

대한의진균학회 제 3 차 Workshop 진행계획표

시 간	내 용
13:00 ~ 14:00	등 록
14:00 ~ 14:10	개 회 식
14:10 ~ 14:40	피부사상균의 육안적 소견 및 현미경 소견 김기홍 교수 (영 남 의 대)
14:40 ~ 15:00	KONCPA (KOH treated Nail Clippings Stained with PAS)의 임상적 응용 조백기 교수 (가톨릭의대)
15:00 ~ 15:20	Kit에 의한 칸디다 효모균의 동정 김미나 교수 (울 산 의 대)
15:20 ~ 15:40	<i>Malassezia</i> 균종의 육안 및 현미경적 소견 안규중 교수 (건 국 의 대) 좌 장 : 류지소 교수 (울 산 의 대)
15:40 ~ 16:00	Coffee break
16:00 ~ 16:45	실 습 1조 피부사상균의 육안적 소견 및 현미경 소견 2조 KONCPA (KOH treated Nail Clippings Stained with PAS)의 임상적 응용 Kit에 의한 칸디다 효모균의 동정 <i>Malassezia</i> 균종의 육안 및 현미경적 소견
16:45 ~ 17:30	실 습 1조 KONCPA (KOH treated Nail Clippings Stained with PAS)의 임상적 응용 Kit에 의한 칸디다 효모균의 동정 <i>Malassezia</i> 균종의 육안 및 현미경적 소견 2조 피부사상균의 육안적 소견 및 현미경 소견
17:30 ~ 18:00	질의 및 응답 김기홍 교수, 조백기 교수, 김미나 교수, 안규중 교수 좌 장 : 노병인 교수 (중 앙 의 대)
18:00 ~ 18:10	폐 회 식
18:10 ~ 19:00	간 친 회

Workshop 1

피부사상균의 육안적 소견 및 현미경 소견

영남대학교 의과대학 피부과학교실

김 기 홍

FUNGUS; one of 5 kingdom (Whittaker, 1969)

eukaryocytes: cell wall; chitin, cytoplasmic membrane; ergosterol, chlorophyll (-),
nutrition; heterotrophic, absorptive organic nitrogen & carbon

Classification;

Zygomycetes

Ascomycetes

Basidiomycetes

Deuteromycetes

Culture media;

Sabouraud dextrose agar, Mycosel agar, DTM, potato dextrose agar, trichophyton media

Microscopic structures of dermatophytes

1. hyphae: asexual reproductive structures septation

patterns; raquet, spiral, favic chandelier, nodular body pigmentation

2. conidium: A unicellular or multicellular fungal element specialized to detach from the mycelium and disseminate, thus serving as an asexual reproductive structure

* microconidium: the smaller of two types of conidium produced by the same fungus, often unicellular

* macroconidium: the larger of two types of conidium produced by the same fungus, often multicellular

3. spores: a fungal propagative element, produced either as part of a sexual process or an asexual reproductive process (sporangiospore)

Classification of fungus

Class	Hypha	Sexual spore	Asexual spore
<i>Zygomycetes</i>	Aseptated	Zygospore	Sporangium
<i>Ascomycetes</i>	Septated	Ascospore	Conidium
<i>Basidiomycetes</i>	Septated	Basidiospore	Conidium
<i>Deuteromycetes</i>	Septated	Not found	Conidium

진균배양시 주의사항

* sampling

1. 충분한 cleansing
2. 충분한 dried up
3. 충분한 material
skin; fine scales,
hairs; broken hairs
nail: free margin을 제거하고 가장 proximal part

* 배지

1. 냉장고에 보관하였던 것을 실온과 같게 하여 사용
2. 표면에 물기가 있으면 거꾸로 세워서 제거 후 사용
3. 보관하는 배지는 건조되지 않게 유지

* 배양시

1. aseptic procedure: tube입구와 칼의 손잡이 부분
2. tube: bottom up; 공기중의 포자가 들어 가는 것을 방지
3. 많은 가검물을 배지가 풍부한 쪽에 심을 것

Characteristics of dermatophytes (Rebell & Talpin)

- * causing ringworm lesions
- * having a predilction for keratinous substrates
- * having macro- and micro- conidia
- * production of and tolerance of an alkaline pH in culture media
- * sensitivity to griseofulvin
- * resistance to cycloheximide

Characteristics of genus of dermatophytes

	Macroconidia	Microconidia	Infection
<i>Microsporum</i> spp.	Spindle-shaped macroconidia with spiny surface	Numerous, borne singly or in grape-like cluster	Skin, hair
<i>Trichophyton</i> spp.	Pencil or fusiform shaped macroconidia with smooth surface	Few in number, borne in single, sessile fashion from the hyphae	Skin, hair, nail
<i>Epidermophyton</i> spp.	Boat-shaped macroconidia with smooth surface, single or in cluster of 2 or 3	Not produced	Skin, nail

Useful distinguishing features of dermatophytes

hair fluorescence
hair perforation
hair parasitism; endothrix, ectothrix
nutritional requirements
salt tolerance
temperature of growth
microscopic morphology
colony morphology
urea hydrolysis

Hair parasitism

Ectothrix; arthroconidia outside hair shaft

small conidia; *M. canis*, *M. audouinii*, *M. ferrugineum*

large conidia;

sparse; *M. gypseum*, *M. fulvum*, *M. nanum*, *M. gallinae*

in chain; *T. verrucosum*, *T. mentagrophytes*, *T. megninii*

Endothrix; *T. tonsurans*, *T. violaceum*

Favic type; hyphae & air spaces but usually no conidia, *T. schoenleinii*

Not known to parasitize hair: *T. concentricum*, *E. floccosum*, *M. persicolor*

Important features of fungal colonies

1. growth rate at 25~30 °C
2. color; surface, reverse, agar
3. topography; flat, raised, heaped
4. texture; smooth, fluffy, granular, suede, velvety
5. pattern of colony folding; cerebriform, crateriform
6. miscellaneous features; diffusible pig.,

Slow growing dermatophytes

T. violaceum

T. verrucosum

T. schoenleinii

T. concentricum

T. yaoundei

T. soudanense

CHARACTERISTIC OF DERMATOPHYTES

Epidermophyton floccosum

colony appearance:

- * slow growth
- * texture membraous becoming felty to powdery
- * color: yellow to khaki on the surface; chmois to brown on the reverse
- * pleomorphism

microscopic appearance:

- * macroconidia; club-shaped, with thin, smooth walls, solitary or in groups
- * microconidia; absent
- * chlamydospores formed in large numbers in mature colonies
- * pleomorphism; cultures rapidly manifest pleomorphism, in which white, atypical sectors soon arise on the colony surface.; deterred by maintaing strains on Sabouraud glucose agar containing 3 to 5% sodium chloride.

