

Zakażenia grzybicze u koni.

Część I. Dermatomykozy i keratomykozy

Sebastian Gnat, Dominik Łagowski

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

Fungal infections in horses. Part I. Dermatomycoses and keratomycoses

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

Over the last two decades, the number of fungal and fungal-like diseases of animals in both, natural and controlled systems, has increased, most likely as a consequence of environmental changes. Horses may be affected by several fungal diseases, although only some of them, i.e., malasseiosis, dermatophytosis, pythiosis, and aspergillosis are well described. This article reviews the clinical manifestations, diagnosis and treatment of superficial equine fungal infections, as a support to early diagnosis and application of targeted therapeutic and preventive strategies. Dermatomycoses or superficial mycoses, are caused by facultative or opportunistic pathogens, responsible for mild inflammatory, usually benign infections, associated with underlying immunocompromised conditions in the host. Yeasts, belonging to the genus *Malassezia* and dermatophytes, are the most frequently agents of superficial mycoses in horses. In turn, keratomycosis is a fungal infection of the corneal stroma, mainly caused by commensal fungi of the cornea and conjunctiva. Horses are prone to develop keratomycosis, due to the innate immunoprotective deficiencies of the tear film and the prominent conformation of the ocular globe, together with the usually high concentration of fungi in stables. In conclusion, this review of scientific data clearly indicates the need for a broader description of dermatomycosis cases in horses and in-depth research in the diagnosis and therapy of these infections.

Keywords: dermatomycoses, keratomycoses, horse.

W pierwszych dziesięcioleciach XX wieku pojawiły się pierwsze obawy związane z narastającą prewalencją zakażeń grzybiczych u zwierząt, której powodów upatrywano w różnych czynnikach środowiskowych, przede wszystkim znacznemu ociepleniu klimatu i antropopresji (1, 2, 3). Infekcje grzybicze są szeroko opisywane w literaturze u zwierząt towarzyszących, zwłaszcza u kotów i psów, a także u bydła (3, 4, 5, 6). Prawdopodobnie jest to związane z często notowanymi przypadkami zoonoz pochodzącymi od tych zwierząt (7, 8). Grzybice u koni scharakteryzowane są stosunkowo słabo, chociaż wiele z tych jednostek chorobowych posiada wysoką prewalencję, ogólnoswiatową dystrybucję i potencjał zoonotyczny (9, 10).

Zakażenia grzybicze u koni można podzielić na trzy główne grupy, tj. grzybice powierzchniowe i skórne, wywoływane przez patogeny występujące w warstwie rogowej naskórki oraz atakujące tkanki zrogowaciałe, takie jak włosy, kopyta i skórę, grzybice podskórne, dotyczące najczęściej tkanki podskórnej, rzadziej skóry właściwej oraz grzybice głębokie, które występują w górnych i/lub dolnych drogach oddechowych, a także w innych narządach wewnętrznych (9, 11). Niższy przegląd literatury ma na celu scharakteryzowanie objawów klinicznych, metod diagnostyki i terapii zakażeń grzybiczych u koni. W pierwszej części artykułu przedstawione są zakażenia powierzchniowe i skórne wywoływane przez drożdże, dermatofity, grzyby dimorficzne i pleśniowce.

Malasseziozy

W praktyce weterynaryjnej zakażenia grzybami z rodzaju *Malassezia* stanowią bardzo poważny problem. Dane literaturowe wskazują, 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* (12). Drożdżaki te mogą stanowić czynnik etiologiczny zakażeń także u koni (13, 14). Grzyby z rodzaju *Malassezia* mają szeroki, ale gatunkowo-specyficzny zakres gospodarzy, u których występują w stanie komensalnym bądź infekcyjnym (14, 15). Dotychczas spośród 18 opisanych gatunków, od koni izolowano zaledwie osiem, z czego cztery mają istotne znaczenie chorobowe, tj. *M. furfur* (16, 17, 18, 19), *M. globosa* (17), *M. equina* (20) i *M. sympodialis* (21), a 4 – *M. slooffiae*, *M. obtusa*, *M. restricta* i *M. pachydermatis* uznawane są za gatunki o ograniczonym lub zerowym znaczeniu patogennym u koni (tab. 1; 20)

Drożdże z rodzaju *Malassezia* znalazły się w ostatnim czasie w centrum uwagi w dermatologii koni, ponieważ powodują zapalenia skóry u osobników z obniżoną odpornością (22, 23). Crespo i wsp. (24) w swoich badaniach wykazali, że u 15,46% koni drożdże *Malassezia* spp. stanowią składnik mikrobioty. Ponadto, w stanie komensalnym drożdże te można wyhodować *in vitro* z pach, okolicy międzywyrostkowej, pachwiny i odbytu zdrowych koni z częstotliwością izolacji sięgającą 60% (22), a rzadziej z rejonu między sutkowego u klaczy i dołu napletkowego u wałachów (23). Z tymi ostatnimi przypadkami związane są stany chorobowe u wałachów objawiające się wysiękami w okolicy krocza i brzucha związane ze świądem i/lub obszary wyłysienia bez towarzyszącego stanu zapalnego, wysięków lub strupów (23). Niemniej jednak zmiany chorobowe mogą występować w różnych rejonach ciała

lub mieć charakter uogólniony (tab. 2; 2). Przeważnie dominują rumieniowate wyłysienia, często zliszawacenie i przebarwienie skóry z wysiękami o konsystencji tłustej i nieprzyjemnym słodko-kwaśnym zapachu (ryc. 1; 25).

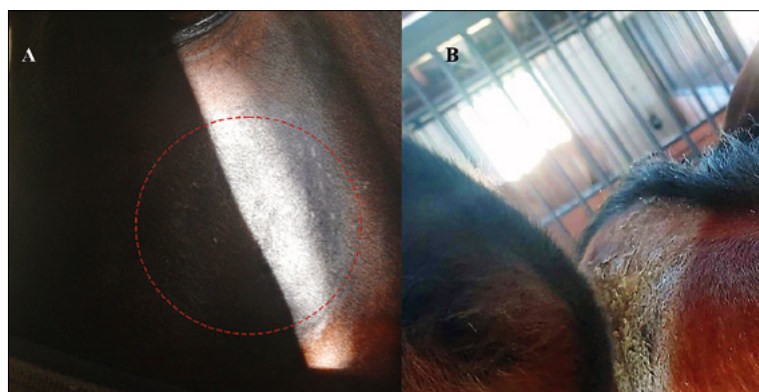
Rozpoznanie malasseziozy zwykle wymaga badań cytologicznych i mykologicznych i/lub histologicznych (tab. 1). W przypadku cytologii próbki są zwykle pobierane poprzez przyklejanie pasków taśmy klejącej na chorobowo zmienionej skórze zwierzęcia, a następnie zebrany materiał wybarwia się metodą Maya-Grünwalda-Giemsy (MGG) i ocenia w mikroskopie świetlnym stosując powiększenie 400× (10, 22). Próbkę uznaje się za pozytywne wyłączenie, jeśli liczba komórek drożdży *Malassezia* spp. jest znaczna, aczkolwiek nie została określona żadna norma dla wyniku pozytywnego (26). W badaniach histopatologicznych skóry koni z infekcjami na tle *Malassezia* obserwuje się powierzchniowe, przerostowe zapalenie skóry z przewagą limfocytów i makrofagów (10). W bioptatach skóry stwierdza się hiperkeratozę lub parakeratozę, różne stadia gąbczasto-krostowatego zapalenia skóry, akantozę, okołonaczyniowe i śródmiąższowe zapalenie skóry (26). Natomiast badanie mykologiczne grzybów z rodzaju *Malassezia* jest trudne, ze względu na silne właściwości lipofilne tych drożdży i wymaganie do wzrostu *in vitro* długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (27), a dodatkowo grzyby te łatwo giną w środowisku zewnętrznym, szczególnie narażone są na wahania temperatury (28). 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; 27). O rozpoznaniu decyduje stwierdzenie w badaniu mikroskopowym charakterystycznych pączkujących lub w fazie

