

임상검체와 의료진에서 분리된 *Candida parapsilosis*에 대한 분자역학적 연구

전남대학교 의과대학 진단검사의학교실, 내과학교실*

신종희 · 신동현* · 송정원 · 박미라 · 김광진 · 조 덕 · 기승정 · 서순팔 · 양동욱

Molecular Typing of *Candida parapsilosis* Isolates from Patients and Healthcare Workers by Pulsed-Field Gel Electrophoresis

Jong Hee Shin, M.D., Dong Hyeon Shin, M.D.*, Jeong Won Song, Ph.D., Mi Ra Park,
Kwang Jin Kim, M.D., Duck Cho, M.D., Seung Jung Kee, M.D. Soon Pal Suh, M.D.
and Dong Wook Ryang, M.D.

Departments of Laboratory Medicine and Internal Medicine*,
Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

Background : The epidemiology of *Candida parapsilosis* is still undefined and may involve sources such as hospital environment and hands of healthcare workers (HCWs). We performed molecular typing of *C. parapsilosis* isolates from intensive care unit (ICU) patients and to compare these with isolates from ICU HCWs.

Methods : A total of 57 *C. parapsilosis* strains including isolates from blood (n=20) and central venous catheter (n=14) of patients and isolates from hands of HCWs (n=23) were analyzed. All the isolates were collected from candidemic patients (n=20) and HCWs (n=18) of two ICUs during January 1999 to December 2000. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis were performed by electrophoretic karyotyping and restriction endonuclease analysis of genomic DNA using *Sfi*I.

Results : PFGE separated 57 isolates into 37 distinct types. For bloodstream isolates, a total of 18 different

DNA types were identified among 20 isolates from 20 patients: two strain types (K1 and K13) were shared by four isolates from four patients. The catheter strains from each patient exhibited the same PFGE pattern with bloodstream isolates. Of 23 strains from 18 HCWs, a total of 20 different DNA types were identified: 3 strain types shared by 6 isolates from 6 HCWs. Only one of the PFGE types of the HCWs was shared with patient isolates; an isolate with the same K13 pattern as isolates of two patients was found the hands of HCW.

Conclusion : This suggest that although *C. parapsilosis* isolates have a high level of genetic diversity, nosocomial transmission may occur among ICU patients and HCWs via hands. (Korean J Infect Dis 34:311~317, 2002)

Key Words : *Candida parapsilosis*, PFGE, Healthcare workers, Candidemia, Central venous catheter

서 론

* 이 논문은 2000년 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

접수 : 2002년 9월 19일, 승인 : 2002년 10월 5일
교신저자 : 신종희, 전남대학교병원 진단검사의학과
Tel : 062)220-5342, Fax : 062)224-2518
E-mail : shinjh@chonnam.ac.kr

과거 비병원균으로 알려진 *Candida parapsilosis*는 최근 칸디다혈증의 주요 원인균으로 부상하고 있다¹⁻⁴⁾. 일부 병원 에서 *C. parapsilosis*는 혈류 감염 원인균의 30~50%를 차지하며 *Candida albicans*나 *Candida tropicalis*보다 높은 빈

도를 보임이 보고되었다^{3,6)}. 또 중환자 집중치료실 등에서 *C. parapsilosis*에 의한 혈류 감염의 집단발생도 드물지 않게 보고되고 있다⁷⁾. 증가하는 *C. parapsilosis*에 의한 병원 감염의 빈도를 줄이기 위해서는 균 감염의 획득 기전과 전파 경로를 알아내는 것이 필요하다.

*C. parapsilosis*가 인체 혈류 감염을 일으키는 병원체는 아직 확실히 정립되어 있지 않으나, 주로 입원환자에서 광범위 항생제 사용, 혈관 카테터의 사용, 침습적 처치, 정맥 영양요법 및 인공물질의 사용 등과 연관되어 감염이 발생한다고 알려져 있다^{5,6)}. 특히 *C. parapsilosis*는 최근 중심정맥관 사용과 관련되어 혈류 감염을 유발함이 자주 보고되고 있는데, 이는 *C. parapsilosis*가 높은 농도의 당에서 증식하여 혈관 카테터 등의 인공물질에 biofilm을 형성하는 능력과 관계된다고 설명되고 있다^{8,9)}. Shin 등⁴⁾은 혈액에서 분리된 *C. parapsilosis*의 biofilm의 형성능은 중심정맥관을 통해 정맥 영양요법을 받은 환자에서 분리된 경우 그렇지 않은 경우에 비해 더 높았다고 하였다. *C. parapsilosis*는 다른 칸디다균종과는 달리 인체 점막내 전지균자(colonization)가 선행되지 않고도 혈류 감염을 일으키기 때문에, 손이나 환경에 흔히 존재하는 외인성 균이 혈관카테터 등을 통해 들어와 칸디다혈증이 발생하리라 추측되고 있다^{2, 5, 10, 11)}.