Remark: distinguished from other dermatophytes by its restricted, yellow to khaki colonies, its club-shaped macroconidia with thin, smooth walls, and its inability to form microconidia

Microsporum

- * From a taxonomic point of view, *Microsporum* is distinguished from *Trichophyton* and *Epidermophyton* by its fusiform macroconidia with rough to echinulate walls.
- * In practice, the identification of many species rests primarily on the appearance of the macroconidia, since the microconidia are not sufficiently distinctive to be useful for this purpose.
- * Some species produce few or no macroconidia. The production of macroconidia can be stimulated by cultivating isolates on autoclaved rice grains, on potato glucose agar or on Sabouraud glucose agar containing 3 to 5% sodium chloride.
- * Absence of conidia, the colony appearance and certain physiological tests are used in identification.

Microsporum canis : zoophilic

colony appearance:

- * rapid growth
- * texture downy to wooly
- * color: white to yellow on the surface; yellow to yellow-orange on the reverse, rarely pale
- * culture on autoclaved rice grains: good growth, white mycelium, yellow pigment

microscopic appearance:

- * macroconidia; numerous, fusoid, somewhat recurved at the apex, with a thick and echinulate cell wall, containing up to 15 cells
- * microconidia; club-shaped, infrequent

Microsporum gypseum : geophilic

colony appearance:

- * rapid growth
- * texture; downy becoming powdery to granular
- * color: beige on the surface; beige to red brown on the reverse

microscopic appearance:

- * macroconidia; abundant, ellipsoidal to fusiform, symmetrical, thin-walled, containing 3 to 6 cells
- * microconidia; club-shaped, moderately abundant

M. persicolor

- * resembles granular, zoophilic isolates of *T. mentagrophytes*
- * poor, suppressed, surfaced grow at 37°C on Sabouraud agar
- * BCP-milk solids-glucose agar; sky blue color
- * rough-walled macroconidia on 3% & 5% salt-amended Sabouraud agar

Trichophyton

- * From a taxonomic point of view, *Trichophyton* is distinguished from *Microsporum* by its smooth walls.
- * For the identification of many species, it is especially important to examine the morphology of the the microconidia.
- * In the species which are normally sterile in culture, the colony appearance, certain physiological tests, and sometimes the type of the lesion will prove useful in identification.

Trichophyton rubrum: anthropophilic

colony appearance:

- * growth; slow to moderately rapid
- * texture; downy, sometimes powdery
- * color: white to pale pink on the surface; typically wine red, sometimes brown, yellow or even white or no-colored on the reverse

microscopic appearance:

- * macroconidia; multiseptate, pencil-shaped or cigar-shaped, often absent
- * microconidia; numerous to rare, unicellular, club-shaped to pyriform, solitary along hyphae or sometimes in cluster

physiologic tests:

- * urease test: negative
- * hair perforation: negative
- * growth factor requirements: none
- * potato glucose agar, cornmeal glucose agar: production of red pigment on the reverse of the majority of isolates which remain unpigmented on Sabouraud glucose agar.

T. mentagrophytes: Zoophilic or anthropophilic

colony appearance:

- * growth; rapid or moderately rapid
- * texture; downy or powdery (anthropophilic) or granular (zoophilic)
- * color: white to creamy on the surface; red-brown, brown or yellow on the reverse

microscopic appearance:

- * macroconidia; multiseptated, mostly club-shaped, with thin smooth walls, solitary often absent (anthropophilic)
- * microconidia; unicellular, round or pyriform, in closely branched cluster or along otherwise undifferentiated hyphae, usually numerous (zoophilic), sometimes rare in anthropophilic isolates
- * spiral hyphae often present

physiologic tests:

- * urease test: positive
- * hair perforation: positive
- * growth factor requirements: none

T. tonsurans: fluorescence (–) under Wood lamp

colony appearance:

- * growth; slow
- * texture; variable sue-like, sometimes powdery or velvety
- * color: white, biege, pale yellow, or brown on the surface; red-brown, dark brown or yellow on the reverse

microscopic appearance:

- * macroconidia; rare, sinus with thin smooth walls
- * microconidia; abundant, variable size and shape; tear-drop or club-shaped on open branching, match-head shaped balloon forms
- * chlamydoconidia (-spores) in chains

physiologic tests:

- * urease test: positive
- * hair perforation: negative; positive
- * growth factor requirements: growth stimulated by thiamine

T. verrucosum: zoophilic, fluorescence (–) under Wood lamp

colony appearance:

- * growth; very very slow at 25 °C, more rapid at 37 °C
- * texture; glabrous, sometimes light downy
- * color: white or sometimes yellow or greyish on the surface; no characteristic pigment on the reverse

microscopic appearance:

- * macroconidia; rat tail-shaped, especially on the surface
- * microconidia; club-shaped, often absent
- * chlamydoconidia (-spores) in chains

physiologic tests:

- * urease test: negative
- * hair perforation: negative; positive
- * growth factor requirements: thiamine required, and also often inositol

T. megninii

one of the most difficult dermatophytes to recognize on initial examination identical to *T. rubrum*
grow on ammonium nitrate + histidine but not without histidine

● 연자 소개 ●

성명 : 김 기 홍 (金 其 洪)

생년월일 : 1947년 3월 25일

1971년 2월

경북대학교 의과대학 졸업

1976년 2월

경북대학교 의과대학 부속병원 피부과 전공의 수료

1982년 2월

경북대학교 대학원 의학박사 취득

1979년 5월 ~ 1982년 10월

칠곡 가톨릭피부과 의무원장

1982년 11월 ~ 1984년 10월

부산 메리놀병원 피부과장

1984년 11월 ~ 1999년 2월

영남대학교 의과대학 부속병원 피부과장

1989년 7월 ~ 1989년 12월

Louisiana States University Medical Center,

Dept. of Dermatology and Mycology Lab. 연수

1984년 11월 ~ 현재

영남대학교 의과대학 조교수, 부교수, 교수

Workshop 2

KONCPA (KOH treated Nail Clippings Stained with PAS)의 임상적 응용

가톨릭대학교 의과대학 피부과학교실

조 백 기

서 론

흔히 사용되고 있는 조갑 진균증의 진단 방법으로는 KOH 직접도말검사와 진균배양검사가 있으나 KOH 직접도말검사는 진균성분이 검출된 슬라이드를 장기간 보관할 수 없고 진균배양검사는 종의 진단에 필수적이나 양성율이 낮고 3~4주의 시간을 요하는 단점이 있다.

조갑을 마취 없이 nail cutter로 3~4 mm 정도 떼어 내거나 punch를 이용하여 통증 없이 조갑 표본을 얻어 병리조직검사를 시행하는 방법도 진단 양성율을 높이고 진균이 조갑의 어느 부위에 감염되어 있는지를 알 수 있는 좋은 방법이지만 1주일 정도의 시일을 요하고 또한 관찰할 수 있는 병리조직 절편의 수는 제한되어 있다.