Tabela 1. Czynniki etiologiczne grzybiczych zakażeń powierzchniowych u koni

Choroba	Główne czynniki etiologiczne	Cytologia	Wygląd mikroskopowy
Malassezioza	<i>Malassezia furfur</i> , <i>Malassezia slooffiae</i> , <i>Malassezia obtusa</i> , <i>Malassezia globosa</i> , <i>Malassezia restricta</i> , <i>Malassezia pachydermatis</i>	umiarkowany przerost naskórka, łagodna egzocytoza limfocytowa, łagodne eozynofilowe zapalenie skóry, rozlana parakeratoza	drożdże, komórki pączkujące o średnicy od 3 do 8 μm
Dermatofitoza	<i>Microsporum canis</i> , <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Trichophyton equinum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	zainfekowane włosy lub ich fragmenty, widoczne struktury o szorstkiej i nieregularnej powierzchni; na powierzchni włosa widoczne skupiska lub łańcuchy grzybiczych artrokonidiów	łańcuchy kulistych, półprzezroczystych zarodników o średnicy od 2 do 18 μm; mogą być obecne strzępki grzybów
Onychomykoza	dermatofity bądź NDF, często <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Scedosporium</i> spp., rzadziej <i>Candida</i> spp.	kanaliki rogowe o nieregularnym kształcie na białej linii przypominającej tkankę w warstwach laminarnych i pogorszenie struktury rurkowej	konidia od 4 do 9 μm i strzępki grzyba (<i>Scopulariopsis</i>); pączkujące jednokomórkowe konidia w kształcie rakiety tenisowej z konidioforami (<i>Scedosporium</i>); strzępki grzybów (<i>Trichophyton</i>); pączkujące komórki i pseudogrzebnia (<i>Candida</i>)
Geotrichoza	<i>Geotrichum candidum</i>	brak danych w literaturze	strzępki z wieloma rozgałęzieniami
Chromoblastomykoza	<i>Fonsecaea</i> spp., <i>Phialophora verrucosa</i> , <i>Cladophialophora carrionii</i>	ziarniniaki otorbione charakteryzujące się komórkami wielojądrowymi, zwłóknieniem, akantozą, brodawczakowatością, hiperkeratozą i hiperplazją rzekomobłoniastą	okrągłe, grubościennie, brązowawe komórki przypominające drożdże lub typu „muriform” o średnicy od 8 do 14 μm z pojedynczą lub podwójną przegrodą
Keratomykoza	<i>Aspergillus</i> spp.	obecność strzępek lub komórek drożdży w cytologii	strzępki grzyba

Tabela 2. Grzybicze zakażenia powierzchniowe u koni

Choroba	Objawy kliniczne	Diagnostyka	Leczenie
Malassezioza	łysienie, świąd i zapalenie ucha z brązową wydzieliną o nieprzyjemnym zapachu	cytologia i hodowla mykologiczna próbek ze skóry	mikonazol, chlorheksydyna miejscowo na zmiany do ustąpienia
Dermatofitoza	łysienie okrężne, zmiany rumieniowe i wysiękowe, rzadko złuszczenie skóry	mikroskopia bezpośrednia materiału ze zmian chorobowych, badanie hodowlane próbek ze skóry i włosów	enilikonazol (roztwór 0,2% w odstępach 3–4 dni); gryzeofulwina (5 mg/kg m.c./dzień przez 2–4 tygodnie dla źrebaka lub 10 mg/kg m.c./dzień przez 1–2 tygodnie dla kucyka); natamycyna (zawiesina do stosowania miejscowego 100 p.p.m.), rozpylać dwa lub trzy razy, w odstępie 4 dni
Onychomykoza	krucho kopyta z pęknięciami, poważne lub niewielkie pęknięcia rogu kopytowego w okolicy koronki i bliższej ściany kopyta, choroba linii białej	cytologia, hodowla mykologiczna i histopatologia uszkodzonych tkanek	resekcja chorobowo zmienionych miejsc, kauteryzacja i zastosowanie terbinafiny jako miejscowego środka przeciwgrzybiczego
Geotrichoza	suche, rumieniowe, niecałkowite łysienie okrężne, złuszczenie i świąd	badanie hodowlane skrawków skórnych uszkodzonej tkanki i histopatologia	środek dezynfekujący o niskim pH stosowany powierzchniowo aż do ustąpienia objawów i negatywnych wyników posiewów
Chromoblastomykoza	kuliste, ostro ograniczone, brązowoczarne guzki o średnicy 2–3 cm	histopatologia skrawków lub materiału biopsyjnego	leczenie chirurgiczne
Keratomykoza	mikroerozje, owrzodzenia rogówki, ropnie zrębu, wypadanie tęczówki, kurcz powiek oraz nacieki i zmętnienia podnabłonkowe	cytologia, hodowla mykologiczna i histopatologia uszkodzonej rogówki	leczenie miejscowe: 1,5% amfoterycyna B lub 1% mikonazol, natamycyna lub worykonazol przez 2–5 tygodni



Ryc. 1. Zmiany spowodowane przez drożdże *Malassezia* u koni

podziałów blastospor drożdży *Malassezia* (28). Ich unikalną cechą jest kształt określany jako buteleczkowaty (ryc. 2; 12, 15). W diagnostyce można wykorzystać także test PCR oparty na amplifikacji regionu 26S rDNA lub RFLP tej sekwencji (Restriction Fragment Length Polymorphism; 29), PCR w czasie rzeczywistym specyficzny wobec genu 26S rRNA z sondą *TaqMan* (30) oraz technikę MALDI-TOF MS (31).

