

Candida ID를 이용한 *Candida Species*의 예비동정

김휘린, 이미애

이화여자대학교 의과대학 진단검사의학교실

Presumptive Identification of *Candida Species* Using Candida ID

Hwi Rin Kim, and Mi Ae Lee

Department of Laboratory Medicine, Ewha Womans University, College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Candida ID is introduced as a new chromogenic medium that allows presumptive identification of *Candida species*. We evaluated this medium to identify *Candida* spp. isolated from clinical specimens.

Methods : A total of 200 yeast isolates from clinical specimens in Ewha Womans University Mok-dong Hospital, from April 2001 to August 2001 were identified by using the Vitek YBC (Hazelwood, Mo., USA). The results were compared with those by Candida ID (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France).

Results : Candida ID correctly identified 98.0% of *Candida* spp. including 100% of *C. albicans* and 98.9% of *C. tropicalis* compared with the Vitek YBC. Among 84 strains showing blue colored colony on Candida ID, 82 strains (98%) were correctly identified as *C. albicans* but 2 strains were identified as *C. glabrata* and *C. guilliermondii* by the Vitek YBC. Among 92 strains showing pink colored colony, 90 strains (98%) were identified as *C. tropicalis*, and 2 strains were identified as *C. guilliermondii* and *C. lusitanae* by the vitek YBC.

Conclusions : Candida ID provides a more rapid and easier presumptive identification of major *Candida* spp. isolated from clinical specimens. (*Korean J Clin Microbiol* 2003;6(2):144-148)

Key words : Candida ID, Yeasts, Chromogenic medium, Vitek YBC

서 론

비병원성으로 알려져 왔던 많은 효모양 진균들이 최근에 와서 면역 저하 환자들에게서 중요한 기회 감염균으로 부각되고 있다. 이런 기회 감염 진균증은 악성종양, 후천성 면역 결핍증, 주요 수술, 심한 화상, 골수나 장기의 이식, 혈관내 도관 삽입, 장기간의 항생제 투여 및 화학요법을 받는 환자 등 많은 내과 및 외과 입원 환자들의 혼란 합병증으로 발생된다[1-4]. 혼란 원인균으로 알려져 왔던 *Candida albicans*와 *Cryptococcus neoformans* 외에, *Candida* spp. 중에서 최근 들어 *Candida tropicalis*와 *Candida para-*

*psilosis*가 증가하는 추세에 있으며[5,6], 골수이식 환자 등에서 fluconazole을 예방적으로 투여한 결과 이에 내성을 지닌 *Candida krusei* 및 *Candida glabrata*에 의한 기회 감염 진균증의 보고가 증가되고 있다[7-10].

따라서 다양한 *Candida* spp.에 의한 진균증을 보다 빠르고 정확하게 동정하는 것이 진균증의 임상적 의의를 판정하고 적합한 항진균제를 선택하는데 중요하다. 현재 대부분의 검사실에서는 API 20C Aux (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France) 혹은 Vitek Yeast Biochemical Card (YBC, Hazelwood, Mo., USA) 등의 상품화된 방법으로 *Candida* spp.에 의한 진균증을 진단하고 있는데 양성배양 검출 후에도 균을 동정하기까지는 2-3일이 필요하다[11,12].

현재까지 효모양 진균의 동정을 위한 여러 chromogenic medium이 소개되고 있는데, 최근 Candida ID가 개발되었다[13-21]. Willinger 등[13]에 의하면 임상적으로 중요한 효모양 진균을 좀더 빠르고 쉽게 분리할 수 있는 Candida ID에 의해 *C. albicans*를 24시간 배양 후 96.8%,

