

대한의진균학회

제9차 Workshop 초록

● 일 시 : 2012년 11월 24일(토)

● 장 소 : 연세대학교 세브란스 종합관 337호

▶ 주제 : Dermatophytes와 Candida 동정 ◀



주최 : 대한의진균학회
대한피부과학회 피부진균연구회

대한의진균학회

제9차 Workshop 초록

● 일 시 : 2012년 11월 24일(토)

● 장 소 : 연세대학교 세브란스 종합관 337호

▶ 주제 : Dermatophytes와 Candida 동정 ◀



주최 : 대한의진균학회
대한피부과학회 피부진균연구회

대한의진균학회 제9차 Workshop 진행계획표

일 시 : 2012년 11월 24일(토)

장 소 : 연세대학교 세브란스 종합관 337호

주 제 : Dermatophytes와 Candida 동정

13:00 ~ 14:00	등 록	
14:00 ~ 14:10	개회식	회장:유희준 교수 (한양의대)
14:10 ~ 15:30	강 의	좌장:노병인 교수 (관동의대)
	Dermatophytes 동정	
	최종수 교수 (영남의대)
	<i>Candida</i> 의 동정	
	이미경 교수 (중앙의대)
15:30 ~ 15:50	Coffee Break	
15:50 ~ 17:00	조별 실습	

Dermatophytes 동정

영남대학교 의과대학
피부과학 교실
최 종 수

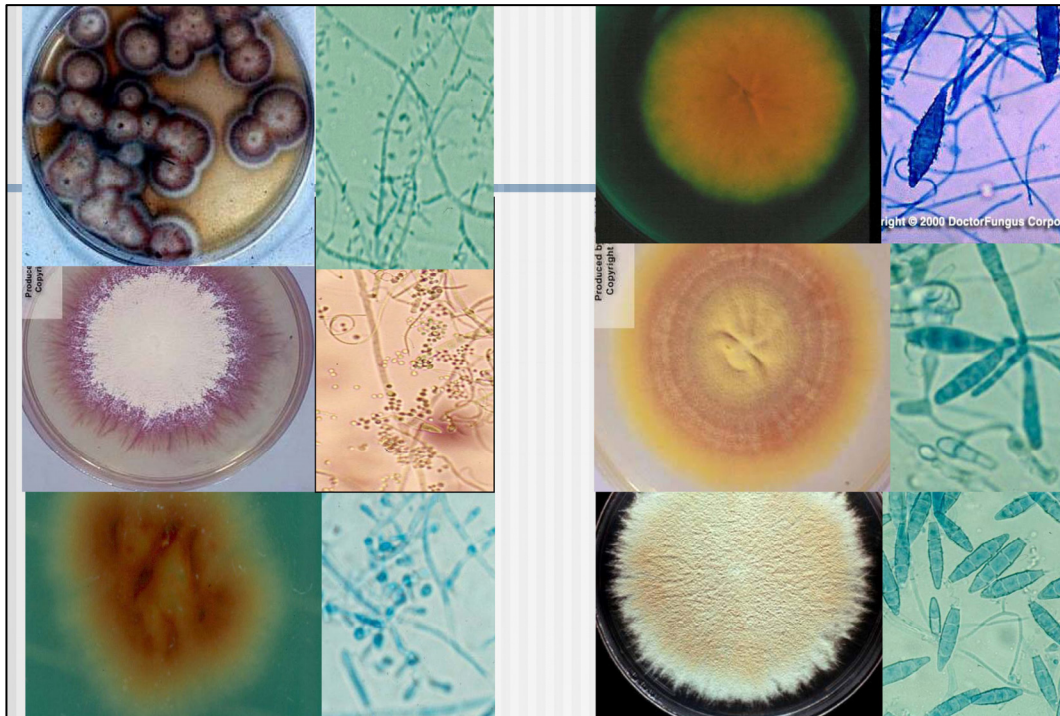
진단은?





진균 동정이 필요한 이유

- ❖ 진단
- ❖ 항진균제의 선택
- ❖ Epidemiology
 - 지역 분포
 - 새로운 균종의 유입
 - 균종의 변화 : 증감, 소멸
 - 감염경로 : 동물 → 사람, 사람 → 사람, 동일 개체 내 이동



Contents

Introduction of mycology

Identification of dermatophytes

Practice

Introduction of mycology

Kingdom of fungus

Eukaryotes

Excretion of enzyme- aspiration

Cell wall : glucan, chitin

10만 종

- 온열동물에 병원균 100종

- 기회감염 -수백종

Terminology

- ❖ Anamorph : 불완전세대형, 무성생식형 asexual form of sporulation
- ❖ Teleomorph : 완전세대형, 유성생식형 sexual form of sporulation.
nuclear recombination
- ❖ Spore: 포자, 흄씨 sexual propagule; general term
- ❖ Conidium(pl. conidia): 분생흄씨, 분생포자, 분생자 asexual propagule
- ❖ Microconidia, macroconidia
- ❖ Chlamidoconidium : 후막포자
- ❖ arthroconidium: 분절포자
- ❖ Hypha (pl. hyphae): 균사 septate, thread-like fungal element
- ❖ Hypha (pl. hyphae) - mycelium (mycelia) 균사체- thallus 염상체- colony 집락

Terminology

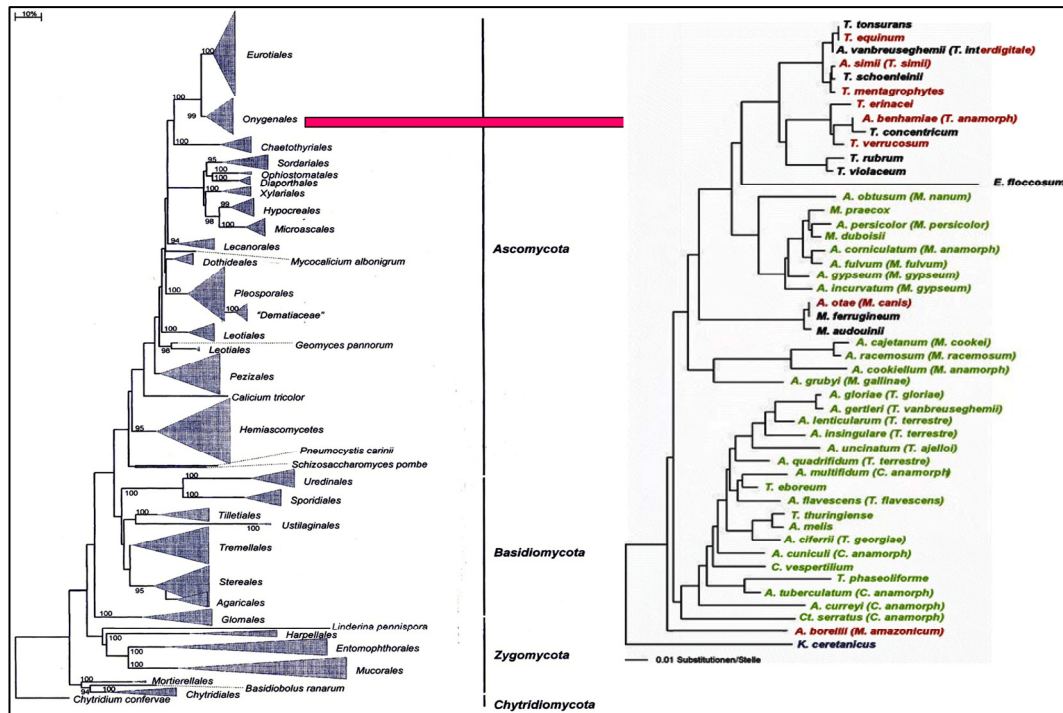
- ❖ Mould (mold) : 사상균 filamentous fungi
- ❖ Yeast : 효모균 unicellular growth form
- ❖ Pseudohypha (pl. Pseudohyphae) : 거짓균사 string of budding cells.
No cytoplasmic connection
- ❖ Dematiaceous : pigmented in olivaceous or brown colours
- ❖ Phaeo- : darkly pigmented
- ❖ Hyalin : colorless
- ❖ Dermatomycosis : 피부곰팡이증
- ❖ Dermatophytosis = tinea :백선. 피부사상균에 의한 피부의 표재성 감염
- ❖ Onychomycosis : 손발톱곰팡이증
- ❖ Tinea unguium : 손발톱백선

Taxonomy of fungus

Class	Hyphae	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

Reproduction

- ❖ Anamorph - asexual stage
- ❖ Teleomorph - sexual spore: ascospore: + or –
- ❖ *T. mentagrophytes*
 - var. *mentagrophytes* *Arthroderma behamie*
 - var. *interdigitale* *Arthroderma vanbreuseghemii*



Dermatophytes

❖ Taxonomy

Ascomycota; Pezizomycotina;
Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae;
Onygenales; Arthrodermataceae

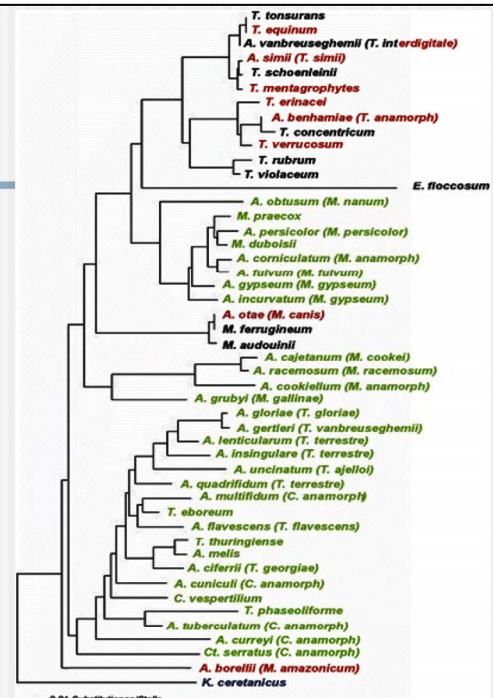
❖ Classification

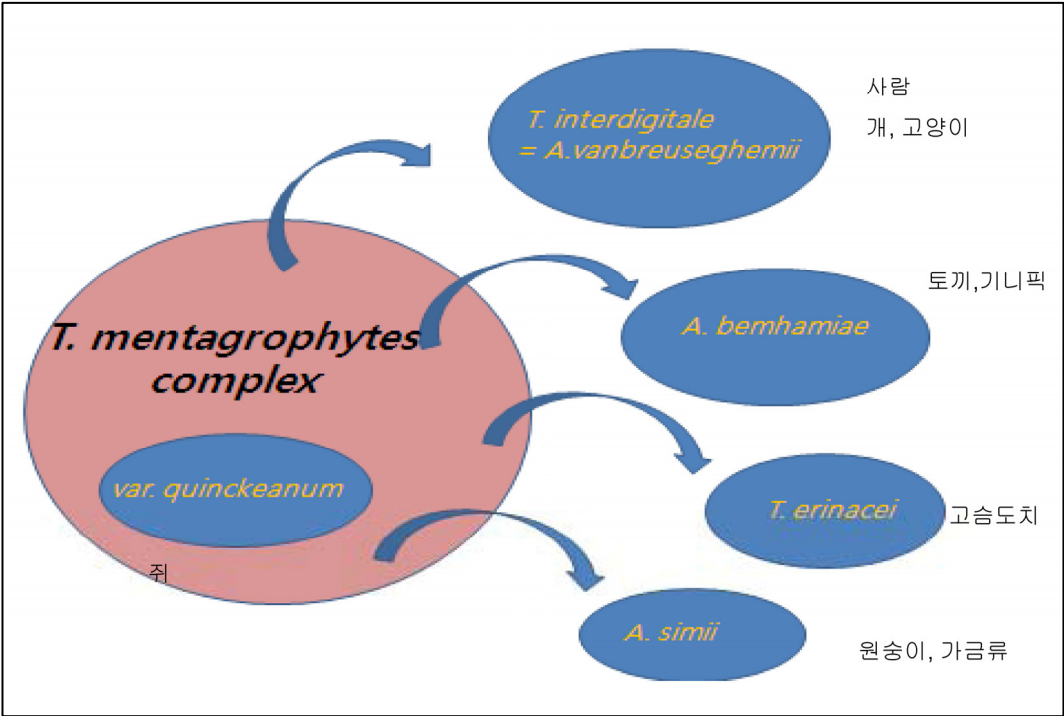
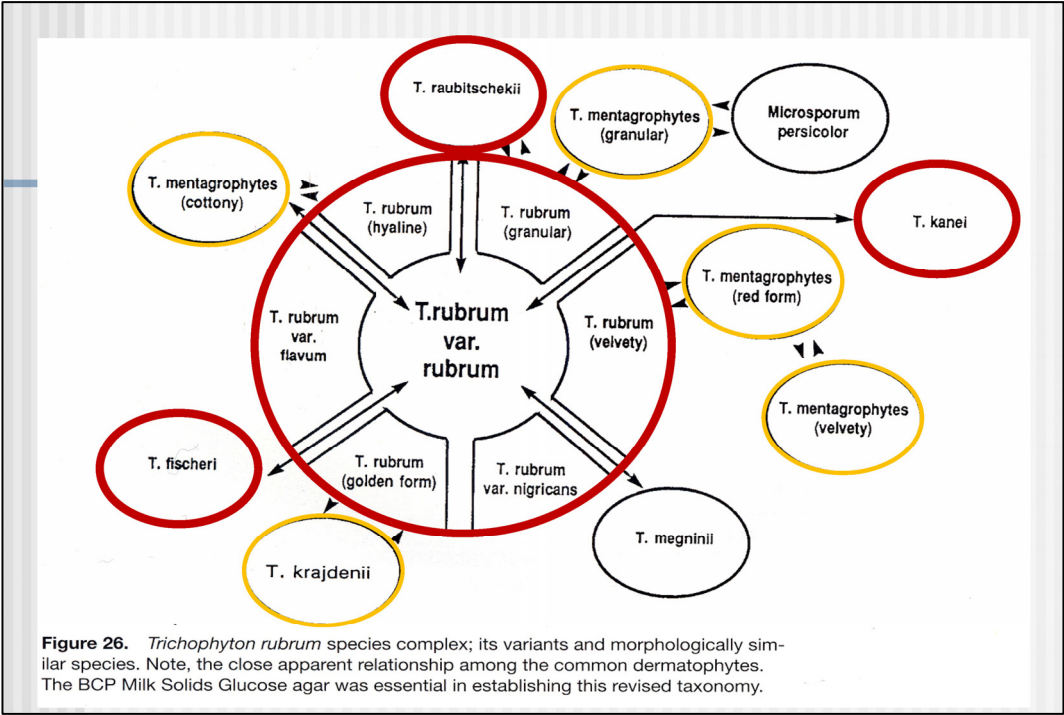
- Anamorph state Teleomorph state
- Trichophyton
- Microsporum Arthroderma
- Epidermophyton

❖ Classification by host

- Anthropophilic (black)
- Zoophilic (red)
- Geophilic (green)

by Graeser Y (2008)





*anthrophilic; #zoophilic.

