

# 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 : *Dermatophytes*와 *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)

*Candida*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

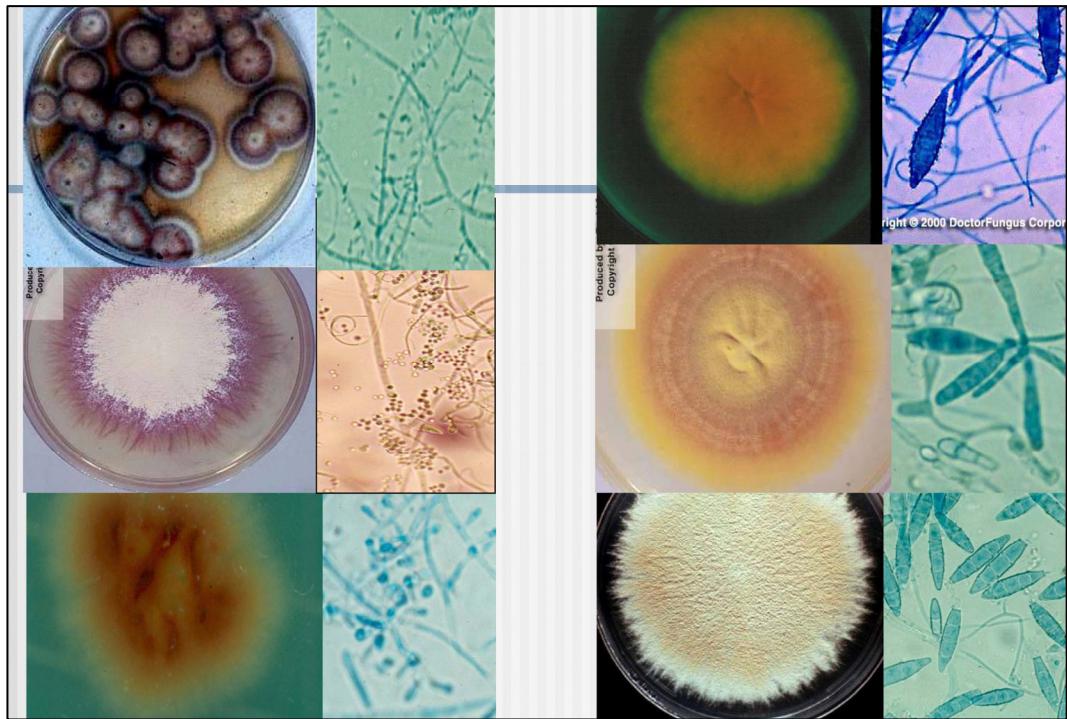
진단은?





## 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, 훌씨 sexual propagule; general term
- ❖ Conidium(pl. conidia): 분생훌씨, 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

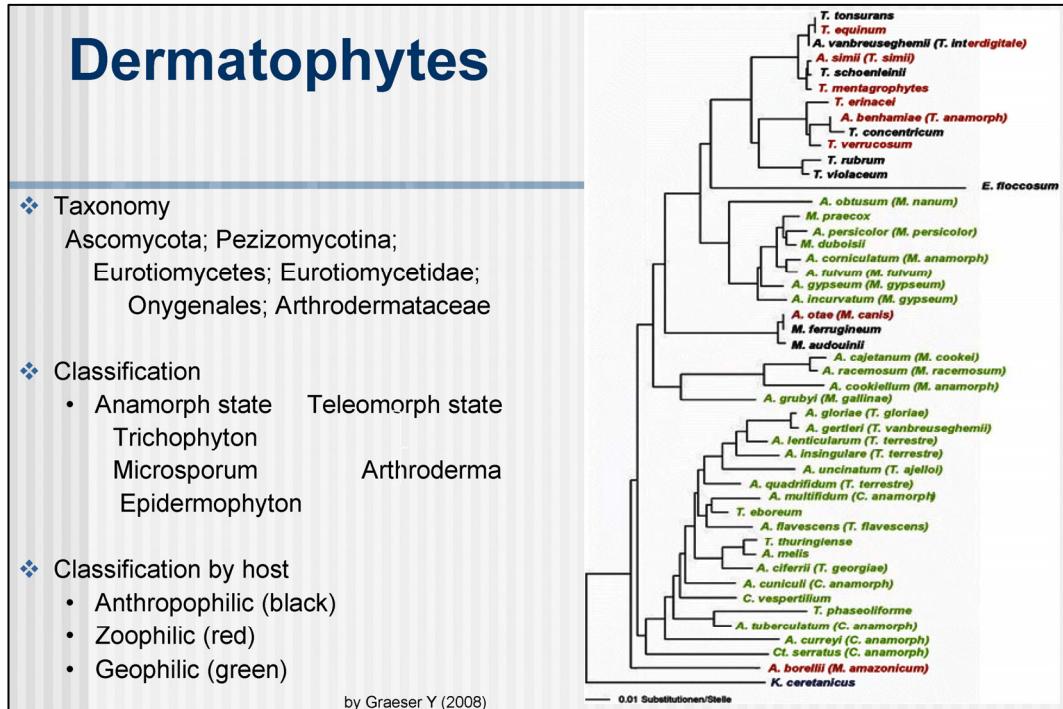
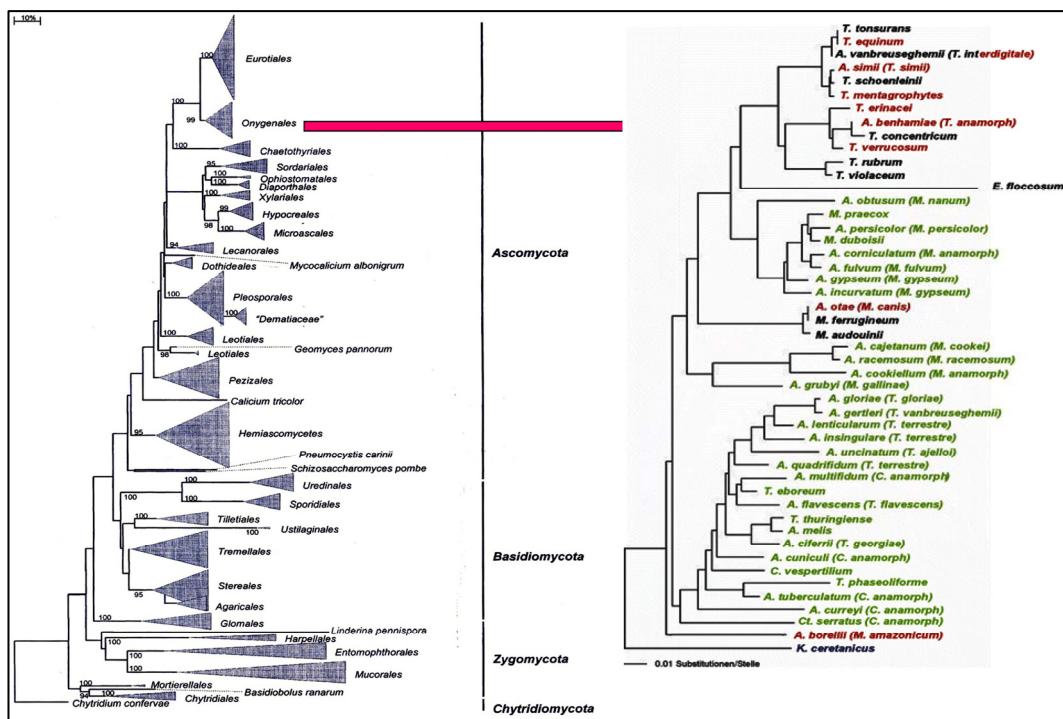
- ❖ Mould (mold) : 사상균 filamentous fungi
- ❖ Yeast : 효모균 unicellular growth form
- ❖ Pseudohypha (pl. Pseudohyphae) : 거짓균사 string of budding cells.  
No cytoplasmic connection
- ❖ Dematiaceous : pigmented in olivaceous or brown colours
- ❖ Phaeo- : darkly pigmented
- ❖ Hyalin : colorless
- ❖ Dermatomycosis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

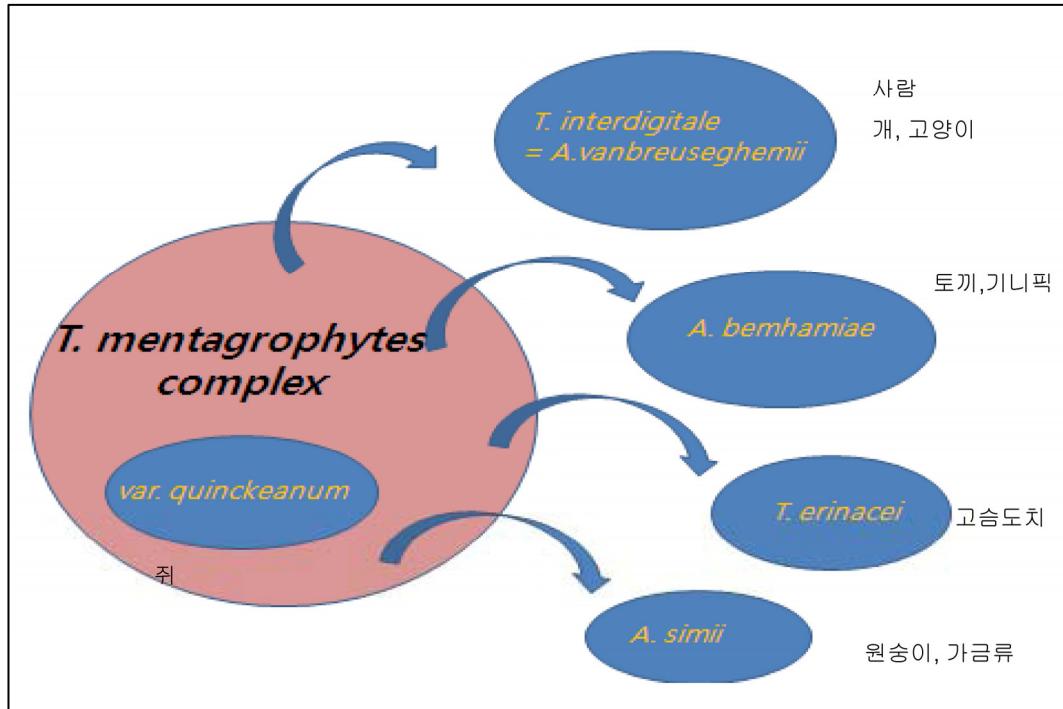
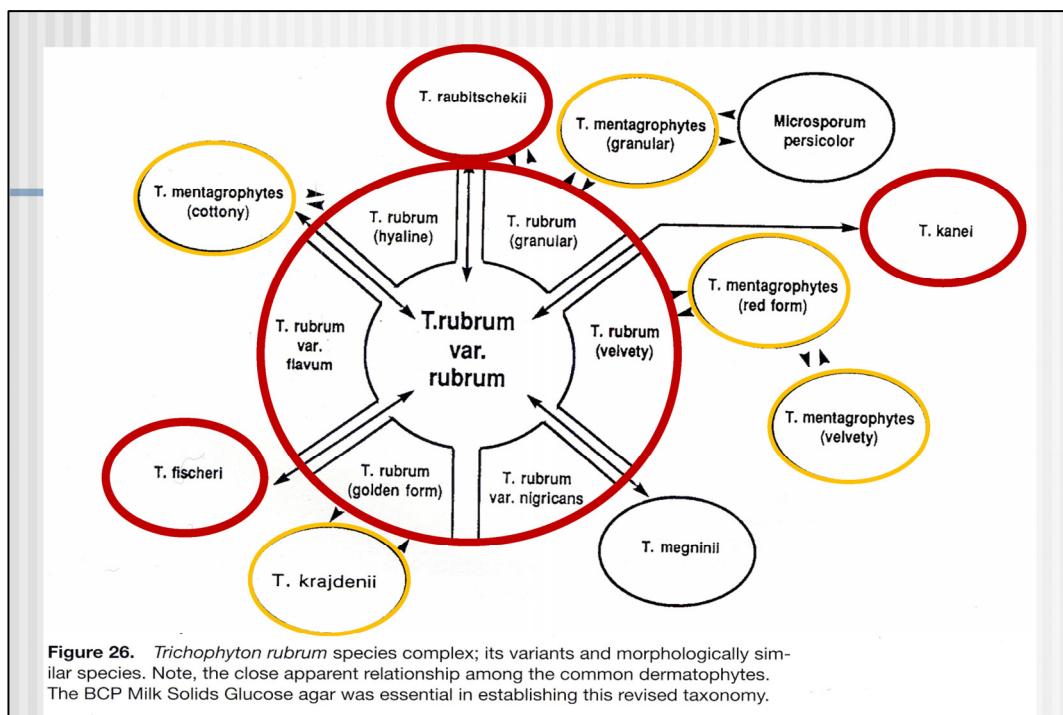
## Taxonomy of fungus