접수번호 : CM 6-2-11

교신저자 : 이미애

(158-710) 서울특별시 양천구 목동 911-1

이대부속 목동병원 진단검사의학과

TEL : (02)2650-5222 FAX : (02)2654-7948

E-mail : miae@mm.ewha.ac.kr

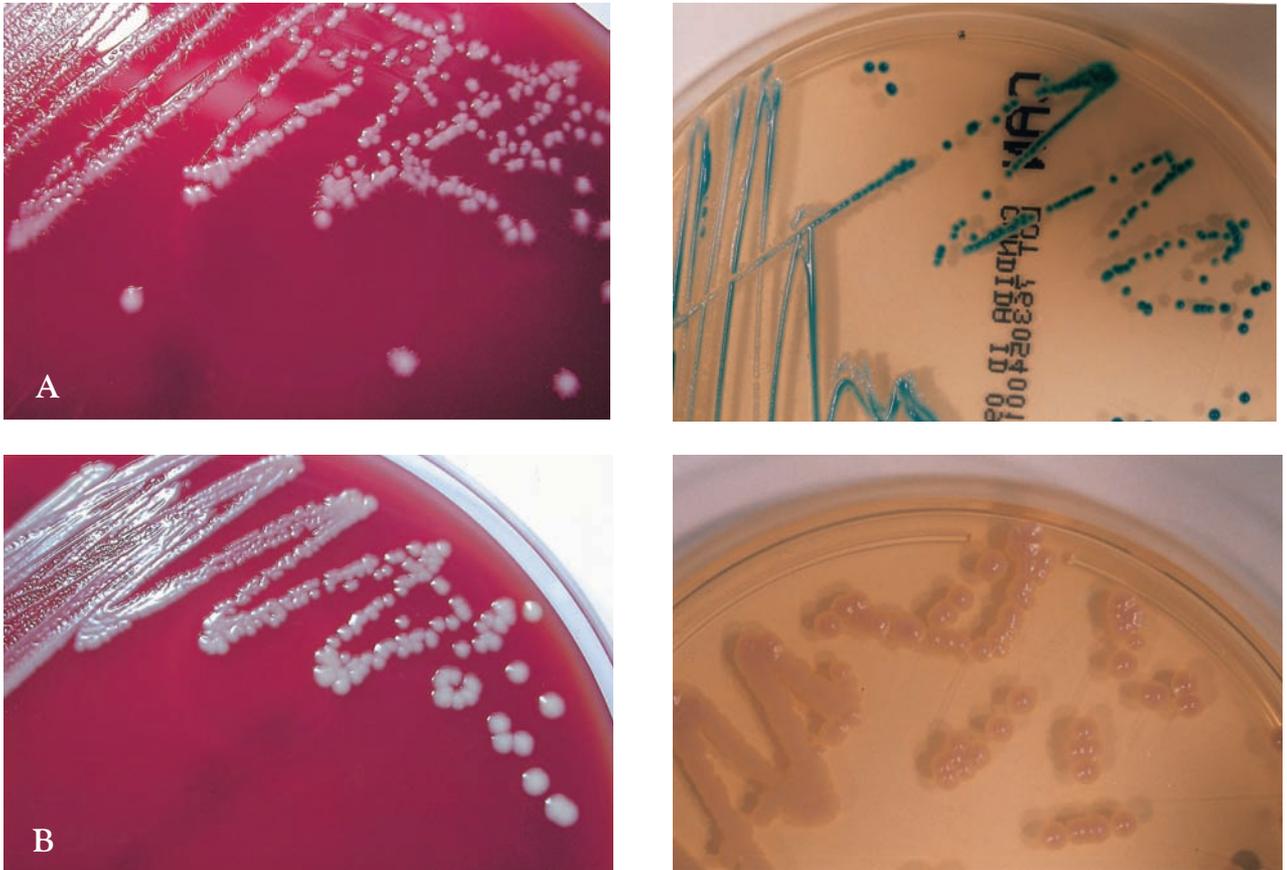


Fig. 1. Appearance of colonies on BAP (left) and Candida ID (right) after 48h of incubation. (A) *C. albicans*, (B) *C. tropicalis*.

Table 1. Identification of clinical yeast isolates by Candida ID and BAP

Species	Colony color on Candida ID	Colony characteristics on BAP
<i>C. albicans</i>	pale blue to dark blue	cream colored, pasty, smooth footlike extensions from the margins of the colonies
<i>C. tropicalis</i>	pink	creamy with mycelial fringe
<i>C. parapsilosis</i>	creamy-white	creamy, sometimes developing a lacy appearance
<i>C. glabrata</i>	creamy-white	small yeastlike colonies, pasty, smooth, white to cream
<i>C. guilliermondii</i>	pink	flat, glossy, smooth edged, and usually cream colored

48시간 배양 후 99.7%까지 동정할 수 있다고 한다. 저자들은 Germ tube 검사 및 Vitek YBC에 의해 동정된 효모양 진균 200주를 대상으로 최근 새로 소개된 Candida ID (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France)의 유용성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

2001년 4월부터 8월까지 이화대학 부속 목동병원 진단 검사학과에 의뢰되었던 일반 세균 및 진균 배양에서

분리된 효모양 진균 중 Germ tube 검사 및 Vitek YBC에 의해 동정되었던 *C. albicans* 82주, *C. tropicalis* 91주, *C. parapsilosis* 8주, *C. glabrata* 15주, *C. guilliermondii* 3주 및 *C. lusitanae* 1주의 총 200주의 *Candida* spp.를 대상으로 Candida ID와 비교하였다.

