

중합효소연쇄반응을 통해 확진되고 Atovaquone과 Azithromycin으로 치료한 Human Babesiosis 1예

연세대학교 의과대학 내과학교실¹, 에이즈 연구소²

윤기태¹ · 김연아¹ · 구남수¹ · 김준형¹ · 정세진¹ · 김홍정¹ · 송경호¹ · 최유경¹

신소연^{1,2} · 김영근^{1,2} · 김명수^{1,2} · 박윤선^{1,2} · 최준용^{1,2} · 송영구^{1,2} · 김준명^{1,2}

A Case of Human Babesiosis Confirmed by Polymerase Chain Reaction and Treated with Atovaquone and Azithromycin

Ki Tae Yoon, M.D.¹, Yeon-A Kim, M.D.¹, Nam Su Ku, M.D.¹, Joon Hyung Kim, M.D.¹, Se Jin Jung, M.D.¹

Hong Jeoung Kim, M.D.¹, Kyung Ho Song, M.D.¹, You Kyung Choi, M.D.¹, So Youn Shin, M.D.^{1,2}

Young Keun Kim, M.D.^{1,2}, Myung Soo Kim, M.D.^{1,2}, Yoon Seon Park, M.D.^{1,2}, Jun Yong Choi, M.D.^{1,2}

Young Goo Song, M.D.^{1,2} and June Myung Kim, M.D.^{1,2}

Departments of Internal Medicine¹, AIDS Research Institute², Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Human babesiosis is a tick-borne infectious disease caused by *Babesia* species. The clinical diagnosis is difficult because of nonspecific symptoms like flu. Rapid diagnosis of human babesiosis is microscopic examination in peripheral blood smear (Giemsa-stain) which reveals characteristic forms of an intracellular quadruplet parasite. But differentiation between *Babesia microti* and *Plasmodium* species can be quite difficult because of the morphologic similarity. We experienced a case of human babesiosis. The patient was a 62-year old Korean male who had been in New Jersey, U.S.A for 2 months. We initially diagnosed as malaria infection because the peripheral blood smear revealed intracellular single ring form organism. But the patient was not improved significantly by the treatment with chloroquine regimen. Finally we confirmed human babesiosis by polymerase chain reaction for *Babesia microti*. We treated the patient successfully with a regimen of atovaquone and azithromycin which has fewer adverse reactions than a regimen of clindamycin and quinine.

Key Words : Babesiosis, *Babesia microti*, Polymerase chain reaction, Atovaquone and azithromycin

서론

바베시오시스(Babesiosis)는 바베시아 원충이 진드기를 매개체로 감염되어 적혈구내 기생하여 발생하는 인수공통 전염병이다. 1888년 소 폐사의 원인 규명 과정에서 적혈구 내 바베시아 원충의 발견으로 최초 보고되었으며, 인체 바베시오시스는 1957년 처음 보고되었다(1, 2). 국내에서도 1988년 미국인 선교사에게 발병한 인체 바베시오시스 1예가 처음 보고된 이래 현재까지 총 4예가 보고되

었으며, 모두 아프리카 지역으로부터의 유입된 증례들이었다(3-6). 바베시오시스의 진단은 비교적 빠르고 간단하게 Giemsa 염색을 통한 말초혈액도말 검사가 이용되고 있지만(7), 말라리아와의 형태학적 유사성으로 인해 감별이 어려울 때가 있어 중합효소연쇄반응 검사를 통한 진단법이 제시되었다(8).

인체 바베시오시스의 치료는 clindamycin과 quinine의 병합요법이 표준 치료로 사용되었으나 부작용 발생의 빈도가 높아 최근 atovaquone과 azithromycin 병합요법이 새로운 치료법으로 제시되었다(9).

저자들은 말초혈액도말 검사에서 말라리아 감염이 의심되었으나 chloroquine 복용에 치료 반응이 없고 말라리아에 대한 중합효소연쇄반응 검사에서 음성 결과를 나타낸 환자에서 중합효소연쇄반응 검사를 통해 *Babesia*

Submitted 20 July, 2006, accepted 10 September, 2006

Correspondence : June Myung Kim, M.D.