Current species classification		Former species classification
Teleomorph species relationship	Anamorph species	
<i>Arthroderma vanbreuseghemii</i> Takashio 1973	<i>Trichophyton interdigitale</i> *#	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i> * <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>nodulare</i> * (also <i>Trichophyton knajdenii</i>) <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>goetzii</i> * <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>granulosum</i> #
<i>Arthroderma simii</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> #	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>quinckeanum</i> # (also <i>Trichophyton sarkisovii</i> and <i>Trichophyton langeronii</i>)
<i>Arthroderma benhamiae</i> Ajello and Cheng 1967	<i>Trichophyton</i> sp. # <i>Trichophyton erinacei</i> #	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>granulosum</i> # <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>erinacei</i> #

Nenoff P et al, 2007

우리나라에서 확인된 백선균

서순봉 (1976-1995)

<i>T. rubrum</i>	81.7 %
<i>T. mentagrophytes</i>	5.8 %
<i>M. canis</i>	5.7 %
<i>E. floccosum</i>	1.0 %
<i>T. verrucosum</i>	0.6 %
<i>M. gypseum</i>	0.2 %
<i>M. ferrugineum</i>	0.04%
<i>T. tonsurans</i>	0.03%
<i>T. violaceum</i>	

최근

<i>Trichophyton</i> (T.)
<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i>
<i>T. tonsurans</i> , <i>T. verrucosum</i>
<i>T. erinacei</i>
<i>T. violaceum</i>
<i>T. schoenleinii</i>
<i>Microsporum</i>
<i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i>
<i>M. ferrugineum</i>
<i>Epidermophyton</i>
<i>E. floccosum</i>

진균 동정

❖ 방법

- KOH 도말검사
- 진균배양검사*
- 생리검사
- 면역학적 검사
- 분자생리학적 방법

PDACT 배지

Potato Dextrose Agar-Corn meal-Tween 80

- ❖ 1986년 경북의대 서순봉 교수님이 개발
- ❖ 백선균 동정에 적합하다. (↔ SDA)
 - *T. rubrum* –특유의 붉은 색, KOH/증류수 흡수
 - 분색자를 잘 형성
 - *T. mentagrophytes*의 아형 구분
 - 용모변성 억제
 - *C. albicans* 후막포자 촉진

❖ 조성

Potato dextrose agar (Oxoid)	20g
Corn mel agar (Difco)	20g
Peptone	4g
Tween 80	6ml
증류수	
	1 L

동정

❖ 육안적 관찰

- 성장속도
- 표면과 배면의 성상
- 대부분에서 동정 가능

❖ 현미경적 관찰

- Microconidia - *Trichophyton*
- Macroconidia- *Microsporum*, *Epidermophyton*
- Hyphae

❖ 생리적 검사

- Hair perforation test
- Urease test
- Growth factor requirement

Colony 육안소견

❖ 성장 속도

❖ 색깔 : 표면, 배면

❖ Texture

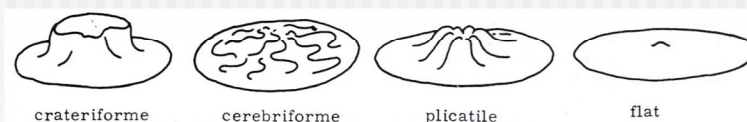
- Smooth, fluffy, granular, suede, velvety

❖ Topography

- Flat, raised, heaped

❖ Pattern of folding

- Cerebriform, craterform



현미경 소견

❖ Hyphae

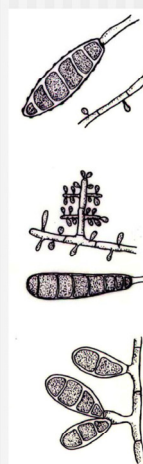
- Septation
- Pattern : spiral, raquet, chandelier, nodular body
- Pigmentation
- Vesicles or swollen cells

❖ Conidium (conidia)

- asexual reproduction ↔ spore
- Macroconidia
Surface, number of septum, shape, wall thickness, size
- Microconidia
Shape, group , 균사에 부착 양상

Dermatophytes

	Macroconidia	Microconidia	Involved
<i>Microsporum</i> spp.	numerous spindle-shaped thick walled spiny surface	numerous	skin, hair
<i>Trichophyton</i> spp.	rare pencil or fusiform thin walled smooth surface	Numerous 균에 따라 특징적	skin, hair, nail
<i>Epidermophyton</i> spp.	numerous boat-shaped thick or thin walled smooth surface	not produced	skin, nail



Contents

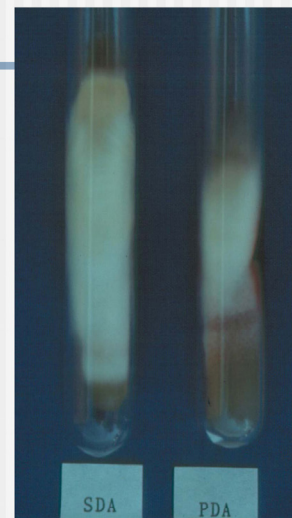
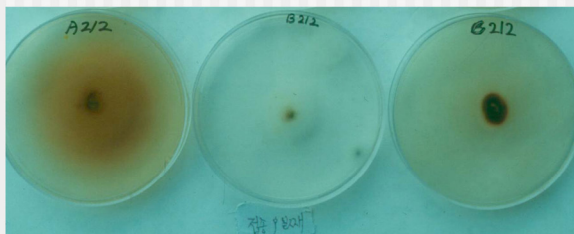
Classification of fungi

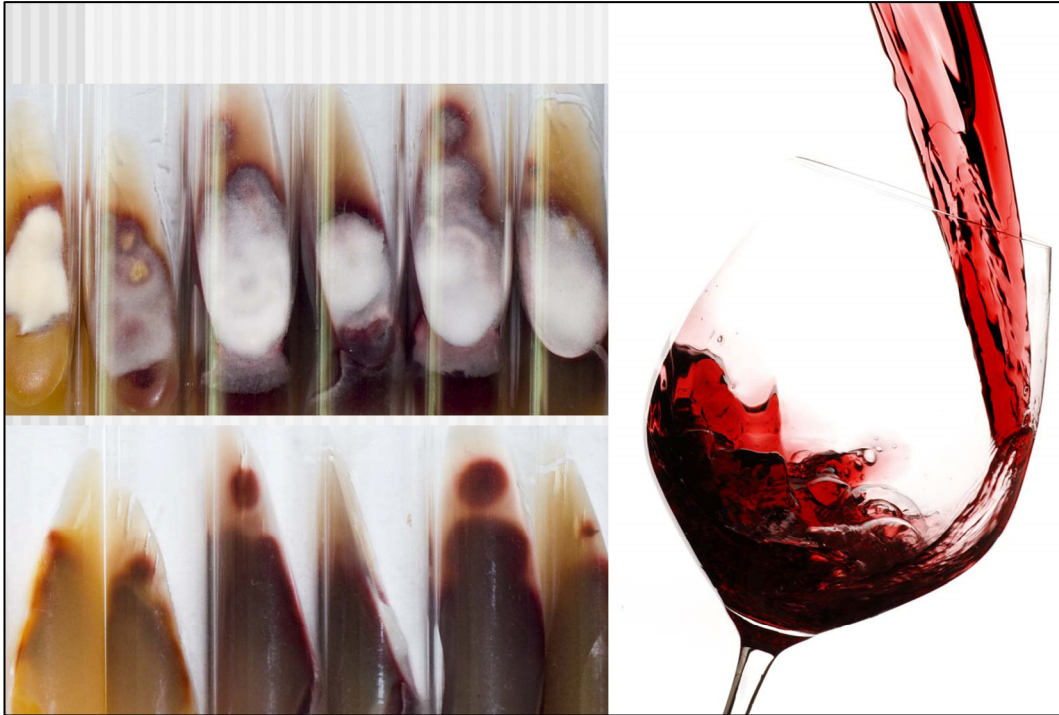
Identification of dermatophytes

Practice

T. rubrum

- ❖ 성장속도 : slow 14일
- ❖ Colony 형태
 - 표면 : fluffy, white to buff
 - 배면 : 붉은 포도주색 > brown, yellow, no-color
 - 예외 : 오염, 나쁜 배지

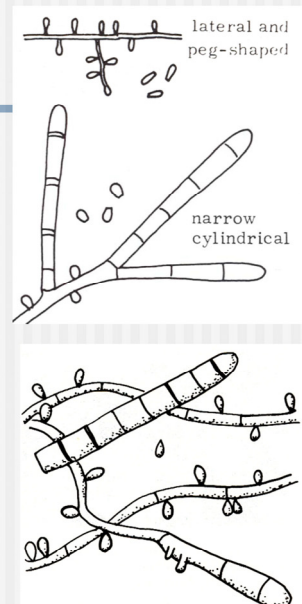


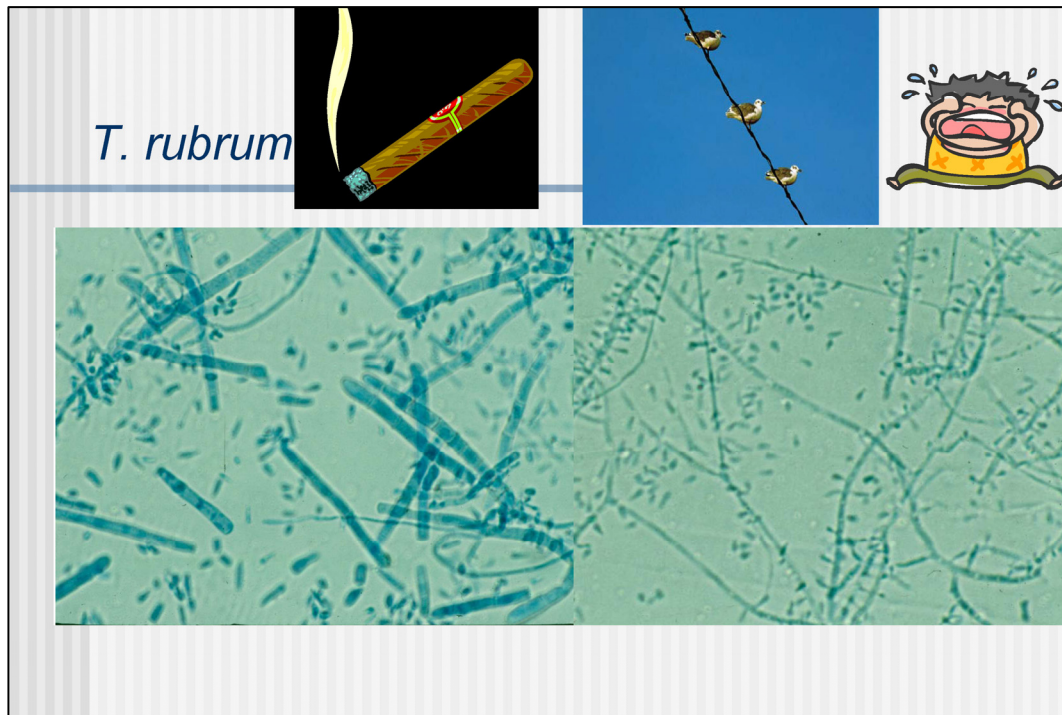


T. rubrum

❖ 현미경 소견

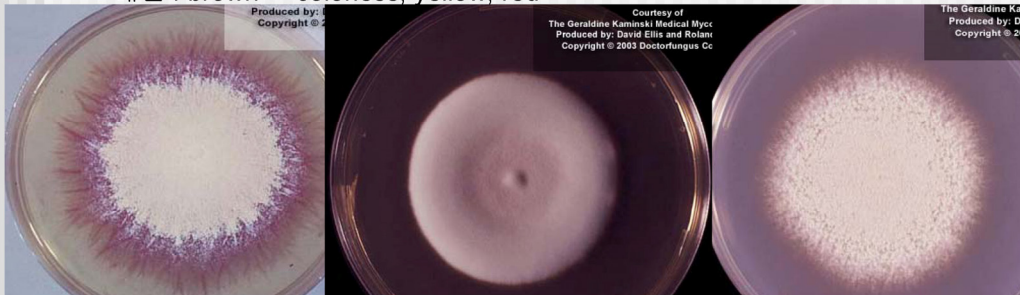
- Microconidia
 - Numerous to rare
 - Solitary along hyphae
 - tear-shaped
- Macroconidia
 - rare; pencil-shaped