2. 방법

혈액 한천 배지나 SDA (Sabouraud dextrose agar)에서 자란 집락의 모양을 관찰하여 *Candida* spp.가 의심된 균주의 순수 집락을 분리하여 Candida ID에 배양하였다. 4℃에 냉장 보관한 Candida ID는 사용하기 전에 실온에 두

어 배지 표면의 물기를 제거한 후 제조회사의 편람에 따라 동정하였으며, 접종 후 35℃의 어두운 곳에서 24시간에서 48시간까지 배양한 후 육안으로 관찰하고, Germ tube 검사 및 Vitek YBC에 의해 동정한 결과와 비교하여, 처음 동정하여 결과가 일치하지 않는 균주는 재동정을 실시하였다.

결 과

1. *Candida spp.*의 혈액한천배지 및 *Candida ID*에서의 집락 특징

*Candida spp.*는 *Candida ID*에 접종 후 24시간 배양 후에는 대부분의 *Candida spp.*에서 특징적인 집락의 색을 나타내었고, 특징적인 집락의 색을 나타내지 않았던 나머지 균주는 배양 48시간 후 균주별로 특징적인 색과 모양을 나타내었다. 각 *Candida spp.*의 혈액한천배지와 *Candida ID*에서의 특징적인 집락의 모양과 색은 다음과 같았다. *C. albicans*는 혈액한천배지에서 크림색의 평활한(smooth) 집락으로 집락의 가장자리에서 발모양의 빼죽한 돌기가 뺏어나갈 수 있으며 *Candida ID*에서는 푸른색의 집락(Fig. 1A.), *C. tropicalis*는 혈액한천배지에서 둥글고 평활한 집락으로 *Candida ID*에서는 분홍색의 집락(Fig. 1B.), *C. guilliermondii*는 혈액한천배지에서 윤기 있고 납작한(flat) 집락으로 *Candida ID*에서는 72시간까지 배양하였을 때 분홍색의 집락, *C. lusitaniae*는 둥글고 평활한 집락으로 *Candida ID*에서는 분홍색의 집락, *C. parapsilosis*는 혈액한천배지에서 작고 둥글고 평활한 집락으로 *Candida ID*에서는 흰색이나 크림색의 집락, *C. glabrata*는 혈액한천배지에서 작은 집락으로 *Candida ID*에서는 흰색이나 크림색의 집락을 보였다(Table 1).

2. *Candida ID*와 Vitek YBC의 동정 결과 비교

*Candida spp.*를 *Candida ID*로 동정한 결과는 Table 2와 같다. *Candida ID*에 의한 동정율은 24시간 배양 후 *C. al-*

bicans 100%, *C. tropicalis* 97.8%, *C. parapsilosis* 100%, *C. glabrata* 93.3%, *C. guilliermondii* 0%, *C. lusitaniae* 0%로서 Vitek YBC에 의한 동정과의 일치율은 평균 96.5%이었고, 48시간 배양 후 *C. albicans* 100%, *C. tropicalis* 98.9%, *C. parapsilosis* 100%, *C. glabrata* 93.3%, *C. guilliermondii* 33.3%, *C. lusitaniae* 100%로서 Vitek YBC에 의한 동정과의 일치율은 평균 98.0%이었다.

Vitek YBC로 *Candida spp.*를 동정하는 데 걸리는 시간은 48시간인 반면 *Candida ID* 배양법은 24시간만에 *C. albicans* 100%, *C. tropicalis* 97.8%로 흔히 분리되는 균종에서 높은 동정율을 보였다.

*Candida ID*에 의한 동정이 잘못된 예를 살펴보면, 푸른색을 나타낸 집락중에서 *C. albicans*가 아닌 균주는 *C. glabrata* 1주 및 *C. guilliermondii* 1주로 2.4%이었다. 분홍색을 나타낸 집락중에서 *C. tropicalis*가 아닌 것은 *C. guilliermondii* 1주 및 *C. lusitaniae* 1주로 2.2%이었고, 분홍색을 나타낸 집락은 모두 올바르게 동정되었다.

