

Malassezia furfur izolálása kutya bőrkaparékmintáiból

B. Bókony – E. Bálint –
N. Szabó – Gy-T. Hegedűs:
Isolation of *Malassezia furfur*
from canine skin scrapings

Bókony Brigitta^{1*}, Bálint Edina², Szabó
Nikoletta¹, Hegedűs György-Tamás¹

1] Vet-Med-Labor.
Stefánia út 61. H-1143
Budapest. * E-mail:
Bokony.Brigitta@Vet-
Med-Labor.hu

2] Országos
Epidemiológiai Központ,
Mikológiai Osztály

Összefoglalás. 2012-ben kutyák bőrkaparékmintájának rutin gombatenyésztése során a Vet-Med-Laborban három esetben lipidfüggő *Malassezia* élesztőgombát izoláltak a szerzők. A törzseket *Malassezia furfur*ként azonosították, speciális táptalajokon való tenyésztetőségük alapján. Ez az első magyarországi leírása állatból származó, lipidfüggő *Malassezia* kimutatásának.

Summary. In 2012 the authors isolated lipid-dependent *Malassezia* yeasts in three cases during cultivation of canine skin scraping samples in Vet-Med-Labor. They identified these strains as *Malassezia furfur* based on their growth on specific culture medium. To our knowledge, this is the first report of lipid-dependent *Malassezia* being isolated from animals in Hungary.

A *Malassezia* gombák a melegvérűek bőrfloájának alkotói

A *Malassezia* gombák a bazídiomos gombák (Basidiomycota) törzsébe, az üszög-gombafélék (Ustilaginomycotina) altörzsébe, az Exobasidiomycetes osztályba, a Malasseziales rendbe és a Malasseziaceae családba tartoznak. A nemzetségbe tartozó élesztőgombákat a legújabb molekuláris genetikai vizsgálatok alapján 14 fajba sorolják, amelyek egészséges és beteg emberi vagy állati bőrfelületről izolálhatók (5) (1. táblázat).

Legjellegzetesebb tulajdonságuk a lipofil természetük, ugyanis képesek anyagcseréjük során szénforrásként olajtermészetű anyagokat hasznosítani. Az *M. pachydermatis* kivételével, a nemzetségbe tartozó többi faj *in vitro* tenyésztése

szórán nélkülözhetetlen valamilyen hosszú szénláncú zsírsav hozzáadása a táptalajhoz (1, 2, 3, 6, 7). Erre a célra használhatók természetes olajok (pl. olíva-, kukorica-, szója- vagy napraforgóolaj) vagy poliszorbátok (tweenvegyületek), amelyeket közvetlenül az agar felületére kell önteni vagy az elkészítés során a táptalajhoz adni (7). A látható méretű telepek 34–37 °C-on 2–4 nap alatt fejlődnek ki, ezek simák, néha fénylők, krémszínűek vagy sárgásbarnák, ép szélűek; az idősebb telepek lehetnek tompa fényűek és enyhén ráncosak. A gombasejtek gömbölyűek, oválisak vagy megnyúltak, 1,5–4x2–6,5 µm méretűek, hifákat *in vitro* ritkán képeznek. Szaporodásuk széles alapon történő sarjadzással valósul meg, amely mindig ugyanazon az oldalon megy végbe; az anyasejt fala az ismételt sarjadzás helyén megvastagszik, ún. collarette jön létre (6, 7).

A *Malassezia* nemzetségbe tartozó gombák a legtöbb melegvérű állat normál bőrfloájának tagjai,

1. táblázat. A *Malassezia* nemzetségbe tartozó gombafajok

Table 1. Yeasts of the genus *Malassezia*

Fajnév	Leggyakoribb gazdafaj
<i>Malassezia caprae</i>	kecske
<i>Malassezia cuniculi</i>	nyúl
<i>Malassezia dermatis</i>	ember
<i>Malassezia equi</i>	ló
<i>Malassezia furfur</i>	ember, kutya, macska
<i>Malassezia globosa</i>	ember (kutya, macska)
<i>Malassezia japonica</i>	ember
<i>Malassezia nana</i>	szarvasmarha, macska
<i>Malassezia obtusa</i>	ember (kutya, macska)
<i>Malassezia pachydermatis</i>	kutya, macska, ember
<i>Malassezia restricta</i>	ember (macska)
<i>Malassezia slooffiae</i>	ember (macska)
<i>Malassezia sympodialis</i>	ember (kutya, macska)
<i>Malassezia yamatoensis</i>	ember

