : *Microsporum canis*에 감염된 거니뿔에서 현청내 항 proteinase항체 감출을 위한 ELISA법. 대한피부과학회지 24(5 supplement) : 14, 1986.
13. Kaplan, W. : Epidemiology and public health significance of ringworm in animals. Arch. Dermatol. 96 : 404-408, 1967.
14. Kligman, A. M. : Pathophysiology of ringworm infections in animals with skin cycles. J. Invest. Dermatol. 27 : 171-185, 1956.

15. Jones, H.E., Reinhardt, J.H., and Rinaldi, M.G.: Acquired immunity to dermatophytes. Arch. Dermatol. 109 : 840-848, 1974.

-Abstract -

## Study of the Experimental Dermatophyte Infection in Animals

Jong Soo Choi, Kae Yong Hwang, Ki Hong Kim, Sung Kwang Kim \*  
and Jae Kyu Chung\*

*Department of Dermatology and Microbiology \*  
College of Medicine, Yeungnam University*

Soon Bong Suh

*Department of Dermatology  
Kyungpook National University School of Medicine  
Taegu, Korea*

Experimental dermatophyte infections are essential for studying dermatophytosis. Induction of standard infections depends on control of three factors—spore dose, scarification, and species of the experimental animals. The authors evaluated the three factors in the experimental infection models, which were inoculated with quantitated spore solution of *N. gypsea* “+” and *A. benhamiae* “+” in rabbit, guinea pig, rat, and mouse.

The results were as follows.

1. Infection was correlated with concentration of inoculum.
2. In traumatization method, abrasion with knife was the most effective for inoculation, followed by pricking, epilation, and shaving of hair in decreasing order.
3. Rabbit and guinea pig were more susceptible to dermatophyte infection rather than the rat and mouse. However, the mouse was not infected at all.
4. Guinea pig was the proper animal model for experimental dermatophytosis in susceptibility, degree of clinical response, and duration of the infection.
5. *A. benhamiae* “+” showed more severe inflammation and shorter course than *N. gypsea* “+”.