T. mentagrophytes (T.interdigitale)

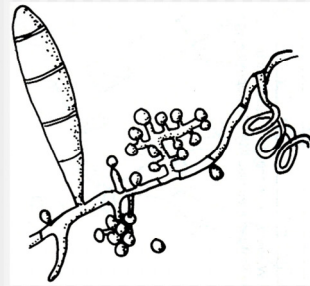
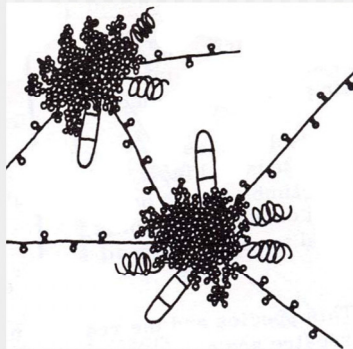
- ❖ 성장속도 : moderate, 7-10일
- ❖ Colony 형태 : 매우 다양
 - zoophilic-과립형(granular)
 - anthropophilic –융모형(downy), 분말형(powdery), 복숭아색형(persicolor)
 - Powdery form : Radial or concentric fold
 - 배면 : brown > colorless, yellow, red



T. mentagrophytes (T.interdigitale)

❖ 현미경 소견

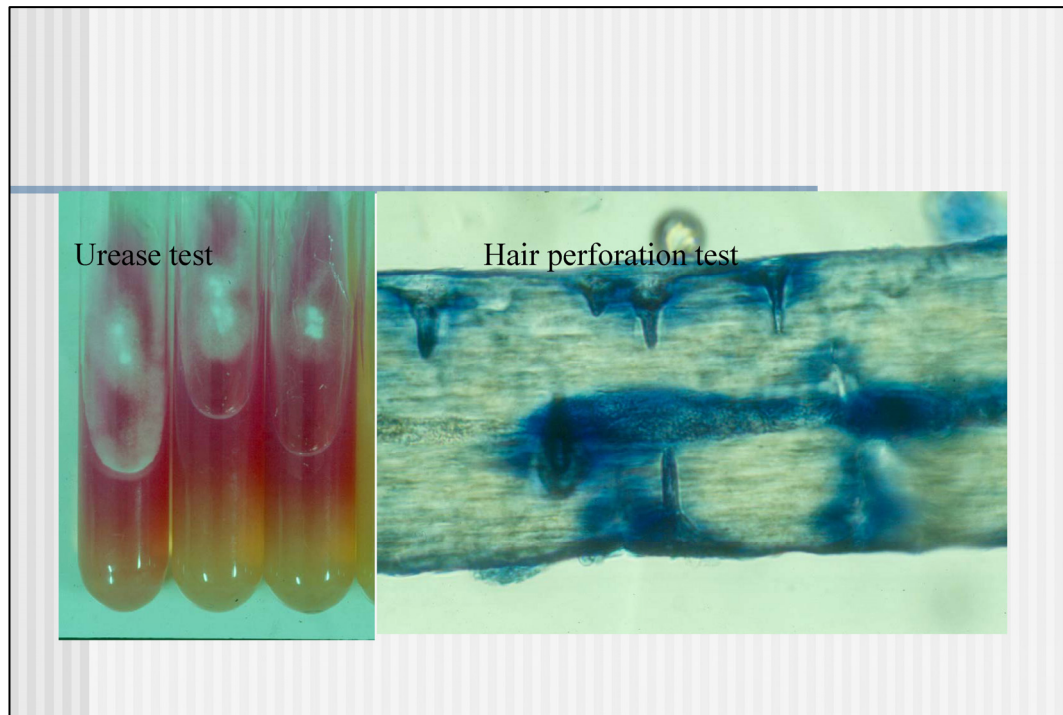
- Microconidia : very round, clustered
- Coiled spiral hyphae
- Macroconidia : 가끔, thin walled



T. mentagrophytes

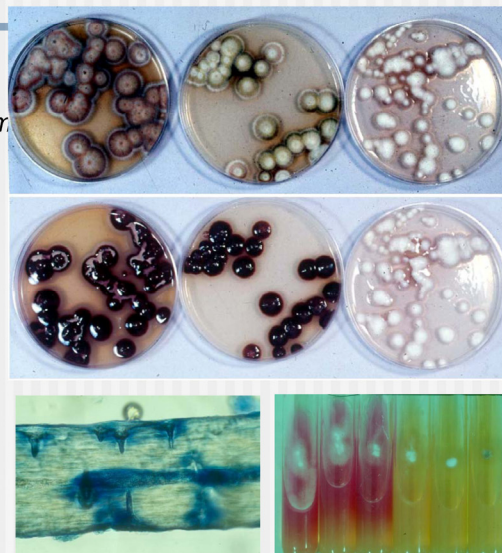






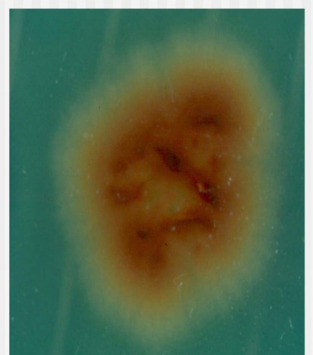
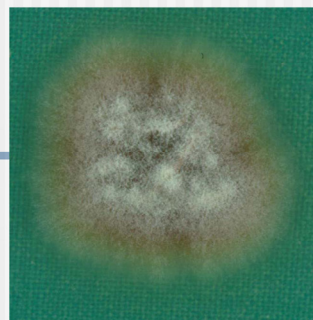
T. rubrum vs *T. mentagrophytes*

- ❖ PDACT
 - 붉은 포도주색
 - KOH 또는 증류수를 흡수 : *T. rubrum*
- ❖ 현미경 소견
 - coiled hyphae,
 - clustered microconidia
- ❖ Hair perforation test :
 - *T. mentagrophytes* : 양성
- ❖ Urease test
 - *T. mentagrophytes* : 양성
 - Bacterially contaminated *T. rubrum*
 - *T. raubischekii*



T. tonsurans

- ❖ 성장속도 : moderately slow, 12일
- ❖ Colony 형태
 - Sulfureum 형 : 황색조
 - Mahogany-red 형 : 처음에는 선홍색 반점, 이후 회색 분말, 탁한 붉은 색으로 변한다.
 - 배면 : Mahogany-red



T. tonsurans



Mahogany red-brown

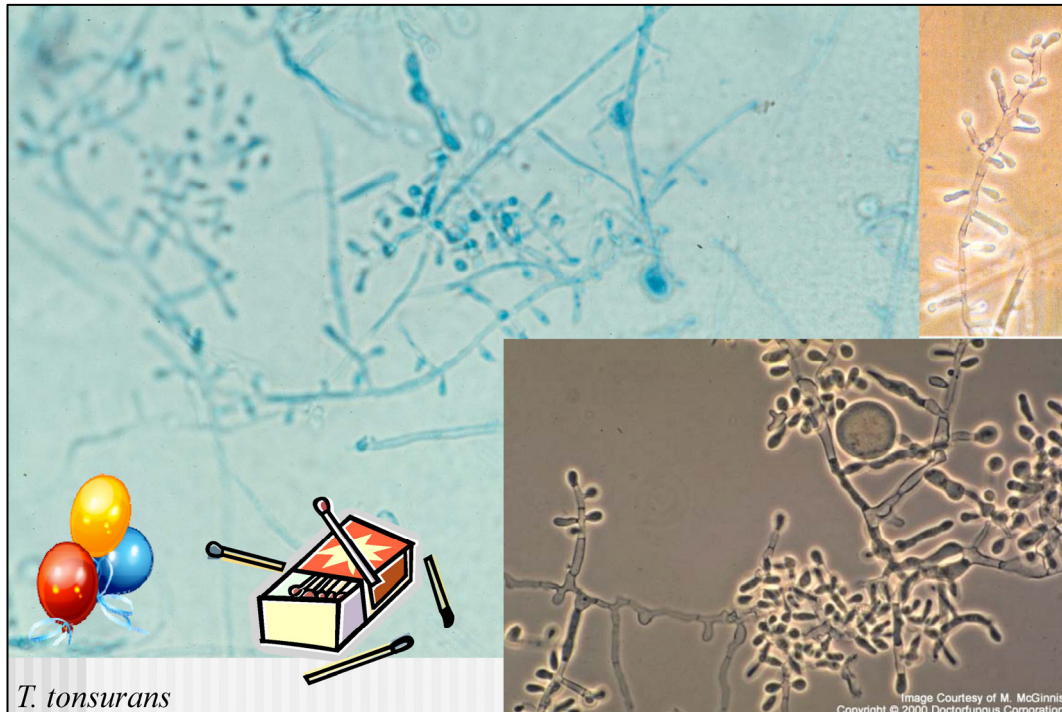
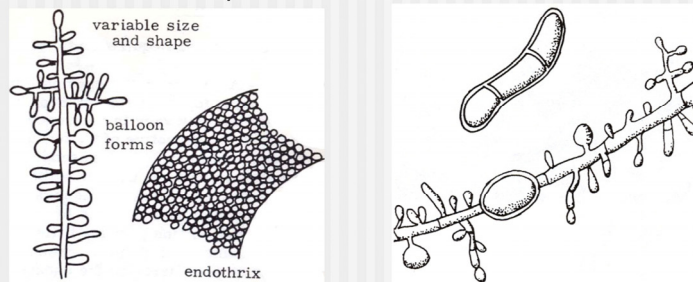
var. sulfureum

T. tonsurans

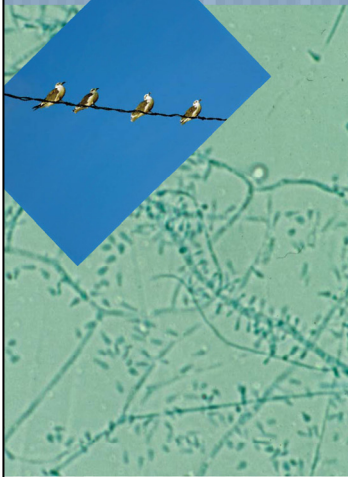
❖ 현미경 소견

- Microdonidia : diagnostic
Variable: tear drop, 곤봉, 성냥알, **balloon forms**
Conidiophore : perpendicular to hyphae
- May spiral coils

❖ Physiologic test : thiamine dependent



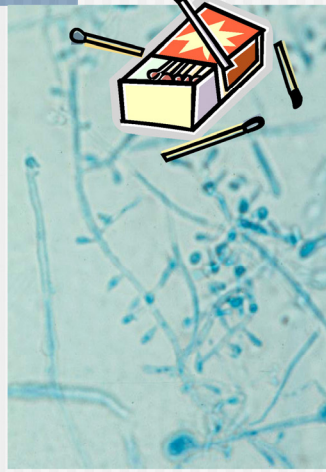
Trichophyton



T. rubrum



T. mentagrophytes



T. tonsurans

T. verrucosum

- ❖ 성장속도 : **very slow**; 21-30일
 - 37도에서 더 잘 자란다
- ❖ Colony 형태
 - Small, heaped, button-like > flat
 - Texture : glabrous > downy
 - White → gray or yellow
 - 배면 : various



T. verrucosum

- ❖ 현미경 소견
 - 염주상의 후막포자 (chlamydoconidia in chain)
 - Macroconidia : 쥐꼬리 모양

- ❖ Physiologic test : Thiamin, inositol 필요

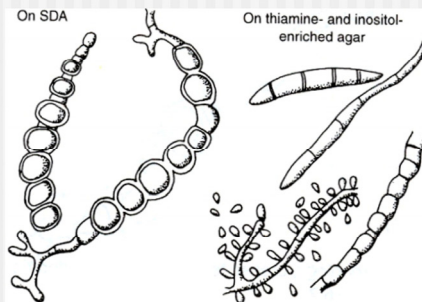
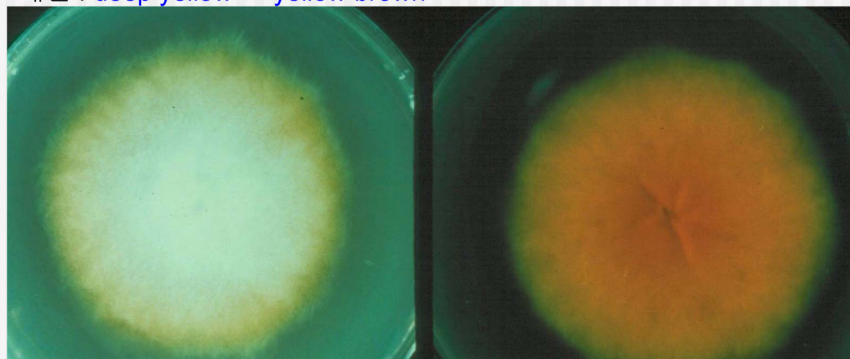


Image Courts
Copyright © 2000 Doctorfungii

M. canis

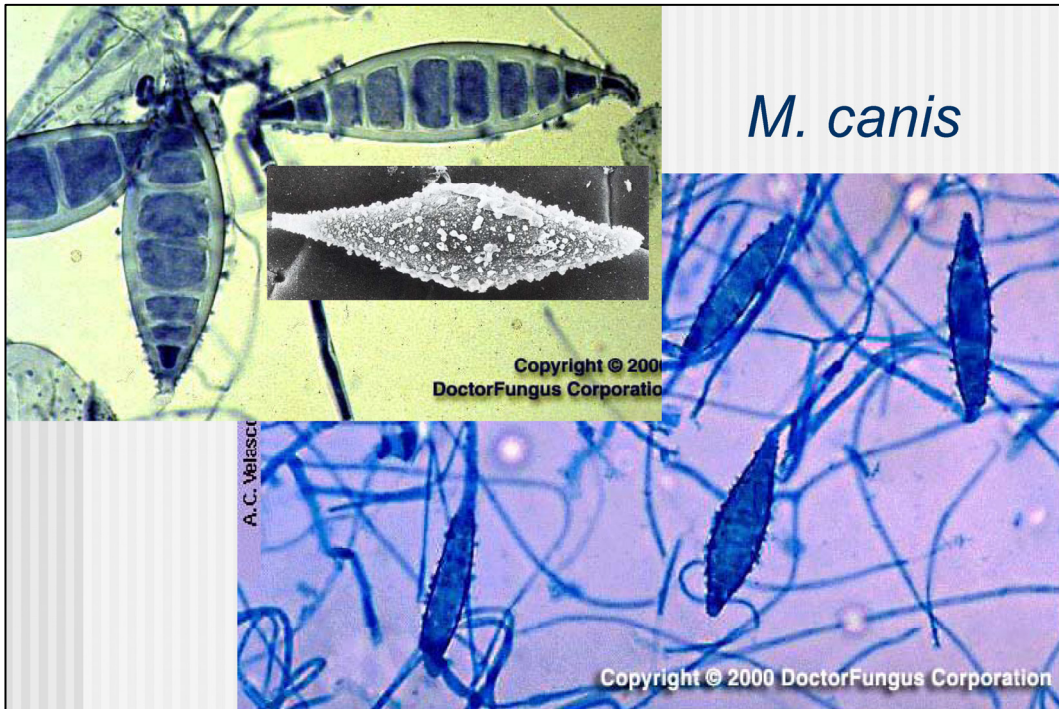
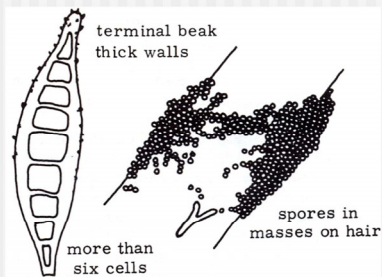
- ❖ 성장속도 : moderate, 6-10일 이내
- ❖ Colony 형태
 - 표면: whitish, fluffy, 방사상 주름
 - 가장자리 : 균사가 방사선상으로 퍼져나간다.
 - 배면 : deep yellow → yellow brown