1993년 대만 피부과의사인 Liu 등이 병변 조갑에서 채취한 가검물을 20% KOH 용액에 넣고 30분간 가열하여 용해시킨 후 PAS로 염색하여 진균성분을 관찰하는 방법을 소개하고 KONCPA라고 병명하였다.

그들은 또한 이 방법이 비침습적이고 진균 양성율이 병리조직검사 진균배양검사 및 KOH 직접도말검사 보다 높다고 하였다.

검사 방법

- 1) 병변의 조갑을 깨끗이 닦은 후 병변 조갑을 손톱 각기로 잘라내어 멸균된 시험관에 보관한다.
- 2) 30% KOH용액 5~10 CC를 조갑표본이 든 시험관에 붓고 56℃ incubator에서 조갑이 완전히 녹을 때까지 방치한다.
- 3) 3000 rpm으로 10분간 원심분리하여 그 상층액을 버리고 침전물을 다시 생리식염수로 2회 세척한다.
- 4) 원심 분리 후 남은 침전물을 두 장의 sialine-coated slide 사이에서 crush하여 얇게 도말한다.
- 5) 완전히 마를 때까지 공기 건조시킨 후 acetone으로 15분간 고정 (fixation) 시킨다.
- 6) 다시 air dry 한 후 PAS 염색을 시행한다.
(0.5% periodic acid에 10분간 반응 → 증류수로 15분간 세척 → Schiff's agent에 15분간 반응 → 증류수로 10분간 세척 → 공기 건조)
- 7) balsam으로 밀봉하여 영구표본을 만든다.

현미경 소견

균사와 포자와 같은 진균성분을 확인하면 진균 양성으로 판독한다.

조갑 내에서 진균의 형태는 배지에서 배양된 진균의 형태와 달라서 피부사상균, 칸디다 및 mould를 구분하기가 쉽지 않으나 일부에서는 비교적 위 3군의 진균을 감별하는데 도움이 되는 소견을 볼 수 있다.

즉 피부사상균에서는 가늘고 긴 격막이 있는 균사를 볼 수 있다. 분절포자 (arthrospore)나 염주상균사 (beaded hyphae) 및 불규칙한 모양의 균사도 간혹 볼 수 있다. 균사가 배지에서 배양된 것처럼 뭉쳐있는 다양한 크기의 진균구 (fungal ball)도 흔히 볼 수 있다.

칸디다인 경우 분아포자 (blastospores), 가성균사 (pseudohyphae), germ tube 등을 볼 수 있다.

이와 같은 소견은 조갑하 각질층이 포함된 조갑표본에서 잘 관찰되며 조갑판내에서의 칸디다는 피부사상균의 균사와 감별하기 어려울 때가 많다. mould는 대개 불규칙한 굵은 균사와 함께 짧은 분지 (branching)를 보이며 칸디다의 분아포자보다 크고 비교적 크기가 균일한 포자의 군집이 있을 경우 *Scopulariosis brevicaulis*를 의심할 수 있다.

일반 배지에서 배양된 진균에서 볼 수 없는 특이한 소견은 두껍고 불규칙한 엽상체 모양의 균사 (eroding frond)와 손목뼈 (carpal bone)와 유사한 모양의 불규칙한 균사인 carpal body도 흔히 볼 수 있는데 mould 뿐만 아니라 피부사상균 감염 조갑에서도 볼 수 있다.

검사의 의의 및 임상적 응용

조갑병변이 3 mm 이상 포함된 조갑표본을 숙달된 사람이 검사한다면 90% 이상의 양성율을 얻을 수 있다. 또한 영구표본을 만들어 보관함으로써 칸디다나 mould가 배양되었을 때 KONCPA 검사 소견과 비교해 볼 수 있어 배양된 진균을 원인균 (pathogen)으로 진단하는데 도움을 줄 수 있다.

조갑진균증의 진단 뿐 아니라 다양한 원인으로 발생하는 조갑이영양증 (onychodystrophy)과의 감별에도 매우 유용하게 이용될 수 있다. 같은 진균이 약물 치료 경과에 따라 어떻게 변하여 가는지 또는 조갑하각질층에서 조갑판의 내측과 중간층 및 외측으로 진균이 이동하면서 어떻게 형태학적 변화를 보이는지 앞으로 연구해 볼 과제라고 생각된다.

또한 원인 진균에 따라 특이한 공통적인 소견은 어떤 것이 있는지도 계속 연구해 볼 만한 과제이다.

참 고 문 헌

1. 권경술, 임채성, 장호선, 오창근, 정태안. 조갑진균증의 진단에 있어 KOH 도말검사, 배양검사, KONCPA법 및 Fungi-Fluor® 염색법의 비교 관찰. 의진균지 1998; 3: 125-131
2. 권윤희, 조백기. 조갑진균증의 진단에 있어 KONCPA 검사의 임상적 의의. 대피지 1996; 34: 527-537
3. 김성욱, 조백기. 조갑진균증에서 진균배양과 병리조직 소견의 비교 검토. 의진균지 1997;

2: 31-42

4. 이종서, 이광훈. 조갑진균증의 진단 방법에 관한 비교 연구. 대피지 1995; 33: 467-473
5. Liu HN, Lee DD, Wong CK. KONCPA: A new method for diagnosing tinea unguium. Dermatology 1993; 187: 166-168

● 연자 소개 ●

성명 : 조 백 기 (趙伯紀)

생년월일 : 1946년 5월 17일

1971년 2월	가톨릭대학교 의과대학 졸업
1976년 2월	피부과 전공의 과정 수료 (성모병원)
1980년 9월	가톨릭대학교 대학원 의학박사 취득
1980년 6월 ~ 1980년 9월	태국 피부과학 연구소 연수 (방콕)
1984년 7월 ~ 1984년 12월	미국 AFIP에서 피부병리조직학 연수 (워싱턴 DC)
1990년 1월 ~ 1990년 3월	일본 니이가타 약학대학에서 찌꺼기무시병 연구
1979년 5월 ~ 현재	가톨릭대학교 의과대학 전임강사, 조교수, 부교수 및 교수
1997년 9월 ~ 현재	가톨릭의대 피부과학교실 주임교수