최근 전남대학교병원에서는 *C. parapsilosis*에 의한 혈류 감염이 증가함을 주지되었는데^{3, 4, 10)}, 대부분 중심정맥관 사용과 관련된 감염이었다^{3, 4)}. 또 병원의료진을 대상으로 칸디다의 보유 유무를 조사하였는데, 대상 의료진 중 약 20%의 손에서 *C. parapsilosis*가 분리됨을 관찰하였다¹⁰⁾. 저자들은 최근 2년간 전남대학교병원 집중치료실 환자의 혈액과 중심정맥관에서 분리된 *C. parapsilosis*의 염색체 DNA의 유전학적 특성을 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)법을 이용하여 분석하고, 이를 집중치료실에 근무하는 의료진에서 분리된 균주와 비교하여 보았다.

재료 및 방법

1. 대상 균주

1999년 1월부터 2000년 12월 사이에 전남대학교병원 집중치료실 환자와 의료진에서 분리된 *C. parapsilosis* 총 57주를 대상으로 하였다. 즉, 진균혈증 환자의 혈액배양에서 분리된 20주(20명)와 중심정맥관에서 분리된 14주(14명), 그리고 의료진의 손에서 분리된 23주(18명) 등이었다. 대상이 된 집중치료실은 두 곳으로서, 통합 내외과 집중치료실과 신생

아 집중치료실이었는데, 2년 동안 각각 10명의 환자의 혈액에서 *C. parapsilosis*가 분리되었다(Table 1). 의료진에서 분리된 균주는 1999년 9월과 2000년 8월 두 차례에 걸쳐 중환자실 감시배양을 실시하였는데, 의료진 121명의 손을 감시배양 결과로 18명(14.9%)에서 얻어진 23주였다(Table 2). 균의 동정은 배양에서 얻은 칸디다를 혈액한천배지나 Sabouraud dextrose agar (SDA)에 계대배양한 후 발아판 시험, API 20C (BioMeriux, Marcy l'Etoile, France), ATB 32C (BioMeriux), cornmeal agar 형태관찰 및 CHROMagar *Candida* 등을 이용하여 시행하였다^{12, 13)}. *C. parapsilosis*로 동정된 균은 20% skim milk에서 -70℃에 보관하였다.

2. 미생물 검사

혈액배양은 BACTEC 9240 system (Becton Dickinson, Towson, USA)을 이용하였다. 간기하면, 임상적으로 균혈증이나 진균혈증이 의심된 환자에서 6~10 mL를 채혈하여 이중 3~5 mL씩을 호기성 및 혐기성 배양 병 (BACTEC Plus Aerobic/F 및 BACTEC Plus Anaerobic/F medium 혹은 BACTEC PEDS Plus/F medium)에 넣고 배양 병은 35℃ 내지 37℃에서 배양하여 BACTEC이나 Vital 기계에서 CO₂ 생산량을 측정하여 양성으로 판정될 때까지 혹은 5일간 배양하였다. 양성인 혈액 배양병은 배양액 일부를 취하여 그람 염색하고 계대 배양을 시행하여 동정을 실시하였다.

반정량적 중심정맥관 tip 배양은 제거된 중심정맥관 tip을 무균적으로 처리하여 말단 5 cm 길이로 잘라 2시간 이내에 직경 100 mm 혈액한천 평판배지의 표면에 멸균된 핀셋을 이용하여 4회 앞뒤로 굴린 다음 37℃에서 48시간 배양후 동정검사를 시행하였다. 말초혈액에서 분리 배양된 동일한 균이 중심정맥관 tip 배양검사법에서 15개 이상의 집락 수가 관찰되면 양성으로 판정하였다¹³⁾. 또 의료진의 손에서 칸디다의 검출은 CHROMagar *Candida*를 이용하여 시행하였다^{10, 11)}.

3. PFGE 분석

PFGE 분석은 Genepath system (Bio-Rad, Hercules, Calif., USA)을 사용하여 보고된 방법들^{3, 10, 11)}을 변형하여 시행하였다. 먼저 핵형 분석(karyotyping)을 실시한 다음, 동일 핵형 양상을 보이는 균주에 대해서는 염색체 DNA의 *Sfi*I 제한효소 분석을 추가로 실시하여 비교하였다. 간기하면, 먼저 순수 배양된 집락 1개를 10 mL의 yeast extract-peptone-dextrose (YEPD) 액체배지에 잘 풀고 30℃에 18~48시간 배양하였다. 균 부유액을 1,500 rpm으로 4℃에서 15분간 원심