M. canis

❖ 현미경 소견

- **Macroconidia** : 풍부하다. 특징적
 - Long, spindle shaped, **rough, thick walled**
 - 손잡이(knob) 같은 끝.
 - **6개 이상의 세포**
- Microconidia : a few



M. gypseum

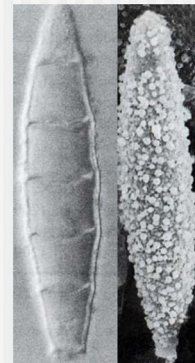
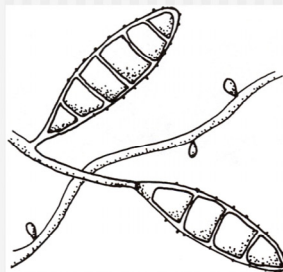
- ❖ 성장속도 : moderate to rapid, 6일 이내
- ❖ Colony 형태
 - 표면: flat, spreading, powdery to granular
 - Buff → tan to cinnamon brown, **곰가루색갈**
 - 배면: variable

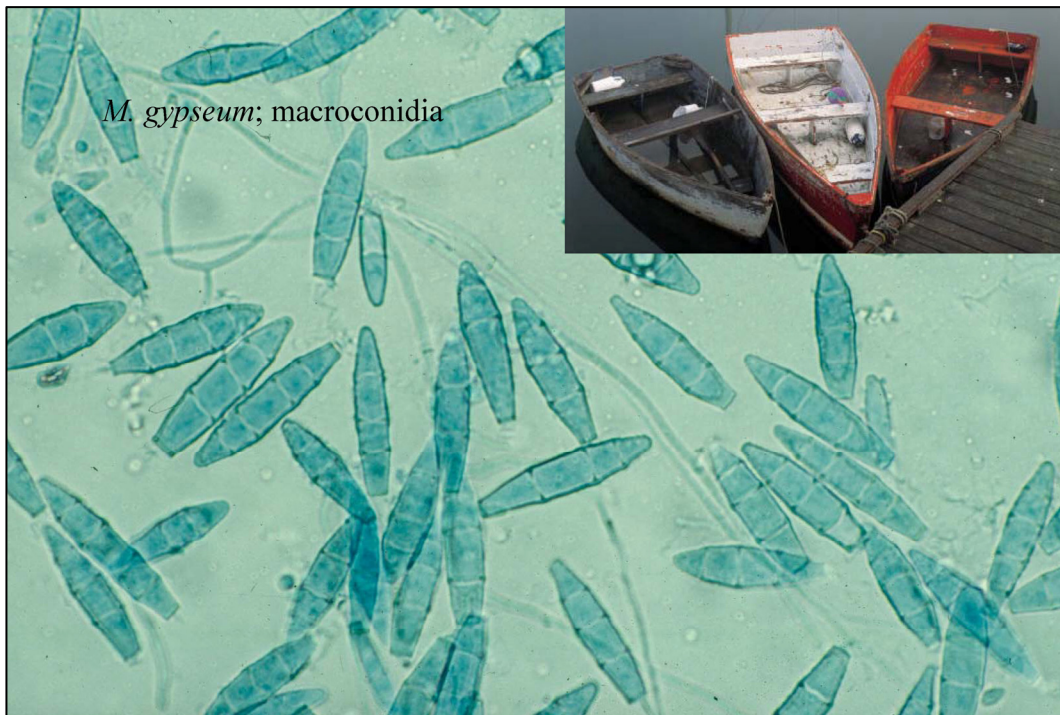


Copyright

M. gypseum 현미경 소견

- **Macroconidia**: 매우 풍부, 특징적
 - Symmetric, rough, **thin walled**, **6개 이내의 세포**
 - 끝부분 : **rounded** ↔ pointed *M. canis*
- Microconidia : usually





E. floccosum

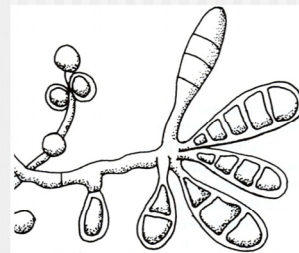
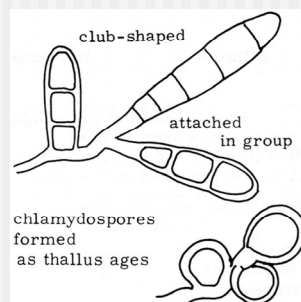
- ❖ 성장속도 : moderately slow, 15일 이내
- ❖ Colony 형태
 - 표면: brownish yellow to olive gray or khaki
 - Lumpy and sparse
-> folded, radial groove. velvety
 - 수주 후 fluffy
 - 배면 : orange to brownish,
가끔 yellow border
 - Pleomorphism이 잘 생긴다.

Courtesy of
The Geraldine Kaminski Museum
Produced by: David Ellis
Copyright © 2003 Doct...

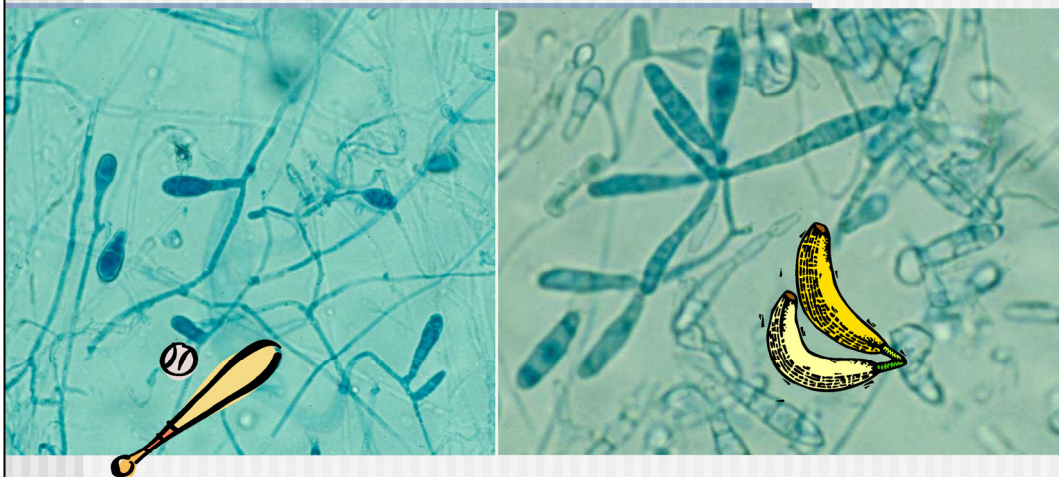
E. floccosum

❖ 현미경 소견

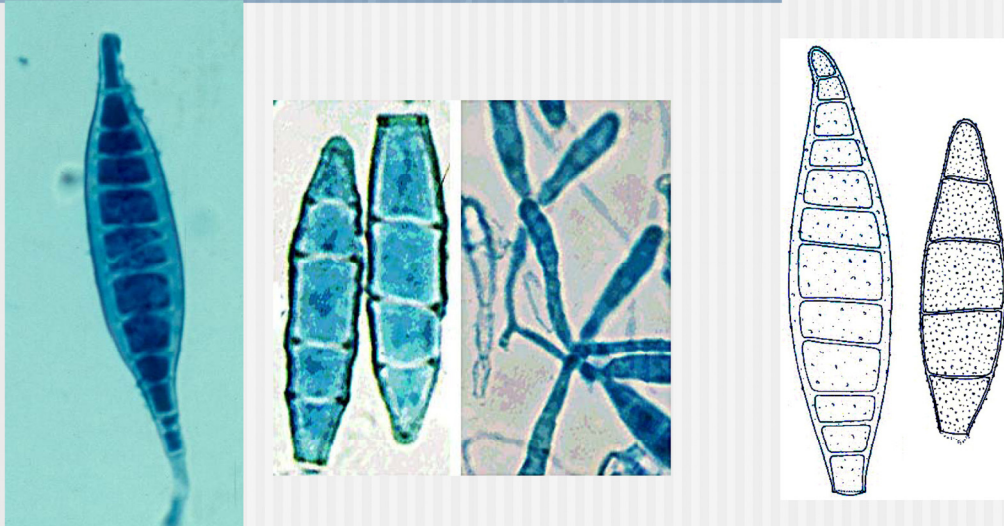
- **Macroconidia:**
 - 배양 초기에 발견된다.
 - Smooth, thin walled, club shaped, round ends
 - 2-6 세포; single or clusters
- **Microconidia : no**



E. floccosum; 현미경 소견



Macroconidia

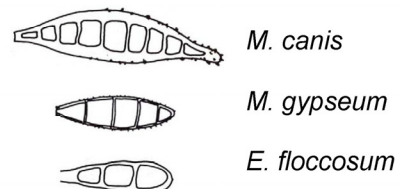


요약

Colony 색깔

포도주색: *T. rubrum*
 황금색: *M. canis*
 카키색: *E. floccosum*
 신나몬: *M. gypseum*

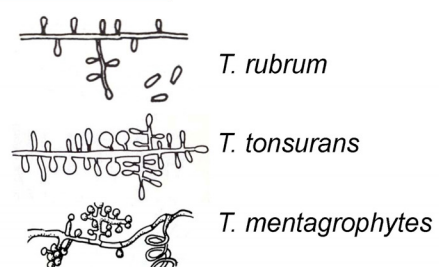
Macroconidia

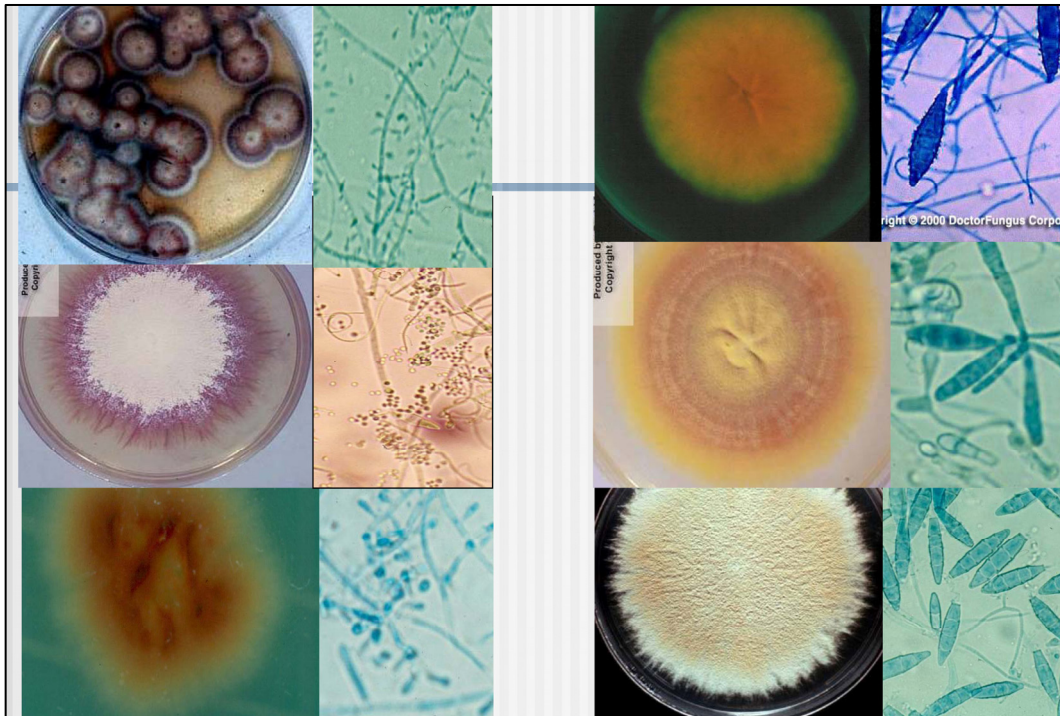


성장 속도

빠르다 *M. gypseum*, *M. canis*
T. mentagrophytes
 늦다 *E. floccosum*, *T. tonsurans*
T. rubrum
 매우 늦다 *T. verrucosum*, *T. violaceum*
M. ferrugineum, *T. schoenleinii*

Microconidia





Tip

- ❖ 배지 PDACT
 - *T. rubrum* 동정에 유리
- ❖ 따서 현미경으로 본다
- ❖ Primary culture가 중요
- ❖ Wine red & cottony
 - *T. rubrum* >>> *T. mentagrophytes*
- ❖ Granular
 - *T. mentagrophytes* vs *M. gypseum*
- ❖ Clinical information 참조

Clinical information

- ❖ Site
 - 발 : *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*
 - 얼굴, 두피 : *M. canis*, *T. tonsurans*
- ❖ Animal 접촉
 - 고양이, 개 : *M. canis*, *T. mentagrophytes*
 - 소 : *T. verrucosum*
 - 고슴도치 : *T. erinacei*
- ❖ 운동선수 ; *T. tonsurans*
- ❖ 외국인, 외국여행