Kit에 의한 칸디다 효모균의 동정

울산의대 서울중앙병원 임상병리과

김 미 나

*Candida albicans*가 아구창을 일으키는 원인임이 밝혀진 이후 여러 칸디다 종들이 피부와 점막의 여러 감염질환을 일으킬 수 있을 뿐 아니라 패혈증 등 생명에 지장을 초래하는 심각한 감염병의 원인으로 대두되었다. *C. albicans*가 인체감염을 일으키는 칸디다 종 중 가장 흔한 원인균이나, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* 등도 비교적 흔한 중요한 인체감염균이다. 이외에도 1960년대 이후 항암요법의 발전, 경정맥관 이용 증가, 새로운 항생물질의 개발, 고령화 등으로 인해 과거 오염균으로 간주되던 칸디다 속들이 새로이 인체감염균으로 등장함으로써 현재는 임상적으로 중요한 칸디다 속의 균종은 십수가지에 이르러서 칸디다 속의 종 동정이 필요해졌다 (Table 1). 또한 칸디다 속 중 fluconazole, itraconazole 심지어는 amphotericin B에도 내성인 종들이 있어서 종 동정이 치료에 결정적인 정보를 제공할 수 있다. 따라서 임상 검체에서 분리된 칸디다의 임상적 의의를 판정하고 적합한 항진균제의 선택을 위해 칸디다의 동정이 필요하게 되었다. 하지만, 칸디다는 피부 및 점막에서 상재균, 혹은 정착화 (colonization) 상태로 흔히 존재하기 때문에 임상검체에서 분리된 칸디다 균을 어느 수준까지 동정할 것인가의 여부는 각 검사실에서 정해야 한다. 칸디다가 감염의 원인균으로 판정되는 경우나, 동일 환자의 여러 검체에서 칸디다가 동시에 분리되는 경우, 혹은 혈액, 뇌척수액 등 원래 무균 부위인 검체에서 분리된 경우는 종수준까지 동정을 하는 것이 원칙이다.

임상적으로 중요한 효모균을 동정하기 위한 방법으로 최근 동정용 kit들이 널리 이용되고 있다. 일반적으로 임상검사실에서는 가장 빈번하게 분리되는 *C. albicans*를 발아판 시험에서 양성이면 신속하게 진단할 수 있고, 음성인 경우 상품화된 동정 제품으로 동정을 실시함으로써 간편하고 비용효과적으로 칸디다를 종수준으로 동정할 수 있다. 주요 동정 kit로는 API 20C (bioMérieux, France), ATB 32C (bioMérieux, France)와 Vitek Yeast Biochemical Card (bioMérieux, Vitek, USA)가 있는데, 이들은 여러 가지의 당이 든 cupules로 구성되어 당 동화에 의한 균 성장 유무 (assimilation test)를 검사한다. 이 중 API 20C는 칸디다 균 동정에 있어 표준법으로 알려져 있다.

최근 항진균제에 내성인 칸디다 종들에 의한 감염이 증가함에 따라 치료 결정에 신속한 종 동정이 중요해졌는데, 이미 생산한 효소 (preformed enzyme)의 활성을 측정하는 방법을 이용한 신속한 동정 kit가 여러 가지 개발되었다 (Table 2). 이 들은 가장 흔한 *C. albicans*만을 목표로 하는 경우가 많고, 더 나아가서는 비교적 흔하고 중요한 균종을 동정할 수 있는 방법으로서 CHROMagar 등이 사용되고 있다. 하지만 신속한 방법이면서도 기존의 제품 못지 않은 동정력을 가진 제품들도 있는데 RapID yeast plus system, MicroScan Rapid Yeast ID 등은 4시간 만에 임상적으로 중요한 대부분의 칸디다 종들을 동정할 수 있다 (Table 2). 상품화된 여러 동정 제품들은 서로간에 약간의 차이는 있지만 전통적인 당 동화 수기법에 비해 편리하고 신속하며 비

Table 1. Clinical source and identification information associated *Candida* spp.

Organism	Site Infected or Affected	API20C ¹⁵	Vitek YBC ^{7,9,10}	MicroScan RYI ¹¹	RapID Yeast plus ^{8,14,16}
<i>Candida albicans</i>	Skin, mucosa, blood	G	G	G	G
<i>Candida ciferrii</i>	Skin, nail, ear, eye	A	A	A	NG
<i>Candida dubliniensis</i>	Oral candidiasis, vagina, lung	NA	NA	NA	N
<i>Candida guilliermondii</i>	Urine, respiratory specimen, brain abscess, skin, nail	G	G	G	NG
<i>Candida famata</i>	Catheter, blood/uvea	NA	A	NA	NA
<i>Candida glabrata</i>	Various, especially urinary tract, mucosal areas, lungs	G	G	G	G
<i>Candida haemulonii</i>	Toe skin, nails, blood	NA	NA	A	NA
<i>Candida kefyr</i>	Blood, spleen, kidneys, ear	G	AN	NA	NA
<i>Candida krusei</i>	Blood, peritoneum, UTI, vaginitis	G*	NG	G	G
<i>Candida lusitanae</i>	Blood, catheter, urinary tract	G	G	G	G
<i>Candida parapsilosis</i>	Blood, i.v. cath, Foley catheter, peritoneum	G	G	G	G
<i>Candida norvegensis</i>	Blood, peritoneal fluid	AN	NA	NA	NA
<i>Candida rugosa</i>	Blood, burn wounds, catheter	A	NG	A	A
<i>Candida pulcherrima</i>	Nails	NA	N	NA	NA
<i>Candida tropicalis</i>	Blood, wound, deep tissue	G	G	G	G
<i>Candida zeylanoides</i>	Groin, nails, blood, right knee	A	A	G	NA

*need supplemental tests

Abbreviation: A; available but lack of data of ability to identify, G; good ability to identify, NG; not good ability to identify, NA; not available, AN; available but no ability to identify

교적 정확하게 칸디다 균을 동정할 수 있다. 그러나 최근 임상검체에서 분리되는 칸디다 종들이 다양해짐에 따라, 드물게 분리되는 칸디다의 동정에는 상품화된 동정 제품들에는 한계가 있다. 따라서 동정 kit를 사용한다고 해도 정확한 칸디다 동정을 위해서는 슬라이드 배양을 통한 형태학적 검사, 고식적인 수기법 등이 필요할 수 있다. 하지만 최근 상용화되고 있는 분자생물학적 방법을 이용한 동정 kit들은 진단이 어려웠던 칸디다 균 뿐 만 아니라 사상균까지도 정확하게 동정할 수 있으므로 진단 동정의 차원을 높일 것으로 사료된다.