Class	Hyphae	Sexual spore	Asexual spore
<b>Zygomycetes</b>	<b>aseptated</b>	<b>zygospore</b>	<b>sporangium</b>
<b>Ascomycetes*</b>	<b>septated</b>	<b>ascospore</b>	<b>conidium</b>
<b>Basidiomycetes</b>	<b>septated</b>	<b>basidiospore</b>	<b>conidium</b>
<b>Deuteromycetes</b>	<b>septated</b>	<b>not found</b>	<b>conidium</b>

### Reproduction

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





\*anthropophilic; #zoophilic.

Teleomorph species relationship	Current species classification	Former species classification
	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 krajdenii</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>quinkeanum</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> ( <i>T.</i> )
<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
  - 융모변성 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, crateriform



crateriforme



cerebriforme



plicatile



flat

## 현미경 소견

### ❖ Hyphae

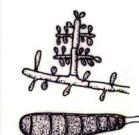
- Septation
- Pattern : spiral, raquet, chandelier, nodular body
- Pigmentation
- Vesicles or swollen cells

### ❖ 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

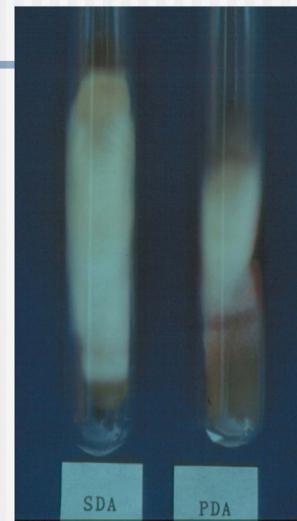
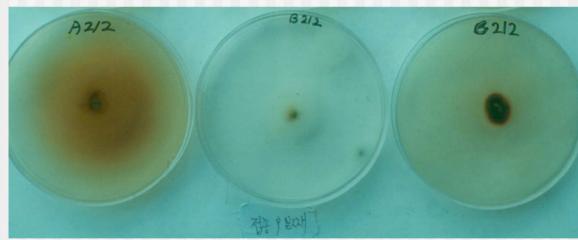


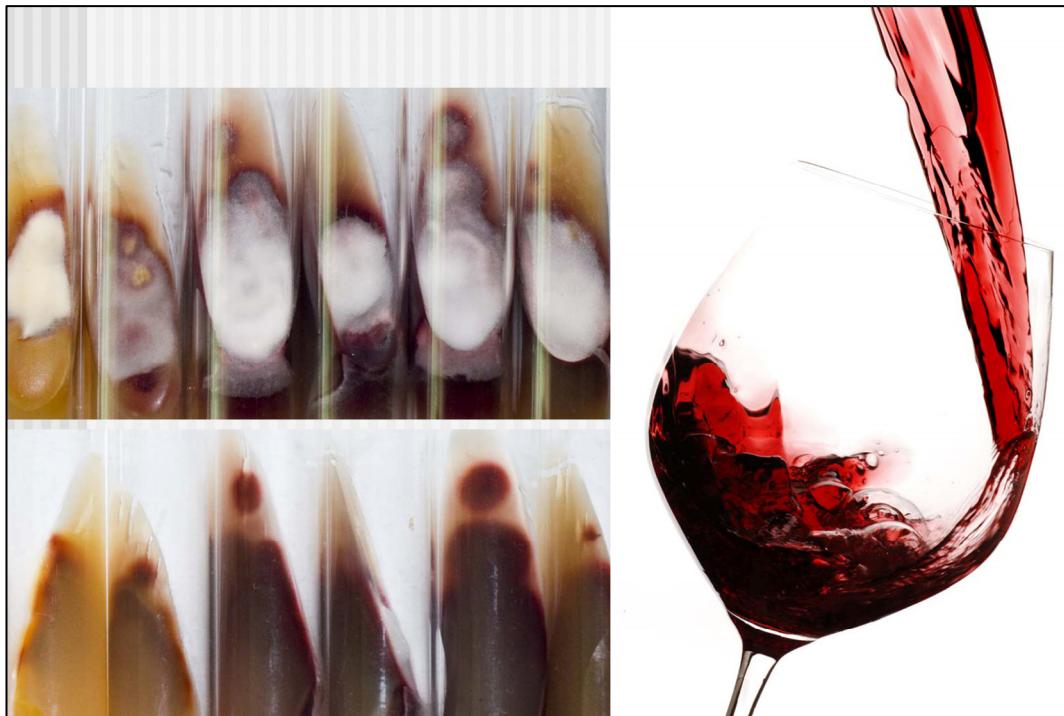
## Contents

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

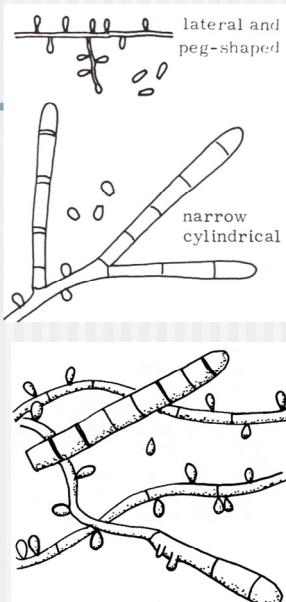


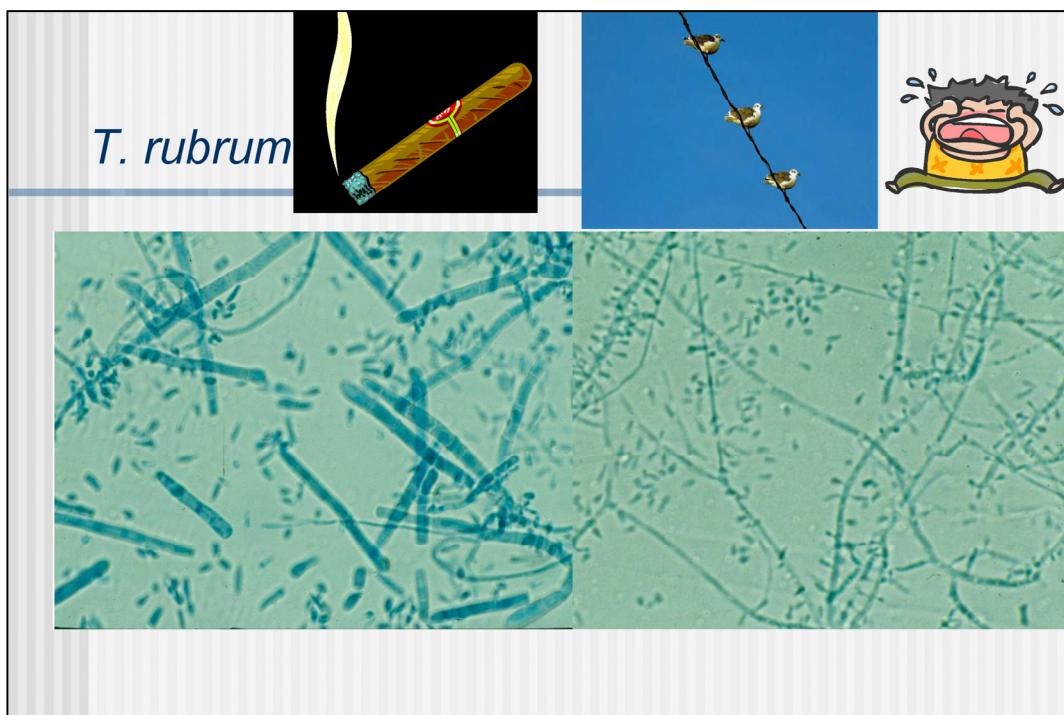


## *T. rubrum*

### ❖ 현미경 소견

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





## *T. mentagrophytes (T.interdigitale)*

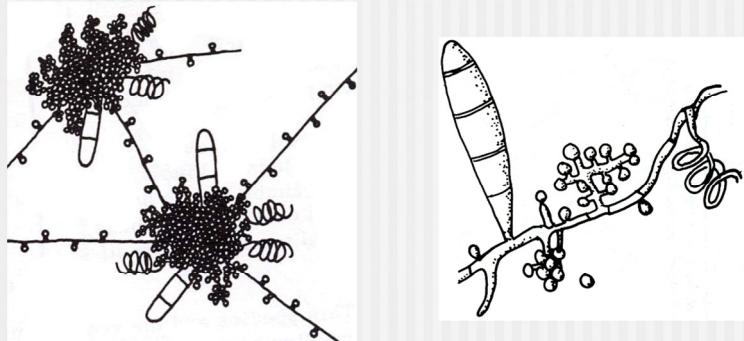
- ❖ 성장속도 : moderate, 7-10일
- ❖ Colony 형태 : 매우 다양
  - zoophilic-과립형(granular)
  - anthropophilic –융모형(downy), 분말형(powdery), 복숭아색형(persicolor)
  - Powdery form : Radial or concentric fold
  - 배면 : brown > colorless, yellow, red