Next step

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ❖ 90% ❖ 10% : <ul style="list-style-type: none"> • Atypical strain • Rare species • First species in Korea • New species in the world ❖ 전문적인 동정 <ul style="list-style-type: none"> • Special medias, physiologic test • Sequencing • Mating test | <ul style="list-style-type: none"> ❖ 균 보관 <ul style="list-style-type: none"> • 역사적 자료 • 시간에 따른 변화 • Epidemiology • Taxonomy • 자산 ❖ 한국의진균자원센터 <ul style="list-style-type: none"> • 무료보관 • ykkim3245@konyang.ac.kr |
|---|--|

Contents

Classification of fungi
Identification of dermatophytes
Practice

검체 채취

- 가장 중요
- Aseptic technique을 사용한다.
- 잘 씻는다.
- 살아 있는 균이 있는 곳을 선택한다.
환상병소의 가장자리, 조갑 및 모발의 근위부
- 많은 양을 채취

배지

- ❖ 피부과
 - PDACT
- ❖ 일반용도
 - Sabouraud dextrose agar(SDA), Mycosel agar : 잘 자란다, spore ↓
 - Potato dextrose agar (PDA) : conidiation 촉진
 - Cornmeal with Tween 80 : conidiation 촉진, *T. rubrum*의 붉은 색
 - Dermatophyte test medium (DTM) : phenol red : yellow → red
- ❖ 특수 용도
 - Christensen urea agar
 - Trichophyton agar #1 - #7 (Difco)
 - Takashio medium (Diluted Sabouraud medium) : 교배용

배지 만들 때의 주의 사항 = 라면

- ❖ 신선한 재료를 사용한다.
- ❖ 너무 오래 끓이지 않는다.
- ❖ 사면 배지 - 충분한 양을 넣고, 사면을 넓게 확보 (1:2)
- ❖ 김을 충분히 뺀다
 - 지나친 물기는 **contamination**의 원인이 된다.
- ❖ 항생제와 cycloheximide
 - 배지가 충분히 식은 후 (60℃) 첨가한다

보관 방법

- ❖ 1주 이내에 사용한다. 3주가 지나면 폐기한다.
- ❖ 마르지 않도록 밀봉하여 4℃에서 보관

검체 접종, 배양

❖ 접종

- tube를 2개 이상 사용한다. 또는 접종 면을 3등분하여
- 배지 표면에 넓게 퍼 바른다.
- 배지 속으로 깊게 묻히거나 접촉이 안된 상태를 피한다.
- Aseptic - Alcohol lamp 위에서 모든 과정을 시행한다.
- Cycloheximide 넣은 것과 없는 2가지 배지를 사용한다.

❖ 배양

- 25℃와 37℃에서 배양한다.
- 충분한 기간

Contamination을 줄이는 방법

- ❖ 여러 병소에서 동시에 채취하여 배양
- ❖ 여러 개의 tube에 배양
- ❖ mite 제거 -나프탈렌
- ❖ 오염된 배지를 사용하지 않는다.
- ❖ 배지를 만들 때 물기를 충분히 말려서 보관
- ❖ 평판배지 보다는 tube를 사용한다.
- ❖ 검사실 환경을 깨끗하게
- ❖ Cycloheximide, 항생제 등을 첨가한 배지 사용
- ❖ 칼 소독
- ❖ 병변을 알코올로 소독한 후 가검물을 채취

Pathogen vs contaminant

- ❖ 여러 병소에서 동시에 채취하여 배양
- ❖ 여러 개의 tube에 동시에 배양
- ❖ 시간 간격을 두고 여러 번 배양
- ❖ 반복하여 검출이 되면 **pathogen**으로 판단한다.
- ❖ 검체를 채취한 부위를 고려한다.

False negative (배양이 안되는 경우)

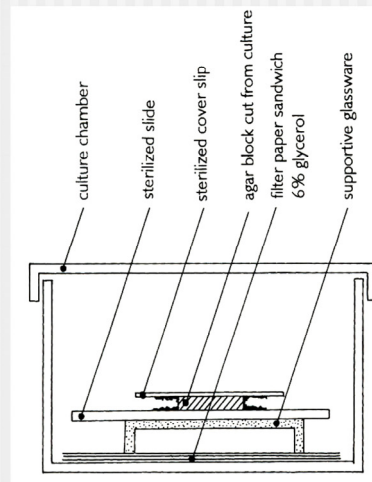
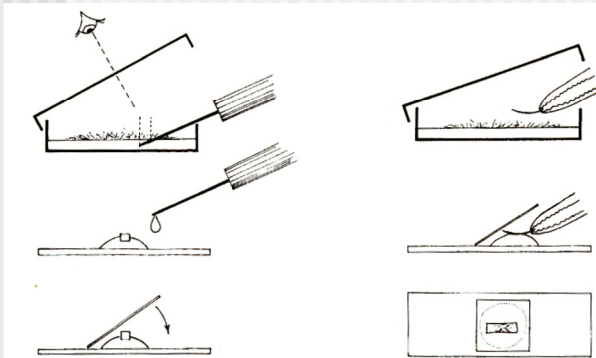
- ❖ 접종한 균이 적을 때
- ❖ 죽은 균, 항진균제 치료 중
- ❖ 접종을 잘못된 경우 배지 접촉 안됨, 뜨거운 칼
- ❖ 나쁜 배지
 - 오래된 배지, 조성이 잘못, 배지선택 잘못
- ❖ 마개를 꼭 막아 질식
- ❖ 온도가 맞지 않을 때 : 고온, 저온
- ❖ **contamination**
 - 백선균이 자라기 전에 배지 전체를 덮는다.
- ❖ 세균에 오염



Microscopic examination

❖ Prepatation

- Hook
- Cellophan tape
- Slide culture



Colony에서 채취부위

- ❖ 가장자리 : hyphae
- ❖ Center : Old conidia, degeneration
- ❖ 중간 : young conidia
- ❖ Cottony 부위 : conidia 거의 없다.



Mount 및 염색

- ❖ Water
- ❖ Lactic acid
- ❖ Cotton blue
- ❖ Lactophenol cotton blue
- ❖ 메니큐어로 가장자리 밀봉하면 장기간 유지할 수 있다.

Primary culture



Figure 9. The primary inoculated media were overgrown by molds. The scatter plate method yielded molds and small colonies of *T. rubrum*.



Figure 10. The primary isolation grew *Scopulariopsis brevicaulis*. Scraping scattered on SABCCG agar, also allowed the growth of a few colonies of *T. rubrum*.

- 여러 균종이 혼합되어 있거나 오염될 가능성- **Pure culture**
- 동정에 도움이 되는 특징적인 형태를 갖고 있다.
- 계대 배양을 할 수록 특징적인 소견을 잃는다-장기안전보존

진균의 장기 안전 보존

- ❖ 계대배양
 - 저영양 배지, 16-17 °C
 - 손이 많이 간다, 오염 및 변이 가능성
 - *E. floccosum*, *T. rubrum*
- ❖ 물보존
 - 평판배지에 키운 후 잘라서 멸균증류수에 넣고 밀봉, 실온 보관
- ❖ 오일보존
 - 사면 배지에 배양 후 멸균한 mineral oil을 채워서 실온 보관
- ❖ 초저온 냉동고 보존
 - 글리세롤 또는 DMSO에 넣은 후 영하 80 °C에 보관
- ❖ 액체질소 보존 : 가장 이상적
- ❖ 동결건조
 - 탈지유에 넣어 동결 건조 후 진공상태로 밀봉

❶ 연자 소개 ❶

성명 : 최종수(崔宗壽)

1979년

연세의대 졸업

1983년

피부과학 전문의 취득

1983년 ~ 현재

영남대학교 피부과학교실 교수

1988년

의학박사 취득

1990년 ~ 1991년

미국 University of California San Francisco 분교 연수

1997년 ~ 1998년

미국 Center for Disease Control & Prevention 연수

2008년 ~ 2009년

네덜란드 CBS Fungal Biodiversity Centre 연수

2012. 11. 24

***Candida*의 동정**

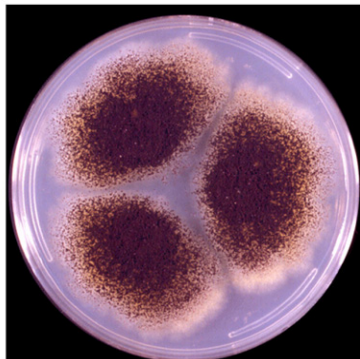
중앙의대 진단검사의학과
이 미 경

1. Introduction of fungal infection
2. Epidemiology of fungal infection
3. Identification of *Candida* spp.
4. Prevention and control

Fungus : Properties

- 자연계에 널리 분포
- Eukaryotic organism (진핵 생물)
 - 핵막에 의해 둘러싸인 핵과 소기관을 갖는다
- Cell wall (세포벽)
- 엽록소(-)
 - 종속 영양체
- Mycology = myco (fungus) + logy (study)

Mold (사상균)



A. niger

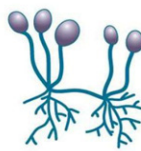
Yeast (효모균)



C. albicans



버섯

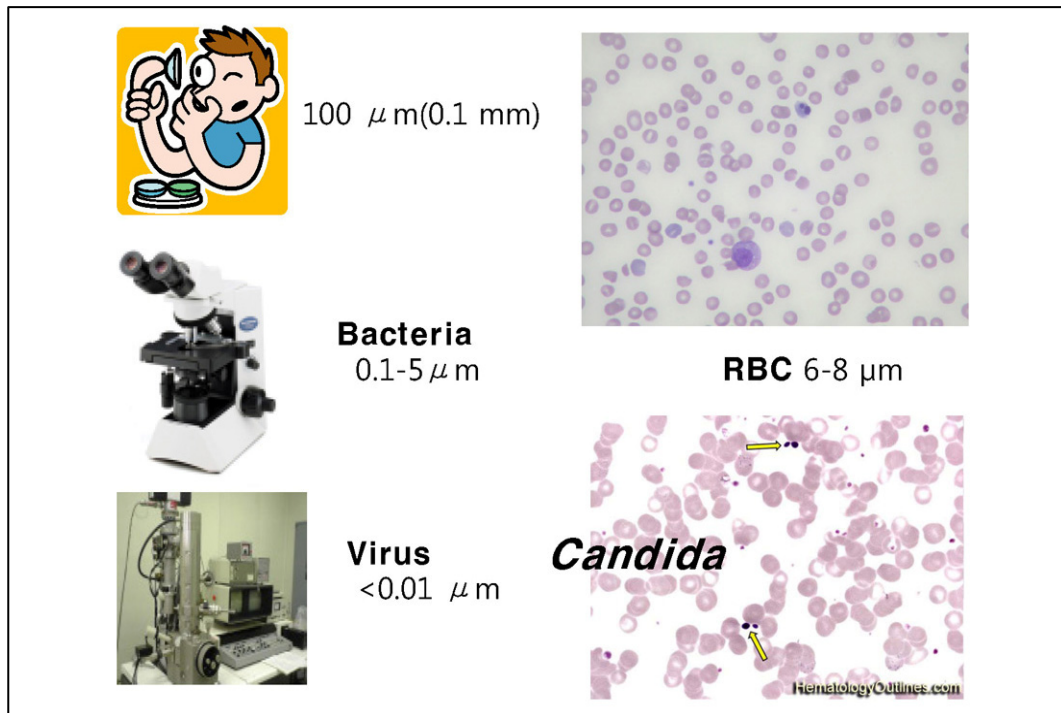


사상균(mold)



효모균(yeast)

진균의 세 가지 형태학적 분류. 사상균과 효모균은 미생물로서 원래 크기보다 훨씬 크게 그린 것임.



● Fungal infections

- (1) Healthcare-associated (HAI, nosocomial)
: opportunistic mycoses
- (2) Community acquired
: opportunistic + endemic mycoses

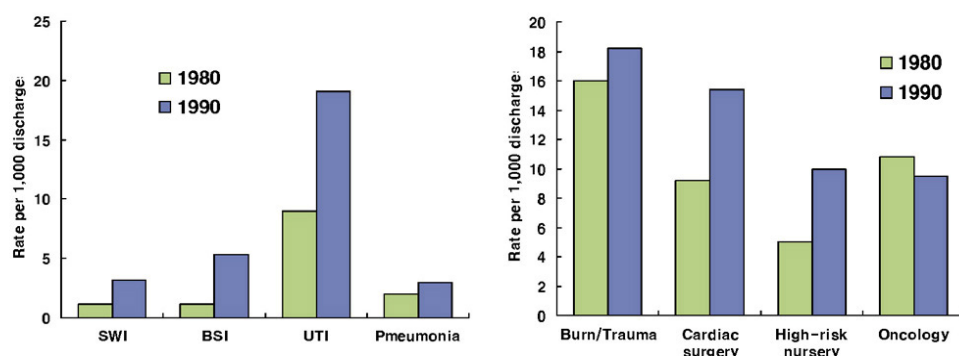
● Incidence of fungal infections ↑

- Immunocompromised pt. ↑
(cancer, AIDS, large burn)
- Aging population ↑
- Use of new & aggressive therapeutic strategies (Antibiotics, ChemoTx, Transplantation)

Nosocomial fungal infections

CDC NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance) System

: Rate of nosocomial fungal infections
2(1980) → 3.8(1990)/1000 discharges



● Epidemiology of sepsis

- 1979–2000: 207% ↑
- 24,170 nosocomial bloodstream infection (1995–2002, 49-centers)
- : 4th leading cause