고 찰

최근 기회감염 효모양 진균이 증가추세에 있으며, 일부 균종에서는 fluconazole 내성을 보이는 균종이 나타나고 있다. 이에 다양한 효모양 진균의 빠르고 정확한 진단이 중요한데, 최근 효모양 진균의 빠른 예비동정을 위한 chromogenic medium이 소개되었다. 이중 현재까지 널리 알려진 배지로는 CHROMagar *Candida* (CHROMagar Company, Paris, France), Albicans ID (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France), Candiselect (Bio-Rad, Marnes la Coquette, France) 등이 있는데, 여러 저자들에 의하면 2-3일까지 배양한 결과 효모양 진균의 검출율은 약 85%이고 *C. albicans*의 일치율은 약 90%로 알려져 있다[13-22].

CHROMagar *Candida*는 *C. albicans* 이외에도 *C. tropicalis*, *C. krusei* 및 *Trichosporon spp.*를 예비동정할 수 있으며 Odds 등[17]에 의하면 *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*에 대한 동정율은 72시간까지 배양했을 때 모두 99% 이상이었으며, 다른 chromogenic media에서 위양성을 나타내는 주원인인 *C. tropicalis*를 동정할 수 있으며 최근 먼

Table 2. Identification results of various *Candida spp.* by *Candida ID*

Organisms	No. of tested	No. (%) of colored-colonies on <i>Candida ID</i> after 24h of incubation/No. after 48h			Correct identification rate (%) after 24h of incubation/after 48h
		blue	pink	white	
<i>C. albicans</i>	82	82(97.6)/82(97.6)	0	0	100/100
<i>C. tropicalis</i>	91	0	89(96.7)/90(97.8)	1(4.2)/1(4.2)	97.8/98.9
<i>C. parapsilosis</i>	8	0	0	8(33.3)/8(33.3)	100/100
<i>C. glabrata</i>	15	1(1.2)/1(1.2)	0	14(58.3)/14(58.3)	93.3/93.3
<i>C. guilliermondii</i>	3	1(1.2)/1(1.2)	0/1(1.1)	1(4.2)/1(4.2)	0/33.3
<i>C. lusitaniae</i>	1	0	0/1(1.1)	0	0/100
Total	200	84(100)/84(100)	89(96.7)/92(100)	24(100)/24(100)	96.5/98.0

역저하 환자에서 질병에 연관되고 항진균제에 대한 내성률이 증가하고 있는 *C. krusei*를 동정할 수 있다는 장점이 있다. 반면에 Freydiere 등[16]이 보고한 바에 의하면 CHROMagar Candida에서 24시간 배양 후 *C. albicans*에 대한 동정율이 11.6%로 56.5%인 Albicans ID 및 37.7%인 Candiselect보다 *C. albicans*를 빠르게 동정할 수 없었고, 72시간 배양 후에는 *C. albicans*에 대한 동정율이 CHROMagar Candida에서 88.6%, Albicans ID에서 92.8%, Candiselect에서 91.3%였다. Willinger 등[13]도 CHROMagar Candida에서 24시간 배양 후 *C. albicans*에 대한 동정율이 49.6%로 96.8%로 나타난 Candida ID와 비교하여 훨씬 낮았으나, 48시간 배양 후에는 *C. albicans*에 대한 동정율이 CHROMagar Candida에서 98.9%로 Candida ID에서 99.7%와 비슷하다고 보고하였다.

Candiselect는 *C. albicans*의 동정을 위한 chromogenic medium이지만 Freydiere 등[16]에 의하면 24시간 배양 후 *C. albicans*에 대한 동정율은 Albicans ID보다 낮았다. Albicans ID는 Freydiere 등[16]에 의하면 24시간 배양 후 *C. albicans*에 대한 동정율이 Candiselect와 CHROMagar Candida보다 높았으나 72시간까지 배양하면 동정율은 비슷하였다.

이번 평가에 사용된 Candida ID는 Albicans ID에 이어 bioMerieux에서 개발된 chromogenic medium으로 24시간 배양 후 *C. albicans*에 대한 동정율 및 *C. albicans*에 대한 전체 동정율을 더 개선하였고 혼합배양을 더 잘 구별하며 *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*를 분홍색 집락으로 구별해낼 수 있어서 항진균제에 대한 내성을 가지는 균주를 구별할 수 있는 능력을 향상시켰다[14]. Willinger 등[13]에 의하면 Candida ID에 의한 효모양 진균의 검출율은 97.7%, *C. albicans*의 일치율은 24시간 배양 후 96.8%, 48시간 배양 후 99.7%, 72시간까지 배양 후 100%이었다.