## *T. mentagrophytes (T.interdigitale)*

### ❖ 현미경 소견

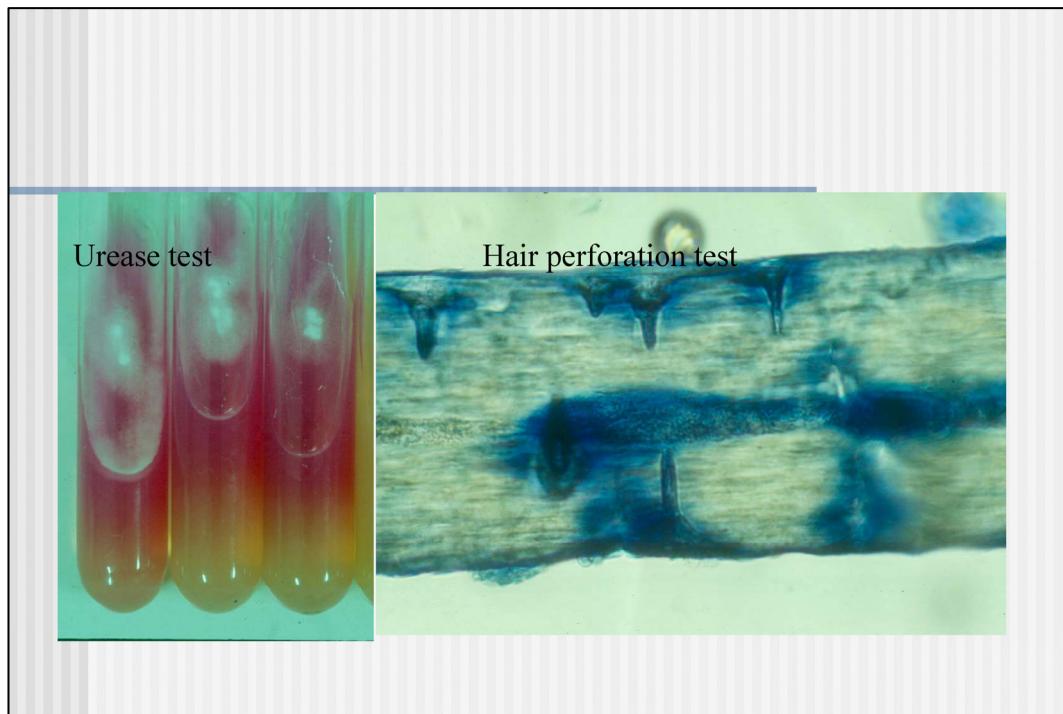
- Microconidia : very round, clustered
- Coiled spiral hyphae
- Macroconidia : 가끔, thin walled



## *T. mentagrophytes*

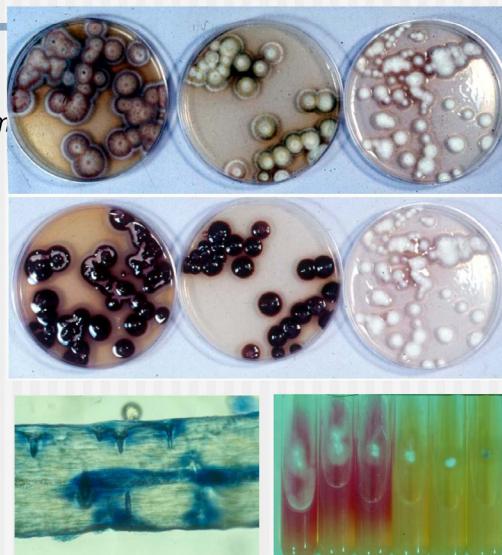






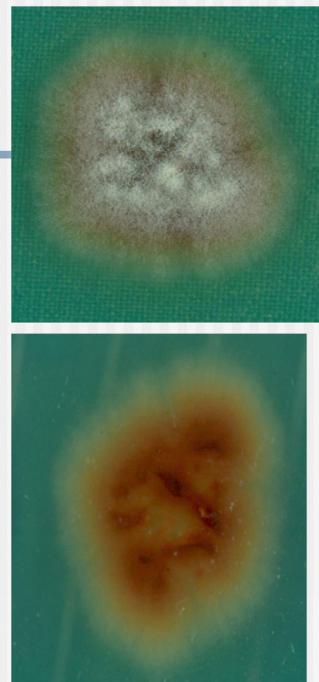
## *T. rubrum* vs *T. mentagrophytes*

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

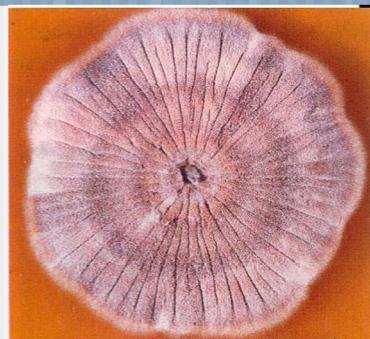


## *T. tonsurans*

- ❖ 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



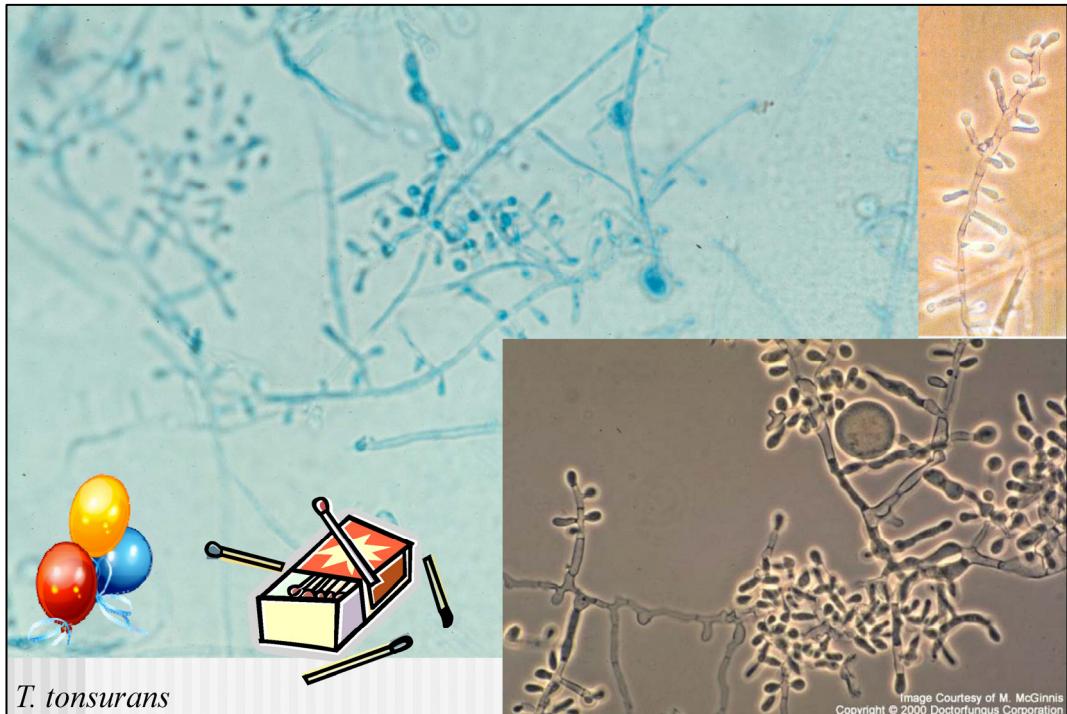
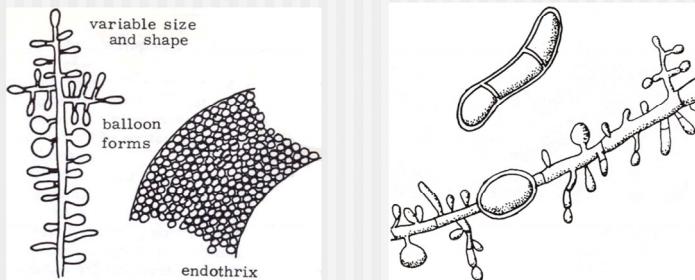
var. sulfureum

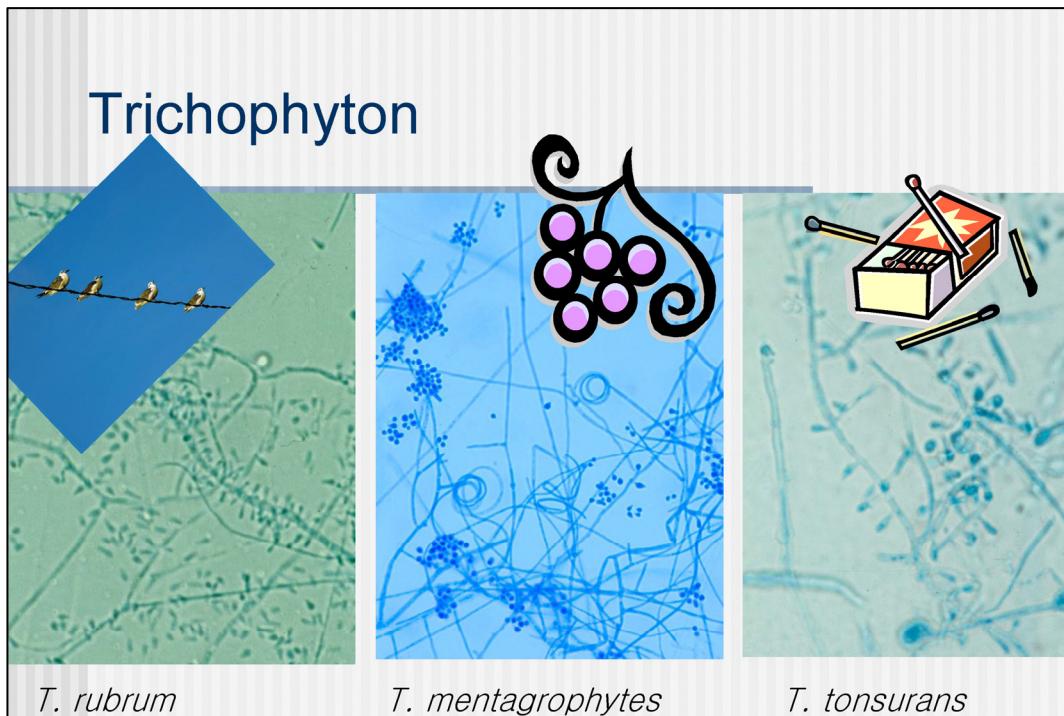
## *T. tonsurans*

### ❖ 현미경 소견

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

### ❖ Physiologic test : thiamine dependent





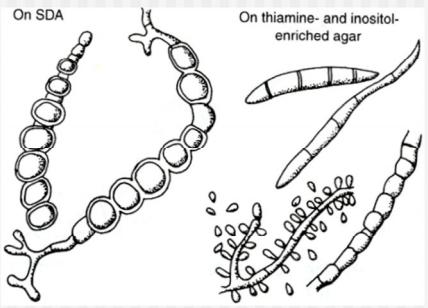
## *T. verrucosum*

- ❖ 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
  - 염주양의 후막포자 (chlamidoconidia in chain)
  - Macroconidia : 쥐꼬리 모양
- ❖ Physiologic test : Thiamin, inositol 필요