분리한 후 침사 세포를 1.5 mL의 microcentrifuge tube로 옮기고 1 mL의 차가운 세척액(50 mM EDTA, pH 8.0)으로 3회 세척하였다. 균 농도는 UV spectrophotometer를 이용하여 610 nm에서 OD값을 맞추어 조절하였다. 균 침사액에 40 U lyticase (Sigma, St. Louis, Mo, USA)가 든 50 mM EDTA 100 μ L를 넣어 피펫을 이용하여 상하로 잘 섞었다. 1.6% CleanCut agarose (Chromosomal Grade Agarose, 125 mM EDTA, Bio-Rad)를 전자 렌지에서 녹인 후 50~55°C에 두었다가, 시험관에 100 μ L를 넣고 동량의 균액과 vortex하여 잘 섞고, 혼합액을 mold에 넣고 실온에서 15~20분간 굳혔다. 완성된 plug는 100 U lyticase가 든 50 mM EDTA 500 μ L에서 37°C에서 2시간 배양한 후 1 mL의 증류수로 1회 세척하였다. 1 mL의 완충액(50 mM EDTA)와 30 μ L proteinase K (6 U, Gibco BRL, Life technologies, Gaithersburg, MD, USA)의 혼합액으로 50°C에서 16시간에서 20시간까지 배양하고 1 mL의 증류수로 1회 세척하였다. Plug를 100 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) 15 μ L를 넣은 EDTA 액 1 mL에 넣어 상온에서 30분간 2회 배양하고 TE buffer (100 mM Tris, pH 7.5 및 100 mM EDTA) 1 mL로 2시간 4°C 두고 1시간 간격으로 총 5회 이상 세척하였다.

핵형 분석을 위해서는 제한효소 처리 전에 PFGE 전기영동을 실시하였다. 전기영동은 GenePath system (Bio-Rad)를 이용하여 실시하였다. 전기영동 조건은 13°C에서 ramp time을 120초부터 280초까지 200 V로 48시간으로 하여 500~200 kb의 염색체가 잘 보이도록 하였다. 동일 핵형을 보인 경우는 *Sfi*I를 이용한 제한효소 분석을 추가로 실시하였다. *Sfi*I (Cambio, Cambridge, England) 제한효소 분석을 위해서는 각 plug를 제한효소 buffer 100 μ L에 담구어 4°C에 1시간 둔 후 처리하였다. *Sfi*I 제한효소는 30 U로 50°C에서 16시간 처리한 후 다시 5 U로 1시간 더 처리하였다. 전기영동은 제한효소 처리된 plug를 1% Pulsed Field Certified Agarose (Bio-Rad)에 삽입하고 0.5X TBE buffer (10X TBE, 89 mM Tris base, 89 mM boric acid, 및 2.5 mM disodium EDTA)에서 실시하였다. 전기영동 조건은 13°C에서 ramp time을 120초부터 280초까지로 하여 200 V로 48시간으로 하였다. Mass standards로는 *Saccharomyces cerevisiae* (Bio-Rad) 등을 사용하였다. 전기영동이 끝난 후 0.5 μ g/mL ethidium bromide로 30분간 염색한 뒤 UV 광선을 투과하여 polaroid camera로 촬영하였다. 육안분석 후 PFGE 분석의 해석은 1개 이상의 band가 다른 다른 균으로 간주하였다³⁾.

결 과

1. 임상검체에서 분리된 균주의 핵형 분석

20명의 혈액에서 분리된 *C. parapsilosis* 20주는 18가지형

Table 1. Summary of Data for *C. parapsilosis* Strains Isolated from Patients

Pt. No.	Isolate No.	Isolation (mo/yr)	Unit	Source	Genotype by EK
1	1	Jan/1999	ICU	Blood	K1
	1c	Jan/1999	ICU	Central venous catheter	K1
2	2	Feb/1999	ICU	Blood	K1
	2c	Feb/1999	ICU	Central venous catheter	K1
3	3	June/1999	ICU	Blood	K2
	3c	July/1999	ICU	Central venous catheter	K2
4	4	July/1999	ICU	Blood	K3
	4c	July/1999	ICU	Central venous catheter	K3
5	5	Aug/1999	ICU	Blood	K4
	6	Sep/1999	ICU	Blood	K5
6	6c	Sep/1999	ICU	Central venous catheter	K5
7	7	Sep/1999	ICU	Blood	K6
	7c	Sep/1999	ICU	Central venous catheter	K6
8	8	Sep/2000	ICU	Blood	K7
	8c	Sep/2000	ICU	Central venous catheter	K7
9	9	Nov/2000	ICU	Blood	K8
	9c	Nov/2000	ICU	Central venous catheter	K8
10	10	Dec/1999	ICU	Blood	K9
11	11	Feb/1999	NICU	Blood	K10
12	12	June/1999	NICU	Blood	K11
	12c	June/1999	NICU	Central venous catheter	K11
13	13	July/1999	NICU	Blood	K12
14	14	July/1999	NICU	Blood	K13
	14c	July/1999	NICU	Central venous catheter	K13
15	15	Aug/1999	NICU	Blood	K13
	15c	Aug/1999	NICU	Central venous catheter	K13
16	16	Oct/1999	NICU	Blood	K14
17	17	Jan/2000	NICU	Blood	K15
18	18	Aug/2000	NICU	Blood	K16
	18c	Aug/2000	NICU	Central venous catheter	K16
19	19	Aug/2000	NICU	Blood	K17
	19c	Aug/2000	NICU	Central venous catheter	K17
20	20	Aug/2000	NICU	Blood	K18
	20c	Aug/2000	NICU	Central venous catheter	K18

