

# Charakterystyka mikrobiologiczna i kliniczna grzybów z rodzaju *Malassezia*

Sebastian Gnat, Dominik Łagowski

z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Grzyby klasyfikowane w rodzaju *Malassezia* należą do patogenów oportunistycznych o istotnym znaczeniu klinicznym, które naturalnie bytują na skórze i sierści zwierząt (1). Główne jednostki chorobowe związane z tymi drożdżakami obejmują choroby dermatologiczne, a w przypadku znacznego obniżenia odporności mogą także przyczyniać się do wystąpienia zakażeń ogólnoustrojowych (2). Infekcje powierzchniowe powodowane przez te grzyby występują najczęściej w obszarach ciała o dużej zawartości substancji tłuszczowych, ze względu na lipidowe zapotrzebowanie tych patogenów. Dla większości gatunków lipidy są niezbędne do wzrostu i namnażania się (3). Dane naukowe wskazują, że u ludzi i zwierząt immunokompetentnych o prawidłowej barierze skórno-naskórkowej grzyby z rodzaju *Malassezia* wywierają efekt immunosupresyjny, co pozwala im przetrwać w roli komensala, natomiast w przypadku osobników z niedoborami odporności i najczęściej towarzyszącymi chorobami skóry grzyby stymulują odpowiedź zapalną, która przyczynia się do wystąpienia zmian skórnych (4).

## Historia badań nad drożdżami z rodzaju *Malassezia*

Historia taksonomii grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Malassezia* oraz opisu ich roli jako czynników etiologicznych infekcji powierzchniowych

u ludzi i zwierząt jest długa i bardzo ciekawa. Badania nad tymi grzybami prowadzone były przez cztery wieki na trzech kontynentach z wykorzystaniem od prostych metod obserwacji mikroskopowych, aż po współczesne techniki sekwencjonowania genomowego. Związek pomiędzy występowaniem *Malassezia* spp. a zmianami skórными po raz pierwszy opisał K.F. Eichstedt w 1846 r., na podstawie obserwacji strzępek grzybów u pacjenta chorującego na łupież pstry (*pityriasis versicolor*; 3). W 1853 r. C. Robin nazwał grzyby strzępkowe opisane przez Eichstedta jako *Microsporon furfur*, uważając, że należą one do grupy dermatofitów, a powodowana przez nie choroba skóry powinna nazywać się *tinea versicolor*. Następnie w 1874 r. F.L. Malassez zaobserwował mikroskopowo owalny i okrągły kształt komórek grzybów *Microsporon furfur* w zeszkrobinach naskórka od pacjentów z łupieżem pstrym. Na podstawie tych obserwacji wnioskuje, że grzyby te należy uznać za jednokomórkowe drożdże, a nie dermatofity (5). Nazwę rodzajową *Malassezia* zaproponował w 1889 r. C. Baillon na cześć wspomnianego wcześniej badacza. Późniejsze zamieszczenie taksonomiczne zostało zapoczątkowane w 1910 r. przez R. Sabourauda, wybitnego mykologa medycznego, który zaproponował nazwę *Pityrosporum malassezi* dla drożdży o komórkach kształtu butelkowatego, wywołujących łupież.

**Microbiological and clinical characteristics of *Malassezia* fungi**

Gnat S., Łagowski D., Sub-Department of Microbiology, Institute of Preclinical Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

Fungi classified into the genus *Malassezia*, are opportunistic pathogens with high clinical importance in veterinary medicine. The major disease entities associated with these yeasts, include dermatological conditions, e.g. otitis externa, pododermatitis, and dermatitis seborrhoica. Fungi from the genus *Malassezia* have a wide species-specific range of hosts, where they are present in either commensal or infectious state. There is a number of scientific reports describing diseases caused by these yeasts in cats, dogs, horses, goats, pigs and rabbits. To date, 18 species have been identified, including 17 lipid-dependent and 1 lipid-independent species, with *M. pachydermatis* isolated from animals most frequently. The lipid dependency of *Malassezia* spp., results from their inability to synthesize myristic acid, which is a precursor of long-chain fatty acids. The dimorphic *Malassezia* fungi can occur in natural conditions in both mycelial and yeast phases. In turn, the yeast stage dominates, when they are cultivated under *in vitro* conditions. The fungus reproduces by budding on a wide base from the same site on one pole (unipolar blastic growth); hence, yeast-like cells *in vitro* resemble bottles. The recommended treatment of these fungal infections is based on the use of shampoo with 2% miconazole and 2% chlorhexidine, twice a week. Additionally, as shown by research data, itraconazole and ketoconazole have high *in vitro* efficacy against all *Malassezia* species, whereas fluconazole and voriconazole exert a very weak effect. In this article a current research is presented, that is focused on the sequence analysis of the genomes of different *Malassezia* species, which may provide key information required for faster diagnosis, elucidation of the biochemical mechanisms of skin adaptation, and formulation of new drugs.

**Keywords:** *Malassezia*, diagnostics, pathogenicity, treatment, hosts, lipid dependency.

**Tabela 1.** Pozycja taksonomiczna grzybów z rodzaju *Malassezia*

Takson	Nazwa
Królestwo	Fungi
Typ	Basidiomycota
Klasa	Ustilagomycetes
Podklasa	Exobasidiomycetidae
Rząd	Malasseziales
Rodzaj	<i>Malassezia</i>
Gatunki	<i>M. furfur</i> <i>M. pachydermatis</i> (gatunek lipidoniezależny) <i>M. sympodialis</i> <i>M. globosa</i> <i>M. obtusa</i> <i>M. restricta</i> <i>M. slooffiae</i> <i>M. dermatitis</i> <i>M. nana</i> <i>M. japonica</i> <i>M. yamatoensis</i> <i>M. caprae</i> <i>M. equina</i> <i>M. cuniculi</i> <i>M. arunalokei</i> <i>M. brasiliensis</i> <i>M. psittaci</i> <i>M. verspertilionis</i>

W warunkach *in vitro* grzyby z rodzaju *Malassezia* wyhodowali i scharakteryzowali ich właściwości wzrostowe po raz pierwszy D. Castellani i A. Chalmers w 1913 r. Z weterynaryjnego punktu widzenia istotny jest rok 1925, kiedy to K. Weidman zaobserwował występowanie drożdży o komórkach w kształcie butelek u nosorożca indyjskiego (*Rhinoceros unicornis*) z uogólnionym złuszczeniem zapaleniem skóry (6). Istotną różnicą pomiędzy grzybami wyizolowanymi przez Weidmana w porównaniu z wcześniej opisywanym gatunkiem *M. furfur* była stosunkowo łatwa hodowla na rutynowych podłożach mykologicznych bez suplementacji lipidami. Weidman sklasyfikował drożdże w obowiązującym wówczas rodzaju *Pityrosporum*, z nazwą gatunku *P. pachydermatis*. Interesujące jest, że nosorożce szybko zareagowały na miejscowe leczenie 1% kwasem salicylowym w smalcu (6). W latach 1940–1960 nastąpiło wiele kontrowersyjnych zmian w taksonomii i opisie nowych gatunków, które zostały skorygowane dopiero w 1970 r. w *The Yeasts, a Taxonomic Study* (3). Osiągnięto wówczas kompromis, w którym wszystkie opisane drożdże *Malassezia* rosnące na podłożach bez lipidów sklasyfikowano w jednym gatunku *M. pachydermatis*.