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine

134 Shinchon-Dong, Seodaemun-Ku, Seoul, 120-752, Korea

Tel : +82-2-2228-1975, Fax : +82-2-393-6884

E-mail : jmkim@yumc.yonsei.ac.kr

*microti*를 확인하여 인체 바베시오시스를 진단하였으며, atovaquone과 azithromycin의 병합요법으로 치유한 1예를 경험하였기에 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

62세 남자가 3일간의 발열과 오한을 주소로 응급실 경유 입원하였다. 환자는 고혈압 및 당뇨병의 과거력이 있었다. 직업은 무직이었고 거주지는 파주시였으며 내원 3개월 전인 2004년 11월 25일부터 2005년 1월 27일까지 2개월간 미국 뉴저지주를 다녀온 여행력이 있었다. 환자는 귀국 18일 후부터 발열과 오한이 시작되었으며 두통과 좌측 흉통 및 식욕부진으로 외부 병원에서 치료하였으나 증상의 호전이 없어 본원 응급실로 전원 되었다. 입원 당시 의식은 명료하였으며 만성 병색을 띄었고, 혈압은 140/70 mmHg, 체온 37.1°C, 맥박수 분당 96회였다. 결막은 창백하지 않았고 공막에 황달은 없었으며 흉부 진찰시 호흡음은 깨끗하고, 심잡음은 들리지 않았다. 복부 진찰 소견 상 압통은 없었으며 간과 비장은 촉진되지 않았다. 일반혈액 검사에서 백혈구 4,260/mm³ (중성구 53.5%, 림프구 34.9%, 단핵구 9.0%, 호산구 1.9%, 호염기구 0.8%), 혈색소 13.8 mg/dL, 혈소판 83,000/mm³ 이었고 적혈구 침강 속도는 38 mm/hr 이었다. 혈청 생화학 검사에서 AST 13 IU/L, ALT 16 IU/L, 총 단백 7.4 g/dL, 알부민 2.6 g/dL, 총 빌리루빈 0.8 mg/dL, C-reactive protein 6.82 mg/dL 이었다. 내원 당시 시행한 혈액 배양 검사 상 동정된 균주는 없었다. 내원 5일째 일반혈액 검사에서 백혈구 2,380/mm³ (중성구 65%, 림프구 28%, 단핵구 5%, 호산구 2%), 혈소판 47,000/mm³이었고, 말초혈액도말 검

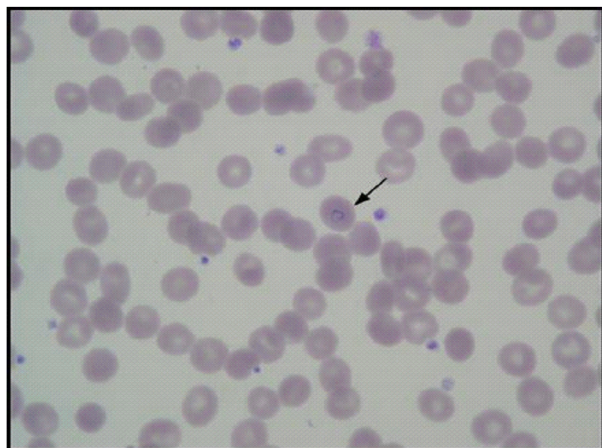


Figure 1. Peripheral blood smear, Giemsa stain, ×1,000: Malaria-like ring form protozoa in erythrocyte (arrow).

사에서 고리형태(ring form)의 원충이 발견되어(Figure 1) 말라리아 감염 의증으로 hydroxychloroquine투약 시작하였다. Hydroxychloroquine을 3일간(총 2,000 mg) 투약 후에도 환자는 발열과 좌측 흉통을 지속적으로 호소하였고, 말초혈액도말 검사에서 원충이 지속적으로 발견되어 내원 10일째 hydroxychloroquine을 2차 주기로 3일간(총 2,000 mg) 투약하기 시작하였다. 내원 11일째 *Plasmodium vivax* 및 *Plasmodium falciparum*에 대한 중합효소연쇄반응 검사 결과 음성으로 보고되었으며 내원 13일째 hydroxychloroquine 2차 투약 종료 후 시행한 말초혈액도말 검사에서도 원충이 지속적으로 발견되었다. 말초혈액도말검사에서도 원충이 계속 발견되고 미국 뉴저지주의 여행력과 말라리아 중합효소연쇄반응 검사 결과 음성인 점을 고려하여 인체 바베시오시스 의증으로 내원 15일째 *B. microti*에 대한 중합효소연쇄반응 검사를 시행하였다(Figure 2). 중합효소연쇄반응 검사를 위해 환자 혈액을 EDTA tube에 5 cc 획득 후 분석까지 4°C에서 보관하였다. 혈액 100 uL를 TE (10 mM Tris[pH 7.4], 1 mM EDTA) 1,000 uL에 용해 후 원심 분리하였다. 원심 분리 후 나온 침전물은 TE로 3차례 세척한 후 K buffer (50 mM Tris[pH8.3], 1.5 mM MgCl₂, 0.45% Nonidet P-40,