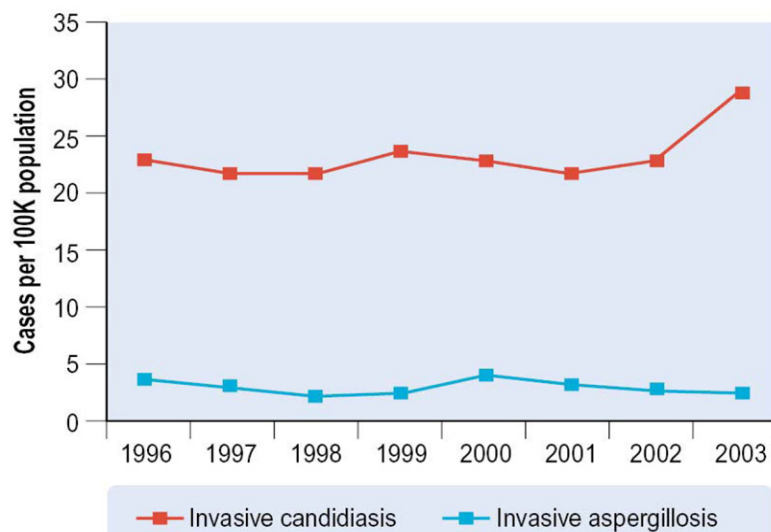
1. Coagulase-negative staphylococci	31.3%
2. <i>S. aureus</i>	20.2%
3. <i>Enterococcus</i> spp.	9.4%
4. <i>Candida</i> spp.	9.0%
5. <i>E. coli</i>	5.6%
6. <i>Klebsiella</i> spp.	4.8%
7. <i>P. aeruginosa</i>	4.3%
8. <i>Enterobacter</i> spp.	3.9%
9. <i>Serratia</i> spp.	1.7%
10. <i>A. baumannii</i>	1.3%

Pathogens (1980–1990)

Fungal pathogen	Estimated %
<i>Candida albicans</i>	61
<i>Candida glabrata</i>	8
Other <i>Candida</i> spp.	19
<i>Aspergillus</i> spp.	1
Other	11
Yeasts (<i>Malassezia</i> & <i>Trichosporon</i> spp.)	
Zygomycetes (<i>Rhizopus</i> & <i>Mucor</i> spp.)	
Hyalohyphomycetes (<i>Fusarium</i> & <i>Acremonium</i> spp.)	
Phaeohyphomycetes (<i>Alternaria</i> , <i>Bipolaris</i> , & <i>Curvularia</i> spp.)	

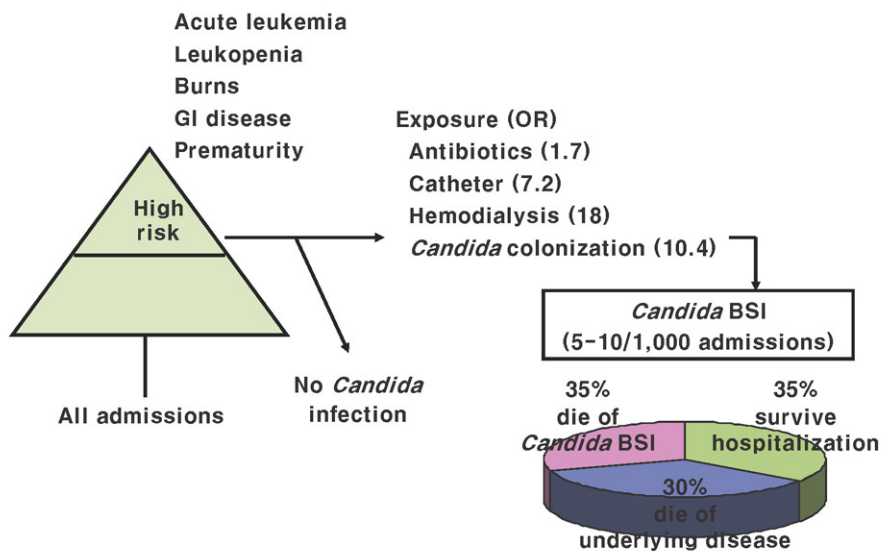
Species distribution of *Candida* from cases of invasive candidiasis (Pfaller, JCM 2005;43:5848)

Species	% of total No. of cases					
	97–98	1999	2000	2001	2002	2003
<i>C. albicans</i>	73.3	69.8	68.1	65.4	61.4	62.3
<i>C. glabrata</i>	11.0	9.7	9.5	11.1	10.7	12.0
<i>C. tropicalis</i>	4.6	5.3	7.2	7.5	7.4	7.5
<i>C. parapsilosis</i>	4.2	4.9	5.6	6.9	6.6	7.3
<i>C. krusei</i>	1.7	2.2	3.2	2.5	2.6	2.7
Others						
Total No.	22,533	20,998	11,698	21,804	24,680	33,002

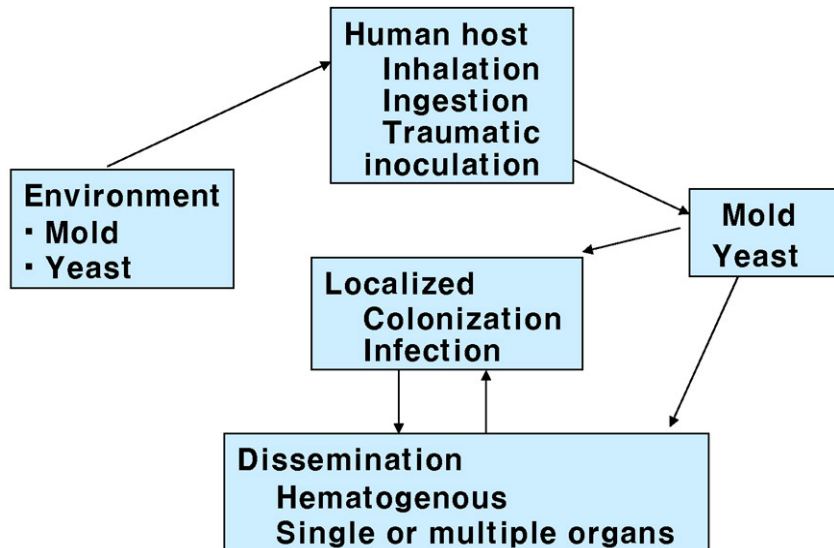


Incidence of invasive candidiasis and invasive aspergillosis in the United States, from NHDS, 1996–2003. Data reproduced from Pfaller and Diekema.

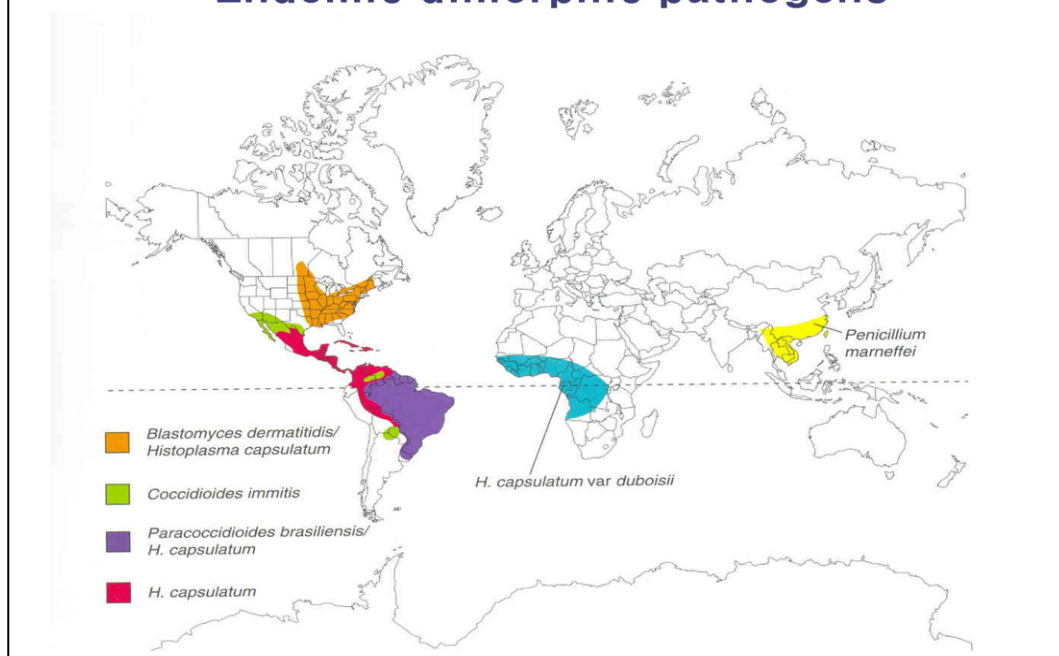
HA candidemia



Community-acquired fungal infections

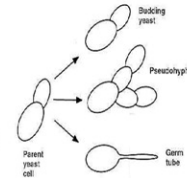


Endemic dimorphic pathogens



Description of Yeasts

- Unicellular, eukaryotic, budding cells
- Reproduction: budding (blastoconidia)
 - ⇒ pseudohyphae
- Shape: generally round to oval
(less often, elongate or irregular)
- Colonies: smooth & glabrous
usually white to cream colored
- Identification
 - : macroscopic & microscopic features
 - + biochemical tests + ...



Yeasts

- Genus *Blastoschizomyces*
- ✓ Genus *Candida*
- Genus *Clavispora*
- ✓ Genus *Cryptococcus*
- Genus *Dabaryomyces*
- Genus *Dipodascus*
- ✓ Genus *Malassezia*
- Genus *Pichia*
- Genus *Rhodotorula*
- Genus *Saccharomyces*
- Genus *Sporobolomyces*
- ✓ Genus *Trichosporon*

Selection of clinical specimens for recovery of yeasts

	<i>Candida</i> spp.	<i>C. neoformans</i>	<i>Malassezia</i> spp.	<i>Trichosporon</i> spp.
Blood	○	○	○	○
Brain & CSF	○	○		
Bone marrow	○	○		
Catheter	○		○	○
Eye	○	○		
Respiratory sites	○	○		○
Skin, mucous memb.	○	○	○	○
Urine	○	○		○
Mul. systemic sites	○	○		○

In the genus *Candida*

(Almost 200 species)

Anamorph(무성생식)

Teleomorph(유성생식)

● <i>C. albicans</i>	None
● <i>C. glabrata</i>	None
● <i>C. tropicalis</i>	None
● <i>C. parapsilosis</i>	None
● <i>C. krusei</i>	<i>Issatchenkia orientalis</i>
● <i>C. guilliermondii</i>	<i>Pichia guilliermondii</i> , <i>P. ohmeri</i>
● <i>C. lusitaniae</i>	<i>Clavispora lusitaniae</i>
● <i>C. dubliniensis</i>	

Isolation of *Candida* spp.

- Significant
 - : Blood, CSF, pleural,
peritoneal & ascitic fluid
- Often significant
 - : Urine
- Seldom significant
 - : Sputum, stool

List of *Candida* species

● Species commonly implicated in human infections

- | | |
|--------------------------|----------------------------|
| ▪ <i>C. albicans</i> | ▪ <i>C. guilliermondii</i> |
| ▪ <i>C. glabrata</i> | ▪ <i>C. krusei</i> |
| ▪ <i>C. parapsilosis</i> | ▪ <i>C. lusitaniae</i> |
| ▪ <i>C. tropicalis</i> | |

● Species uncommonly implicated in human infections

- | | |
|--------------------------|-------------------------|
| ▪ <i>C. dubliniensis</i> | ▪ <i>C. kefyr</i> |
| ▪ <i>C. famata</i> | ▪ <i>C. lipolytica</i> |
| ▪ <i>C. haemulonii</i> | ▪ <i>C. pelliculosa</i> |
| ▪ <i>C. inconspicua</i> | ▪ <i>C. utilis</i> |

Species distribution of *Candida* and other yeast isolates by year in South Korea

Organism	2001		2002		2003		2004		2005		2006		2007	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Candida</i> spp.														
<i>C. albicans</i>	426	93.42	588	89.36	914	86.64	687	81.40	473	70.28	766	68.09	671	78.60
<i>C. glabrata</i>	5	1.10	15	2.28	29	2.75	39	4.62	41	6.09	48	4.27	40	4.70
<i>C. tropicalis</i>	8	1.75	26	3.95	38	3.60	36	4.27	49	7.28	81	7.20	33	3.90
<i>C. parapsilosis</i>	8	1.75	22	3.34	57	5.40	58	6.87	41	6.09	74	6.58	40	4.70
<i>C. guilliermondii</i>	1	0.22			6	0.57	2	0.24	2	0.30	7	0.62	2	0.20
<i>C. krusei</i>			2	0.30	3	0.28	2	0.24	4	0.59	7	0.62	1	0.10
<i>C. lusitanae</i>							3	0.36	2	0.30	3	0.27	3	0.40
<i>C. pelliculosa</i>			1	0.15	2	0.19	2	0.24	4	0.59				
<i>C. famata</i>	2	0.44											1	0.10
<i>C. dubliniensis</i>											2	0.18		
<i>C. haemulonii</i>											1	0.09		
Other <i>Candida</i> spp.			2	0.30							3	0.27		
<i>C. neoformans</i>					1	0.09	3	0.36	17	2.53	10	0.89	4	0.50
<i>Trichosporon</i> spp.														
<i>T. beigeli/cutaneum</i>	6	1.32	1	0.15					2	0.30	3	0.27		
<i>T. asahii</i>							1	0.12			1	0.09	1	0.10
<i>T. inkin</i>											1	0.09		
<i>T. mucoides</i>											1	0.09		
Other <i>Trichosporon</i> spp.							5	0.59			2	0.18	2	0.20
<i>Rhodotorula</i> spp.							1	0.12	1	0.15	1	0.09		
<i>Saccharomyces</i> spp.							1	0.12			3	0.27		
<i>Pichia</i> spp.									1	0.15	6	0.53		
Other yeasts			1	0.15	5	0.47	4	0.47	36	5.35	105	9.33	56	6.60
Total	456		658		1,055		844		673		1,125		854	

Korean J Lab Med 2010;30:364-372

Candida spp. can be found as commensals

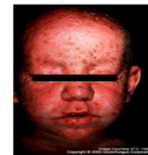
- GI tract
- Vagina & urethra
- Skin
- Fingernails

Prevalence of *Candida* spp. in the mouth

- Infants 5%
- Middle aged 40%
- AIDS 80%
- Terminal Cancer 80%

***Candida* infections : diverse**

- Oropharyngeal infection
- Esophagitis
- Lower GI infection
- Vulvovaginal infection
- Infections of the skin & nails
- Cutaneous congenital candidiasis
- Chronic mucocutaneous candidiasis
- UTI
- Pneumonia, Endocarditis, pericarditis
- CNS infection
- Ocular infection
- Bone & joint infection
- Hematogenous infection



Routes of transmission of *Candida* spp.