Dermatofitozy

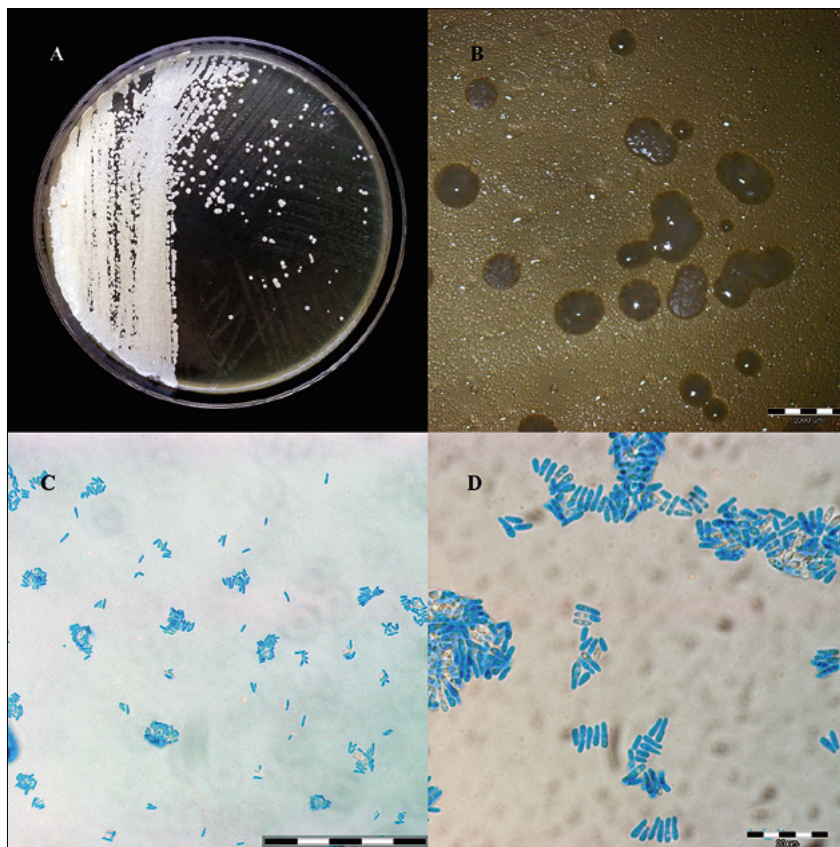
Dermatofitozy to zakażenia powierzchniowe wywołane przez keratynofilne grzyby strzępkowe, które mają wysokie powinowactwo do włosów/sierści, skóry i paznokci (3). Infekcje te nabywane są przez bezpośredni kontakt z chorymi zwierzętami lub bezobjawowymi nosicielami, pośrednią transmisję poprzez przybory służące do higieny zwierząt i/lub ze środowiska (ryc. 3; 4). Dermatofity to duża grupa grzybów obejmująca przeszło 50 gatunków, zwyczajowo dzielonych według zajmowanych nisz ekologicznych na zoofilne, antropofilne i geofilne (32, 33). Dermatofity zoofilne ulegają najłatwiejszym transmisjom

międzyosobniczym i wymieniają się jako jedną z głównych przyczyn zoonoz u ludzi (7), a prewalencja zakażeń przez nie wywołanych osiągnęła w ostatnich latach stan zbliżony do światowej epidemii (34, 35).

Dermatofity wykazują silny zakres gospodarza, co oznacza, że relacja między gospodarzem i konkretnym gatunkiem grzyba jest mocno wyrażona (ryc. 4; 1, 3, 7). W przypadku koni gatunkiem dermatofitu, który z największą częstotliwością jest notowany jako czynnik etiologiczny infekcji jest *Trichophyton equinum* (tab. 1; 3, 36). Niemniej jednak nie jest to jedyny gatunek związany z dermatofitozami u koni, w literaturze naukowej istnieją doniesienia o częstych infekcjach na tle *Microsporum canis*, zwłaszcza u młodych zwierząt (36, 37). Inne gatunki dermatofitów, takie jak *T. mentagrophytes* i/lub *Nannizzia gypsea*, również zostały wyizolowane ze zmian skórnych u koni, podczas gdy *T. bullosum* i *N. praecox* z sierści zdrowych zwierząt i stajni (38). Ostatnie dwa wymienione gatunki były również przyczyną zakażeń przeniesionych z koni na ludzi (39).

Objawy kliniczne dermatofitoz obejmują od łagodnych i przewlekłych do ciężkich i zapalnych zmian powierzchniowych o kształcie okrągłym, najczęściej w postaci plackowatych ognisk łysienia połączonych z rumieniem (tab. 2; 37). Zmiany skórne wywołane przez *T. equinum* lub *M. canis* są zwykle suche, z pokrywającymi je cienkimi, pudrowatymi łuskami. Zmiany te zwykle nie wywołują świądu, rzadko może również wystąpić *kerion* i zapalenie skóry, które rozprzestrzenia się od siodła i popręgu na inne okolice ciała (37). Zakażenia są klinicznie nie do odróżnienia od tych wywołanych przez promieniowce *Dermatophilus congolensis* (37). Fakt ten ma duże konsekwencje w terapii i skłania do wniosku, że diagnostyka laboratoryjna jest nieodzownym elementem przed wdrożeniem leczenia (2).

Diagnostyka laboratoryjna w podejrzeniu dermatofitozy polega na bezpośrednim badaniu mikroskopowym zeskrabin skórnych z chorobowo zmienionych



Ryc. 2.

Obraz makro- i mikromorfologiczny grzybów z rodzaju *Malassezia* uzyskiwany w badaniu hodowlanym.

A – makromorfologia na podłożu Sabourauda

B – wygląd pojedynczej kolonii w powiększeniu 40×

C i D – wygląd mikromorfologiczny po barwieniu

błękitem laktofenolowym, w powiększeniu 400× (C)

i 1000× (D)