### Współczesny podział taksonomiczny

W 1989 r. rodzaj *Malassezia*, znany również pod nazwą rodzajową *Pityrosporum*, obejmował tylko dwa gatunki: *M. furfur* (synonimy *P. ovale*, *P. orbiculare*), gatunek zależny od lipidów występujących na ludzkiej skórze i *M. pachydermatis* (synonim *P. pachydermatis*, *P. canis*), gatunek wyizolowany ze skóry zwierząt, zwłaszcza psów (3). W 1990 r. C. Simmons i D. Guého opisali nowy gatunek *M. sympodialis*, który charakteryzował się sympodialnym (rozgałęziającym się wieloosiowo) procesem pączkowania (7). W 1996 r. Guého i wsp. (8) podjęli się pełnej rewizji taksonomicznej rodzaju *Malassezia* i opisali cztery nowe gatunki, tj.: *M. obtusa*, *M. globosa*, *M. slooffiae* i *M. restricta*. Kolejne 11 gatunków zostało opisanych przez różne grupy badaczy. Izolowano je od różnych żywicieli: *M. dermatitis* (9), *M. japonica* (10) i *M. yamatoensis* (11) od ludzi w Japonii; *M. nana* z przypadków zapalenia ucha zewnętrznego u kotów i bydła (12); *M. caprae* od kóz (13); *M. equina* od koni (13); *M. cuniculi* od królików (14); *M. arunalokei* od ludzi w Indiach (15); *M. brasiliensis* i *M. psittaci* od papug udomowionych w Brazylii (16) i *M. verspertilionis* od nietoperzy w USA (17). Obecnie sklasyfikowanych jest 18 różnych gatunków *Malassezia*, w tym 17 lipidozależnych i 1 lipidoniezależny w hodowli (18, 19, 20; tab. 1).

### Mikrobiologia grzybów z rodzaju *Malassezia*

Grzyby z rodzaju *Malassezia*, jako grzyby dimorficzne, mogą występować w warunkach naturalnych zarówno w fazie mycelialnej, jak i drożdżowej. Natomiast w warunkach *in vitro* dominującą formą jest postać drożdżowa, przy czym opisywane są również formy mycelialne tworzone spontanicznie w warunkach *in vitro* przez niektóre gatunki *Malassezia* (2, 21).

Wielu badaczy opisuje specyficzne warunki hodowli, przede wszystkim skład podłoży, które stymulują tworzenie grzybni przez *Malassezia* spp. w warunkach *in vitro*. Najczęściej wymienianymi suplementami podłoży są glicyny, cholesterol i estry cholesterolu (21, 22). Rozmnażanie bezpłciowe grzybów z rodzaju *Malassezia* zachodzi przez pączkowanie drożdżowej komórki macierzystej (2). Forma płciowa drożdży *Malassezia* jest nadal nieznana. Jednak dla tych drożdży zidentyfikowano region odpowiadający locus typu kojarzenia (MAT; 23), co sugeruje, że u niektórych gatunków może występować cykl płciowy. W tym przypadku bardziej prawdopodobne jest, że będzie to 2-biegunowy lub pseudobipolarny proces, z dwoma typami kojarzenia, a nie 4-biegunowym, jak w przypadku wielu innych grzybów z typu Basidiomycetes (24).

Inną charakterystyczną cechą grzybów z rodzaju *Malassezia* jest unikalna w królestwie grzybów budowa ściany komórkowej. Ściana ta jest znacznie grubsza (ma około 0,12  $\mu\text{m}$ ) niż w przypadku innych drożdży i zawiera znacząco większy odsetek substancji tłuszczowych, np. dla porównania z grzybami z rodzaju *Saccharomyces* jest to 15–20% vs 1–2% (25). Ściana komórkowa *Malassezia* spp. ma 2-warstwową strukturę składającą się z zewnętrznej powłoki o budowie lamelarniej (ząbkowanej) oraz właściwej ściany komórkowej (26). Dodatkowo, błona cytoplazmatyczna tych grzybów ma charakterystyczny pofałdowany wzór, wyraźnie widoczny pod mikroskopem elektronowym (2). Głównymi składnikami ściany komórkowej *Malassezia* spp. są wielocukry stanowiące około 70% zawartości, dalej tłuszcze – 15–20% i białka – 10%. Wysoki odsetek zawartości substancji tłuszczowych odpowiada najprawdopodobniej za znaczącą odporność *Malassezia* spp. na warunki zewnętrzne, w tym czynniki mechaniczne czy osmotyczne oraz stanowi istotny czynnik wirulencji grzyba (12, 27). Lipofilność ściany komórkowej grzybów z rodzaju *Malassezia* ułatwia adhezję grzyba do komórek gospodarza, utrudnia fagocytozę patogenu oraz hamuje odpowiedź zapalną (28).

Wielkości genomów grzybów z rodzaju *Malassezia* wahają się między 6,4 a 14 Mbp, co plasuje je jako najmniejsze spotykane u grzybów wolno żyjących i stanowiące około połowy wielkości innych znanych genomów grzybów typu Basidiomycetes (29, 30). Może to odzwierciedlać przystosowanie się tych grzybów do ograniczonej niszy ekologicznej. Analizy genetyczne wskazują, że genomy drożdży *Malassezia* wykazują pewne wspólne cechy wyjątkowe, obejmujące

- 1) niską zdolność do degradacji węglowodanów dzięki redukcji genów kodujących hydrolazę glikozylową;
- 2) zależność wzrostu od lipidów spowodowaną brakiem genu syntazy kwasów tłuszczowych;
- 3) jednoczesną ekspansję enzymów hydrolizujących lipidy (takich jak wydzielane lipazy, fosfolipazy i kwaśne sfingomielinazy),

które umożliwiają im pobieranie i wykorzystywanie kwasów tłuszczowych ze skóry lub powierzchni śluzówki żywicieli (30). Analiza genomów ujawniła również obecność unikalnych genów o nieznannej funkcji,

które prawdopodobnie zostały pozyskane poprzez horyzontalny transfer genów (30).