Kit를 이용한 동정법

1. API 20C AUX system (bioMérieux Vitek, Inc., Hazelwood, Mo)

19가지 동화 검사로 임상적으로 중요한 효모균을 72시간 만에 정확히 동정할 수 있다. 균 집락을 2 mL의 생리식염수에 풀어서 McFarland 탁도 2에 맞춘 후 100 µL를 취하여 C medium

Table 2. Rapid test (<24 h) available for presumptive or definitive identification of yeasts following colony format

Test Name		
Group 1 (for single species) ^a	Group 2 (for several species)	Group 3 (for multiple genera)
Albicans-Sure (<i>C. albicans</i>)	CandiSelect	AMS-Yeast Biochemical Card
Albicans ID (<i>C. albicans</i>)	Candida check	Microbial Identification System (MIDI)
Albistrip (<i>C. albicans</i>)	CHROMagar	MicroScan Rapid Yeast ID
BactiCard Candida (<i>C. albicans</i>)	Fungiscreen H	Quantum II
Bichrolatex Albicans (<i>C. albicans</i>)		RapID Yeast Plus System
Fluoroplate (<i>C. albicans</i>)		
Germ tube (<i>C. albicans</i>)		
Rapidec albicans (<i>C. albicans</i>)		
Murex CA 50 (<i>C. albicans</i>)		
Bichrolate krusei (<i>C. krusei</i>)		
Caffeic acid disk (<i>C. neoformance</i>)		

(bioMerieux, France)에 옮기고 잘 섞는다. 이를 각 cupule에 적당히 분주한 후 30℃에서 24, 48 그리고 72시간 배양 후 각각 육안으로 판독한다. 육안 판독은 맨 왼쪽의 대조관과 비교하여 유사하게 균 성장이 없으면 음성, 탁하게 균이 자라면 양성으로 판정하여 점수를 준다. 균사 유무 검사는 cornmeal agar에서 배양한 후 판독한다. 판독시 검사 cupule들은 세 개씩으로 나눈 후 첫째, 둘째 및 세째번 cupule에서 균이 자랐으면 순서대로 각각 1, 2 및 4점을 주어 (성장이 없으면 0점) 합하고 이를 차례로 이어서 code 번호를 만들고 이를 컴퓨터 프로그램에 넣거나 책자를 참조하면 동정할 수 있다. 판독상 "acceptable, good, very good, 혹은 excellent identification" 만으로 표기된 경우를 동정된 것으로 판정한다.

2. Vitek YBC system

SDA에서 배양된 효모양 진균의 순수집락 3~4개를 0.45% 식염수 1.8 mL에 풀어 Vitek 비색계로 McFarland 표준탁도 2를 맞추어 Vitek YBC에 접종 후 30℃ 배양기에 넣어 24시간 배양한 다음, Vitek 판독기에 넣어 컴퓨터 데이터베이스에 의해 동정한다. 동정이 되지 않으면 30℃ 배양기에서 48시간까지 배양한 후 다시 동정한다. Vitek YBC에서 85% 이하의 확률로 동정된 경우는 재검을 하거나 다른 kit 등으로 동정을 해 보아야 한다. 24시간 내지 48시간이 걸려서 API 20C 보다는 신속하다.

3. MicroScan Rapid Yeast ID system

96 well microdilution plate에 27개의 냉동건조된 기질이 포함된다. 30℃에서 SDA 배지에 48시간 배양한 집락을 골라 접종 용액에 탁도를 McFarland 3.0으로 풀고, well 당 50 µl씩 분주한다. 37℃에서 4시간 항온한 후 nitrophenyl이 붙은 기질에는 0.05 N NaOH를 1방울씩 분주하고, β-naphthylamide 기질이 포함된 well에는 peptidase 시약을 1방울씩 분주한다. 30초 후부터 5분 이

내에 판독한다. 9자리 숫자 코드로 합산하여 컴퓨터 데이터베이스로 동정하는데 가능성이 85% 이상 되어야 동정한다.

4. RapID Yeast Plus System (Inovative)

18가지의 발색 기질을 사용하여 이미 생성된 효소의 반응을 검사해서 임상검체에서 분리되는 효모균을 4시간 만에 동정할 수 있다. 30℃에서 SDA 배지에 48시간 배양한 집락을 골라, 2 mL의 RapID Yeast plus inoculation fluid에 푼다. 이 때 탁도는 Inoculation Card의 검은 선이 완전히 안보일 정도로 진하게 풀어야 한다. 각 균액을 RapID Yeast Plus panel로 분주하여 30℃에서 4시간 항온시킨다. 시약 A와 B를 떨어뜨리고 색깔 변화를 판독하여 판독지에 기록한다. 반응 결과를 합산하여 6자리숫자 코드를 만들고 코드집에서 찾거나 전산 데이터베이스를 통해 동정한다.

5. Murex CA50 (Murex Diagnostics, Norcross, USA)

*C. albicans*의 L-prolineaminopeptidase와 β -galactosaminidase를 p-Nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glactosaminide와 L-Proline- β -naphthylamide를 포함한 디스크를 사용하여 검출하여 *C. albicans*를 신속 동정한다. 디스크를 시험관에 넣은 뒤 10 μ l 증류수로 적신 다음 백금이 가득 효모양 진균의 집락을 따서 디스크에 충분히 바른 후 37℃에서 30분간 둔 후 0.3% sodium hydroxide 시약을 한방울 떨어뜨려 선명한 노란색이 발색되면 양성으로 판정하였다. 그 후 발색제 (0.01% p-dimethylamino-cinnamaldehyde)를 한 방울 떨어뜨려서 1분 내에 분홍색 또는 적색으로 변하면 양성으로 판정한다. 양쪽 모두 양성이면 *C. albicans*로 동정한다.

Kit를 이용한 동정법의 정확도

API 20C system (bioMerieux, Vitek)은 재래식 방법과의 일치율이 약 96%로서 "assimilation testing의 gold standard"로 알려져 있으며 그 외의 상품화된 kit들 또한 다음과 같은 높은 일치율을 보인다. Vitek YBC는 97.2%~99.2%, Baxter Microscan은 85%~92%, Remel Uni-Yeast-Tek는 87%~99%, 그리고 ATB 32C system은 97% 등이다.

Gutierrez 등은 효모균 100주를 대상으로 하였을 때 ATB 32C, AMS-YBC (Vitek system, bioMerieux, Spain) 및 API 20C의 동정율은 97%, 98% 및 100%로서 매우 높다고 하였다. 그러나 최근 Davey 등은 215주의 효모균에 대한 API 20C에 의한 동정율이 88.6%이고 7.4%에서 잘못 동정하였으며 혼치 않는 효모균들에 대한 동정율은 63.1%로서 매우 낮다고 하였다. Dooley 등도 Vitek YBC의 경우 동정율이 균종별로 달라, 흔히 분리되는 균인 *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* 및 *C. parapsilosis*를 대상으로 할 때는 93%의 높은 동정율을 보이나 흔히 분리되지 않은 *C. krusei* 등의 동정율은 55%에 불과하다고 하였다 (Table 1). 또 국내 송 등도 ATB 32C와 API 20C에 의한 동정율이 둘 다 86%이었다고 하였는데, 이러한 차이의 가장 큰 원인은 대상이 된 칸디다의 종류와 균의 확정동정법이 상이하게 달랐기 때문으로 생각된다. 이 등에 의하면 API 20C의 경우 임상검체에서 분리된 효모양 진균의 13.4%가 24시간에, 63.9%가 48시간에 그리고 22.7%가 72시간만에 동정되었고, Vitek YBC (Yeast Biochemical Card, bioMerieux, USA)를 사용할 때는 32%가 24시간만에, 68%가 48시간만에 동정이 가능하였다.