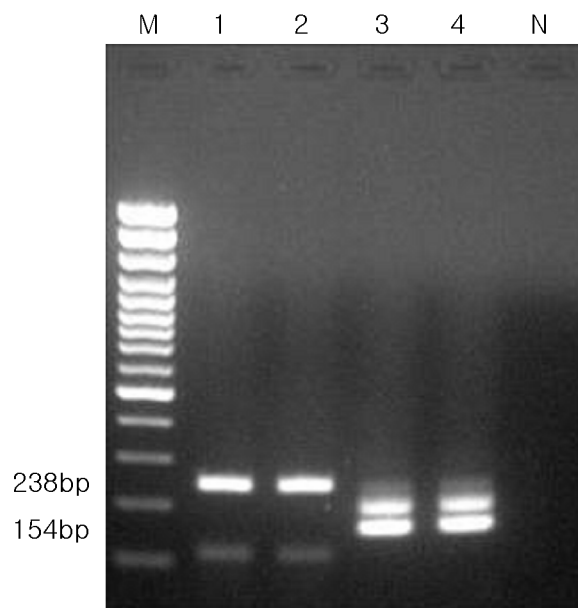


Figure 2. PCR detection of *B. microti* in blood from the patient (M; 100bp ladder marker, Lanes 1, 2; 238bp expected PCR product of *B. microti*-specific DNA, Lanes 3, 4; lower band-154bp internal fragment, upper band-nonspecific band, N; negative control from uninfected human blood). Three-step cycling program 35 cycles and 50 cycles (1 min of denaturation at 94°C, 1min of annealing at 55°C, 2 min of extension at 72°C) was performed for amplification of 238bp and 154bp PCR product, respectively.

0.45% Tween 20, 10 ug of proteinase K per mL) 200 uL를 추가하였다. 침전물을 잘 섞은 후 55°C에서 1시간 동안 보관 후 95°C에서 10분간 보관하였다. 5 uL 보관액에 50 uL 50 mM Tris(pH 8.3), 1.5 mM MgCl₂, 200 mM deoxyribonucleoside triphosphate, 0.25U of Taq polymerase, 50 pmol of each of primers Bab1 (5'-CTTAGTATAAGCTTTTATACAGC-3') and Bab4 (5'-ATAGGT CAGAAACTT GAAT GATACA-3')를 혼합 후 programmable thermal cycler로 three-step cycling program 35 cycles (1 min of denaturation at 94°C, 1 min of annealing at 55°C, 2 min of extension at 72°C)을 시행하였다. PCR 후 238bp 결과물을 확인하였으며, nested primers Bab2 (5'-GTTATAGTTTATTTGATGTTCTTT-3') and Bab3 (5'-AAGCCATGCGATTGCTAAT-3')를 이용하여 three-step cycling program 50cycles 후 154bp PCR 결과물을 확인하였다. 이후 238bp PCR 결과물에 대한 염기서열을 추가적으로 재확인하였다. 중합효소연쇄반응 검사 결과 *B. microti*에 의한 인체 바베시오시스로 확진되어 내원 19일째부터 atovaquone (일일 750 mg 2회 경구 투여)과 azithromycin (일일 600 mg 3회 경구투여)을 7일간 투약하였으며 내원 27일째 시행한 말초혈액도말 검사에서 원충은 관찰되지 않고 증상 없는 상태로 퇴원하여 현재 외래 추적 관찰 중이다.

고 찰

바베시오시스는 진드기를 매개체로 하여 감염된 원충이 적혈구에 기생하여 생기는 인수공통 열성질환으로 현재까지 100종 이상의 바베시아 원충이 보고 되었으며 인체 감염을 일으키는 것은 *B. microti*, *B. divergens*, *B. duncani* (WA-1, MO-1) 등으로 보고되었다(2, 10-13).