- **Patient him or herself:** predominant source
 - GI tract
 - ↓ overgrowth of No. of yeast
 - ↓ loss of the integrity of the GI mucosa
 - Bloodstream
 - IV catheter, Respiratory tr, GU tr
- **Exogenous transmission**
 - contaminated materials (IV catheter, pressure-monitoring devices)
 - staff → pts, pts → pts
 - ; burn, geriatric, hematology, intensive care, transplantation unit
- **Neonates:** from the maternal vagina
hands of the hospital personnel

Laboratory Dx of invasive fungal infections

Conventional microbiologic

1. Direct microscopy (Gram,...)
2. Culture
3. Identification
4. Susceptibility testing

Histopathologic

1. Conventional microscopy (H&E PAS,...)
2. Direct immunofluorescence
3. In situ hybridization

Immunologic

1. Cryptococcal Ag test
2. Histoplasma Ag test
3. Galactomannan test
4. Mannan test



Biochemical

1. Metabolites (D-arabinitol)
2. Cell wall components

Molecular

1. Direct detection
2. Identification
3. Strain typing

Direct exam. of specimens

: Stain (Gram, calcofluor white,...)
KOH, India ink prep.

- size & shape
- morphology of the bud attachment site
- number of buds
- presence or absence of a capsule
- thickness of the cell wall
- presence of pseudohyphae
- presence of arthroconidia

Potassium hydroxide (KOH)

- Wet mount prepared in a 10 to 30% KOH
- To distinguish fungi in mucoid secretions or in skin, hair, or nail
- Gentle warming ⇨ speed
- Dimethyl sulfoxide ⇨ to facilitate clearing
- Bubbles: confused with yeast cells
- Round & oval objects lacking buds
: erroneously identified as yeasts
- Cotton swab: resemble hyphae ⇨ no use
- Calcofluor white stain

Identification of *Candida*

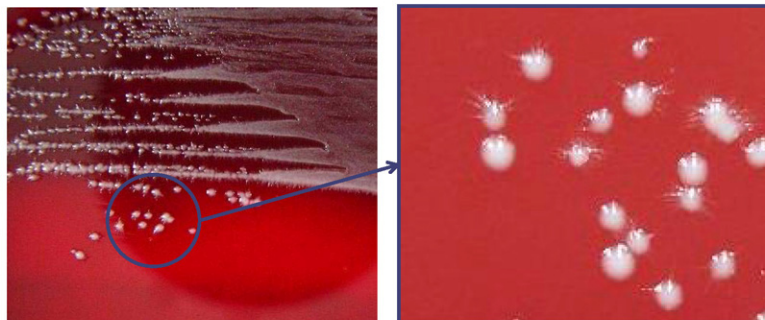
- Macroscopic characteristics
- Microscopic characteristics
- Germ tube test
- Chromogenic agars
- Commercially available kits
: automated & semiautomated systems

Macroscopic characteristics

- Most yeasts grow well on common media
 - exception: *Malassezia* spp.
- 30°C (yeasts to grow at 37°C)
- Usually detected in 48–72 hr
- Colony
 - if mucoid ⇒ *C. neoformans*?
(heavily encapsulated yeasts give a very moist, mucoid appearance)
 - if not mucoid ⇒ *Candida* spp.?
 - spiking on BAP ⇒ *C. albicans*

• Spiking on BAP

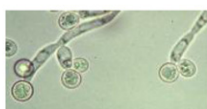
: Colonial morphology of *C. albicans*
known as ‘spiking’ on a BAP in 5% CO₂
after 24 h incubation



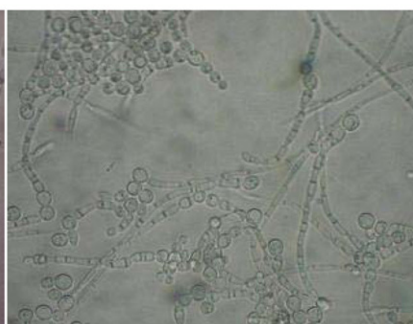
Microscopic characteristics

Organism	Pseudohyphae	True hyphae	Blastoconidia	Arthroconidia	Annelloconidia	Chlamydospores	Ascospores
<i>B. capitatus</i>	○	○	○		○		
<i>C. albicans/C. dubliniensis</i>	○	○	○			○	
Other <i>Candida</i> spp.	○	○	○				○
<i>Cryptococcus</i> spp.			○				
<i>Geotrichum</i> spp.		○		○			
<i>Pichia</i> spp.	○		○				○
<i>Rhodotorula</i> spp.			○				
<i>Saccharomyces</i> spp.	○		○				○
<i>Trichosporon</i> spp.	○	○	○	○			

Cornmeal tween 80 agar : Chlamydospore



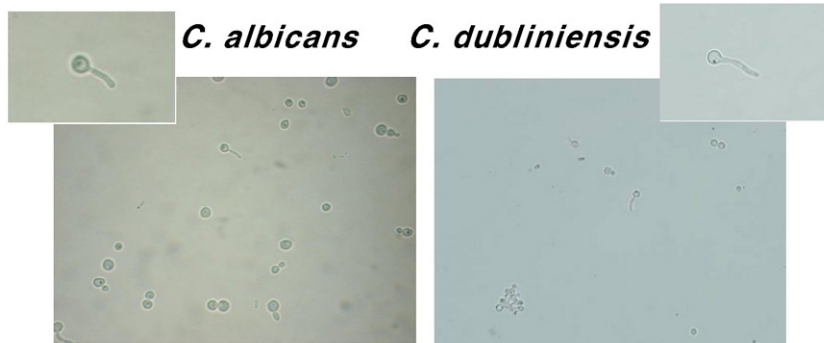
C. albicans



C. dubliniensis

Germ tube test

- Serum (human, rabbit, FBS) + yeast colony
→ incubate (37°C), 2-3 h



- False (+): *C. tropicalis*
- False (-): heavy inoculum, bacteria(+)

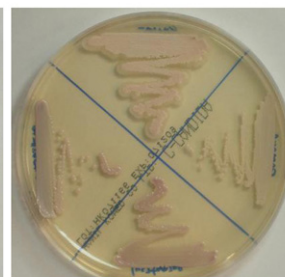
Chromogenic agars

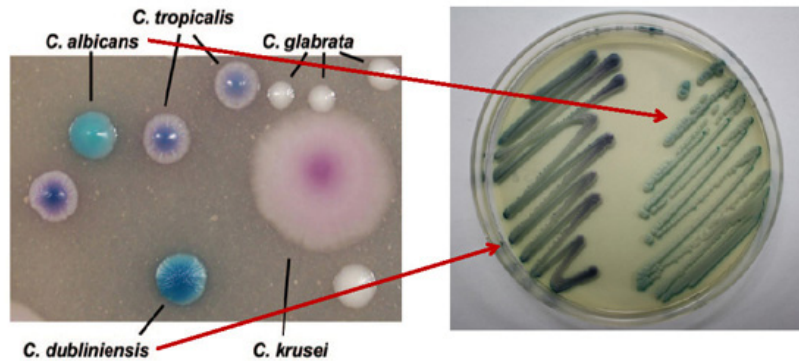


C. alb
C. dub *C. gla*
C. trop



C. kru
C. guil *C. lusi*
C. para





Colonies of different species of *Candida* after growing for 48 h at 37° C in CHROMagar Candida medium supplemented with Pal's agar (JCM 2006;43:5768–70)

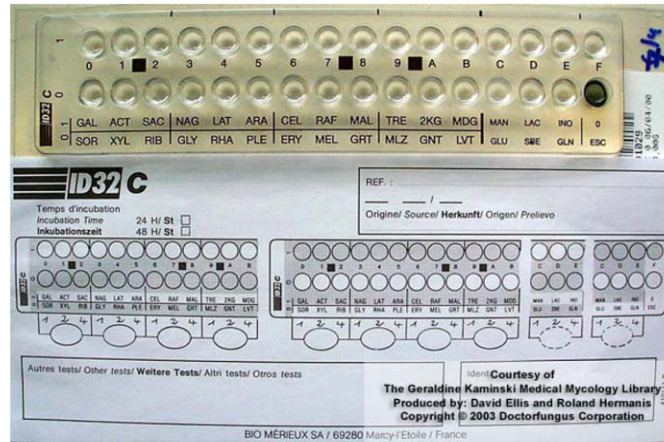
Commercially available kits

- For multiple genera
 - Vitek–Yeast Biochemical Card
 - Microbila Identification System (MIDI)
 - Microscan Rapid Yeast ID
 - API 20C AUX
 - API ID 32C
 - Vitek2 ID–YSD
 - Quantum II
 - Mass Spec and MALDI–TOF

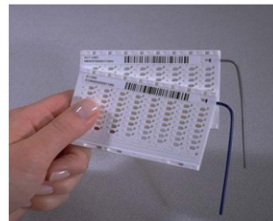
API 20C test



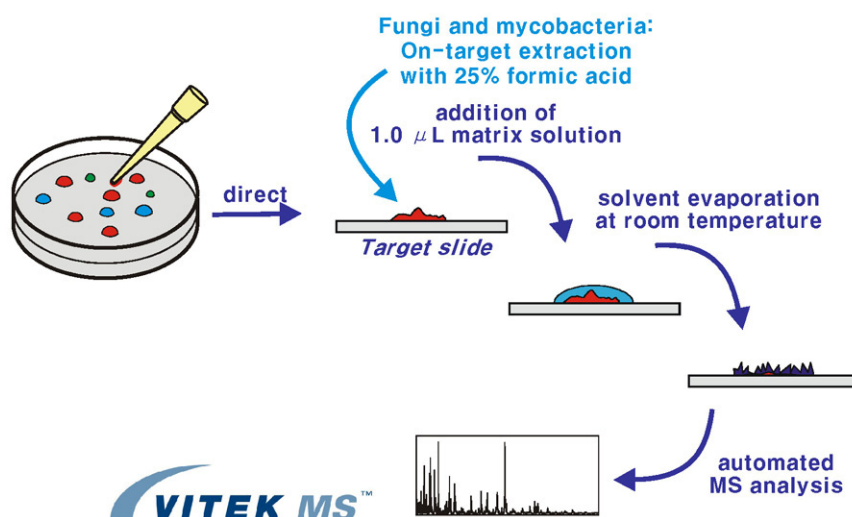
ID 32 C



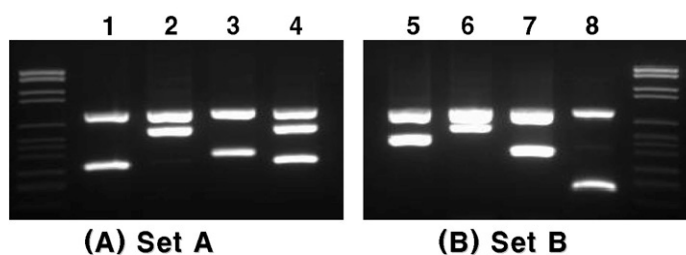
Vitek YBC (bioMérieux)



Mass Spec & MALDI-TOF

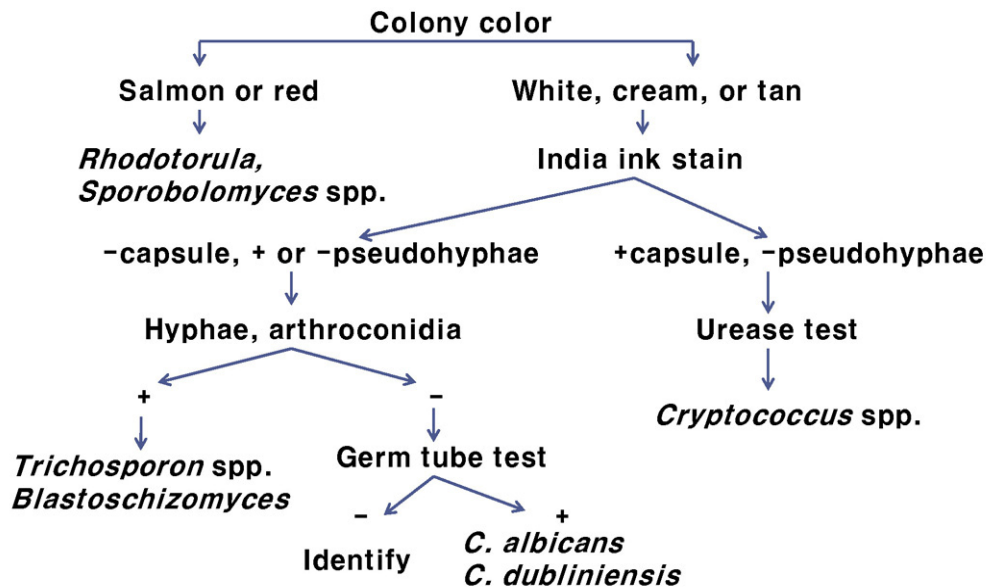


Molecular biology based identification



Species-specific DNA amplifications by multiplex PCR in clinical isolates of *Candida* spp. Lane M, molecular size marker; Lane 1 (323 bp), *C. albicans*; Lane 2 (608 bp), *C. glabrata*; Lane 3 (379 bp), *C. krusei*; Lane 4 (323 bp and 608 bp), *C. albicans* and *C. glabrata*; Lane 5 (507 bp), *C. guilliermondii*; Lane 6 (603 bp), *C. tropicalis*; Lane 7 (419 bp), *C. parapsilosis*; Lane 8 (194 bp), *C. lusitaniae*. (KJCM 2006;9:119)