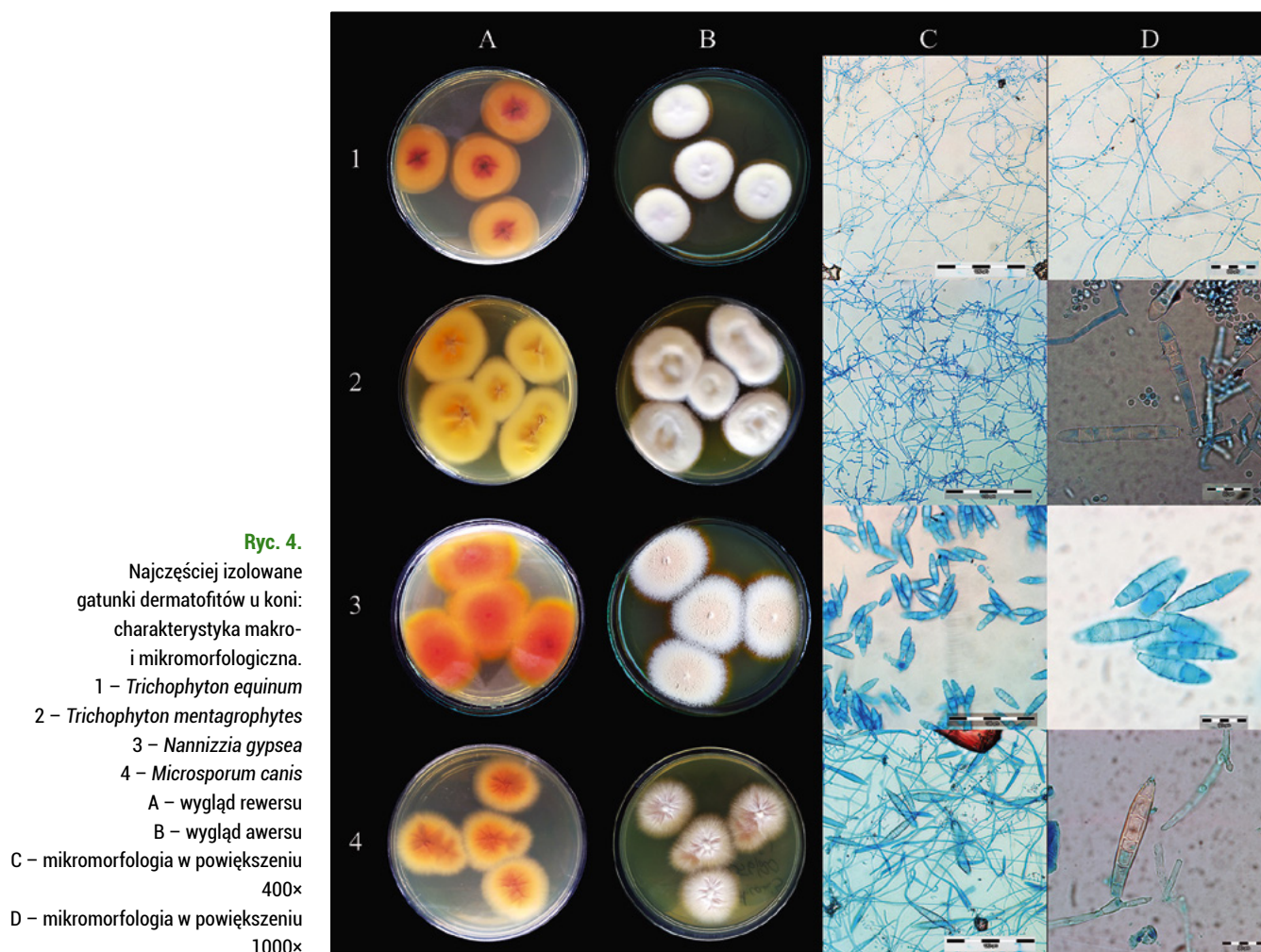
miejsz i/lub włosów wyrwanych z obrzeża wyłuszenia przeprowadzonym w 10% KOH z DMSO, a następnie założeniu hodowli *in vitro* (36). Badanie bezpośrednie pozwala potwierdzić dermatomykozę zdiagnozowaną w oparciu o obraz kliniczny zmian, nie daje jednak możliwości identyfikacji gatunku czynnika etiologicznego grzybicy (7). Użyteczne w badaniu bezpośrednim może być podbarwienie preparatów błękitem laktofenolowym lub kalkofluorem białym stosowane odpowiednio do obserwacji w mikroskopie świetlnym lub fluorescencyjnym (40). Najczęściej wybieranym podłożem do hodowli dermatofitów jest podłoże Sabourauda suplementowane chloramfenikolem (0,05 g/l) i cykloheksymidem (0,5 g/l). Hodowla w 25–30°C trwa przeciętnie 7–14 dni (7, 36). Identyfikacja gatunkowa oparta jest o analizę mikro- i makromorfologiczną uzyskanych kultur grzybów (7, 36, 41, 42). Opisano również szereg metod molekularnych, zarówno wykorzystujących klasyczny PCR, jak również PCR w czasie rzeczywistym (40). Celem identyfikacyjnym do tych technik jest najczęściej fragment ITS (Internal Transcribed Spacer) lub gen syntazy chitynowej.

Dermatofitoza u koni zwykle ustępuje samoistnie w ciągu od jednego do czterech miesięcy (2). Niemniej jednak leczenie jest obowiązkowe ze względu na wysoki potencjał zoonotyczny i silnie zakaźny charakter tej choroby. Terapia przeciwgrzybicza obejmuje głównie leczenie miejscowe, rzadziej również terapię ogólnoustrojową (43). Spośród dostępnych chemioterapeutyków stosuje się natamycyne, enilkonazol i w niektórych krajach, np. w Szwajcarii i USA, także gryzeofulwinę (43). Podaje się, że terbinafina nie ma skuteczności względem koni (44). Do dezynfekcji środowiska można stosować roztwór podchlorynu sodu bądź enilkonazolu (43).

Szczególnym przypadkiem dermatofitoz są onychomykozy. U koni są to najczęściej grzybice rogu kopyta (45). Onychomykozy mogą być wywoływane nie tylko przez dermatofity, ale mogą mieć etiologię pleśniową, co jest określane jako etiologia NDF (non-dermatophyte fungi). Wówczas pod uwagę brane są grzyby *Scedosporium* spp. bądź *Scopulariopsis brevicaulis* (tab 1; 46, 47). Grzybicze uszkodzenia rogu kopyta u koni mogą prowadzić do poważnych konsekwencji, takich jak kulawizny i choroba białej linii (white line disease – WLD; 45). W onychomykozach u koni struktury grzybowe można zaobserwować nawet gołym okiem na uszkodzonych tkankach kopyt w postaci wyraźnego pogorszenia struktury rurkowej ściany rogu, rozzerwania warstw rogowych, czy też powierzchownej



Ryc. 3. Rozsiana dermatofitoza u konia

**Ryc. 4.**

Najczęściej izolowane gatunki dermatofitów u koni: charakterystyka makro- i mikromorfologiczna.

1 – *Trichophyton equinum*

2 – *Trichophyton mentagrophytes*

3 – *Nannizzia gypsea*

4 – *Microsporum canis*

A – wygląd rewersu

B – wygląd awersu

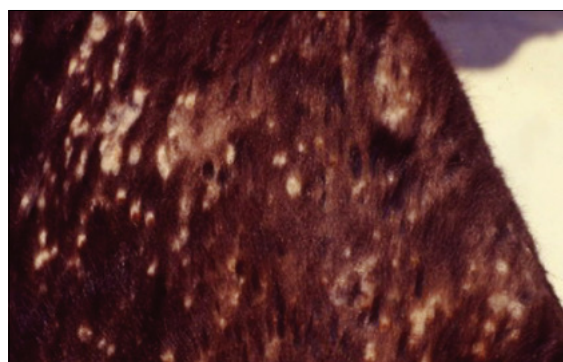
C – mikromorfologia w powiększeniu 400×

D – mikromorfologia w powiększeniu 1000×

lize zrogowaciałych komórek (48). Diagnostyka onychomykoz wykonywana jest z zastosowaniem tych samych metod jak dla dermatofitoz. Leczenie tych grzybic u koni polega na miejscowej kauteryzacji i stosowaniu leków przeciwgrzybiczych, takich samych jak w przypadku dermatofitoz (46, 47). Dobrym powierzchniowym środkiem przeciwgrzybiczym do stosowania w tego typu przypadkach jest amorolfina (44).