이들보다 더 신속한 동정방법인 MicroScan Rapid Yeast Identification (RYI) system과 RapID Yeast Plus (RYP)의 동정능은 이들과 비슷하게 API 20C와 75.25~95.7%의 일치율을 보인다. RYP는 *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Cryptococcus neoformance*에 대해서는 API 20C와 95.7%의 일치율을 보였고, 드문 칸디다와 기타 효모균에 대해서는 79.1%, 75.2%의 일치율을 보였다 (Table 1). 이는 MicroScan RYI에서도 유사하다. 본 원에서 임상검체 104균주와 표준 균주 6균주 등 총 110균주를 대상으로 평가한 바로는 RYP는 29균주의 *C. albicans*는 100%, 다른 *Candida* spp.는 81.5%를 추가적인 수기법이나 형태학적 검사 없이도 동정할 수 있었다. 특수한 장비가 필요없고, 신속 간편하여 작은 규모의 검사실에서도 적용할 수 있을 것이다.

Murex CA50은 Crist 등에 따르면 발아관 검사와 일치율이 98.7%로 우수하였는데, 국내에서 이 등의 발표에서는 82.4%로 낮았다. 이는 국내에서 첫 사용으로서 CA50의 색깔 판독을 하는데 초기에 위음성 또는 위양성이 있었을 가능성과 발아관 검사시 *C. tropicalis*를 위양성 판독한 데 기인하였다. 따라서 발아관 검사에 비해 CA50이 간편하다고 해도 판독에 경험이 필요하다고 하겠다.

생화학적 반응검사 이외의 동정법

1. 발아관 시험 (Germ tube test)

사람이나 토끼의 혈청을 이용하여 시행한다. 사람의 혈청을 이용한 경우 candida 항체가 있을 가능성을 고려하여 ATCC 표준 균주를 이용한 양성 대조군과 음성 대조를 이용하여 함께 검사하여 검사의 오차를 최소화한다. 발아관은 효모세포로부터 뻗어 나온 사상체의 길이가 세포의 3~4배 정도 되고 세포절반쯤의 넓이가 되면서 기시부에 협착이 없을 때 양성으로 판단하여 *C. albicans*로 보고한다. Microtiter plate를 이용한 상용화된 제품도 판매되고 있음.

2. CHROMagar에 의한 칸디다의 동정

임상검체에서 yeast를 분리하고, 임상적으로 중요한 10여가지의 *Candida species*를 예비동정을 할 수 있는 발색 기질이 들어 있는 배지로 균 접종 후 35℃에서 48시간 배양하여 집락의 색과 모양을 관찰한다. *C. albicans*, *C. tropicalis* 및 *C. krusei*의 동정에 99% 이상 민감도와 예민도를 보인다. 특히 균이 2종류 이상 섞여 있을 때 집락을 순수분리할 때 매우 유용하다. CHROMagar는 1 L당 peptone 10 g, glucose 20 g, agar 15 g, chloramphenicol 0.5 g 및 chromogenic mix 2 g가 들어 있는 배지로서 bacteria는 거의 억제된다.

- ① *C. albicans*: 녹색 (green), 대부분 중등도 크기로서 평탄한 (smooth) 모양이다. 다른 종류의 칸디다 중 초록색을 보이는 집락은 없다.
- ② *C. tropicalis*: 집락은 중등도의 평탄한 모양으로서 청색이나 청회색의 집락을 보인다.
- ③ *C. parapsilosis*: 흰색이 대부분이나 일부에서 연한 분홍색을 보이고 72시간 이상 오래 배양하면 거의 모두 연한 분홍색을 보인다.
- ④ *C. krusei*: 크고 낮게 퍼지는 거친 집락의 모양이 특징적이며 색은 연한 분홍색이다.
- ⑤ *C. glabrata*: 작거나 중등도의 크기로 분홍색 혹은 자주색을 보이고 반짝이는 광택이 있다.

Kit를 이용한 동정시의 주의점

1) 상품화된 동정 제품을 이용할 경우, 동정율은 비교적 높으나 탄수화물 이용능 검사 판독이 애매하거나 검사실간에 재현성이 좋지 않은 단점이 있다고 알려져 있다. 특히 kit를 이용한 동정 과정에서 가장 주요한 검사기술상의 오류는 McFarland 탁도 수치를 정확히 맞추지 않은 것에 기인한다. 따라서 균의 탁도를 눈짐작으로 맞추는 것보다 탁도계 등의 기계를 이용하는 것이 중요하다.

2) API 20Cc에 의한 동정은 24시간, 48시간 및 72시간에 판독할 수 있는데 배양 시간이 증가할수록 일반적으로 동정율이 높아진다. 따라서 대부분 균주에서 24시간만의 판독으로는 불충분하므로 보다 높은 동정률을 얻기 위해서는 48시간 판독을 반드시 시행하고 필요시 72시간 판독도 해야 한다. *C. krusei*는 incomplete ID 되어 보조 검사를 해야만 확인동정할 수 있는 등 보조 검사가 필요한 경우가 많다.

3) Kit를 이용한 동정율은 여기에 발아관 시험이나 cornmeal agar에서의 형태학적 검사 혹은 CHROMagar에서의 집락의 색이나 모양 소견을 추가하면 매우 증가한다. API 20C를 이용할 경우 21.9%의 균에서, Vitek YBC의 경우 12.6%에서 형태학적 확인 등의 추가 검사가 필요하다는 보고가 있다. 따라서 상품화된 kit를 이용하여 동정할 경우 보조적 검사 결과와 비교하여 부합되는지를 살펴보는 것이 중요하다.

4) 이미 생성된 효소를 검출하는 신속한 동정 kit의 경우 배양 온도에 매우 민감하므로 온도를 정확하게 지켜야 한다. 또한 비교적 흔한 효모균의 동정에는 우수하지만, 드문 균종들에 대해서는 API 20C 보다는 성능이 떨어진다. 단, 보조 검사를 하지 않았을 때 확인동정을 할 수 있는 성능이 API 20C나 Vitek YBC 보다 훨씬 뛰어나기 때문에 형태학적 검사, 수기 생화학검사 등을 이용하기 어려운 검사실에 적합하다.

5) Murex CA50과 같이 주로 *C. albicans*를 동정하는 목적으로 개발된 신속 동정법은 수분 내지 30분 정도면 검사할 수 있고, 특별한 기계나 현미경이 필요하지 않은데다 판독이 비교적 용이하여 작은 검사실에서 매우 유용하게 사용될 수 있다. 이들 검사법이 비교적 우수한 결과를 보이지만, 확인검사법이 없는 검사실에서는 정도관리하기가 어렵고, 신뢰할 수 있는 결과를 얻기 위해서는 역시 판독에 경험이 필요하다.