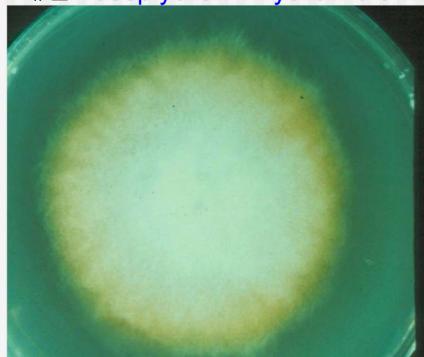
On SDA      On thiamine- and inositol-enriched agar

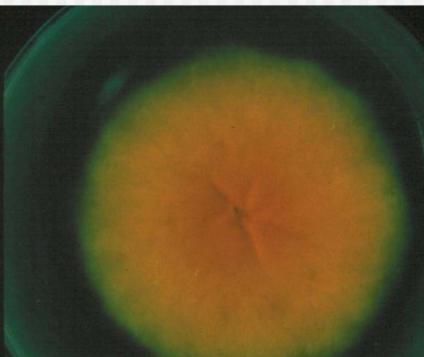


Image Courtesy  
Copyright © 2000 Doctorfungu

## *M. canis*

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

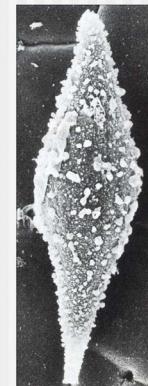
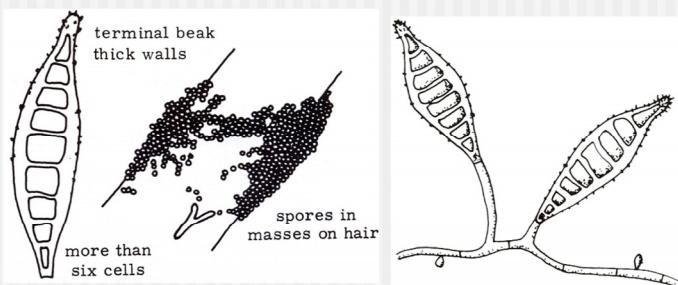




## *M. canis*

### ❖ 현미경 소견

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



## *M. canis*

Copyright © 2000  
DoctorFungus Corporation

Copyright © 2000 DoctorFungus Corporation

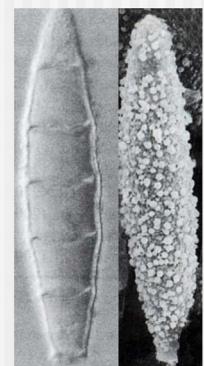
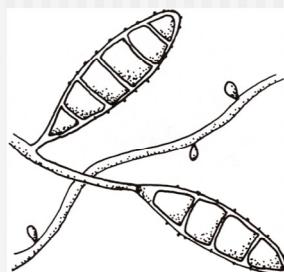
## *M. gypseum*

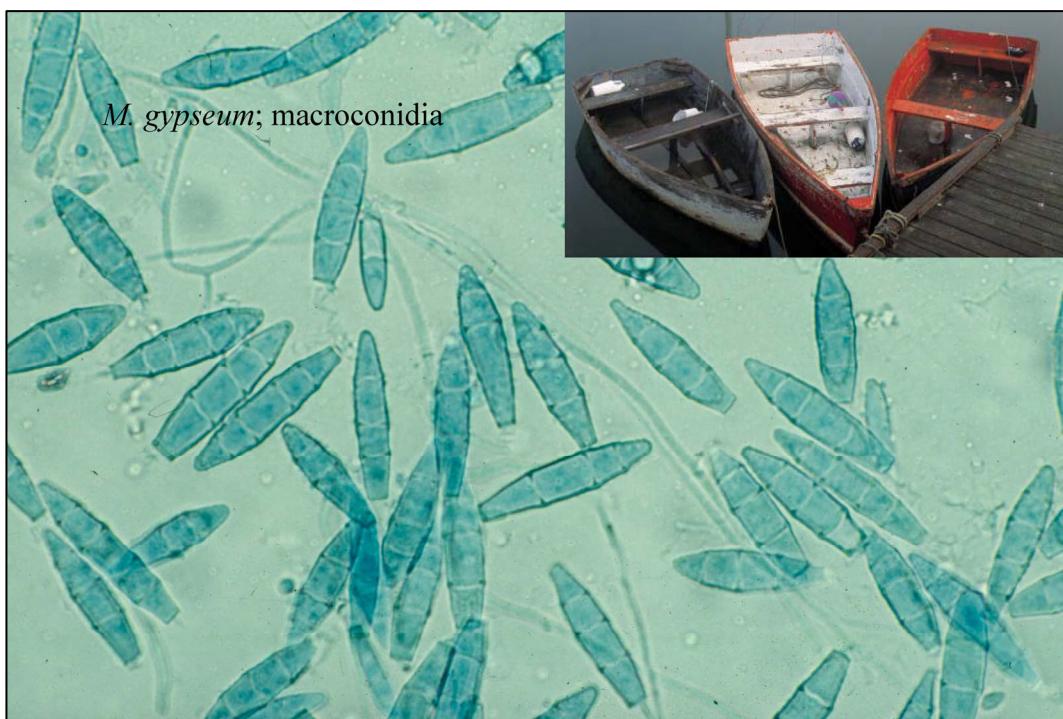
- ❖ 성장속도 : moderately rapid, 6일 이내
- ❖ Colony 형태
  - 표면 : flat, spreading, powdery to granular
    - Buff -> tan to cinnamon brown, 콩가루색깔
  - 배면 : variable



## *M. gypseum* 현미경 소견

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





***E. floccosum***

Courtesy  
The Geraldine Kaminski M  
Produced by: David Ellis  
Copyright © 2003 Doctor

- ❖ 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.

A petri dish containing a colony of *E. floccosum* showing a radial growth pattern with a yellow center transitioning to orange and brown at the edges. To the right of the petri dish is a circular cartoon illustration of a person in a green military-style uniform, saluting.

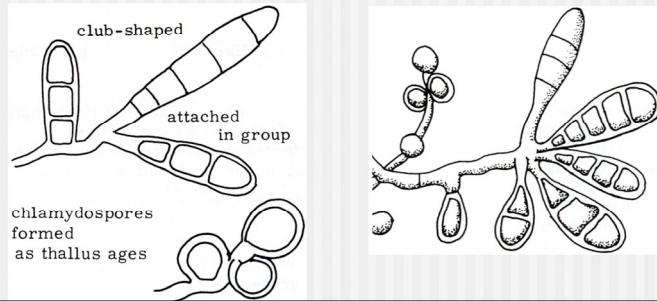
## *E. floccosum*

### ❖ 현미경 소견

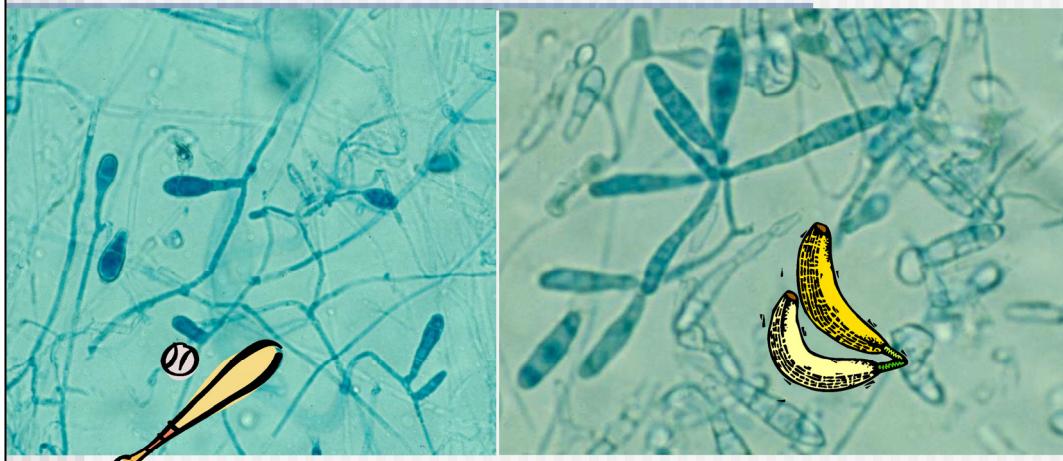
#### • Macroconidia:

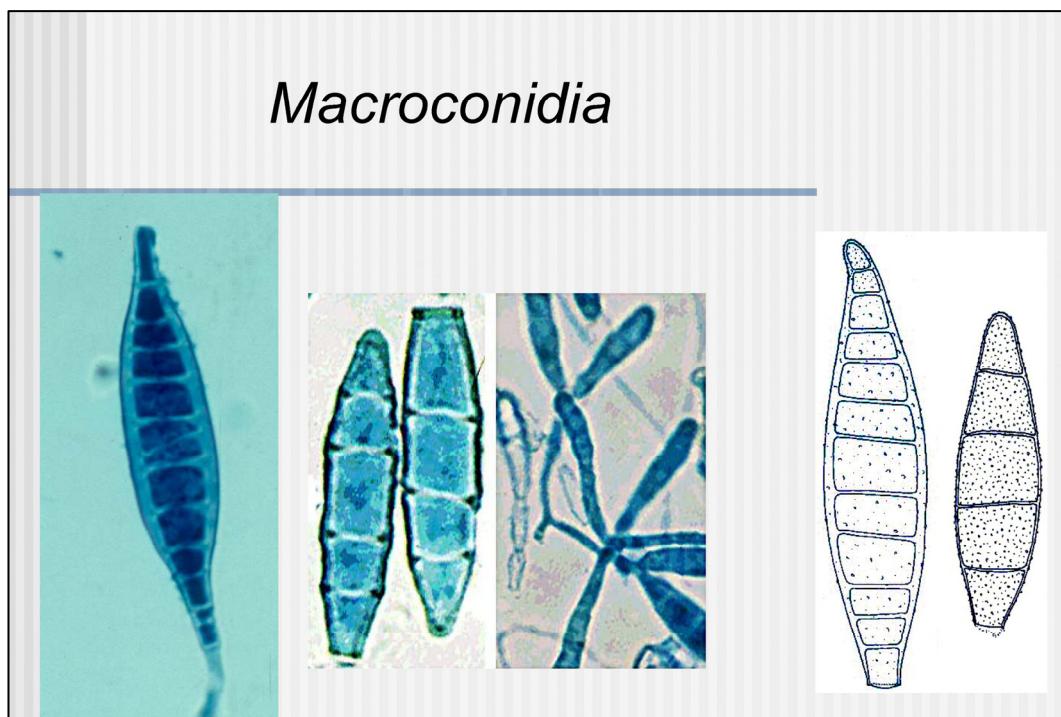
- 배양 초기에 발견된다.
- Smooth, thin walled, club shaped, round ends
- 2-6 세포; single or clusters