hajlamosító tényezők hatására azonban képesek elszaporodni és elváltozásokat okozni (pl. seborrhoeás dermatitis) vagy a fennálló tüneteket súlyosbíthatják. Leggyakrabban különböző bőrgyulladások hátterében állnak, de okozhatnak szisztémás fertőzést immunszuppresszált betegeknél vagy újszülöttek esetében. Az *M. pachydermatis* elsősorban állatokból izolálható (leggyakrabban kutyák bőrgyulladásával vagy krónikus külsőhallójárat-gyulladásával hozható összefüggésbe), de leírták már humán esetek kapcsán is (kórházban szerzett megbetegedés, egészségügyi dolgozók kutyáiról átvitt fertőzés). Az *M. furfur* a humán pityriasis versicolor nevű bőrbetegség okozója, de összefüggésbe hozták már más bőrbetegségekkel (pl. folliculitis, seborrhoea, atopiás dermatitis) és szisztémás fertőzésekkel is (1, 2, 6, 7).

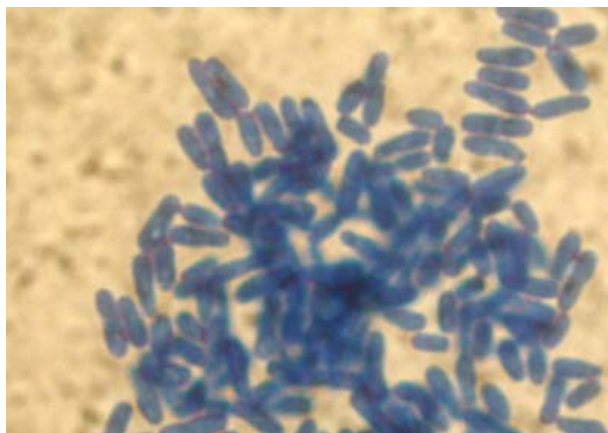
Az elmúlt egy évben a Vet-Med-Laborban végzett rutin gombatenyésztések során három kutya bőrkaparekmintájából lipidfüggő *Malassezia* törzset izoláltunk. A törzseket *M. furfur*ként azonosítottuk. Tudomásunk szerint ez az első magyarországi leírása állatból származó, lipidfüggő *Malassezia* kimutatásának.

Saját vizsgálatok

A Vet-Med-Laborban különös figyelmet szentelünk a mikrobiológiai tenyésztések során a gombák izolálására. Az előírásoknak megfelelően kontroll referenciatörzsekkel ellenőrzött táptalajokat használunk, és az előforduló kórokozókhoz igazodva, különböző táptalajokra (nem szelektív, szelektív és speciális) oltjuk ki a mintákat.

2012-ben a laboratóriumunkban 250 esetben végeztük el állatokból származó bőrkaparekok gombatenyésztését. A mintákat három különböző táptalajra oltottuk: élesztőkivonatot és glükózt tartalmazó Sabouraud-levesbe, élesztőkivonatot és gentamicint tartalmazó ferde Sabouraud-agarra és Dixon-agarra. A levest 7 napig szobahőmérsékleten inkubáltuk, ezt követően élesztőkivonatot, glükózt és klóramfenikolt tartalmazó Sabouraud-agarra oltottuk tovább és újabb 7 napig inkubáltuk. A ferde agart és a Dixon-táptalajt 14 napig tartottuk szobahőmérsékleten.

A telepeket mikroszkóp alatt vizsgáltuk egy csepp laktófenol-kék oldatban szuszpendálva, 400-szoros nagyítással. A morfológiai jellemzők alapján a *Malassezia* élesztőgombák egyértelműen azonosíthatók (**ábra**). A fajmeghatározást az Atlas of Clinical Fungi (4) útmutatásai alapján végeztük (**2. táblázat**): az *M. furfur* telepei Sabouraud-agaron nem fejlődnek ki, viszont olajat és Tweent is tartalmazó Dixon-agaron kinőnek, továbbá az *M. furfur* a polietoxilált ricinusolajat (Cremophor EL) a nemzetségben egyedülként képes bontani (1, 2, 6, 7).



Ábra. *Malassezia furfur* (ATCC 14521) kenet szintenyészetből

Loeffler-féle metilénkék, 1000X

Figure. Smear of *Malassezia furfur* (ATCC 14521) from pure culture

Eredmények

A bőrkaparekokból 69 esetben (az összes bőrkaparekból végzett gombatenyésztések 27,6%-a) izoláltunk kórokozó gombafajokat (pl. *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichophyton*, *Trichosporon* sp.), ebből 9 (az összes minta 3,6%-a, a kórokozó gombák 13,04%-a) a *Malassezia* nemzetségbe tartozott.