저자들의 평가 결과 *Candida* spp.의 균종별 Candida ID에서의 특징적인 색은 다른 보고들과 모두 일치하였고, 48시간 배양 후 *C. albicans*는 100%, *C. tropicalis*는 98.9%로 흔히 분리되는 균종에서 높은 동정율을 보였고, 24시간 배양 후 Candida ID에서 푸른색 집락중의 98%가 *C. albicans*이었고, 분홍색 집락중의 98%가 *C. tropicalis*이었다. 24시간 배양 후의 동정율은 *C. albicans* 100%로 다른 보고들[13,14,16]보다 높았으며, *C. tropicalis*에 대한 동정율은 48시간 배양 후 98%로 Willinger 등[13]에 의한 보고보다 높았다. 또한 Candida ID는 *C. tropicalis* 이외에도 *C. guilliermondii*, *C. kefyr* 및 *C. lusitaniae*에서 모두 분홍색의 집락을 나타내지만 혈액천천배지에서 집락의 모양을 같이 관찰하였을 경우에는 *C. tropicalis*는 특징적인 집락의 모양에 의해 다른 균종들과 구분이 가능하였다.

집락의 모양과 Candida ID를 병용하면 쉽고 편리하게 효모양 진균종을 동정할 수 있으므로, 흔히 분리되는 효모양 진균종의 동정 및 특별한 동정기가 없는 소규모

검사실에서 유용하게 사용될 수 있을 것이다. 특히 양성 의 혈액 배양액에서 *Candida* spp.의 동정까지 기존의 통상적 동정법은 평균 3일 이상 걸리는 반면[23] Candida ID는 24시간만에 흔히 분리되는 *C. albicans*와 *C. tropicalis*를 조기동정할 수 있어 칸디다혈증이 의심되는 경우에도 Candida ID가 임상적으로 유용할 것으로 생각된다.

요 약

배 경 : Candida ID는 임상적으로 중요한 효모양 진균을 예비 동정할 수 있는 비교적 최근에 개발된 배지이다. 저자들은 임상검체에서 분리된 효모양 진균을 동정하는데 있어서 Candida ID의 유용성을 알아보았다.

방 법 : 2001년 1월부터 2001년 8월까지 이화대학부 속목동병원에 의뢰된 임상검체에서 분리된 200주의 효모양 진균을 대상으로 Germ tube 검사 및 Vitek YBC에 의해 동정을 실시하고, 그 결과를 Candida ID (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France)와 비교하였다.

결 과 : Candida ID에 의한 동정율은 Vitek YBC에 의한 동정율과 비교하여 98.0%의 일치율을 보였으며, 특히 *C. albicans*는 100%, *C. tropicalis*는 98.9%의 일치율을 보였다. Candida ID에서 푸른색 집락을 보여 *C. albicans*로 동정된 84주 중에서 82주(98%)는 Vitek YBC에 의해 *C. albicans*로 올바르게 동정되었으나, 나머지 2주는 *C. glabrata* 1주 및 *C. guilliermondii* 1주이었다. 또 Candida ID에서 분홍색 집락을 나타낸 92주 중에서 90주(98%)는 *C. tropicalis*, 1주는 *C. guilliermondii*, 1주는 *C. lusitaniae*로 각각 동정되었다.

결 론 : Candida ID는 임상 검체에서 주 원인균으로 분리되는 *Candida* spp.를 빠르고 쉽게 예비동정할 수 있어 임상적으로 유용할 것으로 생각되었다.