#### • Microconidia : no



## *E. floccosum*; 현미경 소견





### 요약

**Colony 색깔**

포도주색: *T. rubrum*

황금색: *M. canis*

카키색: *E. floccosum*

신나몬: *M. gypseum*

**Macroconidia**

*M. canis*

*M. gypseum*

*E. floccosum*

**성장 속도**

빠르다 *M. gypseum*, *M. canis*  
*T. mentagrophytes*

늦다 *E. floccosum*, *T. tonsurans*  
*T. rubrum*

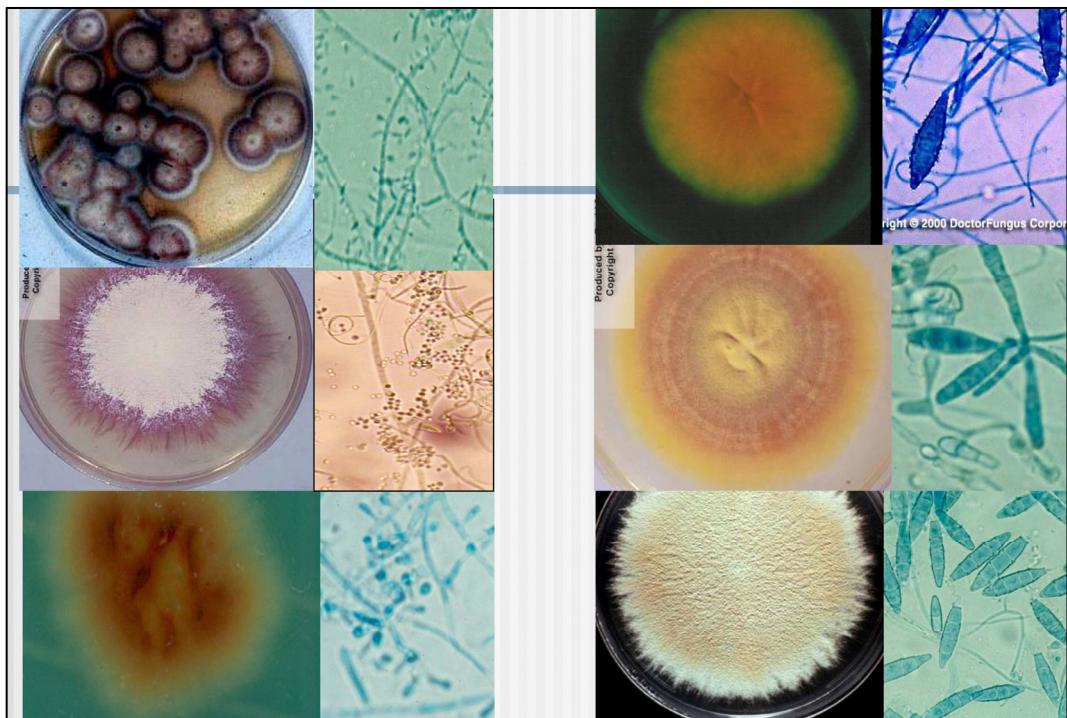
매우 늦다 *T. verrucosum*, *T. violaceum*  
*M. ferrugineum*, *T. schoenleinii*

**Microconidia**

*T. rubrum*

*T. tonsurans*

*T. mentagrophytes*



## 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

### ❖ 90%

### ❖ 10% :

- Atypical strain
- Rare species
- First species in Korea
- New species in the world

### ❖ 전문적인 동정

- Special medias, physiologic test
- Sequencing
- Mating test

### ❖ 균 보관

- 역사적 자료
- 시간에 따른 변화
- Epidemiology
- Taxonomy
- 자산

### ❖ 한국의진균자원센터

- 무료보관
- [ykkim3245@konyang.ac.kr](mailto: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 contamination의 원인이 된다.
- ❖ 항생제와 cycloheximide  
배지가 충분히 식은 후 (60°C) 첨가한다

## 보관 방법

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

## 검체 접종, 배양

### ❖ 접종

- tube를 2개 이상 사용한다. 또는 접종 면을 3등분하여
- 배지 표면에 넓게 펴 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°C 와 37°C에서 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)

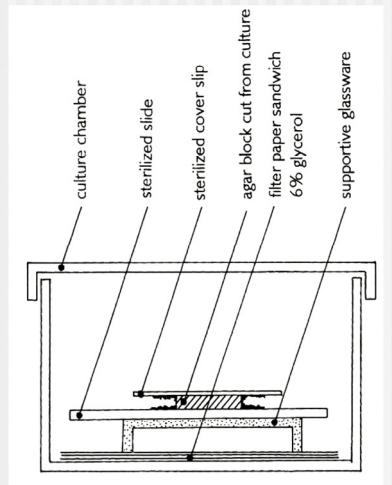
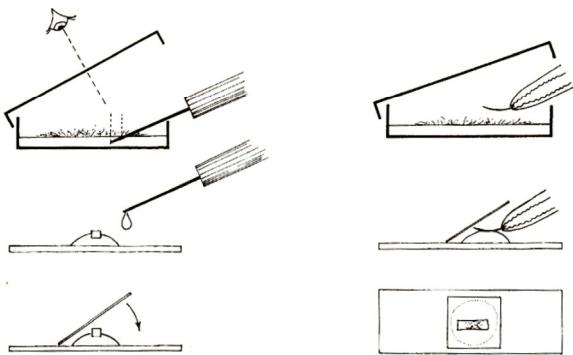
- ❖ 접종한 균이 적을 때
- ❖ 죽은 균, 항진균제 치료 중
- ❖ 접종을 잘못한 경우 배지 접촉 안됨, 뜨거운 칼
- ❖ 나쁜 배지
  - 오래된 배지, 조성이 잘못, 배지선택 잘못
- ❖ 마개를 꽉 막아 질식
- ❖ 온도가 맞지 않을 때 : 고온, 저온
- ❖ contamination
  - 백선균이 자라기 전에 배지 전체를 덮는다.
- ❖ 세균에 오염



## Microscopic examination

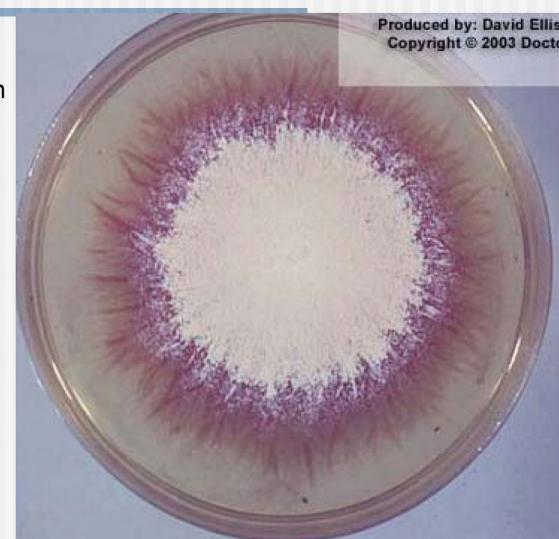
### ❖ Preparation

- Hook
- Cellophane 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

## ● 연자 소개 ●

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  
이미경

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)

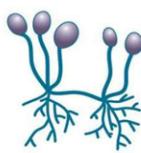
Mold (사상균)

*A. niger*

Yeast (효모균)

*C. albicans*

버섯

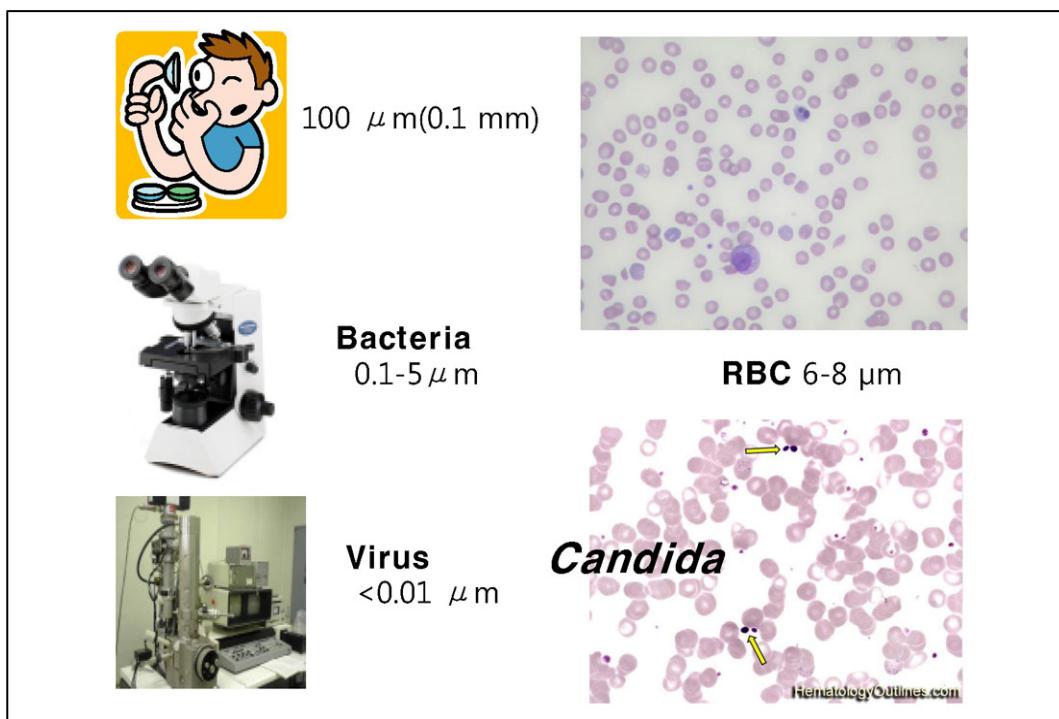


사상균(mold)



효모균(yeast)

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

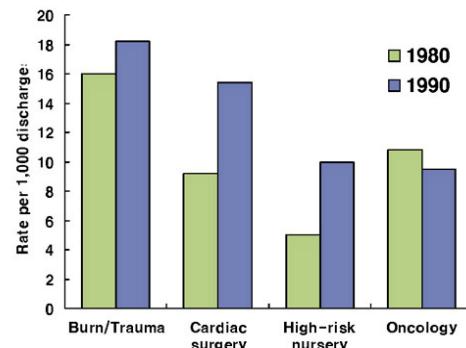
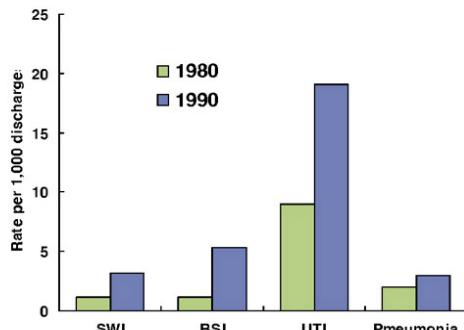