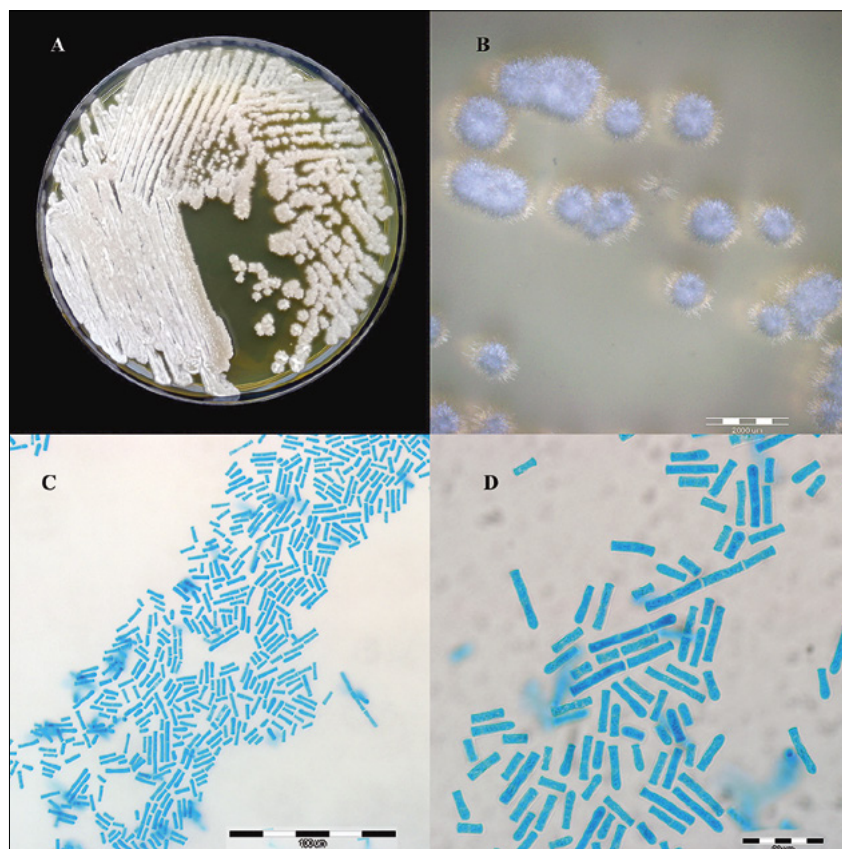
Geotrichozy

Grzyby drożdżopodobne z rodzaju *Geotrichum* są zwykle izolowane ze środowiska naturalnego, zwłaszcza z gleby, szczególnie zanieczyszczonej ściekami miejskimi (49). Występują też w kiszonkach (50) i artykułach spożywczych. (51, 52). W przypadku ludzi i zwierząt

**Ryc. 5.**

Geotrichoza u konia (2)

stanowią naturalny składnik flory skóry i przewodu pokarmowego (53, 54). Ponadto, w pewnych okolicznościach, np. u koni z obniżoną odpornością, grzyby te mogą powodować rozsiane lub zlokalizowane w obrębie głowy i szyi choroby skóry (ryc. 5; 55). Istnieją również doniesienia o zakażeniach przewodu pokarmowego u koni (56). Najczęściej izolowanym gatunkiem jest oportunistyczny grzyb *Geotrichum candidum* (tab. 1; 2, 53). Głównym czynnikiem predysponującym do zakażeń jest stan odporności organizmu. Diagnostyka opiera się na bezpośrednim badaniu mikroskopowym, a następnie wykonaniu hodowli, rzadziej wykonuje się badanie histopatologiczne (ryc. 6). Ta ostatnia metoda pozwala na wizualizację grzybów w tkankach i stanowi szczególnie ważną technikę, zważywszy na wysokie ryzyko zanieczyszczenia kultury tym samym grzybem obecnym w środowisku (55). Zarówno podłoża jak i warunki inkubacji nie różnią się zasadniczo od tych stosowanych dla innych drożdżaków. Geotrichoza, w przypadku braku głębokiej immunosupresji, nie jest chorobą śmiertelną, prognoza jest dobra i choroba może ustąpić nawet bez stosowania terapii przeciwgrzybiczej (tab. 2). Nie istnieją schematy leczenia geotrichozy. Dane dotyczące wrażliwości *G. candidum* na leki przeciwgrzybicze są nieliczne. W badaniach *in vitro* wykazano, że amfoterycyna B, klotrimazol, 5-fluorocytozyna i mikonazol są wysoce skuteczne (57). Z kolei niektóre szczepy są odporne na leki z grupy azoli, zwłaszcza flukonazol i itraconazol, a także na nystatynę (58).



Ryc. 6.

Obraz makro- i mikromorfologiczny *Geotrichum candidum* uzyskiwany w badaniu hodowlanym. A – makromorfologia na podłożu Sabourauda B – wygląd pojedynczej kolonii w powiększeniu 40× C i D – wygląd mikromorfologiczny po barwieniu błękitem laktofenolowym w powiększeniu 400× i 1000× (D)

Keratomykozy

Keratomykoza to grzybica rogówki wywołana głównie przez grzyby komensalne. Literatura naukowa podaje, że najczęściej występującym czynnikiem etiologicznym keratomykoz są grzyby pleśniowe z rodzaju *Aspergillus*, w drugiej kolejności za zakażenie odpowiedzialne są drożdżaki z rodzaju *Candida* (tab. 1; 59, 60, 61). Te dwa rodzaje grzybów nie wyczerpują jednak zakresu patogenów związanych z tą jednostką chorobową, w literaturze opisano przypadki keratomykoz u koni na tle *Fusarium*, *Cylindrocarpon*, *Curvularia*, *Penicillium*, *Cystodendron* i *Mortierella wolffii* (62, 63). Do inwazji tkanek dochodzi zwykle w wyniku mechanicznego uszkodzenia rogówki lub pierwotnej infekcji bakteryjnej (ryc. 7; 64).

Konie są podatne na keratomykozę ze względu na wrodzone niedobory immunoochronne filmu łzowego i konformację gałki ocznej (59). Jako czynnik predisponujący wymienia się również zwykle wysokie stężenie zarodników grzybów w stajniach (2). Ponadto, leczenie antybiotykami i kortykosteroidami, a także narażenia na świeży materiał roślinny i kurz zwiększają ryzyko infekcji grzybiczej (59). Bardziej predisponowane do zakażenia są samce i konie pełnej krwi (59, 65). Keratomykozy u koni charakteryzują się różnymi objawami klinicznymi (tab. 2; 65). Uszkodzenia rogówki mogą prowadzić do kurczu powiek, silnego bólu, obrzęku, łzawienia, występowania ropnej wydzieliny w komorze przedniej oka. Infekcje mogą również prowadzić do wtórnego zapalenia błony naczyniowej oka, wypadania tęczówki i obrzęku rogówki (65). Rozpoznanie keratomykozy opiera się na badaniu klinicznym, w tym wykonaniu barwienia tkanki

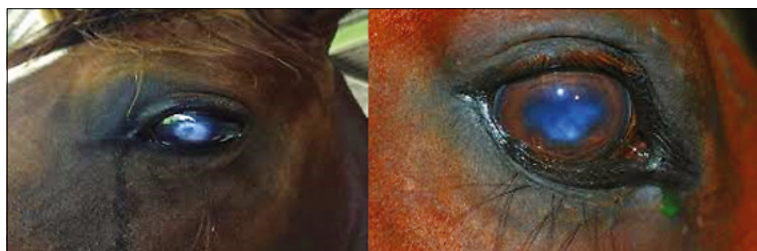
rogówki zarówno fluoresceiną, jak i różem bengalskim, badaniu cytologicznym zeszkobin rogówki, hodowli *in vitro* tkanki wyizolowanej z rogówki oraz obserwacjach histopatologicznych po keratektomii (59, 60). Badanie mykologiczne najczęściej jest wykonywane w drugiej kolejności (59, 65).