미국 북동부와 중서부 지역이 *B. microti*에 의한 토착 감염 지역으로 알려져 있고 유럽, 아프리카, 아시아 등 세계적으로 발생이 보고 되어있다. 본 증례는 미국 내 인체 바베시오시스 감염의 토착지역인 뉴저지 지역을 방문한 후 국내로 유입이 추정되는 예로 미국과 인적, 물적 교류가 증가하고 있는 점을 고려할 때 미국 내 토착지역 방문을 통한 유입 감염의 증가 가능성에 세심한 관심을 두어야 하겠다.

바베시오시스의 진단 방법에는 말초혈액도말 현미경 검사, hamster의 복강으로 환자의 혈액을 접종하여 기생충혈증을 증명하는 법, 환자의 혈청을 이용한 간접면역형광법, 효소면역흡착반응법, 보체결합법, 중합효소연쇄반응

법 등이 이용되고 있다. Giemsa 염색한 말초혈액도말 현미경 검사는 비교적 간단하고 빠르게 진단할 수 있어 흔히 사용되고 있으며, 감염의 각 단계에 따라 piriform, ameboid, ring form, tetrad form 등의 원충 형태를 관찰할 수 있는데 이 중 *B. microti*와 같은 small (1-3 um) Babesia 원충에서는 tetrad form을 확인하는 것이 진단적이다¹⁴⁾. 기존 국내 보고된 인체 바베시오시스 4예는 모두 Giemsa염색을 통한 말초혈액도말검사로 진단되었다. 하지만 감염 초기나 부분적으로 치료된 경우 감염된 적혈구 수가 적어서 확진을 위해서는 반복적인 도말검사가 필요한 경우가 있고, 원충이 보이는 경우라도 특징적인 여러 단계의 원충이 관찰되지 않는 경우 형태학적으로 열대열원충과 유사성으로 인해 감별이 어려울 때가 있다(7). 국내 보고된 1예에서는 말초혈액도말검사서 인체 바베시오시스를 진단하였으나 이후 *P. falciparum*에 대한 중합효소연쇄반응 검사를 통해 말라리아로 확진된 바 있다(15). 이와 같이 말초혈액도말검사 만을 통한 진단에 어려움이 있어 간접면역형광법을 이용한 항체의 측정과 중합효소연쇄반응 검사를 통한 진단법이 사용되고 있고 특이도와 민감도가 높은 것으로 보고되었다(8, 16). 본 증례는 말초혈액도말검사서 ring form의 원충이 발견되어 초기에 말라리아 감염으로 진단 후 chloroquine으로 치료를 시행하였으나 치료 종료 후에도 말초혈액도말검사서 원충이 지속적으로 발견되었고, *P. vivax* 및 *P. falciparum*에 대한 중합효소연쇄반응 검사가 음성으로 나와 인체 바베시오시스 의증으로 *B. microti*에 대한 중합효소연쇄반응 검사를 시행하여 양성을 확인하였다. 아직까지 바베시오시스가 국내에는 드문 질환으로 Giemsa 염색한 말초혈액도말 검사에서 원충이 발견되는 경우 우선적으로 말라리아의 가능성이 크다고 하겠지만 해외에서 유입된 바베시오시스의 가능성을 의심할 수 있는 경우 감별진단 및 확진을 위한 중합효소연쇄반응 검사를 고려하여야 하겠다.

인체 바베시오시스의 치료는 전통적으로 clindamycin과 quinine의 병합요법이 표준 치료로 권장되었다(17). 하지만 기존 병합요법의 경우 많은 부작용 발생으로 인해 새로운 치료요법이 모색되었고 Krause 등(9)은 atovaquone과 azithromycin의 병합요법을 제시하였다. 보고에 의하면 clindamycin과 quinine의 기존 병합요법을 사용한 환자의 72%에서 이명, 설사, 청력감소 등이 흔한 부작용으로 나타났으며 33%는 심각한 부작용으로 투약 용량을 줄이거나 투약을 중단해야만 했던 것에 비해 새로운 병합요법은 15%에서만 부작용을 나타내었으며 심각한 부작

용은 2%에서만 발생하였다. Atovaquone과 azithromycin 병합요법을 시행한 국내 보고는 없는 상태로 본 증례의 경우 atovaquone과 azithromycin 병합요법을 7일간 시행하였으며 환자의 치료 순응도가 좋았으며 발생한 부작용 없이 치료를 종료하였다. 인체 바베시오시스 치료에 있어 atovaquone과 azithromycin 병합요법을 일차 치료 요법 또는 clindamycin과 quinine의 병합요법 사용이 어렵거나 사용 중 부작용 발생이 있는 경우 이차 치료 요법으로 고려할 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