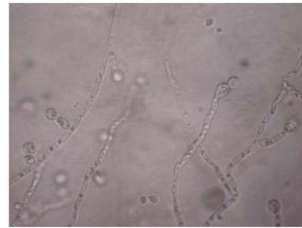
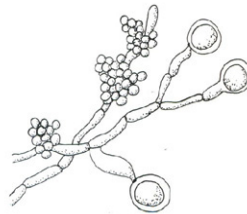
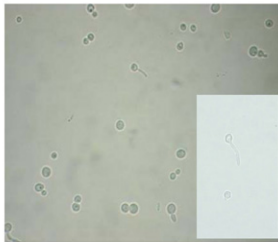
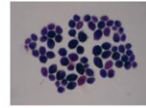
Scheme for identification of yeasts



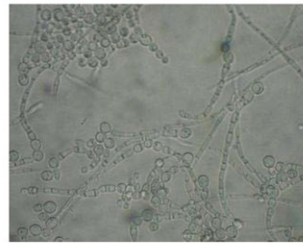
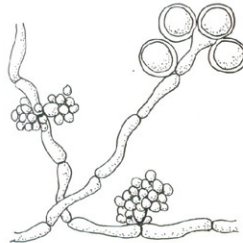
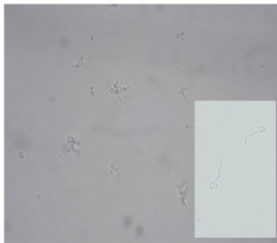
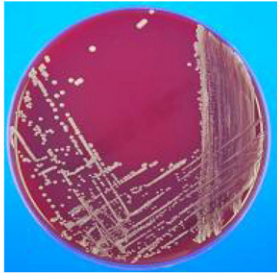
Presumptive ID of *C. albicans*

- Germ tube test
- Spiking on blood agar plate (BAP)
- CHROMagar Candida
- Cornmeal tween 80 agar : Chlamydospore
- Preformed-enzyme test
 - Albistrip
 - Murex *C. albicans* CA50
- Monoclonal Ab
 - Bichro-latex albicans

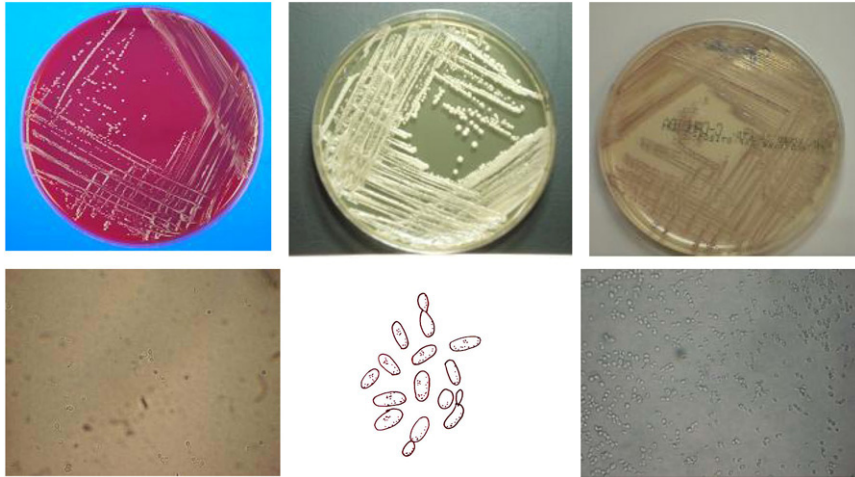
C. albicans



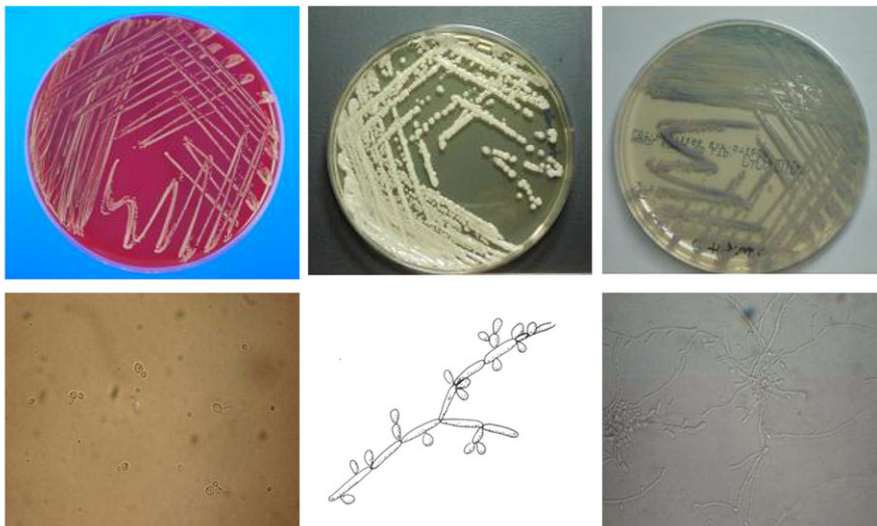
C. dubliniensis



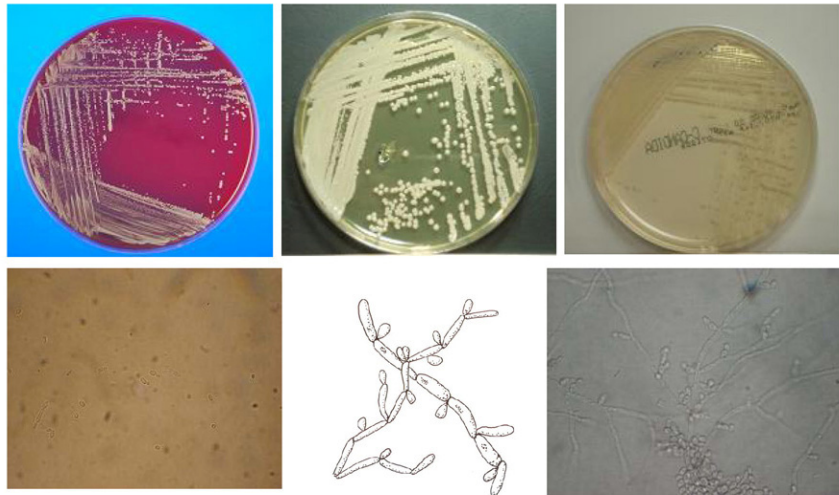
C. glabrata



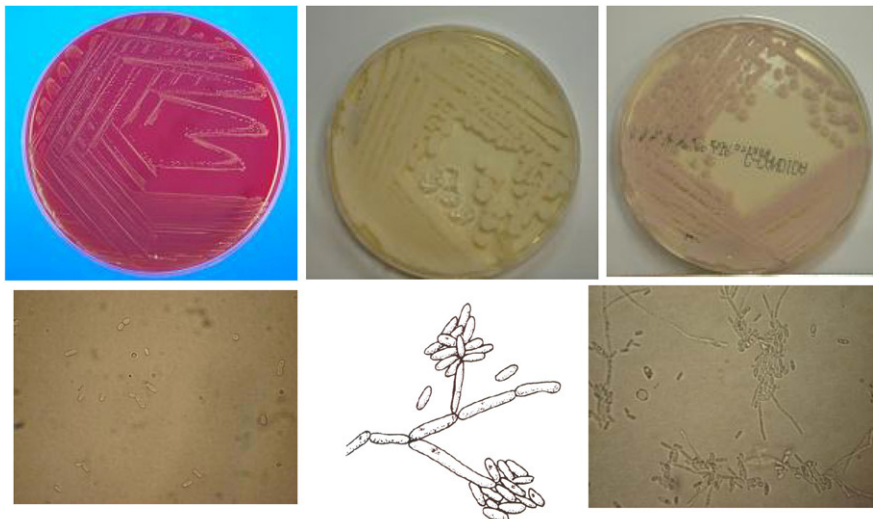
C. tropicalis



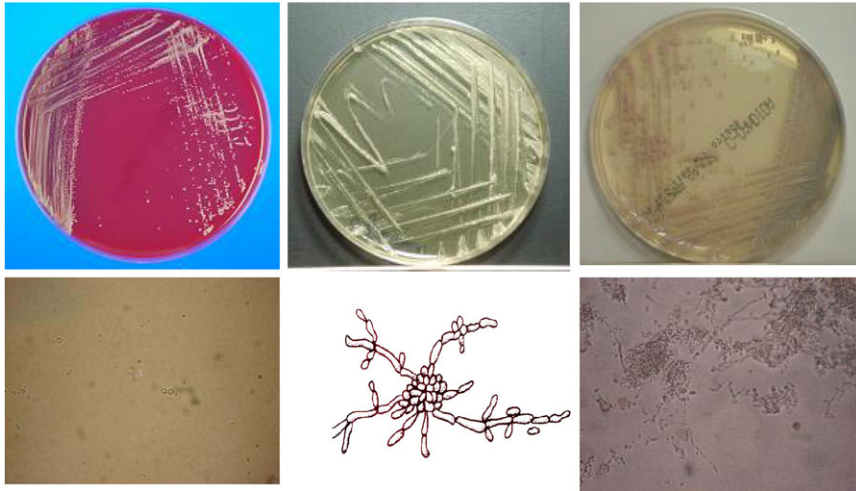
C. parapsilosis



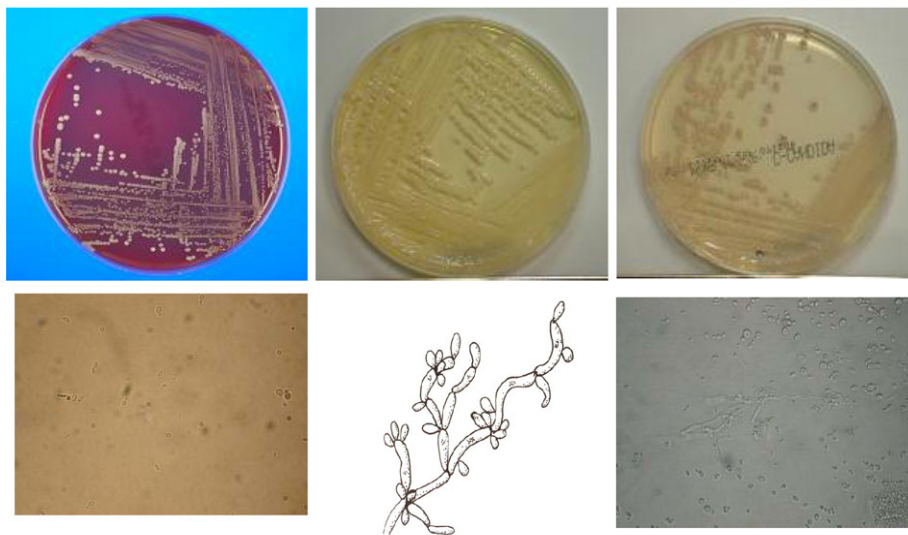
C. krusei



C. guilliermondii



C. lusitaniae



❶ 연자 소개 ❶

성 명 : 이미경(李 美 暎)

❶ 경력사항 ❶

1997년 ~ 2003년	중앙대학교부속 필동병원 진료조교수
2002년 ~ 2003년	미국 질병관리예방센터 (CDC) 초청연구원 (한국과학재단 지원)
2003년 ~ 2006년	중앙대학교 의과대학 조교수
2006년 ~ 2011년	중앙대학교 의과대학 부교수
2008년 1월 ~ 2월	미국 Western IRB International fellow 연수 (임상시험관련 전문가 육성 프로그램, 보건복지부 지원)
2011년 ~ 현재	중앙대학교 의과대학 교수

❶ 학력사항 ❶

1990년	중앙대학교 의과대학 의학과 졸업
1995년	중앙대학교 대학원 석사 (진단검사의학)
1999년	중앙대학교 대학원 박사 (진단검사의학)

❶ 연구경력 및 학회활동 ❶

2002년	한국과학재단 해외 박사 후 연수지원
2004년	한국학술진흥재단 신진교수연구지원
2007년 / 2008년	한국학술진흥재단 우수여성과학자연구지원
2008년	한국학술진흥재단 기초연구과제지원-공동
2009년	한국과학재단 기본연구
2011년	한국연구재단 기초연구사업연구지원
2010년 ~ 현재	대한진단검사의학회 임상미생물분과위원 및 간사
2007년 ~	대한임상미생물학회 학술부장
2008년 ~ 2011년	대한임상미생물학회 재무이사
2011년 ~ 현재	대한임상미생물학회 회원관리이사
2010년	대한의진균학회 기획이사
2011년 ~ 현재	대한의진균학회 무임소이사
2010년 ~ 2012년	한국보건의료연구원 연구윤리심의위원
2003년 ~ 현재	중앙대학교병원 IRB 위원
2006년 ~ 현재	중앙대학교병원 전문간사
2012년	국가생명윤리정책연구원 공용기관생명윤리위원회 위원

대한의진균학회 제9차 Workshop 초록집

2012년 11월 20일 인쇄

2012년 11월 23일 발행

발행인 : 유 희 준

편집인 : 조 소 연

발행처 : 대한의진균학회

431-070

경기도 안양시 동안구 평촌동 896

한림대학교 성심병원 피부과

전화 : (031) 380-3765

팩 스 : (031) 386-3761

e-mail : dermakkh@yahoo.co.kr

인쇄처 : 서 흥 출 판 사

Tel : 702-0143, Fax : 714-7062

e-mail : shbio2001@hanmail.net

Printing : November 20, 2012

Publishing : November 23, 2012

Publisher : Hee Joon Yu, M.D.

Editor : Soyun Cho, M.D.

Published by:

Korean Society for Medical Mycology

Department of Dermatology

Hallym University Sacred Heart Hospital

896, Pyeongchon-dong, Dongan-gu,

Anyang, Gyeonggi-do, KOREA

Tel : 82-31-380-3765

Fax : 82-31-386-3761

e-mail : dermakkh@yahoo.co.kr

학회 홈페이지 : www.ksmm.org