ICU, a medicosurgical intensive care unit; NICU, a neonatal intensive care unit; EK, electrophoretic karyotyping

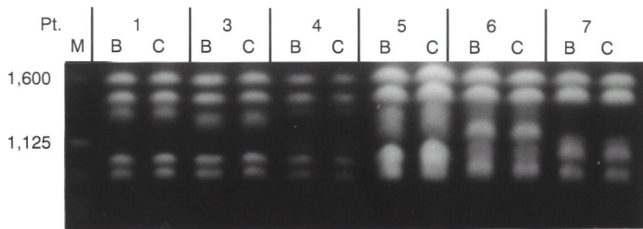


Figure 1. Electrophoretic karyotype patterns of representative *C. parapsilosis* isolates from blood (B) and CVC (C) from six patients (patients 1 and 3~7). The CVC strain from each patients exhibited the same karyotype pattern with the blood isolate. Isolates from six different patients showed six different karyotypes. M, *Saccharomyces cerevisiae* chromosomal DNA size standards. Sizes are shown in kilobases on the left.

의 핵형으로 구분되었다. 즉, 20주 중 16주는 각기 다른 PFGE 핵형 양상을 보인 반면, 집중치료실 환자 4명에서 분리된 4주(20%)는 2가지 유형(K1 및 K13형)을 공유하였다(Table 1). K1형은 1999년 1월과 2월에 집중치료실에 입원한 환자 2명의 혈액과 중심정맥관에서 분리된 4주였고, K13형은 1999년 7월과 8월에 신생아집중치료실에 입원한 2명 환자의 혈액과 중심정맥관에서 분리된 총 4주이었다. 14명의 중심정맥관에서 분리된 *C. parapsilosis* 14주는 모두 각각의 혈액에서 분리된 균과 동일한 핵형을 보였다(Table 1, Figure 1).

2. 의료진에서 분리된 균주의 핵형 분석

전체 23주는 핵형 분석에 의해 모두 20가지형으로 구분되었고, 6주(26.1%)가 3가지의 동일한 유형(K21형, K22형 및 K34형)을 공유하였다. 이 중 K21형은 집중치료실 의료진에서 1999년 9월에 분리된 2주이었고, K22형은 집중치료실 의료진에서 2000년 8월에 분리된 2주였다. 또 K34형은 2000년 8월에 신생아집중치료실 의료진 2명에서 분리되어 동일한 핵형의 균주는 동일 집중치료실에서 유사한 기간에 분리되었다. 전체적으로 18명의 의료진 중 14명에서는 각각 한 주씩의 *C. parapsilosis*가 분리되었으나, 3명(의료진 29, 31 및 38번)에서는 동일인에서 분리된 2주가 각각 핵형이 서로 달랐고, 1명(의료진 32번)에서 핵형이 다른 3주가 분리되었음이 확인되었다(Table 2, Figure 2).

3. 임상검체와 의료진에서 분리된 균주 PFGE 소견 비교

5가지 동일한 핵형을 보인 10주를 포함한 13주를 대상으로 염색체 DNA를 *Sfi*I 제한효소로 분해하여 분석한 소견은 Figure 3과 같다. 대조 균주인 *C. parapsilosis* ATCC 22019는 전남대병원 환자나 의료진에서 분리된 균주와는 전혀 다

Table 2. Summary of Data for *C. parapsilosis* Strains Isolated from Healthcare Workers (HCW)

HCW No.	Isolate No.	Isolation (mo/yr)	Unit	Source	Genotype by EK
21	21	Sep/1999	ICU	Hand	K19
22	22	Sep/1999	ICU	Hand	K20
23	23	Sep/1999	ICU	Hand	K21
24	24	Sep/1999	ICU	Hand	K21
25	25	Aug/2000	ICU	Hand	K22
26	26	Aug/2000	ICU	Hand	K23
27	27	Aug/2000	ICU	Hand	K24
28	28	Aug/2000	ICU	Hand	K22
29	29a	Sep/1999	NICU	Hand	K25
	29b	Sep/1999	NICU	Hand	K26
30	30	Sep/1999	NICU	Hand	K27
31	31a	Sep/1999	NICU	Hand	K28
	31b	Sep/1999	NICU	Hand	K29
32	32a	Sep/1999	NICU	Hand	K30
	32b	Sep/1999	NICU	Hand	K31
	32c	Sep/1999	NICU	Hand	K32
33	33	Sep/1999	NICU	Hand	K13
34	34	Aug/2000	NICU	Hand	K33
35	35	Aug/2000	NICU	Hand	K34
36	36	Aug/2000	NICU	Hand	K34
37	37	Aug/2000	NICU	Hand	K35
38	38a	Aug/2000	NICU	Hand	K36
	38b	Aug/2000	NICU	Hand	K37