- **Fungal infections**
  - (1) **Healthcare-associated (HAI, nosocomial)**
    - : opportunistic mycoses
  - (2) **Community acquired**
    - : opportunistic + endemic mycoses
- **Incidence of fungal infections ↑**
  - Immunocompromised pt. ↑  
(cancer, AIDS, large burn)
  - Aging population ↑
  - Use 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)
- 4<sup>th</sup> leading cause

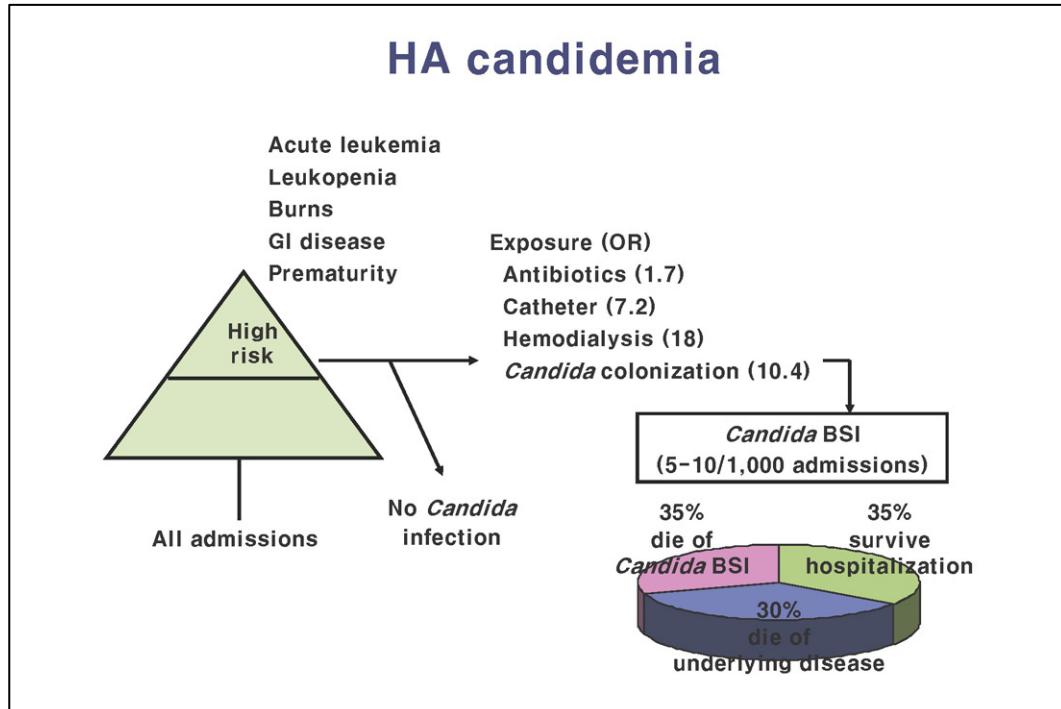
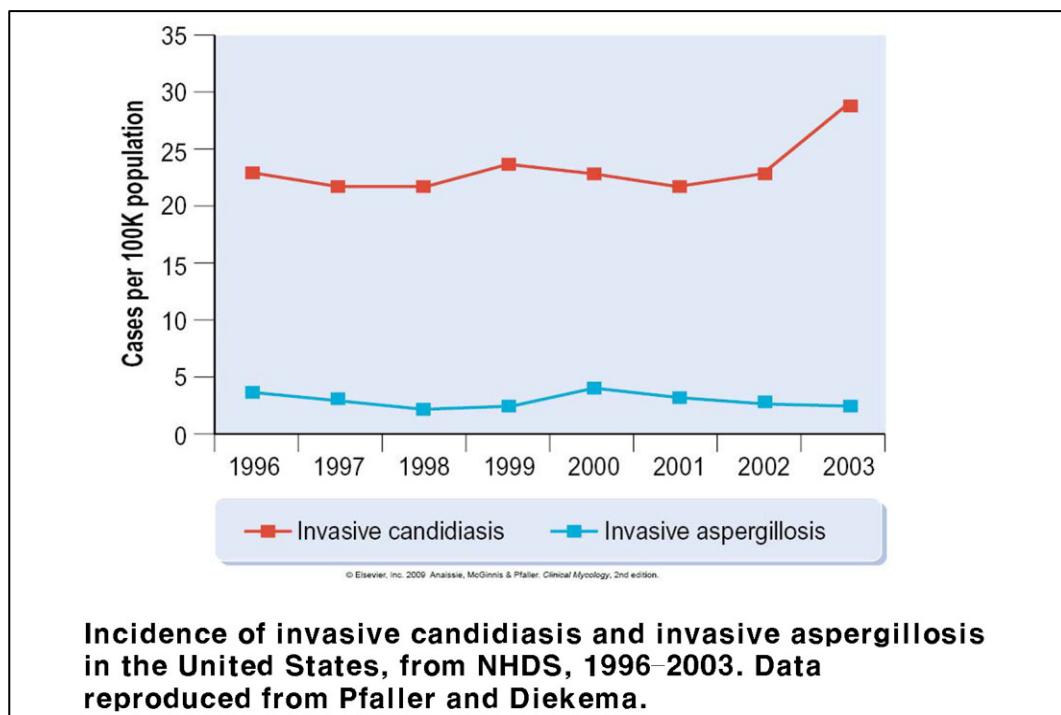
1. Coagulase-negative staphylococci	31.3%
2. <i>S. aureus</i>	20.2%
3. <i>Enterococcus</i> spp.	9.4%
4. <i>Candida</i> spp.	9.0%
5. <i>E. coli</i>	5.6%
6. <i>Klebsiella</i> spp.	4.8%
7. <i>P. aeruginosa</i>	4.3%
8. <i>Enterobacter</i> spp.	3.9%
9. <i>Serratia</i> spp.	1.7%
10. <i>A. baumannii</i>	1.3%

## Pathogens (1980-1990)

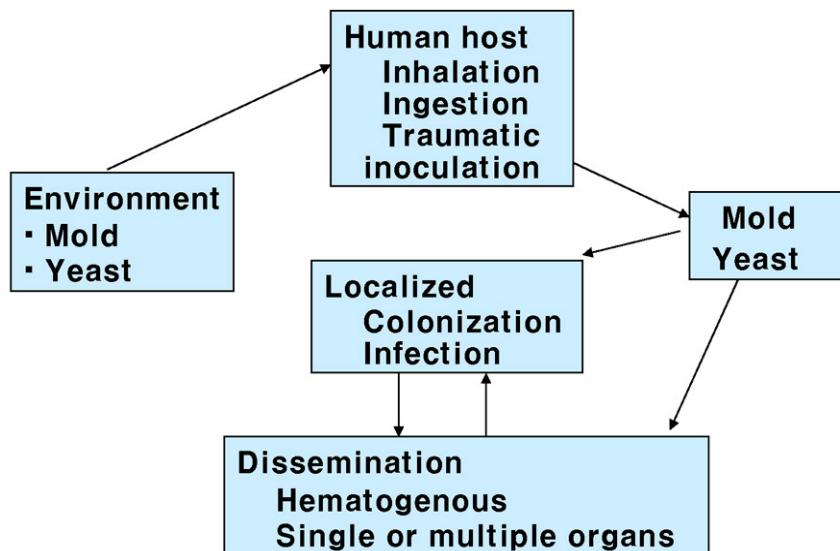
Fungal pathogen	Estimated %
<i>Candida albicans</i>	61
<i>Candida glabrata</i>	8
Other <i>Candida</i> spp.	19
<i>Aspergillus</i> spp.	1
Other	11
Yeast ( <i>Malassezia</i> & <i>Trichosporon</i> spp.)	
Zygomycetes ( <i>Rhizopus</i> & <i>Mucor</i> spp.)	
Hyalohyphomycetes ( <i>Fusarium</i> & <i>Acremonium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

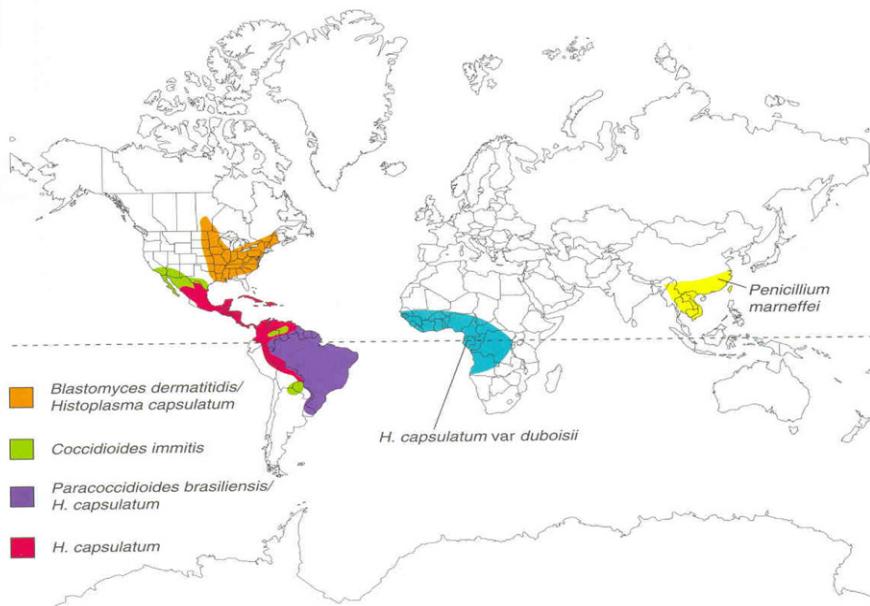
Species	% of total No. of cases					
	97-98	1999	2000	2001	2002	2003
<i>C. albicans</i>	73.3	69.8	68.1	65.4	61.4	62.3
<i>C. glabrata</i>	11.0	9.7	9.5	11.1	10.7	12.0
<i>C. tropicalis</i>	4.6	5.3	7.2	7.5	7.4	7.5
<i>C. parapsilosis</i>	4.2	4.9	5.6	6.9	6.6	7.3
<i>C. krusei</i>	1.7	2.2	3.2	2.5	2.6	2.7
Others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



## Community-acquired fungal infections

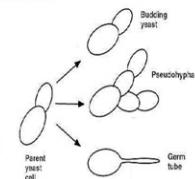


## Endemic dimorphic pathogens



## 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)    Telemorph(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>Issatchenka orientalis</i>           |
| • <i>C. guilliermondii</i> | <i>Pichia guilliermondii, 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. parapsiologosis</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			4	0.59	7	0.62	1	0.10
<i>C. lusitaniae</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			1	0.09	3	0.36	17	2.53	10	0.89
<i>C. neoformans</i>					1	0.09							4	0.50
<i>Trichosporon</i> spp.														
<i>T. beigelii/cutaneum</i>	6	1.32	1	0.15					2	0.30	3	0.27		
<i>T. asahii</i>								1	0.12		1	0.09		
<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		
<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  $\Rightarrow$  speed
- Dimethyl sulfoxide  $\Rightarrow$  to facilitate clearing
- Bubbles: confused with yeast cells
- Round & oval objects lacking buds : erroneously identified as yeasts
- Cotton swab: resemble hyphae  $\Rightarrow$  no use
- Calcofluor white stain