6) CHROMagar는 예비동정을 할 뿐이므로 반드시 확인검사가 필요하다. 같은 종에 속하는 균이라도 집락의 모양과 색깔에 차이가 있을 수 있고, exoenzyme 활성을 측정하는 검사이므로 30℃, 48시간을 엄격히 지켜야 한다.

참 고 문 헌

1. 송경용, 정성두, 김선희, 강봉주, 이세민, 김의량, 조 덕, 김수현, 신종희, 양동욱. *Candida species*의 동정을 위한 ATB 32C system의 평가. 임상병리와 정도관리 1997; 19: 335-343
2. 신종희, 조 덕, 김수현, 양동욱, Nolte FS. 혈액배양에서 CHROMagar *Candida*를 이용한 *Candida species*의 동정. 대한임상병리학회지 1997; 17: 128-136
3. 이선화, 박상훈, 박준석, 김미나, 배직현. *Candida albicans* 예비동정을 위한 Murex *Candida*

- albicans* CA50과 Germ tube test의 비교. 대한임상병리학회지 2000; 20: 76-80
4. 이미애, 이경인, 홍기숙. 효모양 진균 동정을 위한 Vitek YBC와 API 20C AUX의 비교평가. 대한임상병리학회지 1995; 15: 93-100
 5. Crist AE, Dietz TJ, Kampschroer K. Comparison of the MUREX *C. albicans*, Albicans-Sure, and BactiCard Candida Test kits with the germ tube test for presumptive identification of *Candida albicans*. J Clin Microbiol 1996; 34: 2616-2618
 6. Davey KG, Chant PM, Downer CS, Campbell CK, Warnock DW. Evaluation of the AUX-ACOLOR system, a new method of clinical yeast identification. J Clin Pathol 1995; 48: 807-809
 7. Dooley DP, Beckius ML, Jeffrey BS. Misidentification of clinical yeast isolates by using the updated Vitek Yeast Biochemical Card. J Clin Microbiol 1994; 32: 2889-2892
 8. Espinel-Ingroff A, Stockman L, Roberts G, Pincus RD, Pollack J, Marler J. Comparison of RAPID Yeast plus System with API 20C system for identification of common, new, and emerging yeast pathogens. J Clin Pathol 1998; 36: 883-886
 9. Fenn JP, Segal H, Barland B, Denton D, Whisenant J, Chun H, et al. Comparison of updated Vitek Yeast Biochemical Card and API 20C yeast identification systems. J Clin Microbiol 1994; 32: 1184-1187
 10. Gales AC, Pfaller MA, Houston AK, Joly S, Sullivan DJ, Coleman DC, Soll DR. Identification of *Candida dubliniensis* based on temperature and utilization of xylose and alpha-methyl-D-glucoside as determined with the API 20C AUX and Vitex YBC systems. J Clin Microbiol 1999; 37: 3804-3808
 11. Germain GS, Beauchesne D. Evaluation of the MicroScan Rapid Yeast Identification panel. J Clin Microbiol 1991; 29: 2296-2299
 12. Gutierrez J, Martin E, Lozano C, Coronilla J, Nogales C. Evaluation of the ATB 32C, automicrobial system and API 20C using clinical yeast isolates. Ann Biol Clin 1994; 50: 443-446
 13. Larone DH. Medically important Fungi. 3rd ed. Washinton DC: American Society for Microbiology, 1995: 61-89
 14. Moghaddas J, Truant AL, Jordan C, Buckley HR. Evaluation of the RAPID Yeast Plus system for the identification of yeast. Diagn Microbiol Infect Dis 1999; 35: 271-273
 15. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. J Clin Microbiol 1994; 32: 1923-1929
 16. Wadlin JK, Hanko G, Stewart R, Pape J, Nachamkin I. Comparison of three commercial systems for identification of yeast commonly isolated in the clinical microbiology laboratory. J Clin Microbiol 1999; 37: 1967-1970

● 연자 소개 ●

성명 : 김 미 나 (金 美 那)

생년월일 : 1965년 6월 25일

1989년 2월	서울대학교 의과대학 졸업
1998년 2월	서울대학교 대학원 의학박사
1990년 ~ 1994년	서울중앙병원 임상병리과 전공의
1994년 ~ 1995년	서울대학교병원 임상병리과 전임의
1995년 ~ 1996년	University of Oxford Sir William Dunn School of Pathology 연수
1997년 ~ 1999년	서울중앙병원 임상병리과 전임의
1999년 ~ 현재	울산대학교 의과대학 전임강사, 조교수

Workshop 4

Malassezia 균종의 육안 및 현미경적 소견

건국대학교 의과대학 피부과학교실

안 규 중

1996년 Guého 등은 분자 생물학을 기본으로 하여 형태학, 미세구조학 및 생리학을 이용하여 *Malassezia* 속을 7개 균종으로 분류하였다. 즉, 기존에 분류된 *M. pachydermatis* (Weidman) Dodge 1935 및 *M. sympodialis* Simmons & Guého 1990 이외에 표준균종인 *Malassezia furfur* (Robin) Baillon 1889에서 새로 분리 분류된 신균종은 *M. globosa* Midgley, Guého & Guillot 1996, *M. obtusa* Midgley, Guillot & Guého 1996, *M. restricta* Guého, Guillot & Midgley 1996 및 *M. slooffiae* Guillot, Midgley & Guého 1996 등 4개 균종이다.

1987년 영국 Leeds 대학교의 Leeming과 Notman이 정상 피부에서 본 효모균을 배양하는데 가장 적합한 배지를 배합하였다. 이 배지는 glycerol monoesterate, bacteriological peptone, glucose, yeast extract, ox bile, agar No. 1, Tween 60, glycerol, cycloheximide, chloramphenicol 및 초고온 멸균 비탈지 우유를 포함한다. 이후 소개되는 각 균종의 배양 소견은 Leeming과 Notman 배지에서 서의 소견이다.

M. furfur (좁은 범위의 *M. furfur*)는 배양 시 비교적 크고 둔탁하고 부드러운 표면을 가진 융기된 원형 집락을 형성한다. 효모세포는 대부분의 균주에서 원형 또는 타원형으로 비교적 크며, 모세포로부터 넓은 기저면을 형성하면서 낭세포를 형성하지만, 일부 균주는 타원형의 크기가 작은 효모세포를 형성하여, 앞으로 분리 분류될 가능성을 시사한다. 30% H₂O₂를 이용한 Catalase 검사에 양성이고, 0.5% Tween 60이나 0.1% Tween 80을 유일한 지질성분으로 첨가한 glucose/peptone 배지에서도 성장한다.