ICU, a medicosurgical intensive care unit; NICU, a neonatal intensive care unit

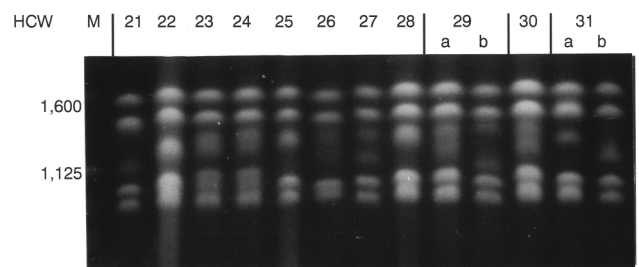


Figure 2. Electrophoretic karyotype patterns of *C. parapsilosis* isolates from 11 healthcare workers (HCW 21 to 31). Two patterns were shared by four isolates (23 and 24; 25 and 28). The two isolates from each of two HCWs (29 and 31) had two different karyotypes. M, *S. cerevisiae* chromosomal DNA size standards. Sizes are shown in kilobases on the left.

른 핵형과 *Sfi*I 분석 소견을 보였으며, 핵형 분석 소견이 서로 동일한 균주들은 각각 서로 동일한 염색체 DNA의 *Sfi*I

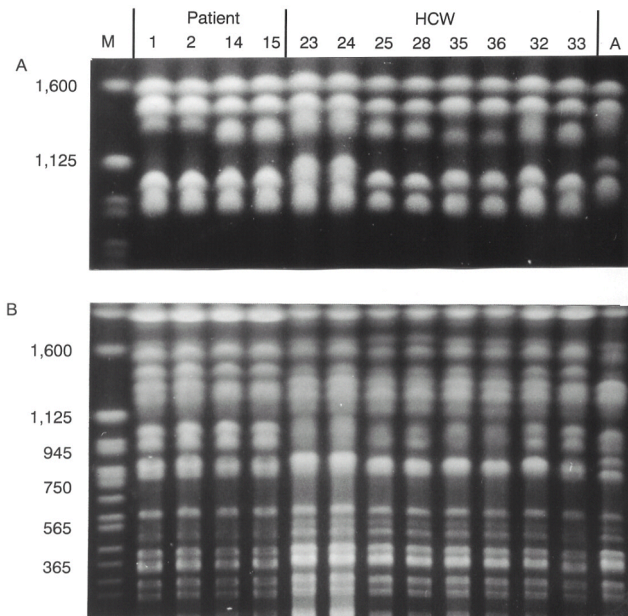


Figure 3. PFGE patterns by electrophoretic karyotyping (A) and restriction endonuclease analysis of genomic DNA using *Sfi*I (B) in some selected strains of *C. parapsilosis*. Two PFGE types were shared by four isolates (1, 2, 14 and 15) from four patients, and three types were shared by six isolates (23, 24, 25, 28, 35 and 36) from six HCWs. The isolates from two patients (14 and 15) and one HCW (33) showed the same PFGE pattern. A, *C. parapsilosis* ATCC 22019. M, *S. cerevisiae* chromosomal DNA size standards. Sizes are shown in kilobases on the left.

분해 소견을 보였다. 그런데 서로 명백히 다른 핵형을 보인 균주간에 *Sfi*I 분해 소견을 비교해 보았을 때 1-2 band를 제외하고는 매우 유사한 양상을 보임이 관찰되었다.

의료진 손에서 분리된 균과 환자 균주를 비교해 보았을 때, 의료진에서 분리된 23주 중 한 주(의료진 33번)가 K13형으로서 두 명의 환자(환자 14 및 15번)에서 분리된 균주들과 동일 핵형과 *Sfi*I 분석 유형을 보임을 관찰할 수 있었다(Table 1, 2, Figure 3). 이 K13형의 균주들은 1999년 9월 신생아 집중치료실 의료진 한 명의 손과 1999년 7월과 8월에 신생아 집중치료실 환자 2명의 혈액과 중심정맥관에서 각각 분리된 5주이었다. 전체적으로 환자와 의료진에서 분리된 57주는 PFGE 분석에 의해 37가지형으로 구분되었다.