## Identification of *Candida*

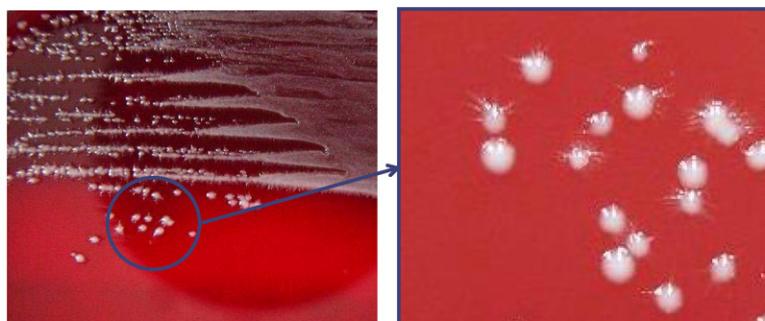
- Macroscopic characteristics
- Microscopic characteristics
- Germ tube test
- Chromogenic agars
- Commercially available kits : automated & semiautomated systems

## 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  $\Rightarrow$  *C. neoformans*?  
(heavily encapsulated yeasts give a very moist, mucoid appearance)
  - if not mucoid  $\Rightarrow$  *Candida* spp.?
  - spiking on BAP  $\Rightarrow$  *C. albicans*

### • Spiking on BAP

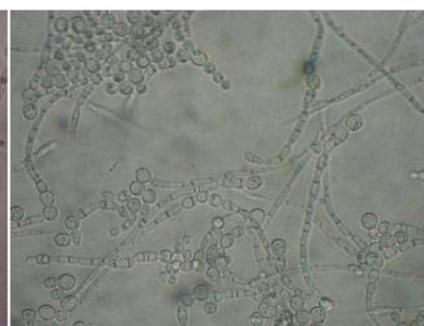
: Colonial morphology of *C. albicans* known as 'spiking' on a BAP in 5% CO<sub>2</sub> after 24 h incubation



## Microscopic characteristics

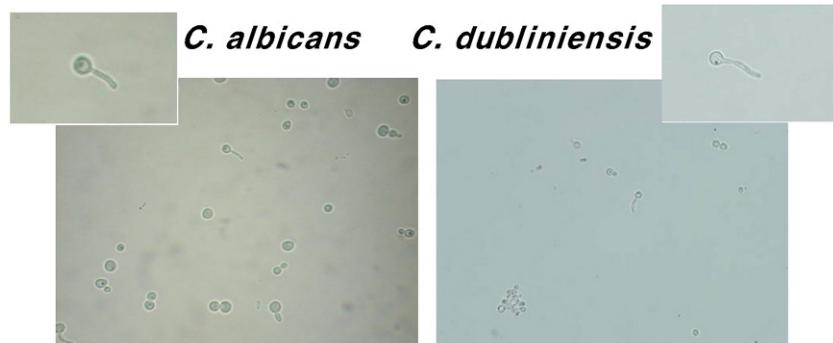
Organism	Pseudohyphae	True hyphae	Blastoconidia	Arthroconidia	Annelloconidia	Chlamydospores	Ascospores
<i>B. capitatus</i>	○	○	○		○		
<i>C. albicans/C. dubliniensis</i>	○	○	○			○	
Other <i>Candida</i> spp.	○	○	○				○
<i>Cryptococcus</i> spp.			○				
<i>Geotrichum</i> spp.		○		○			
<i>Pichia</i> spp.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

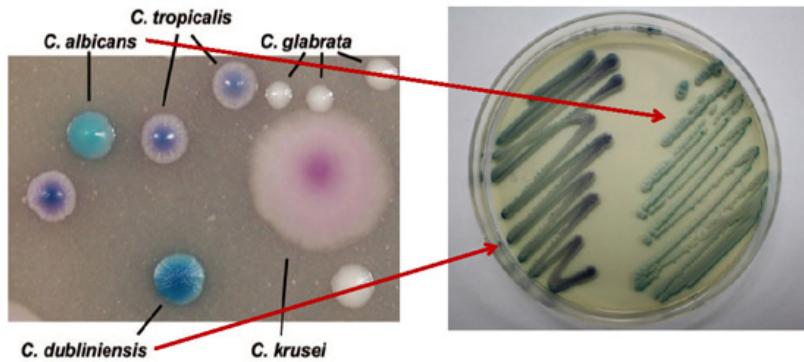
C. dub C. gla

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)

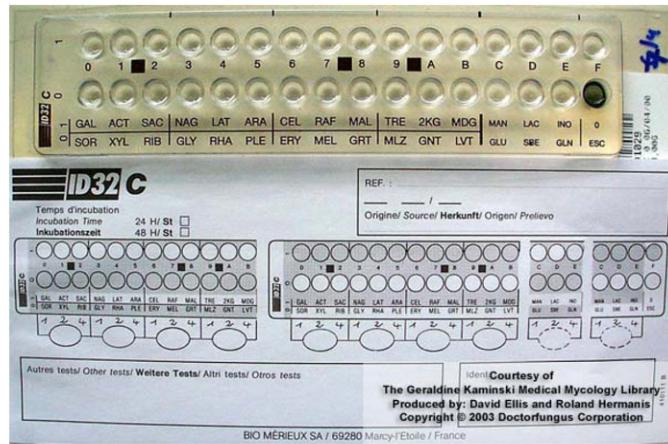
## Commercially available kits

- 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



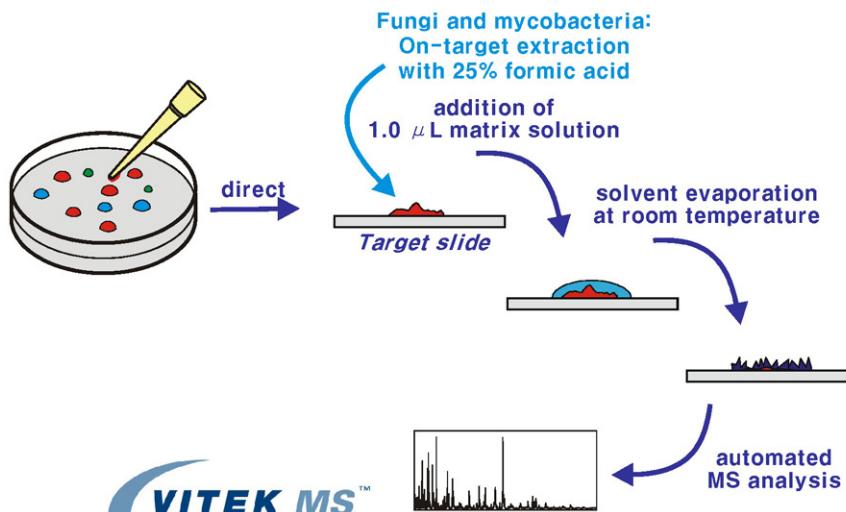
## ID 32 C



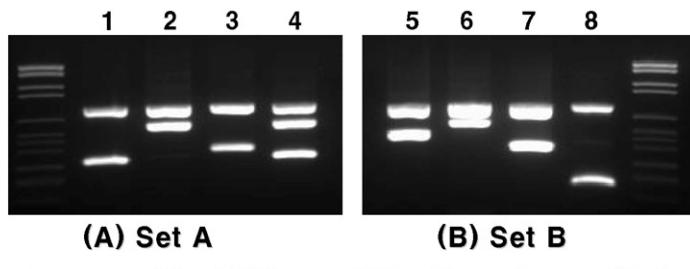
## Vitek YBC (bioMerieux)



## Mass Spec & MALDI-TOF

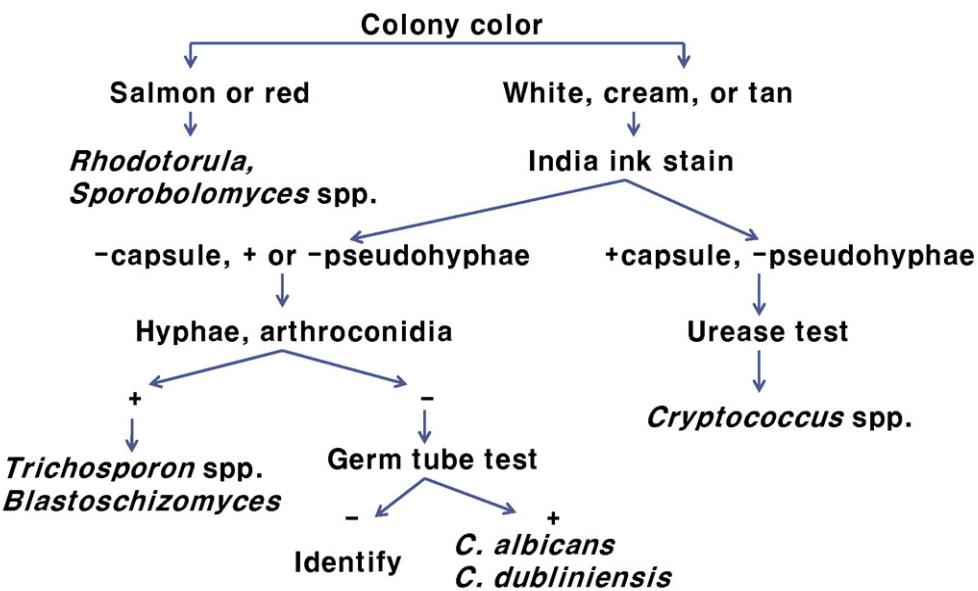


## Molecular biology based identification



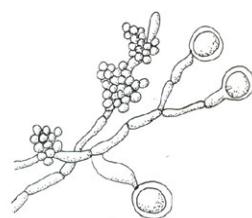
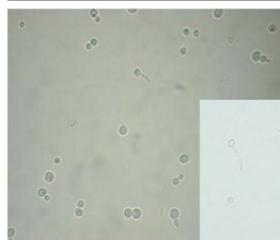
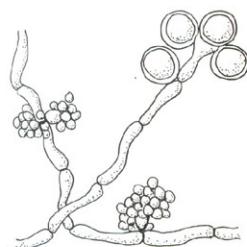
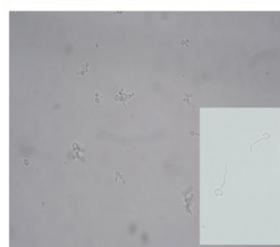
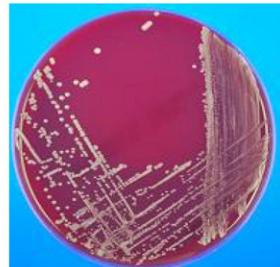
Species-specific DNA amplifications by multiplex PCR in clinical isolates of *Candida* spp. Lane M, molecular size marker; Lane 1 (323 bp), *C. albicans*; Lane 2 (608 bp), *C. glabrata*; Lane 3 (379 bp), *C. krusei*; Lane 4 (323 bp and 608 bp), *C. albicans* and *C. glabrata*; Lane 5 (507 bp), *C. guilliermondii*; 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