Wiedza na temat metabolizmu grzybów z rodzaju *Malassezia*, z wyjątkiem metabolizmu lipidów, jest ograniczona. Przede wszystkim grzyby z rodzaju *Malassezia* są lipidozależne, tj. wymagają zewnętrznych źródeł lipidów do wzrostu (25). Obecnie wiadomym jest, że lipidozależność *Malassezia* spp. wynika z braku zdolności syntezy kwasu mirystynowego, który stanowi prekursor długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (31). Istnieją pewne różnice w zależności od lipidów między gatunkami i zmienność ta została wykorzystana do opracowania specyficznych testów do identyfikacji (8). Już tylko historycznie *M. pachydermatis* był uważany za „lipofilny, ale niezależny od lipidów”, ponieważ był jedynym przedstawicielem rodzaju, który wyrastał *in vitro* na agarze dekstrozowym Sabourauda. Sekwencjonowanie genomu tego gatunku potwierdziło jednak, że *M. pachydermatis* nie posiada genu syntazy kwasów tłuszczowych, podobnie jak inni przedstawiciele rodzaju, ale jest wyjątkowo zdolny do wykorzystywania do wzrostu frakcji lipidowych w składniku peptonowym agaru Sabourauda z dekstrozą. Obserwacje te wyjaśniają brak wzrostu na pożywkach wolnych od lipidów, a zatem *M. pachydermatis* należy uważać za metabolicznie zależny od lipidów, ale w hodowli pozostaje lipidoniezależny (3).

W literaturze naukowej brakuje doniesień dotyczących zdolności do rozkładu węglowodanów przez drożdże *Malassezia* spp., co wynika najprawdopodobniej z lipidozależności tych grzybów. Wyniki testów hodowlanych asymilacji węglowodanów dla *M. pachydermatis* wskazują, że gatunek ten ma zdolność wykorzystywania jako źródeł węgla mannitolu, sorbitolu i glicerolu (32). Jako źródło siarki grzyby *Malassezia* spp. wykorzystują najczęściej metioninę, rzadziej cystynę i cysteinę, natomiast źródłem azotu mogą być związki organiczne (aminokwasy), jak i nieorganiczne – za wyjątkiem azotanu potasu (32). Charakterystyczną cechą metabolizmu *Malassezia* spp. jest produkcja licznych zewnątrzkomórkowych enzymów hydrolytycznych, w tym lipaz oraz fosfolipaz (2).

## Hodowla i identyfikacja

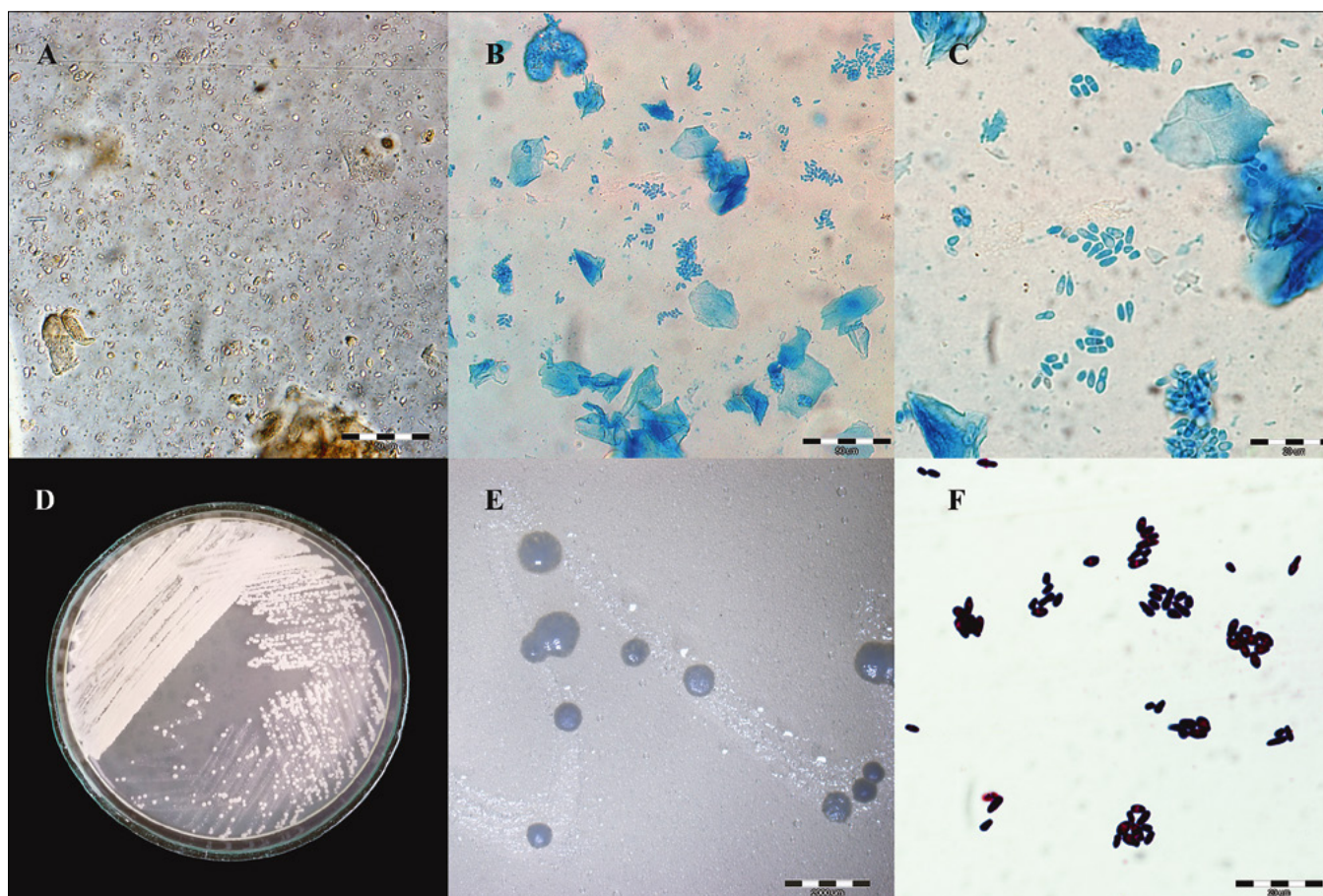
Hodowla laboratoryjna grzybów z rodzaju *Malassezia* jest trudna z dwóch przyczyn: grzyby te wymagają do wzrostu długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, a dodatkowo łatwo giną w środowisku zewnętrznym, szczególnie narażone są na wahania temperatury (33). Do ich hodowli używa się specjalnych podłoży agarowych, skomponowanych według formuły opracowanej przez Dixona lub Leeminga-Notmana, suplementowanych żółcią bydłą oraz oksyetylenowanymi estrami sorbitolu i kwasów tłuszczowych (tzw. Tweeny; **tab. 2**; 25). W warunkach naturalnych i w standardowej hodowli grzyby *Malassezia* spp. rosną tlenowo, ale tolerują również warunki mikroaerofilne lub nawet beztlenowe (34). Na podłożach wzbogaconych w lipidy, takich jak zmodyfikowany agar Dixona, kolonie grzybów z rodzaju *Malassezia* są kremowe lub żółtawe, gładkie lub lekko pomarszczone, błyszczące lub