고 찰

최근 *C. parapsilosis*에 의한 혈류 감염이 증가하고 있는데, 이는 주로 혈관내 중심정맥관의 유지와 관계되며 의료진 등의 병원환경에 존재하는 균이 관여할 것으로 추정되고 있다^{2,7)}. 본 연구에서는 환자 혈액과 중심정맥관 등 임상 검

체에서 분리된 *C. parapsilosis*의 균주를 대상으로 PFGE 분석을 실시함으로써 동일 균(클론)에 의한 혈류 감염의 병원 내 전파 유무를 알아보고, 아울러 의료진의 손에서 분리된 균과 비교하여 연관성을 알아보고자 하였다.

*C. parapsilosis*는 핵형이 매우 다양하여, 핵형 분석이 *Bss*III 나 *Sfi*I에 의한 염색체 DNA분해 양상보다 균 감별에 더 유용하다고 알려져 있다. Pfaller 등⁸⁾은 *C. parapsilosis* 균주의 염색체 DNA를 *Bss*III 제한효소를 이용하여 분석한 결과, 검사한 *C. parapsilosis* 균주의 70%인 42주가 동일한 *Bss*III 형으로 구분되었고, 이 42주는 핵형 분석에 의해 13가지형으로 구분될 수 있었다고 하였다. 따라서 그들은 *C. parapsilosis*의 역학적 연구에는 핵형 분석만으로도 충분하다고 하였다. Shin 등³⁾은 동일인에서 연속 분리된 *C. parapsilosis* 균주를 이용하여 핵형 분석을 시행함으로써 서로 다른 환자에서 분리된 균주의 핵형이 각기 다르고 또 동일인에서 분리된 균주도 다르게 구분될 수 있음을 보고하였다. 본 연구에서는 57주를 대상으로 먼저 핵형 분석을 실시하였고 동일한 핵형을 보이는 경우 추가로 *Sfi*I 분석을 실시하여 보았다. 실제 *C. parapsilosis*의 핵형 양상은 제한효소 분석보다 band가 둔해 보이고(fuzzy band), 대개 1,600 kb에서 900 kb까지로 국한되어 동일 양상인지를 명확하게 구분하기 어려운 경우도 있었으나, 이 균주들은 동일 gel 상에서 나란히 배열하여 핵형 검사를 다시 시행함으로써 쉽게 구분할 수 있었다. 본 연구에서 *C. parapsilosis* 57주는 핵형 분석에 의해 37형으로 구분되었고 동일 핵형을 보이는 균주들을 대상으로 염색체 DNA의 *Sfi*I 제한효소 분석을 실시하였는데, 서로 명백히 다른 핵형을 보인 균주간에도 매우 유사한 *Sfi*I 양상이 관찰되었고, 핵형 분석에 의해 구분된 유형 이상으로 추가적 성적은 얻을 수 없었다.

*C. parapsilosis*는 의료진의 손에서 가장 자주 분리되는 칸디다이다. Strausbaugh 등¹¹⁾은 36명의 의료진을 대상으로 검사한 결과, 11명(30.6%)에서 *C. parapsilosis*가 분리되었다고 하였고, Shin 등¹⁰⁾도 의료진 77명 중 16명(20.8%)의 손에서 *C. parapsilosis*가 분리되어 *C. parapsilosis*는 의료진의 손에서 분리된 칸디다의 대부분을 차지하였다고 하였다. 본 연구의 대상은 중환자실 의료진에 대해 두 차례의 감시배양을 통해 얻어진 23주로서 이는 121명을 대상으로 하여 18명(14.9%)의 손에서 분리된 균주였다. 본 연구 결과, 의료진에서 분리된 23주는 PFGE 핵형 분석에 의해 모두 19가지형으로 구분되었고, 6주가 3가지의 동일한 유형을 공유하였다. 이는 의료진의 손에 보유하는 균주들은 매우 다양한 DNA 유형을 보이나, 의료진간에 일부 균주가 전파될 수 있

음을 보여주었다.

C. parapsilosis 진균혈증은 오염된 정맥영양액의 주입¹⁵⁻¹⁷⁾, 카테터에 전지균거후 감염^{2, 18)}, 인공판막 심내막염¹⁹⁾ 등이 관계된다고 보고되고 있다. 본 연구에서는 14명의 중심정맥관 관련 칸디다혈증 환자의 혈액과 중심정맥관에서 분리된 *C. parapsilosis* 균주를 대상으로 핵형 분석을 하여 서로 비교하여 보았는데, 환자별로 중심 정맥관에서 분리된 균주는 각각의 혈액에서 분리된 균과 동일한 핵형을 보여 카테터에서의 전지균거가 균의 감염 원인임을 확인할 수 있었다. 또 본 연구에서 혈액에서 분리된 *C. parapsilosis*는 유전학적으로 매우 다양하였으나, 집중치료실 환자 4명에서 분리된 4주(20%)는 2가지 유형(K1 및 K13형)을 공유하여 동일 균(클론)에 의한 혈류 감염의 병원체 전파를 시사하였다.