Badanie cytologiczne tkanki rogówki można wykonać po barwieniu Romanowskiego (barwnikiem Whrigta i Diff-Quik), podczas którego w większości przypadków można zaobserwować obecność strzępek grzybów pleśniowych lub komórek drożdżopodobnych (59, 60). Jednak wynik negatywny nie jest rozstrzygający i wymagana jest izolacja czynnika etiologicznego. Badanie histopatologiczne należy wykonać metodą barwienia GMS (Gomori methenamine silver) lub PAS (periodic acid schiff), które pozwalają na wizualizację strzępek lub komórek drożdży (65).

Leczenie keratomykozy u koni zależy od ciężkości zmian (tab. 2). W przypadku głębokiego zajęcia zrębu oka można zalecić interwencję miejscową i/lub chirurgiczną, w tym keratektomię. Miejscowe leczenie jest zwykle skuteczne w łagodnych przypadkach (59). W przypadku braku odpowiedzi na leczenie konie można poddać chirurgicznemu usunięciu zmian w połączeniu z miejscowym i ogólnoustrojowym podawaniem

Ryc. 7.

Keratomykoza u konia (2)



leków przeciwgrzybiczych (61). Dostępne protokoły leczenia zalecają terapię trwającą do ośmiu tygodni, a korzystne wyniki osiągane są w >90% przypadków (59, 60). W praktyce klinicznej keratomykozę koni najskuteczniej leczy się za pomocą azoli i/lub natamycyny (66). Leki polienowe mają dobre spektrum działania, ale słabo penetrują nienaruszoną rogówkę (66, 67), podczas gdy azole mają dobrą penetrację rogówki, ale grzyby różnią się pod względem wrażliwości na te leki (68). Do stosowania powierzchniowego zaleca się 1% roztwór flucytozyny (69). Sulfadiazyna (70) i rozcieńczona w stosunku 1:50 jodyna mogą być również stosowane w przypadku keratomykozy u koni (62).

Chromoblastomykozy

Chromoblastomykoza to wolno rozwijająca się, przewlekła grzybicza infekcja powierzchniowa lub podskórna o charakterze ziarniniakowym, nabyta drogą ukłucia przez ciernie lub inne części roślin, w wyniku której powstają tzw. komórki miazgowate lub ciążka sklerotyczne. Klinicznie choroba objawia się powstawaniem brodawek, dyschromii, łuszczących się blaszek, a także atroficznych plam i wrzodziejących zmian skórnych (71, 72). Chromoblastomykoza u koni występuje sporadycznie. Dotychczas opisano tylko kilka przypadków, wywołanych przez *Fonsecaea* spp., *Phialophora verrucosa* lub *Cladophialophora carrionii*, w Stanach Zjednoczonych i Kanadzie na obszarach charakteryzujących się silnymi opadami deszczu (71, 72). Do zakażenia dochodzi w wyniku przypadkowego dostania się czynnika etiologicznego do skóry lub tkanki podskórnej. Po wnikięciu do tkanki grzyb przekształca się ze stadiów nitkowatych w pasożytnicze, zwane ciążkami mizdroowymi, które nie są niszczone przez makrofagi i komórki fagocytarne (72).

Początkowo od jednego do dwóch miesięcy po zakażeniu pojawiają się zmiany ziarniniakowe guzkowate, które są klinicznie nie do odróżnienia od czerniaków, raka płaskonabłonkowego, habronemozy, onchocerkiazy, mycetomy, fialohyfomykozy i sporotrichozy (tab. 1; 71, 72). Diagnostyka laboratoryjna wymaga bezpośredniego badania cytologicznego próbki skóry dotkniętej chorobą i/lub badania histopatologicznego z użyciem hematoksyliny-eozyny lub barwienia GAS/PAS, a w drugiej kolejności wykonaniu posiewu grzybów ze skrawków skóry lub materiału z biopsji (2). Pomimo różnorodnych metod leczenia, które obejmują długie cykle stosowania leków przeciwgrzybiczych, wycięcie chirurgiczne zmienionych tkanek i prowadzenie fizjoterapii, ta choroba pozostaje jedną z najtrudniejszych w terapii (72). Najczęściej opisywanymi metodami leczenia jest kriochirurgia małych zmian, leczenie itrakonazolem rozległych zmian oraz połączenie obu metod (73). Inne leki o wysokiej skuteczności to terbinafina i 5-flucytozyna (74).

Podsumowanie

Wysoki potencjał zoonotyczny połączony z trudnościami diagnostycznymi plasują powierzchowne zakażenia grzybicze u koni jako wciąż aktualne wyzwanie

mykologii weterynaryjnej. Z drugiej strony niewiele doniesień literaturowych dotyczących tych chorób świadczy raczej o niewielkim zainteresowaniu badawczo-diagnostycznym tego typu infekcjami, aniżeli ich niską ogólną prevalencją u koni. Przegląd badań naukowych dotyczących tematu wskazuje jednoznacznie na potrzebę szerszego opisu przypadków dermatomykoz i pogłębionych badań w zakresie diagnostyki i terapii tych zakażeń. Pozwoli to w przyszłości opracować precyzyjniejsze schematy postępowania w podobnych przypadkach terenowych u koni.