Tabela 2. Podłoża zalecane do izolacji i hodowli grzybów z rodzaju *Malassezia*

Podłoże (skład podany w przeliczeniu na 1000 ml)	Według Dixona		Według Leeming-Notmana	
Skład	ekstrakt słodowy	36 g	pepton	10 g
	hydrolizat kazeiny	6 g	glukoza	5 g
	ekstrakt żółci wołowej	20 g	ekstrakt drożdżowy	0,1 g
	tween 40	10 ml	ekstrakt żółci wołowej	8 g
	kwas oleinowy	1 g	glicerol	1 ml
	glicerol	2 ml	monostearynian gliceryny	0,5 g
	agar bakteriologiczny	12 g	tween 60	0,5 ml
			mleko	10 ml
			agar bakteriologiczny	12 g

matowe, z pełnym lub płatkowym brzegiem. Kształty i wielkość komórek drożdży *Malassezia* różnią się między poszczególnymi gatunkami. Drożdże *Malassezia* w mikromorfologii są małymi, jajowatymi, elipsoidalnymi lub cylindrycznymi komórkami (1,5 do 6,0  $\mu\text{m}$  na 3,5 do 8,0  $\mu\text{m}$ ). Rozmnażanie odbywa się poprzez pączkowanie na szerokiej podstawie z tego samego miejsca na jednym biegunie (rozwój monopolarny blastyczny). Niektóre gatunki *Malassezia* są zdolne do tworzenia włókien w zmianach skórnych, ale także w hodowli w określonych warunkach (35). Cechy morfologii kolonii i komórek grzybów *Malassezia* spp. stanowią kryteria diagnostyczne w identyfikacji gatunkowej (ryc. 1).

Schemat diagnostyki fenotypowej do rutynowej identyfikacji gatunkowej grzybów *Malassezia* obejmuje obecnie cechy mikroskopowe, zdolność do asymilacji suplementów lipidowych (tzw. Tween testy) i polietoksyłowanego oleju rycynowego (Cremophore L), aktywność katalazy i  $\beta$ -glukozydazy oraz tolerancję temperatury 32°C, 37°C i 40°C (tab. 3, ryc. 2). Pomimo niezaprzeczalnej wartości tego schematu identyfikacji fenotypowej, czasami podaje się niejednoznaczne wyniki. Ponadto dodanie niedawno zidentyfikowanych gatunków skutkuje podobnymi wzorcami fizjologicznymi, a tym samym wątpliwą identyfikacją, np. *M. arunalokei* i *M. brasiliensis* są blisko spokrewnione odpowiednio z *M. restricta*

Ryc. 1. Wygląd makro- i mikromorfologiczny grzybów z rodzaju *Malassezia*.

A – ocena bezpośrednia wymazu z ucha psa w podejrzeniu otitis externa w powiększeniu 400 $\times$  po zastosowaniu KOH z DMSO; w obrazie liczne owalne komórki drożdżopodobne; B, C – test z taśmą klejącą z powierzchni skóry po wybarwieniu błękitem laktofenolowym w powiększeniu 400 $\times$  (B) i 1000 $\times$  (C); w obrazie liczne komórki kształtu buteleczkowatego; D, E – makromorfologia *Malassezia pachydermatis* na podłożu MLNA; zdjęcie E w powiększeniu 10 $\times$ ; inkubacja w 32°C przez 32 godziny; F – barwienie pochodzące *M. pachydermatis* metodą Grama w powiększeniu 1000 $\times$

Tabela 3. Cechy identyfikacyjne dla opisanych dotychczas gatunków drożdżaków *Malassezia* (3)

Gatunek drożdży <i>Malassezia</i>	Morfologia komórek	Wzrost na podłożu SDA	Wzrost na podłożu mDA			Wzrost w obecności Tween				Asymilacja Cremophore L	Aktywność	
			w 32°C	w 37°C	w 40°C	20	40	60	80		katalazy	β-glukozydazy
<i>M. furfur</i>	elipsoidalne, cylindryczne	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	- s
<i>M. pachydermatis</i>	elipsoidalne	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. sympodialis</i>	elipsoidalne	-	+	+	+	- s	+	+	- s	+	+	+
<i>M. globosa</i>	sferyczne	-	+	- s	-	-	- h	- h	-	-	+	-
<i>M. obtusa</i>	elipsoidalne, cylindryczne	-	+	- s	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>M. restricta</i>	sferyczne, elipsoidalne	-	+	zm	-	-	- h	- h	-	-	-	-
<i>M. slooffiae</i>	elipsoidalne, cylindryczne	-	+	+	+	zm	+	+	- s	-	+	-
<i>M. dermatis</i>	elipsoidalne, sferyczne	-	+	+	+	+	+	+	+	zm	+	b.d.
<i>M. nana</i>	elipsoidalne	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+
<i>M. japonica</i>	sferyczne, elipsoidalne	-	+	+	-	-	- s	+	-	b.d.	+	b.d.
<i>M. yamatoensis</i>	elipsoidalne	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>M. caprae</i>	sferyczne, elipsoidalne	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+
<i>M. equina</i>	elipsoidalne	-	+	+	-	- s	+	+	+	-	+	-
<i>M. cuniculi</i>	sferyczne	-	- s	- s	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>M. arunalokei</i>	owalne, sferyczne	-	+	+	-	- h	- h	- h	-	- h	-	-
<i>M. brasiliensis</i>	owalne, elipsoidalne	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>M. psittaci</i>	sferyczne, owalne	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>M. verspertilionis</i>	elipsoidalne, owalne	-	bd	+	+	-	- s	+	zm	-	-	-

Objaśnienia: SDA – podłoże Sabouraud Dextrose Agar; mDA – zmodyfikowane podłoże według Dixona; b.d. – brak danych w literaturze; s- wzrost bardzo słaby; zm – cecha zmienna; h – „halo zone”, strefa rozkładu bez widocznej kolonii.