Levin 등²⁾은 *C. parapsilosis*에 의한 중심정맥관 관련 진균혈증 집단발생이 의료진의 손과 관계됨을 보고한 바 있다. 그들은 5명의 환자와 3명의 의료진에서 분리된 균이 두 가지 핵형을 보임을 보고하였다. 본 연구에서도 의료진의 손에서 분리된 균과 환자 균주를 비교해 보았을 때, 의료진에서 분리된 23주 중 한 주가 두 환자에서 분리된 균주와 동일 PFGE 유형을 보이고 이들이 유사한 시기에 동일 집중치료실에 있었음을 확인할 수 있었다. 이는 환자간 및 환자와 의료진간에 *C. parapsilosis* 전파를 시사하였고 또 집중치료실에서 의료진의 손을 통한 *C. parapsilosis* 혈류 감염이 발생할 가능성을 시사하였다. Shin 등³⁾은 중환자실 환자에서 때로 중심정맥관을 제거한 후에도 지속성 혹은 재발성으로 *C. parapsilosis* 진균혈증이 발생함을 주시하고, 원인 균주들에 대해 핵형 분석을 실시하고 중심정맥관 제거 전후로 비교하였다. 그 결과 처음 발생한 *C. parapsilosis* 진균혈증이 회복된 후 다시 발생한 감염의 대부분이 새로운 균주에 의한 감염을 증명하였다. 그들은 집중치료실에서 치료를 받고있는 중증 환자의 경우 새로운 *C. parapsilosis* 균주가 새 중심정맥관을 통해 외부로부터 유입되어 재감염이 발생하는 것으로 설명하였다. 본 연구는 의료진의 손에 다양한 핵형을 가진 *C. parapsilosis* 균주가 존재함을 확인시켜 주었고, 각 환자에서 중심정맥관에서 분리된 균주는 혈류 감염을 일으킨 균과 동일함을 증명하였다. 따라서 *C. parapsilosis*에 의한 칸디다혈증이 발생했을 경우 먼저 중심정맥관 관련성을 의심해야 하고, 특히 중심정맥관을 유지하고 있는 집중치료실 환자의 경우 중심정맥관의 무균 조작 및 손씻기 등을 철저히 하여 감염 예방 차원의 주의를 기울려야 할 것으로 생각된다.

결론적으로 본 연구는 최근 2년간 중환자실 환자 혈액과

중심정맥관에서 분리된 *C. parapsilosis*의 PFGE분석을 통해 혈류 감염은 주로 중심정맥관과 연관된 감염이며, 병원내 일부 동일균 전파의 가능성을 확인할 수 있었다. 또 한 명의 의료진에서 분리된 균주의 PFGE 유형이 2명의 환자에서 분리된 균주와 동일함이 관찰되었는데, 이는 환자와 의료진간에 *C. parapsilosis* 균 전파가 가능함을 시사하였다.

요 약

목 적 : *C. parapsilosis* 진균혈증의 발생기전은 확실하지는 않으나 다른 칸디다균종과는 달리 손이나 환경에 흔히 존재하는 외인성 균이 혈관카테터 등을 통해 들어와 발생하리라 추측되고 있다. 저자들은 집중치료실 환자의 혈액과 중심정맥관에서 분리된 *C. parapsilosis* 균주에 대해 PFGE 분석을 실시하고, 이를 의료진의 손에서 분리된 균주와 비교하여 보았다.

방 법 : 최근 2년간 집중치료실 칸디다혈증 환자 20명의 혈액(20주)과 중심정맥관 tip (14주)에서 분리된 34주 및 의료진의 손에서 분리된 23주 등 총 57주의 *C. parapsilosis*를 대상으로 PFGE 분석을 실시하였다. PFGE 분석은 karyotyping과 *Sfi*I를 이용한 제한효소 분석을 실시하였다.

결 과 : 전체적으로 57주는 PFGE분석에 의해 37가지형으로 구분되었다. 혈액에서 분리된 20주는 18가지 유형의 PFGE 양상을 보였는데, 집중치료실 환자 4명에서 분리된 4주는 2가지 동일한 형(K1형 및 K13형)을 공유하였다. 중심정맥관에서 분리된 14주는 각 환자의 혈액에서 분리된 균과 동일한 형이었다. 의료진에서 분리된 23주는 모두 20가지형을 보였는데, 6주는 3가지형을 공유하였다. 의료진과 환자에서 분리된 균주의 PFGE 소견을 비교하였을 때, 의료진에서 분리된 1주가 환자(2명) 균주와 동일한 유형(K13형)을 보였다.