Piśmiennictwo

- Gnat S., Łagowski D., Nowakiewicz A.: Major challenges and perspectives in the diagnostics and treatment of dermatophyte infections. *J. Appl. Microbiol.* 2020, **129**, 212–232.
- Cafarchia C., Figueredo L.A., Otranto D.: Fungal diseases of horses. *Vet. Microbiol.* 2013, **167**, 215–234.
- Łagowski D., Gnat S., Nowakiewicz A., Osińska M., Zięba P.: The Prevalence of Symptomatic Dermatophytoses in Dogs and Cats and the Pathomechanism of Dermatophyte Infections. *Postępy Mikrobiol. – Adv. Microbiol.* 2019, **58**, 165–176.
- Łagowski D., Gnat S., Nowakiewicz A., Osińska M., Trościańczyk A., Zięba P.: Dermatophytosis with concurrent *Trichophyton verrucosum* and *T. benhamiae* in calves after long-term transport. *Vet. Dermatol.* 2020, **31**, 414–e111.
- Gnat S., Łagowski D., Nowakiewicz A., Trościańczyk A., Zięba P.: Infection of *Trichophyton verrucosum* in cattle breeders, Poland: A 40-year retrospective study on the genomic variability of strains. *Mycoses.* 2018, **61**, 681–690.
- Cafarchia C., Romito D., Sasanelli M., Lia R., Capelli G., Otranto D.: The epidemiology of canine and feline dermatophytoses in southern Italy. Zur Epidemiologie der Dermatophytose von Hund und Katze im Süden Italiens. *Mycoses.* 2004, **47**, 508–513.
- Łagowski D., Gnat S., Nowakiewicz A., Osińska M., Trościańczyk A., Zięba P.: In search of the source of dermatophytosis: Epidemiological analysis of *Trichophyton verrucosum* infection in llamas and the breeder (case report). *Zoonoses Public Health.* 2019, **66**, 982–989.
- Seyedmousavi S., Guillot J., Toloee A., Verweij P.E.E., de Hoog G.S.S.: Neglected fungal zoonoses: Hidden threats to man and animals. *Clin. Microbiol. Infect.* 2015, **21**, 416–425.
- Cafarchia C., Paradies R., Figueredo L.A., Padalino B., Greco M.F., Greco G., Otranto D.: A Case of Equine Aspergillosis: A Novel Sampling Procedure for Diagnosis. *J. Equine Vet. Sci.* 2012, **32**, 634–637.
- Kim D.Y., Johnson P.J., Senter D.: Diagnostic Exercise: Severe Bilaterally Symmetrical Alopecia in a Horse. *Vet. Pathol.* 2011, **48**, 1216–1220.
- White S.D.: Equine Bacterial and Fungal Diseases: A Diagnostic and Therapeutic Update. *Clin. Tech. Equine Pract.* 2005, **4**, 302–310.
- 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.
- Cabañes F.J.: *Malassezia* Yeasts: How Many Species Infect Humans and Animals? *PLoS Pathog.* 2014, **10**, e1003892.
- Bond R.: Superficial veterinary mycoses. *Clin. Dermatol.* 2010, **28**, 226–236.
- Jagielski T., Rup E., Macura A.B., Bielecki J.: Characterization of fungi of the *Malassezia* genus. I. Microbiological and immunological aspects. *Postępy Mikrobiol.* 2013, **52**, 295–305.
- 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.
- Shokri H., Khosravi A.R.: An epidemiological study of animals dermatomycoses in Iran. *J. Mycol. Med.* 2016, **26**, 170–177.
- 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.
- Shokri H.: Occurrence and distribution of *Malassezia* species on skin and external ear canal of horses. *Mycoses.* 2016, **59**, 28–33.
- 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.
- Theelen B., Cafarchia C., Gaitanis G., Bassukas I.D., Boekhout T., Dawson T.L.J.: *Malassezia* ecology, pathophysiology, and treatment. *Med. Mycol.* 2018, **56**, S10–S25.