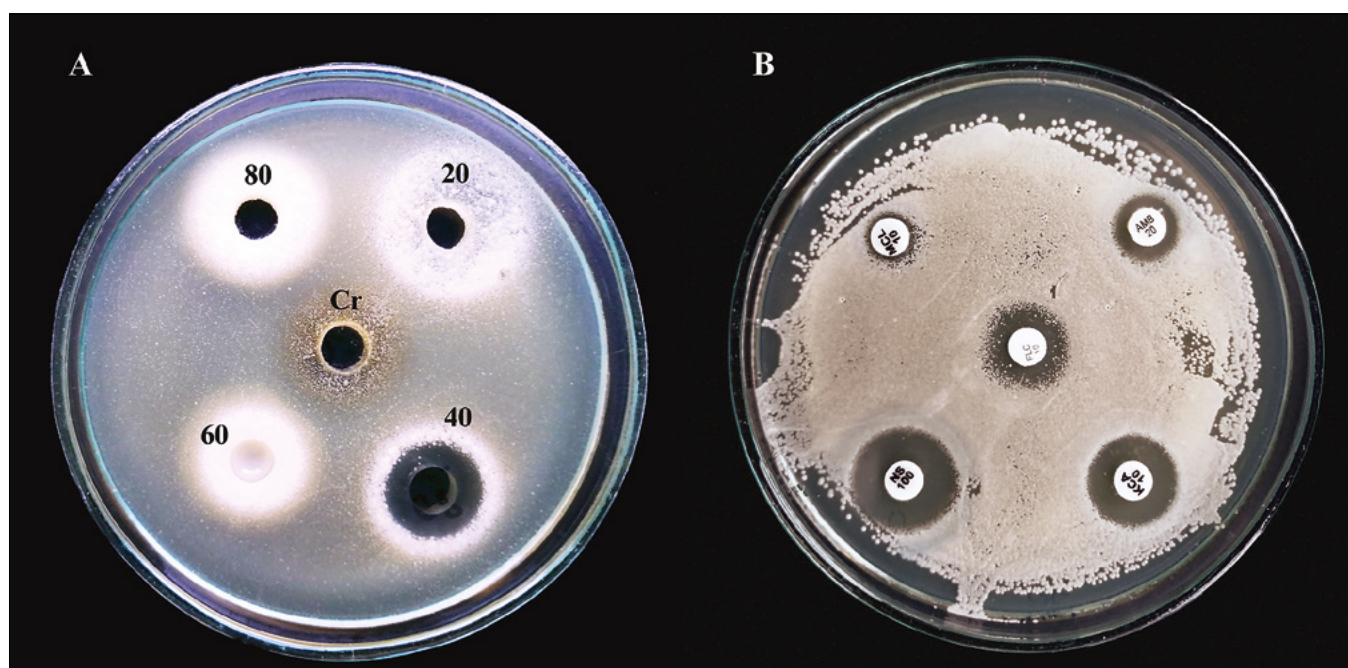
Ryc. 2. Przykładowy Tween test oraz mycogram wykonany dla izolatu klinicznego *Malassezia pachydermatis* z przypadku otitis externa u psa

Tabela 4. Główne rezerwuary i choroby powodowane przez poszczególne gatunki drożdżaków *Malassezia*

Gatunek	Gospodarze	Choroby
<i>Malassezia furfur</i>	człowiek, bydło, słońce, świnię, małpy, strusie, pelikany	<i>pityriasis oleosa, dermatitis seborrhoica, zakażenia układowe</i>
<i>Malassezia brasiliensis</i>	papugi	–
<i>Malassezia yamatoensis</i>	człowiek	<i>dermatitis seborrhoica, atopic dermatitis</i>
<i>Malassezia psitaci</i>	papugi	–
<i>Malassezia japonica</i>	człowiek	<i>atopic dermatitis</i>
<i>Malassezia obtusa</i>	człowiek	<i>dermatitis seborrhoica, atopic dermatitis</i>
<i>Malassezia nana</i>	koty, bydło, psy	<i>otitis</i>
<i>Malassezia caprae</i>	kozy, konie	<i>dermatitis</i>
<i>Malassezia sympodialis</i>	człowiek, konie, świnię, owce	<i>zakażenia układowe, otitis</i>
<i>Malassezia dermatis</i>	człowiek	<i>atopic dermatitis</i>
<i>Malassezia equina</i>	konie, bydło	<i>dermatitis</i>
<i>Malassezia pachydermatis</i>	psy, koty, ptaki, zwierzęta mięsożerne	<i>zakażenia układowe, otitis, dermatitis</i>
<i>Malassezia globosa</i>	człowiek, bydło, gepardy	<i>otitis, pityriasis versicolor,</i>
<i>Malassezia restricta</i>	człowiek	<i>atopic dermatitis, dermatitis seborrhoica</i>
<i>Malassezia arunalokei</i>	człowiek	<i>atopic dermatitis, dermatitis seborrhoica</i>
<i>Malassezia cuniculi</i>	króliki	nieznane
<i>Malassezia slooffiae</i>	człowiek, świnię, owce, koby	<i>otitis, dermatitis</i>

i *M. furfur*. Z tych wszystkich powodów specyficzna identyfikacja powinna zostać potwierdzona analizą sekwencji DNA wybranych markerów molekularnych. Zaproponowano różne loci do identyfikacji gatunków w obrębie rodzaju *Malassezia*. Najczęściej używanymi markerami są fragmenty zawierające się między uniwersalnymi starterami D1/D2 genu 26S rRNA i region ITS (Internal Transcribed Spacer) (36). Do celów taksonomicznych zaproponowano również inne geny, takie jak gen syntazy chityny-2 (37) i gen  $\beta$ -tubuliny (18). W ostatnim czasie w coraz częstszym użyciu jest również metoda MALDI-TOF MS, ze względu na szczegółowe opracowanie bazy danych widm masowych, aby umożliwić szybką identyfikację 14 spośród 18 opisanych gatunków grzybów rodzaju *Malassezia* (38, 39).