감 사

본 연구에 배지를 제공해주신 (주)비오메리외 코리아에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Kiehn TE, Edwards FF, Armstrong D. *The prevalence of yeasts in clinical specimens from cancer patients. Am J Clin Pathol.* 1980;73:518-21.
2. Komshian SV, Uwaydah AK, Sobel JD, Crane LR. *Fungemia caused by Candida species and Torulopsis glabrata in the hospitalized patient: frequency, characteristics, and evaluation of factors influencing outcome. Rev Infect Dis.* 1989;11:379-90.
3. Anaissie E, Bodey GP, Kantarjian H, Ro J, Vartivarian SE, Hopfer R, et al. *New spectrum of fungal infections in*

- patients with cancer. *Rev Infect Dis.* 1989 ;11:369-78.
4. 이미애 및 홍기숙. 최근 2년간 임상검체에서 분리된 진균에 대한 고찰. *임상병리와 정도관리.* 1994;16:249-56.
 5. Goldani LZ and Mario PS. *Candida tropicalis fungemia in a tertiary care hospital.* *J Infect.* 2003;46:155-60.
 6. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Duna-gan WC. *Candidemia in a tertiary care hospital: epi-demiology, risk factors, and predictors of mortality.* *Clin Infect Dis.* 1992;15:414-21.
 7. Baran J Jr, Muckatira B, Khatib R. *Candidemia before and during the fluconazole era: prevalence, type of spe-cies and approach to treatment in a tertiary care com-munity hospital.* *Scand J Infect Dis.* 2001;33:137-9.
 8. Diekema DJ, Messer SA, Brueggemann AB, Coffman SL, Doern GV, Herwaldt LA, et al. *Epidemiology of candi-demia: 3-year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study.* *J Clin Micro-biol.* 2002;40:1298-302.
 9. Collin B, Clancy CJ, Nguyen MH. *Antifungal resistance in non- albicans Candida species.* *Drug Resist Updat.* 1999;2:9-14.
 10. Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. *Resistance of Candida species to fluconazole.* *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39:1-8.
 11. Land GA, Harrison BA, Hulme KL, Cooper BH, Byrd JC. *Evaluation of the new API 20C strip for yeast identi-fication against a conventional method.* *J Clin Microbiol.* 1979;10:357-64.
 12. El-Zaatari M, Pasarell L, McGinnis MR, Buckner J, Land GA, Salkin IF. *Evaluation of the updated Vitek yeast identification data base.* *J Clin Microbiol.* 1990;28:1938-41.
 13. Willinger B, Hillowoth C, Selitsch B, Manafi M. *Perfor-mance of candida ID, a new chromogenic medium for presumptive identification of Candida species, in compa-ri-son to CHROMagar Candida.* *J Clin Microbiol.* 2001;39:3793-5.
 14. Fricker-Hidalgo H, Orenge S, Lebeau B, Pelloux H, Bre-nier-Pinchart MP, Ambroise-Thomas P, et al. *Evaluation of Candida ID, a new chromogenic medium for fungal isolation and preliminary identification of some yeast species.* *J Clin Microbiol.* 2001;39:1647-9.
 15. Hoppe JE and Frey P. *Evaluation of six commercial tests and the germ-tube test for presumptive identification of Candida albicans.* *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999;18:188-91.
 16. Freydiere AM, Buchaille L, Gille Y. *Comparison of th-ree commercial media for direct identification and disc-rimination of Candida species in clinical specimens.* *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1997;16:464-7.
 17. Odds FC and Bernaerts R. *CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identifi-cation of clinically important Candida species.* *J Clin Microbiol.* 1994 ;32:1923-9.
 18. Powell HL, Sand CA, Rennie RP. *Evaluation of CHRO-Magar Candida for presumptive identification of clinica-ly important Candida species.* *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1998;32:201-4.
 19. Koehler AP, Chu KC, Houang ET, Cheng AF. *Simple, reliable, and cost-effective yeast identification scheme for the clinical laboratory.* *J Clin Microbiol.* 1999;37:422-6.
 20. Contreras I, San-Millan R, Agustin-Barrasa A, Ponton J, Quindos G. *Utility of Albicans ID plate for rapid identi-fication of Candida albicans in clinical samples. Rapid identification of Candida albicans.* *Mycopathologia.* 1996;136:17-20.
 21. De Champs C, Lebeau B, Ambroise-Thomas P, Grillot R. *Evaluation of Albicans ID plates.* *J Clin Microbiol.* 1995;33:2227-8.
 22. Baumgartner C, Freydiere AM, Gille Y. *Direct identifi-cation and recognition of yeast species from clinical ma-terial by using albicans ID and CHROMagar Candida plates.* *J Clin Microbiol.* 1996;34:454-6.
 23. Jordan JA and Durso MB. *Rapid Speciation of the Five Most Medically Relevant Candida Species Using PCR Amplification and a Microtiter Plate-Based Detection System.* *Mol Diagn.* 1996;1:51-8.