참고로 *M. furfur*는 Baillon이 1889년에 최초로 명명한 *Malassezia* 속의 표준균종으로 이후 오래 동안 *Malassezia* 속 효모균의 균사상을 총칭하여 왔으며, 1925년 Weidman에 의하여 동물에서 주로 발견되고 지질친화성이지만 비지질의존성인 *Pityrosporum pachydermatis* (후에 1935년 Dodge가 *Malassezia pachydermatis*로 명명)가 분리된 이후에는 사람에서 주로 발견되는 지질의존성 균사상을 칭하여 왔다. 1986년 *Pityrosporum* 속으로 분류하였던 효모상과 통합된 이후에는 균사상과 효모상 모두를 칭하게 되었다. 1990년 Simmons와 Guého가 *M. furfur*로부터 *M. sympodialis*를 분리 분류하고, 1996년 Guého 등이 *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta* 및 *M. slooffiae* 등 4개 균종을 다시 분리 분류하면서 이제 *M. furfur*가 칭하는 균주의 범위는 더욱 축소되었다. Guého 등이 *Malassezia* 속의 균종들을 7개 균으로 구분하면서 그중 한 균을 택하여 *M. furfur*로 한 것은 그들의 연구에 사용되었던 *Pityrosporum ovale*와 *M. furfur*의 신표준균종(neotype species)이 그 균에 속하였기 때문이다. 결국 *M. furfur*는 과거 *Malassezia* 속의 상당부분 즉 지질의존성 균주 모두를 지칭하였으나 재분류로 인하여 그 범위가 축소되어 이제는 일부 분만을 지칭하게 되었다.

*M. pachydermatis*는 배양 시 비교적 작고 부드러운 원형의 크림색 집락을 형성한다. 집락 주

위의 배지는 혼탁해 진다. 현미경적으로 원통형의 소형 효모세포로 넓은 기저면에서 낭세포를 형성한다. 30% H_2O_2 를 이용한 Catalase 검사에 양성이고, 다른 *Malassezia* 균종들과 달리 지방성분을 첨가하지 않은 glucose/peptone 배지에서도 잘 성장하는데, 지방성분이 첨가되면 더 잘 성장한다.

*M. sympodialis*는 1990년 Simmons와 Guého가 *M. furfur*로부터 분리 분류한 균종으로, 배양 시 비교적 크고 광택이 있으며 부드럽고 편평한 표면을 가진 크림색의 부드러운 톱니모양의 원형 집락을 형성한다. 현미경적으로 타원형 또는 원형의 대형 효모세포로 넓이가 모세포보다 작으나 낭세포와는 같은 기저면을 형성하며, 효모세포에 통상적인 반복적 아포형성 (repetitive budding) 이외에 본 균종에 특징적인 sympodial budding을 보인다. 30% H_2O_2 를 이용한 Catalase 검사에 양성이고, 0.5% Tween 60이나 0.1% Tween 80을 유일한 지질성분으로 첨가한 glucose/peptone 배지에서 성장한다. Guého 등은 본 균종이 Tween 20을 유일한 지질성분으로 10%로 첨가할 경우 성장하지 않는다고 하였는데 실제로, Tween 20을 10%로 첨가할 경우는 고형화가 되지 않아 이용에 어려움이 있다.

*M. globosa*는 1996년 Guého 등이 새로 분리 분류한 균종으로 배양 시 비교적 작고 색조가 옅은 융기된 편평하면서 중심부가 돌출된 톱니모양의 원형 집락을 형성하며 집락 주위의 배지는 투명해진다. 일부 균주는 색조가 약간 짙고 융기된 원형 집락을 형성하기도 하여 앞으로 분리 분류될 가능성이 있다. 현미경적으로 원형의 대형 효모세포로 좁은 기저면에서 낭세포를 형성하는데, 일부 낭세포는 길게 자라면서도 기저면은 계속 낭세포보다 좁아져 있는 특징적 양상을 보인다. 30% H_2O_2 를 이용한 Catalase 검사에 양성이고, 0.5% Tween 60이나 0.1% Tween 80을 유일한 지질성분으로 첨가한 glucose/peptone 배지에서 성장하지 않는다. 본 균종은 37℃에서는 잘 성장하지 않는다.

*M. obtusa*는 역시 1996년 Guého 등이 새로 분리 분류한 균종으로 배양 시 비교적 작고 부드러운 편평하며 끈적이는 원형 집락을 형성한다. 현미경적으로 타원형의 대형 효모세포로 넓은 기저면에서 낭세포를 형성한다. 30% H_2O_2 를 이용한 Catalase 검사에 양성이고, 0.5% Tween 60이나 0.1% Tween 80을 유일한 지질성분으로 첨가한 glucose/peptone 배지에서 성장하지 않는다. 본 균종은 보통 37℃에서 잘 성장하여 *M. globosa*와 감별하는데 이용된다.

*M. restricta*는 역시 1996년 Guého 등이 새로 분리 분류한 균종으로 배양 시 비교적 작고 융기된 원형의 둔탁한 백색 집락을 형성한다. 집락 주위의 배지는 혼탁해 지며 간혹 투명층을 형성하기도 한다. 현미경적으로 원형 또는 타원형의 소형 효모세포로 좁은 기저면에서 낭세포를 형성한다. 다른 *Malassezia* 균종들과 달리 30% H_2O_2 를 이용한 Catalase 검사에 유일하게 음성이고 0.5% Tween 60이나 0.1% Tween 80을 유일한 지질성분으로 첨가한 glucose/peptone 배지에서 성장하지 않는다.

*M. slooffiae*는 역시 1996년 Guého 등이 새로 분리 분류한 균종이다. 30% H_2O_2 를 이용한 Catalase 검사에 양성이고, 0.5% Tween 60을 유일한 지질성분으로 첨가한 glucose/peptone 배지에서 성장하지만 0.1% Tween 80을 유일한 지질성분으로 첨가한 glucose/peptone 배지에서는 성장하지 않는다.

참 고 문 헌

1. Leeming JP, Notman FH. Improved methods for isolation and enumeration of *Malassezia furfur* from human skin. J Clin Microbiol 1987; 25: 2017-2019
2. Simmons RB, Guého E. A new species of *Malassezia*. Myco Res 1990; 94: 1146-1149
3. Guého E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. Antonie van Leeuwenhoek 1996; 69: 337-355
4. 안규중. 전풍 병변에서 배양된 *Malassezia* 균종의 분류. 대피지 1997; 35(4): 736-743
5. 안규중. *Malassezia* 속의 계통 분류. 의진균지 1998; 3(2): 81-88

● 연 자 소 개 ●

성 명 : 안 규 중 (安圭重)

생년월일 : 1954년 4월 19일

1978년 2월

서울대학교 의과대학 졸업

1983년 2월

서울대학교병원 피부과 전공의 수료

1984년 8월

서울대학교 대학원 의학박사 취득

1994년 9월 ~ 1995년 8월

리즈대학교 (영국) 의진균학 연수

1987년 3월 ~ 1991년 3월

한림대학교 의과대학 전임강사, 조교수

1991년 4월 ~ 현재

전국대학교 의과대학 조교수, 부교수, 교수

MEMO