### Chorobotwórczość

W praktyce weterynaryjnej zakażenia grzybami z rodzaju *Malassezia* stanowią bardzo poważny problem. Podaje się, że około 70% przypadków zapalenia ucha zewnętrznego (*otitis externa*) u psów i 28% u kotów stanowią zakażenia tymi drożdżakami, często jako infekcje mieszane z bakteriami z rodzaju *Staphylococcus* (3). Problemami są także zmiany skórne w przebiegu zapalenia skóry przestrzeni międzypalcowych (*pododermatitis*) i łojotokowego zapalenia skóry (*dermatitis seborrhoica*), aczkolwiek odsetek izolacji *Malassezia* spp. jest w tym przypadku niższy (40). Grzyby z rodzaju *Malassezia* mają szeroki, ale gatunkowo swoisty zakres gospodarzy, u których występują w stanie komensalnym bądź zakaźnym. Najwięcej doniesień naukowych dotyczy schorzeń u kotów, psów, koni, kóz, świń i królików (40, 41). *M. pachydermatis* jest gatunkiem najczęściej izolowanym ze skóry wszystkich wymienionych zwierząt z wyjątkiem

królików i kóz. Ponadto *M. pachydermatis* charakteryzuje się dużą różnorodnością wewnątrzgatunkową, a niektóre podtypy genetyczne mogą mieć specyficzność wobec żywiciela (42). Natomiast *M. furfur* wykazuje szeroki zakres gospodarzy, w literaturze można znaleźć informacje o infekcjach u łosi, słońce, strusi, kóz, psów, kotów, bydła i koni (43–46). *M. globosa* występuje na skórze u krów i koni (45), a *M. sympodialis* jest gatunkiem najczęściej spotykanym u zdrowego bydła (46). Zakresy gospodarzy pozostałych gatunków i związane z nimi jednostki chorobowe zostały wymienione w tabeli 4. Interesujące jest, że drożdżaki *Malassezia* spp. nie są specyficznie związane wyłącznie z ssakami, ale odnotowano je także u koralowców, gąbek, nicieni i ślimaków (47, 48). Ponadto DNA *Malassezia* spp. wyizolowano z nicieni glebowych w lasach Europy Środkowej i postawiono hipotezę, że nicienie mogą stanowić wektor tych grzybów (49). Niektórzy badacze wskazują, że muszka oliwkowa (*Bactroera oleae*) również może być wektorem grzybów *Malassezia* spp. (50).

### Lekowrażliwość

Grzyby z rodzaju *Malassezia* związane są z wieloma chorobami powierzchniowymi, stąd określenie skutecznych w terapii antymykotyków jest istotnym elementem charakterystyki tych drobnoustrojów. Doniesienia naukowe wskazują, że pomimo stosowania miejscowej i ogólnoustrojowej terapii lekami przeciwgrzybiczymi często obserwuje się tendencję do nawrotów schorzeń powodowanych przez te grzyby (51). Ponadto u *M. pachydermatis* występuje oporność na flukonazol oznaczona *in vitro* (52, 53), a w przypadkach infekcji powodowanych przez *M. furfur* notuje się niepowodzenie leczenia z użyciem terbinafiny, flukonazolu i posakonazolu (54). W przypadkach

*dermatitis seborrhoica* u psów wywołanego przez drożdżaki *Malassezia*, w wytycznych ESCCAP (55) zalecana terapia obejmuje stosowanie szamponu z 2% mikonazolem i 2% chlorheksydyiny dwa razy w tygodniu. Jednak stosowanie doustnego ketokonazolu (10 mg/kg, raz dziennie) i doustnego itraconazolu (5 mg/kg, raz dziennie) przez trzy tygodnie było wskazywane jako niezbędne w opisach ciężkich przypadków (56). Inne badania wskazały na skuteczność podawania 5 mg/kg itraconazolu lub 30 mg/kg terbinafiny przez co najmniej trzy tygodnie w leczeniu *dermatitis seborrhoica* odpowiednio u kotów i psów (57). Szampon z 2% ketokonazolem do stosowania miejscowego (dwa razy w tygodniu) lub krem z mikonazolem (dwa razy dziennie) jest zalecany również w leczeniu *pityriasis oleosa* u psów (57). Dane z badań *in vitro* wskazują, że amfoterycyna B jest skuteczna przeciwko *M. pachydermatis* i *M. sympodialis*, a znacznie słabiej działa względem *M. furfur* i *M. globosa* (54, 58). Dodatkowo, dobre działanie *in vitro* wobec wszystkich gatunków *Malassezia* wykazuje itraconazol i ketokonazol, a bardzo słabe flukonazol i wotikonazol (54, 59, 60).

## Podsumowanie

Grzyby z rodzaju *Malassezia* są wyjątkowe pod względem, przede wszystkim dotyczy to ich ścisłej zależności od lipidów, ultrastruktury ściany komórkowej i ich dominacji jako eukariotycznych mikroorganizmów bytujących na skórze ciepłokrwistych kręgowców. Ponadto dane literaturowe sugerują, że u pacjentów w pełnym zdrowiu i bez uszkodzeń powierzchniowych grzyby te wywierają efekt immunosupresyjny, co pozwala im przetrwać w roli organizmów komensalnych, natomiast u pacjentów w immunosupresji i/lub obciążonych towarzyszącymi chorobami skóry grzyby stymulują odpowiedź zapalną. W tych przypadkach niezbędna jest właściwa ścieżka diagnostyczna. Taksonomia grzybów tego rodzaju wciąż ewoluje i zmienia się, jednak wydaje się, że na obecnym etapie osiągnęła wystarczającą stabilność, aby precyzyjnie identyfikować gatunki będące głównymi sprawcami oportunistycznych infekcji u ludzi i zwierząt.