저자들은 국내에서 처음으로 중합효소연쇄반응 검사를 통하여 *B. microti*에 의한 인체 바베시오시스를 진단하였으며, atovaquone과 azithromycin 병합요법을 사용하여 치유한 1예를 경험하였기에 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

참 고 문 헌

- 1) Babes V : Sur l'hémoglobulinurie bacterienne boeuf. *Compt Rend Acad Sci* 107:692-4, 1888
- 2) Skrabalo Z, Deanovic Z : Piroplasmosis in man: report of a case. *Doc Med Geogr Trop* 9:11-6, 1957
- 3) Kim HT, Song YW, Choe KW, Chai JY, Lee SH : An Imported case of human Babesiosis in Korea. *Korean J Med*. 35:569-73, 1988
- 4) Sim JG, Park HS, Ahn DH, Kho WG, Chai JY : A case of babesiosis in an eight year old Korean boy. *J Korean Pediatr Soc*. 34:1417-21, 1991
- 5) Lee SS, Yang SY, Cho YK, Kim E, Kim YS, Woo JH, Ryu J, Chai JY : An Imported case of Babesiosis. *Korean J Infect Dis* 29:49-52, 1997
- 6) Kwon SH, Kim YS, Pae H, Park J, Park H, Choi MH, Chai JY : A case of mixed infection with Malaria and Babesia. *Korean J Infect Dis* 30:198-202, 1998
- 7) Healy GR, Ruebush TK : Morphology of *Babesia microti* in human blood smears. *Am J Clin Pathol* 73:107-9, 1980
- 8) Persing DH, Mathiesen D, Marshall WF, Telford SR 3rd, Spielman A, Thomford JW, Conrad PA : Detection of *Babesia microti* by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 30:2097-103, 1992
- 9) Krause PJ, Lepore T, Sikand VK, Gadaw J Jr, Burke G, Telford SR 3rd, Brassard P, Peral D, Azlanzadeh J, Christianson D, McGrath D, Spielman A : Atovaquone and azithromycin for the treatment of babesiosis. *N Engl J Med*. 343:1454-8, 2000
- 10) Spielman A, Clifford CM, Piesman J, Corwin MD : Human babesiosis on Nantucket Island, USA: description of the vector, *Ixodes (Ixodes) dammini*, n. sp. (Acarina: Ixodidae). *J Med Entomol*. 15:218-34, 1979
- 11) Quick RE, Herwaldt BL, Thomford JW, Garnett ME, Eberhard ML, Wilson M, Spach DH, Dickerson JW, Telford SR 3rd, Steingart KR, Pollock R, Persing DH, Kobayashi JM, Juranck DD, Conrad PA : Babesiosis in Washington State: a new species of *Babesia*? *Ann Intern Med* 119:284-90, 1993
- 12) Herwaldt B, Persing DH, Precigout EA, Goff WL, Mathiesen DA, Taylor PW, Eberhard ML, Gorenflot AF : A fatal case of babesiosis in Missouri: identification of another piroplasm that infects humans. *Ann Intern Med* 124:643-50, 1996
- 13) Conrad PA, Kjemtrup AM, Carreno RA, Thomford J, Wainwright K, Eberhard M, Quick R, Telford SR 3rd, Herwaldt BL : Description of *Babesia duncani* n.sp. (Apicomplexa: Babesiidae) from humans and its differentiation from other piroplasms. *Int J Parasitol*. 36:779-89, 2006
- 14) Cullen JM, Levine JF : Pathology of experimental *Babesia microti* infection in the Syrian hamster. *Lab Anim Sci* 37:640-3, 1987
- 15) Jang HJ, Kim JH, Park WJ, Kim CH, Kim DG, Hyun IG, Huh S, Kho WG, Chai JY : A case of intraerythrocytic parasitism treated with quinine and clindamycin. *Korean J Infect Dis* 30:478-82, 1998
- 16) Krause PJ, Telford SR 3rd, Ryan R, Conrad PA, Wilson M, Thomford JW, Spielman A : Diagnosis of babesiosis: evaluation of a serologic test for the detection of *Babesia microti* antibody. *J Infect Dis*. 169:923-6, 1994
- 17) Gombert ME, Goldstein EJ, Benach JL, Tenenbaum MJ, Grunwaldt E, Kaplan MH, Eveland LK : Human babesiosis. Clinical and therapeutic considerations. *JAMA* 248:3005-7, 1982