결 론 : 환자와 의료진에서 분리된 *C. parapsilosis*의 PFGE 양상은 매우 다양하였으나, 소수에서는 동일한 유형을 보였다. 이는 중환자실내 환자와 의료진간에 *C. parapsilosis*의 원내 전파가 가능함을 시사하였다.

감사의 글

이 논문은 2000년 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- 1) Girmenia C, Martino P, De Bernardis F, Gentile G, Boccanera M, Monaco M, et al.: Rising incidence of *Candida parapsilosis* fungemia in patients with hematologic malignancies: clinical aspects, predisposing factors, and differential pathogenicity of the causative strains. *Clin Infect Dis* 23:506-514, 1996.
- 2) Levin AS, Costa SF, Mussi NS, Basso M, Sinto SI, Machado C, et al.: *Candida parapsilosis* fungemia associated with implantable and semi-implantable central venous catheters and the hands of healthcare workers. *Diagn Microbiol Infect Dis* 30:243-249, 1998
- 3) Shin JH, Shin DH, Song JW, Kee SJ, Suh SP, Ryang DW: Electrophoretic karyotype analysis of sequential *Candida parapsilosis* isolates from patients with persistent or recurrent fungemia. *J Clin Microbiol* 39:1258-1263, 2001
- 4) Shin JH, Kee SJ, Shin MG, Kim SH, Shin DH, Lee SK, et al.: Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. *J Clin Microbiol* 40:1244-1248, 2002
- 5) Weems JJ Jr: *Candida parapsilosis*: epidemiology, pathogenicity, clinical manifestations, and antimicrobial susceptibility. *Clin Infect Dis* 14:756-766, 1992
- 6) Cassone A, De Bernardis F, Pontieri E, Carruba G, Girmenia C, Martino P, et al.: Biotypic diversity of *Candida parapsilosis* and its relationship to the clinical source and experimental pathogenicity. *J Infect Dis* 171:967-975, 1995
- 7) Welbel SF, Mcneil MM, Kuykendall RJ, Lott TJ, Pramanik A, Silberman R, et al.: *Candida parapsilosis* bloodstream infections in neonatal intensive care unit patients: epidemiologic and laboratory confirmation of a common source outbreak. *Pediatr Infect Dis J* 15:998-1002, 1996
- 8) Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ: Variation in DNA subtype, antifungal susceptibility, and slime production among clinical isolates of *Candida parapsilosis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 21:9-14, 1995
- 9) Branchini ML, Pfaller MA, Rhine-Chalberg J, Frempong T, Isenberg HD: Genotypic variation and slime production among blood and catheter isolates of *Candida parapsilosis*. *J Clin Microbiol* 32:452-456, 1994
- 10) 신종희, 임우현, 신동현, 서순팔, 양동욱: 임상검체와 의료진에서 분리된 *Candida Species*의 분석. *감염* 31: 481-486, 1999
- 11) Strausbaugh LJ, Sewell DL, Ward TT, Pfaller MA, Heitzman T, Tjoelker R: High frequency of yeast carriage on hands of hospital personnel. *J Clin Microbiol* 32:2299-2300, 1994
- 12) 신종희, 조 덕, 김수현, 변동익, Nolte FS, 양동욱: 혈액배양에서 CHROMagar *Candida*를 이용한 *Candida species*의 동정. *임상병리학회지* 17:128-136, 1997
- 13) Warren NG, Hazen KC: *Candida*, *cryptococcus* and other yeasts of medical importance. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. p 1184, Washington DC, American Society for Microbiology, 1999
- 14) Maki DG, Weise CE, Sarafin HW: A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N Engl J Med* 296:1305-1309, 1977
- 15) Solomon SL, Khabbaz RF, Parker RH, Anderson RL, Geraghty MA, Furman RM, et al.: An outbreak of *Candida parapsilosis* bloodstream infections in patients receiving parenteral nutrition. *J Infect Dis* 149:98-102, 1984
- 16) Weems JJ Jr, Chamberland ME, Ward J, Willy M, Padhye AA, Solomon SL: *Candida parapsilosis* fungemia associated with parenteral nutrition and contaminated blood pressure transducers. *J Clin Microbiol* 25: 1029-1032, 1987
- 17) Zancop-Oliveira RM, James MJ, Derossi AP, Sampaio JL, Muniz MM, Li RK, et al.: Strain characterization of *Candida parapsilosis* fungemia by molecular typing methods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19: 514-520, 2000
- 18) Huang YC, Lin TY, Leu HS, Peng HL, Wu JH, Chang HY: Outbreak of *Candida parapsilosis* fungemia in neonatal intensive care units: clinical implications and genotyping analysis. *Infection* 27:97-102, 1999
- 19) Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, Wenzel RP, Pfaller MA: An outbreak of *Candida parapsilosis* prosthetic valve endocarditis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 29: 147-153, 1997