## Piśmiennictwo

- Begerow D., Stoll M., Bauer R.: A phylogenetic hypothesis of Ustilaginomycotina based on multiple gene analyses and morphological data. *Mycologia*. 2006, **98**, 906–916.
- Jagielski T., Rup E., Macura A.B., Bielecki J.: Characterization of fungi of the *Malassezia* genus. I. Microbiological and immunological aspects. *Postep Mikrobiol.* 2013, **52**, 295–305.
- Bond R., Morris D.O., Guillot J., Bensignor E.J., Robson D., Mason K.V., Kano R., Hill P.B.: Biology, diagnosis and treatment of *Malassezia* dermatitis in dogs and cats Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Vet Dermatol.* 2020, **31**, 28–74.
- Ruth Ashbee H.: Recent developments in the immunology and biology of *Malassezia* species. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2006, **47**, 14–23.
- Hay R.J., Midgley G.: Introduction: *Malassezia* yeasts from a historical perspective. In: Boekhout T., Mayser P., Guého-Kellermann E., Velegriaki A., eds. *Malassezia and the Skin: Science and Clinical Practice*. Springer Berlin Heidelberg; 2010:1–16.
- Weidman F.D.: Report of the Laboratory and Museum of Comparative Pathology of the Zoological Society of Philadelphia. Published online 1925.
- Simmons R.B., Gueho E.: A new species of *Malassezia*. *Mycol Res.* 1990, **94**, 1146–1149.
- Guého E., Midgley G., Guillot J.: The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol.* 1996, **69**, 337–355.
- Sugita T., Takashima M., Shinoda T., Suto H., Unno T., Tsuboi R., Ogawa H., Nishikawa A.: New yeast species, *Malassezia dermatis*, isolated from patients with atopic dermatitis. *J Clin Microbiol.* 2002, **40**, 1363–1367.
- Sugita T., Takashima M., Kodama M., Tsuboi R., Nishikawa A.: Description of a new yeast species, *Malassezia japonica*, and its detection in patients with atopic dermatitis and healthy subjects. *J Clin Microbiol.* 2003, **41**, 4695–4699.
- Sugita T., Tajima M., Takashima M., Amaya M., Saito M., Tsuboi R., Nishikawa A.: A new yeast, *Malassezia yamatoensis*, isolated from a patient with seborrheic dermatitis, and its distribution in patients and healthy subjects. *Microbiol Immunol.* 2004, **48**, 579–583.
- Hirai A., Kano R., Makimura K., Duarte E.R., Hamdan J.S., Lachance M.A., Yamaguchi H., Hasegawa A.: *Malassezia nana* sp. nov., a novel lipid-dependent yeast species isolated from animals. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004, **54**, 623–627.
- Cabañes F.J., Theelen B., Castellá G., Boekhout T.: Two new lipid-dependent *Malassezia* species from domestic animals. *FEMS Yeast Res.* 2007, **7**, 1064–1076.
- Cabañes F.J., Vega S., Castell G.: *Malassezia cuniculi* sp. nov., a novel yeast species isolated from rabbit skin. *Med Mycol.* 2010, **49**, 40–48.
- Honnar P., Prasad G.S., Ghosh A., Dogra S., Handa S., Rudramurthy S.M.: *Malassezia arunaloakei* sp. nov., a Novel yeast species isolated from seborrheic dermatitis patients and healthy individuals from India. *J Clin Microbiol.* 2016, **54**, 1826–1834.
- Cabañes F.J., Coutinho S.D.A., Puig L., Bragulat M.R., Castellá G.: Nuevas especies lipodependientes del género *Malassezia* procedentes de loros. *Rev Iberoam Micol.* 2016, **33**, 92–99.
- Lorch J.M., Palmer J.M., Vanderwolf K.J., Schmidt K.Z., Verant M.L., Weller T.J., Bleher D.S.: *Malassezia vespertilionis* sp. Nov.: A new cold-tolerant species of yeast isolated from bats. *Persoonia Mol Phylogeny Evol Fungi.* 2018, **41**, 56–70.
- Castellá G., Coutinho S.D.A., Cabañes F.J.: Phylogenetic relationships of *Malassezia* species based on multilocus sequence analysis. *Med Mycol.* 2014, **52**, 99–105.
- Puig L., Castellá G., Cabañes F.J.: Cryptic Diversity of *Malassezia pachydermatis* from Healthy and Diseased Domestic Animals. *Mycopathologia.* 2016, **181**, 681–688.
- Wang Q.M., Theelen B., Groenewald M., Bai F.Y., Boekhout T.: *Moniliellomyces* and *Malasseziomyces*, two new classes in Ustilaginomycotina. *Persoonia Mol Phylogeny Evol Fungi.* 2014, **33**, 41–47.
- Nazzaro Porro M., Passi S.: Identification of tyrosinase inhibitors in cultures of *Pityrosporum*. *J Invest Dermatol.* 1978, **71**, 205–208.
- Dorn M., Roehner K.: Dimorphism of *Pityrosporum orbiculare* in a defined culture medium. *J Invest Dermatol.* 1977, **69**, 244–248.
- Gioti A., Nystedt B., Li W., Xu J., Andersson A., Averette A.F., Münch K., Wang X., Kappauf C., Kingsbury J.M., Kraak B., Walker L.A., Johansson H.J., Holm T., Lehtiö J., Stajich J.E., Mieczkowski P., Kahmann R., Kennell J.C., Cardenas M.E., Lundberg J., Saunders C.W., Boekhout T., Dawson T.L., Munro C.A., de Groot P.W.J., Butler G., Heitman J., Scheynius A.: Genomic insights into the atopic eczema-associated skin commensal yeast *Malassezia sympodialis*. *MBio.* 2013, **4**, e00572–12.
- Coelho M.A., Sampaio J.P., Gonçalves P.: A deviation from the bipolar-tetrapolar mating paradigm in an early diverged basidiomycete. *PLoS Genet.* 2010, **6**, e1001052.
- Guého-Kellermann E., Boekhout T., Begerow D.: Biodiversity, Phylogeny and Ultrastructure. In: *Malassezia and the Skin: Science and Clinical Practice*; 2010:17–63.
- David M., Gabriel M., Kopecká M.: Microtubular and actin cytoskeletons and ultrastructural characteristics of the potentially pathogenic basidiomycetous yeast *Malassezia pachydermatis*. *Cell Biol Int.* 2007, **31**, 16–23.
- Ashbee H.R., Evans E.G.V.: Immunology of diseases associated with *Malassezia* species. *Clin Microbiol Rev.* 2002, **15**, 21–57.
- Kesavan S., Holland K.T., Ingham E.: The effects of lipid extraction on the immunomodulatory activity of *Malassezia* species *in vitro*. *Med Mycol.* 2000, **38**, 239–247.
- Xu J., Saunders C.W., Hu P., Grant R.A., Boekhout T., Kuramae E.E., Kronstad J.W., DeAngelis Y.M., Reeder N.L., Johnstone K.R., Leland M., Fieno A.M., Begley W.M., Sun Y., Lacey M.P., Chaudhary T., Keough T., Chu L., Sears R., Yuan B., Dawson T.L.: Dandruff-associated *Malassezia* genomes reveal convergent and divergent virulence