22. Nell A., Herrtage M.E., James S.A., Bond C.J., Hunt B.: Identification and distribution of a novel *Malassezia* species yeast on normal equine skin. *Vet. Rec.* 2002, **150**, 395–398.
23. White S.D., Vandenabeele S.I.J., Drazenovich N.L., Foley J.E.: *Malassezia* species isolated from the intermammary and preputial fossa areas of horses. *J. Vet. Intern. Med.* 2006, **20**, 395–398.
24. Crespo M.J., Abarca M.L., Cabañes F.J.: Occurrence of *Malassezia* spp. in horses and domestic ruminants. *Mycoses.* 2002, **45**, 333–337.
25. Bond R., Ferguson E.A., Curtis C.F., Craig J.M., Lloyd D.H.: Factors associated with elevated cutaneous *Malassezia pachydermatis* populations in dogs with pruritic skin disease. *J. Small Anim. Pract.* 1996, **37**, 103–107.
26. Cafarchia C., Gallo S., Capelli G., Otranto D.: Occurrence and Population Size of *Malassezia* spp. in the External Ear Canal of Dogs and Cats Both Healthy and with Otitis. *Mycopathologia.* 2005, **160**, 143–149.
27. 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.
28. Saadatzaheh 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.
29. Sang M.K., Sang H.L., Bo R.J., Yang W.L., Yong B.C., Kyu J.A.: The application of colony PCR in the molecular biological analysis of *Malassezia* yeasts. *Korean J. Med. Mycol.* 2007, **12**, 180–188.
30. Sugita T., Tajima M., Tsuboku H., Tsuboi R., Nishikawa A.: Quantitative analysis of cutaneous *Malassezia* in atopic dermatitis patients using real-time PCR. *Microbiol. Immunol.* 2006, **50**, 549–552.
31. 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.
32. Dworecka-Kaszak B., Dąbrowska I.: Dermatofity – Nowa taksonomia i współczesne metody różnicowania. Przegląd aktualnego stanu wiedzy o mechanizmach patogenyzy i interakcjach patogen-gospodarz. *Med. Weter.* 2017, **73**, 613–617.
33. Gnat S., Nowakiewicz A., Zięba P.: Taxonomy of Dermatophytes – the Classification Systems May Change But the Identification Problems Remain the Same. *Postępy Mikrobiol. – Adv. Microbiol.* 2019, **58**, 49–58.
34. Gnat S., Łagowski D., Nowakiewicz A., Osińska M., Kopiński Ł.: Population differentiation, antifungal susceptibility, and host range of *Trichophyton mentagrophytes* isolates causing recalcitrant infections in humans and animals. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2020, **39**, 2099–2113.
35. Singh S., Shukla P.: End of the road for terbinafine? Results of a pragmatic prospective cohort study of 500 patients. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* 2018, **84**, 554–557.
36. Gnat S., Łagowski D., Nowakiewicz A., Dyląg M.: Tinea corporis caused by *Trichophyton equinum* transmitted from asymptomatic dogs to two siblings. *Brazilian J. Microbiol.* 2020, **51**, 1433–1438.
37. Chermette R., Ferreira L., Guillot J.: Dermatophytoses in animals. *Mycopathologia.* 2008, **166**, 385–405.
38. De Vroey C., Wuytack-Raes C., Fossoul F.: Isolation of saprophytic *Microsporium praecox* Rivalier from sites associated with horses. *Sa-bouraudia.* 1983, **21**, 255–257.
39. Sitterle E., Frealle E., Foulet F., Cabaret O., Cremer G., Guillot J., Delhaes L., Botterel F.: *Trichophyton bullosum*: a new zoonotic dermatophyte species. *Med. Mycol.* 2012, **50**, 305–309.
40. Gnat S., Łagowski D., Nowakiewicz A., Dyląg M.: Molecular Methods for Diagnostics of Dermatophytoses – Review of Available Techniques and Evaluation of Their Advantages and Disadvantages in Implementation for in Routine Use. *Postępy Mikrobiol – Adv. Microbiol.* 2019, **58**, 483–494.
41. Gnat S., Łagowski D., Nowakiewicz A., Zięba P.: Tinea corporis by *Microsporium canis* in mycological laboratory staff: Unexpected results of epidemiological investigation. *Mycoses.* 2018, **61**, 945–953.
42. Łagowski D., Gnat S., Nowakiewicz A., Osińska M., Zięba P.: Application of genotyping methods in the investigation of sources of dermatophytosis associated with vaccination in cattle. *Ann. Appl. Biol.* 2020, **177**, 325–332.
43. Rochette F., Engelen M., Vanden Bossche H.: Antifungal agents of use in animal health – practical applications. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2003, **26**, 31–53.
44. Łagowski D., Gnat S.: Terbinafina – skuteczny lek w terapii dermatofitoz u psów i kotów. *Życie Weter.* 2020, **95**, 646–651.
45. Faravelli G., Conturba B., Mantelli F., Costanti E.: Equine onychomycosis in Northern Italy: a research identifying the aetiological agents. *Ippologia.* 2004, **15**, 33–44.
46. Kuwano A., Tanaka K., Kawabata M., Ooi Y., Takahashi T., Yoshihara T., Reilly J.D.: A survey of white line disease in Japanese racehorses. *Equine Vet. J.* 1999, **31**, 515–518.
47. Keller M., Stanek C., Krehon S., Rosengarten R.: Keratinopathogenic mould fungi and dermatophytes in healthy and diseased hooves of horses. *Vet. Rec.* 2000, **147**, 619–622.
48. Apprich V., Spersger J., Rosengarten R., Hinterhofer C., Stanek C.: Scanning electron microscopy and fungal culture of hoof horn from horses suffering from onychomycosis. *Vet. Dermatol.* 2010, **21**, 335–340.
49. Ali-Shtayah M.S., Jamous R.M., Abu-Ghdeib S.I.: Ecology of cycloheximide-resistant fungi in field soils receiving raw city wastewater or normal irrigation water. *Mycopathologia.* 144, 39–54.
50. O'Brien M., O'Kiely P., Forristal P.D., Fuller H.T.: Fungi isolated from contaminated baled grass silage on farms in the Irish Midlands. *FEMS Microbiol. Lett.* 2005, **247**, 131–135.
51. Montagna M.T., Santacroce M.P., Spilotos G., Napoli C., Minervini F., Papa A., Dragoni I.: Investigation of fungal contamination in sheep and goat cheeses in southern Italy. *Mycopathologia.* 2004, **158**, 245–249.
52. Boutrou R., Guéguen M.: Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology. *Int. J. Food Microbiol.* 2005, **102**, 1–20.
53. Skóra M., Witalis J., Krzyściak P., Macura A.: Fungal genus *Geotrichum*: An opportunistic pathogen of humans. *Postępy Mikrobiol.* 2009, **48**, 125–132.
54. Mancianti F., Nardoni S., Ceccherelli R.: Occurrence of yeasts in psittacines droppings from captive birds in Italy. *Mycopathologia.* 2002, **153**, 121–124.
55. Figueredo L.A., Cafarchia C., Otranto D.: *Geotrichum candidum* as etiologic agent of horse dermatomycosis. *Vet. Microbiol.* 2011, **148**, 368–371.
56. Mós E. do N., Macruz R., Santos M.R. dos., Porto E.: Geotricose em equino Puro Sangue Inglês. *Rev. da Fac. Med. Veterinária e Zootec da Univ. São Paulo.* 1978, **15**, 93–98.
57. Ramani R., Rao P. V., Kumari G.R., Shivananda P.G.: Pulmonary geotrichosis. *Postgrad Med. J.* 1992, **68**, 150.
58. Pottier I., Gente S., Vernoux J.-P., Guéguen M.: Safety assessment of dairy microorganisms: *Geotrichum candidum*. *Int. J. Food Microbiol.* 2008, **126**, 327–332.
59. Andrew S.E., Brooks D.E., Smith P.J., Gelatt K.N., Chmielewski N.T., Whittaker C.J.G.: Equine ulcerative keratomycosis: Visual outcome and ocular survival in 39 cases (1987–1996). *Equine Vet. J.* 1998, **30**, 109–116.
60. Brooks D.E., Andrew S.E., Denis H., Strubbe D.T., Biros D.J., Cutler T.J., Samuelson D.A., Gelatt K.N.: Rose bengal positive epithelial microerosions as a manifestation of equine keratomycosis. *Vet. Ophthalmol.* 2000, **3**, 83–86.
61. Brooks D.E., Plummer C.E., Mangan B.G., Ben-Shlomo G.: Equine subepithelial keratomycosis. *Vet. Ophthalmol.* 2013, **16**, 93–96.
62. Brooks D., Galera.: Optimal management of equine keratomycosis. *Vet. Med. Res. Reports.* Published online March 2012, 7.
63. Wada S., Ode H., Hobo S., Niwa H., Katayama Y., Takatori K.: *Mortierella wolfii* keratomycosis in a horse. *Vet. Ophthalmol.* 2011, **14**, 267–270.
64. Machado M., Oliveira L., Beck C., Conceição M., Ferreira L., Driemeier D.: Ceratomicose equina causada por *Aspergillus flavus*. *Acta Sci. Vet. Porto Alegre.* 2005, **33**, 219–223.
65. Sansom J., Featherstone H., Barnett K.C.: Keratomycosis in six horses in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 2005, **156**, 13–17.
66. Ford M.M.: Antifungals and their use in veterinary ophthalmology. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2004, **34**, 669–691.
67. Clode A.B.: Therapy of equine infectious keratitis: a review. *Equine Vet. J. Suppl.* 2010, 19–23.
68. Clode A., Davis J., Davidson G., Salmon J., Lafevers H., Gilger B.: Aqueous humor and plasma concentrations of a compounded 0.2% solution of terbinafine following topical ocular administration to normal equine eyes. *Vet. Ophthalmol.* 2011, **14**, 41–47.
69. Matthews A.G.: Ophthalmic antimicrobial therapy in the horse. *Equine Vet. Educ.* 2009, **21**, 271–280.
70. Betbeze C.M., Wu C.C., Krohne S.G., Stiles J.: In vitro fungistatic and fungicidal activities of silver sulfadiazine and natamycin on pathogenic fungi isolated from horses with keratomycosis. *Am. J. Vet. Res.* 2006, **67**, 1788–1793.
71. Abid H.N., Walter P.A., Litchfield H.: Chromomycosis in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1987, **191**, 711–712. <http://europepmc.org/abstract/MED/3679962>
72. López Martínez R., Méndez Tovar L.J.: Chromoblastomycosis. *Clin. Dermatol.* 2007, **25**, 188–194.
73. Bonifaz A., Carrasco-Gerard E., Saúl A.: Chromoblastomycosis: clinical and mycologic experience of 51 cases. *Mycoses.* 2001, **44**, 1–7.
74. Krzyściak P.M., Pindycka-Piaszczyńska M., Piaszczyński M.: Chromoblastomycosis. *Adv. Dermatology Allergol.* 2014, **5**, 310–321.

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