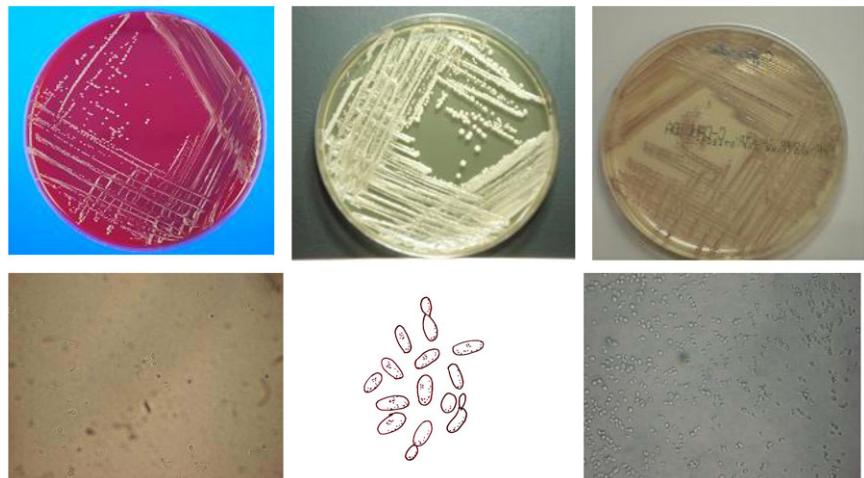


## Presumptive ID of *C. albicans*

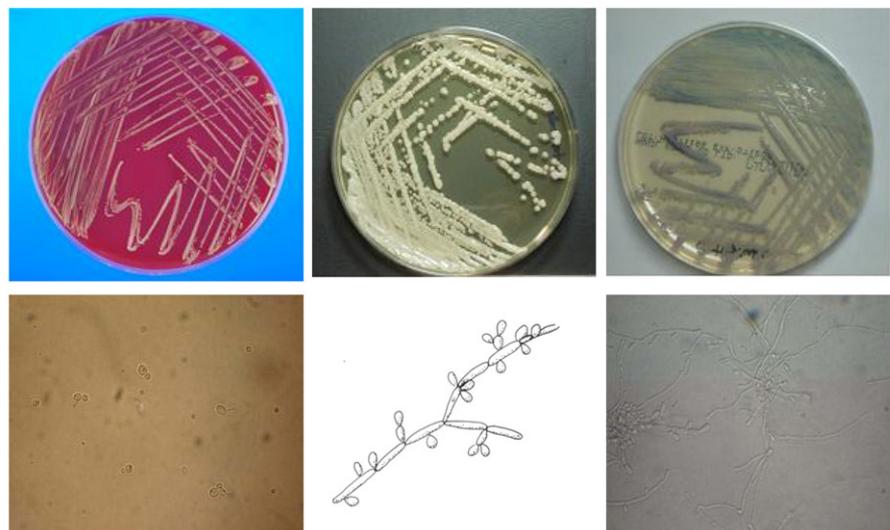
- Germ tube test
- Spiking on blood agar plate (BAP)
- CHROMagar Candida
- Cornmeal tween 80 agar : Chlamydospore
- Preformed-enzyme test
  - Albistrip
  - Murex *C. albicans* CA50
- Monoclonal Ab
  - Bichro-latex albicans

*C. albicans**C. dubliniensis*

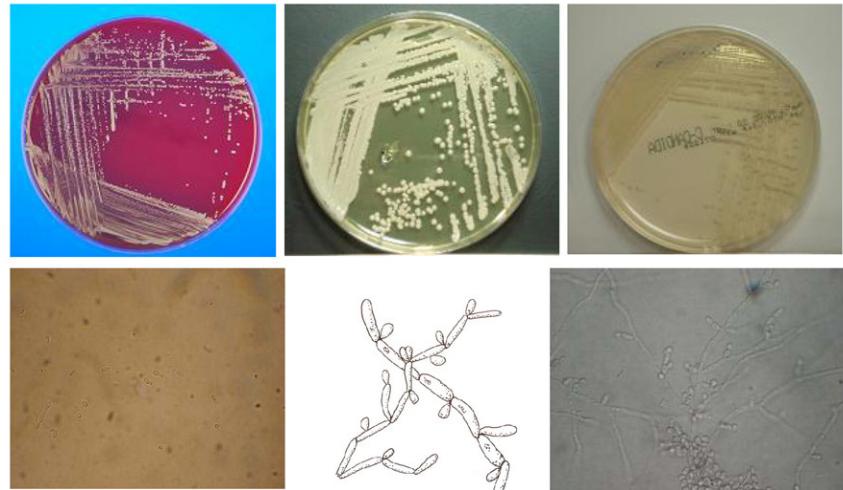
### *C. glabrata*



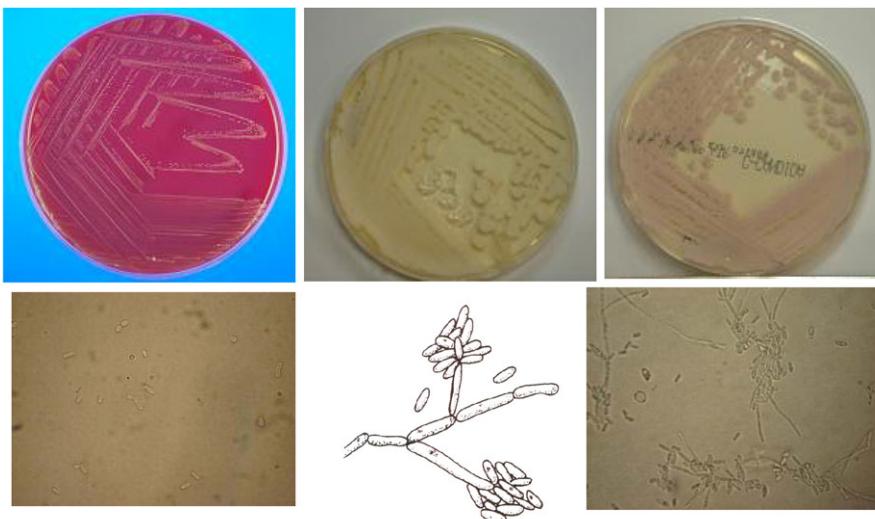
### *C. tropicalis*

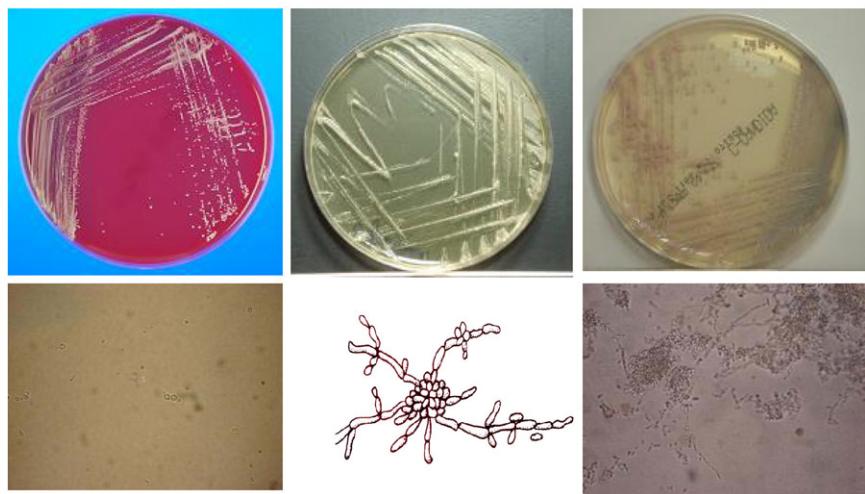
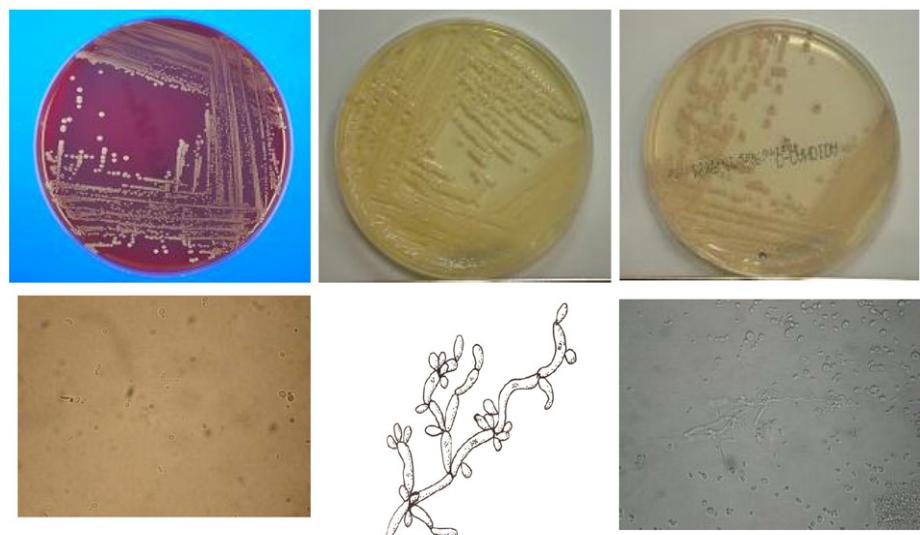


### *C. parapsilosis*



### *C. krusei*



*C. guiliermondii**C. lusitaniae*

## ● 연자 소개 ●

성명 : 이미경(李美暻)

## ● 경력사항 ●

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

## ● 학력사항 ●

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

## ● 연구경력 및 학회활동 ●

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

Printing : November 20, 2012

2012년 11월 23일 발행

Publishing : November 23, 2012

발행인 : 유 희 준

Publisher : Hee Joon Yu, M.D.

편집인 : 조 소연

Editor : Soyun Cho, M.D.

발행처 : 대한의진균학회

Published by:

Korean Society for Medical Mycology

431-070

경기도 안양시 동안구 평촌동 896

Department of Dermatology

한림대학교 성심병원 피부과

Hallym University Sacred Heart Hospital

전 화: (031) 380-3765

896, Pyeongchon-dong, Dongan-gu,

팩 스 : (031) 386-3761

Anyang, Gyeonggi-do, KOREA

e-mail : dermakkh@yahoo.co.kr

Tel : 82-31-380-3765

인쇄처 : 서 흥 출판사

Fax : 82-31-386-3761

Tel : 702-0143, Fax : 714-7062

e-mail : dermakkh@yahoo.co.kr

e-mail : shbio2001@hanmail.net

학회 홈페이지 : [www.ksmm.org](http://www.ksmm.org)

---