- traits shared with plant and human fungal pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007, **104**, 18730–18735.
30. Wu G., Zhao H., Li C., Rajapakse M.P., Wong W.C., Xu J., Saunders C.W., Reeder N.L., Reilman R.A., Scheynius A., Sun S., Billmyre B.R., Li W., Averette A.F., Mieczkowski P., Heitman J., Theelen B., Schröder M.S., De Sessions P.F., Butler G., Maurer-Stroh S., Boekhout T., Nagarajan N., Dawson T.L.: Genus-Wide Comparative Genomics of *Malassezia* Delineates Its Phylogeny, Physiology, and Niche Adaptation on Human Skin. *PLoS Genet*. 2015, **11**, e1005614.
  31. SHIFRINE M., MARR A.G.: the Requirement of Fatty Acids By *Pityrosporum Ovale*. *J Gen Microbiol*. 1963, **32**, 263–270.
  32. Mayser P., Imkamp A., Winkler M., Papavassilis C.: Growth requirements and nitrogen metabolism of *Malassezia furfur*. *Arch Dermatol Res*. 1998, **290**, 277–282.
  33. Guillot J., Guého E., Lesourd M., Midgley G., Chévrier G., Dupont B.: Identification of *Malassezia* species. A practical approach. *J Mycol Med*. 1996, **6**, 103–110.
  34. Faergemann J., Bernander S.: Micro-aerophilic and anaerobic growth of *pityrosporum* species. *Med Mycol*. 1981, **19**, 117–121.
  35. Saadatzadeh M.R., Ashbee H.R., Holland K.T., Ingham E.: Production of the mycelial phase of *Malassezia* in vitro. *Med Mycol*. 2001, **39**, 487–493.
  36. Gaitanis G., Magiatis P., Hantschke M., Bassukas I.D., Velegraki A.: The *Malassezia* genus in skin and systemic diseases. *Clin Microbiol Rev*. 2012, **25**, 106–141.
  37. Kano R., Aizawa T., Nakamura Y., Watanabe S., Hasegawa A.: Chitin synthase 2 gene sequence of *Malassezia* species. *Microbiol Immunol*. 1999, **43**, 813–815.
  38. Denis J., MacHouart M., Morio F., Sabou M., Kauffmann-LaCroix C., Contet-Audonneau N., Candolfi E., Letscher-Bru V.: Performance of matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry for identifying clinical *Malassezia* isolates. *J Clin Microbiol*. 2017, **55**, 90–96.
  39. Kolecka A., Khayhan K., Arabatzis M., Velegraki A., Kostrzewa M., Andersson A., Scheynius A., Cafarchia C., Iatta R., Montagna M.T., Youngchim S., Cabañes F.J., Hoopman P., Kraak B., Groenewald M., Boekhout T.: Efficient identification of *Malassezia* yeasts by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry (MALDI–TOF MS). *Br J Dermatol*. 2014, **170**, 332–341.
  40. Cabañes F.J.: *Malassezia* Yeasts: How Many Species Infect Humans and Animals? *PLoS Pathog*. 2014, **10**, e1003892.
  41. Bond R.: Superficial veterinary mycoses. *Clin Dermatol*. 2010, **28**, 226–236.
  42. Guillot J., Guého E., Chévrier G., Chermette R.: Epidemiological analysis of *Malassezia pachydermatis* isolates by partial sequencing of the large subunit ribosomal RNA. *Res Vet Sci*. 1997, **62**, 22–25.
  43. Crespo M.J., Abarca M.L., Cabañes F.J.: Occurrence of *Malassezia* spp. in the external ear canals of dogs and cats with and without otitis externa. *Med Mycol*. 2002, **40**, 115–121.
  44. Shokri H., Khosravi A.R.: An epidemiological study of animals dermatomycoses in Iran. *J Mycol Med*. 2016, **26**, 170–177.
  45. Shokri H.: Occurrence and distribution of *Malassezia* species on skin and external ear canal of horses. *Mycoses*. 2016, **59**, 28–33.
  46. Duarte E.R., Batista R.D., Hahn R.C., Hamdan J.S.: Factors associated with the prevalence of *Malassezia* species in the external ears of cattle from the state of Minas Gerais, Brazil. *Med Mycol*. 2003, **41**, 137–142.
  47. Richards T.A., Jones M.D.M., Leonard G., Bass D.: Marine fungi: Their ecology and molecular diversity. *Ann Rev Mar Sci*. 2012, **4**, 495–522.
  48. Elhady A., Giné A., Topalovic O., Jacquiod S., Sørensen S.J., Sorribas F.J., Heue H.: Microbiomes associated with infective stages of root-knot and lesion nematodes in soil. *PLoS One*. 2017, **12**, e0177145.
  49. Renker C., Alpei J., Buscot F.: Soil nematodes associated with the mammal pathogenic fungal genus *Malassezia* (Basidiomycota: Ustilaginomycetes) in Central European forests. *Biol Fertil Soils*. 2003, **37**, 70–72.
  50. Malacrino A., Schena L., Campolo O., Laudani F., Mosca S., Giunti G., Strano C.P., Palmeri V.: A Metabarcoding Survey on the Fungal Microbiota Associated to the Olive Fruit Fly. *Microb Ecol*. 2017, **73**, 677–684.
  51. Hald M., Arendrup M.C., Svejgaard E.L., Lindskov R., Foged E.K., Saunte D.M.L.: Evidence-based Danish Guidelines for the Treatment of *Malassezia*-related Skin Diseases. *Acta Derm Venereol*. 2015, **95**, 12–19.
  52. Jesus F.P.K., Lautert C., Zanette R.A., Mahl D.L., Azevedo M.I., Machado M.L.S., Dutra V., Botton S.A., Alves S.H., Santurio J.M.: In vitro susceptibility of fluconazole-susceptible and -resistant isolates of *Malassezia pachydermatis* against azoles. *Vet Microbiol*. 2011, **152**, 161–164.
  53. Cafarchia C., Figueredo L.A., Favuzzi V., Surico M.R., Colao V., Iatta R., Montagna M.T., Otranto D.: Assessment of the antifungal susceptibility of *Malassezia pachydermatis* in various media using a CLSI protocol. *Vet Microbiol*. 2012, **159**, 536–540.
  54. Iatta R., Figueredo L.A., Montagna M.T., Otranto D., Cafarchia C.: In vitro antifungal susceptibility of *Malassezia furfur* from bloodstream infections. *J Med Microbiol*. 2014, **63**, 1467–1473.
  55. Moraru R., Chermette R., Guillot J.: *Superficial Mycoses in Dogs and Cats*. 4th ed. European Scientific Counsel for Companion Animal Parasites; 2019.
  56. Negre A., Bensignor E., Guillot J.: Evidence-based veterinary dermatology: A systematic review of interventions for *Malassezia* dermatitis in dogs. *Vet Dermatol*. 2009, **20**, 1–12.
  57. Åhman S., Perrins N., Bond R.: Treatment of *Malassezia* pachydermatis-associated seborrhoeic dermatitis in Devon Rex cats with itraconazole – A pilot study. *Vet Dermatol*. 2007, **18**, 171–174.
  58. Álvarez-Pérez S., Blanco J.L., Peláez T., Cutuli M., García M.E.: In vitro amphotericin B susceptibility of *Malassezia pachydermatis* determined by the CLSI broth microdilution method and etest using lipid-enriched media. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014, **58**, 4203–4206.
  59. Carrillo-Muñoz A.J., Rojas F., Tur-Tur C., de los Ángeles Sosa M., Diez G.O., Espada C.M., Payá M.J., Giusiano G.: In vitro antifungal activity of topical and systemic antifungal drugs against *Malassezia* species. *Mycoses*. 2013, **56**, 571–575.
  60. Cafarchia C., Iatta R., Immediato D., Puttilli M.R., Otranto D.: Azole susceptibility of *Malassezia pachydermatis* and *Malassezia furfur* and tentative epidemiological cut-off values. *Med Mycol*. 2015, **53**, 743–748.

---

Dr hab. Sebastian Gnat,  
e-mail: sebastian.gnat@up.lublin.pl