Három mintából lipidfüggő *Malassezia* tenyésztett ki, ezeket *M. furfur*ként azonosítottuk (az összes minta 1,2%-a, a kórokozó gombák 4,35%-a, a malasseziák 33,33%-a).

Az első minta esetében a kórelőzményi adatokban vakarózás és szőr hullás szerepelt, amelyet a tulajdonos ismeretlen spot-on készítménnyel próbált kezelni. Mivel két hét alatt nem javult a kutya állapota, sor került a bőrkaparekminta teljes körű vizsgálatára. Kórokozó baktérium nem volt kimutatható, a gombatenyésztés során *M. furfur*t izoláltunk, amely a hatóanyag-érzékenységi vizsgálat alapján

2. táblázat. A *Malassezia* nemzetségbe tartozó gombafajok meghatározása különböző táptalajokon való növekedésük alapján
Table 2. Key to identification of *Malassezia* species based on their growth on specific culture medium

Táptalaj	Gombafaj
1a Van növekedés Sabouraud-agaron.	<i>M. pachydermatis</i>
1b Nincs növekedés Sabouraud-agaron.	→ 2
2a Kataláz-pozitív	→ 3
2b Kataláz-negatív	<i>M. restricta</i>
3a Van növekedés Tween 40-nel kiegészített Sabouraud-agaron	→ 4
3b Nincs növekedés Tween 40-nel kiegészített Sabouraud-agaron	→ 5
4a Van növekedés Tween 80-nal kiegészített Sabouraud-agaron	→ 6
4b Nincs növekedés Tween 80-nal kiegészített Sabouraud-agaron	<i>M. slooffiae</i>
5a A gombasejtek hosszúkásak, henger alakúak	<i>M. obtusa</i>
5b A gombasejtek gömbölydedek	<i>M. globosa</i>
6a Van növekedés Cremophor EL-lel kiegészített Sabouraud-agaron	<i>M. furfur</i>
6b Nincs növekedés Cremophor EL-lel kiegészített Sabouraud-agaron	<i>M. sympodialis</i>

Három eb bőrkaparekmintájából lipidfüggő *M. furfur*-t izoláltak

ketokonazolra és terbinafinra volt érzékeny. Az eredmények alapján az állatorvos heti kétszeri nizoralos (Johnson & Johnson) fürdetést és a bőrelváltozást mutató foltok helyi kezelését írta elő Lamisil (gyártó: Novartis Hungária) krémmel. Az állat másfél hónap alatt látványos javulást mutatott, a szőre kinőtt, két hónap múlva pedig teljesen gyógyult.

A második mintát beküldő klinikától a kézirat elkészüléséig nem kaptunk adatokat a kutya állapotáról.

A harmadik minta egy olyan, rossz általános állapotú kutyától származott, amelynél a hirtelen beköszöntött meleg idő miatt a bőrtünetek fellángoltak. Több irányban történt vizsgálat (a rutin vérkép és biokémia mellett pajzsmirigyhormon-szintek, allergia és ANA-tesztek), amelyek kedvezőtlen eredménye és az állat rosszabbodó állapota miatt eutanázia történt. A gombás fertőzés kezelésére nem került sor.

Megvitatás

A kutyák *M. pachydermatis* által okozott elváltozásairól (külsőhallójárat-gyulladás, bőrgyulladás) nagyszámú szakirodalom létezik. Opportunista gombaként a természetes flóra része, hajlamosító tényezők hatására képes elváltozásokat okozni. Ezzel szemben a lipidfüggő *Malassezia*-fajokat eddig elsősorban emberi fertőzések-ből izolálták, bár néhány esetben leírtak állatokból kitenyésztett törzseket is. Kutyából *M. furfur* és *M. sympodialis* volt kimutatható, macskából *M. sympodialis*, *M. globosa* és *M. furfur*, szarvasmarhából *M. globosa*, *M. furfur*, *M. slooffiae*, *M. obtusa* és *M. sympodialis*, valamint ez utóbbi előfordulhat sertések, juhok és kecskék bőrén is (1, 2, 5).

Az *M. furfur* okozta humán elváltozásokat részletesen tanulmányozták az elmúlt évtizedek során, azonban az állatok esetében betöltött szerepükről még meglehetősen keveset tudunk. Feltételezhető, hogy a lipidfüggő fajoknak az *M. pachydermatis*-hoz hasonló kóroki szerepük lehet, azonban ennek alátámasztása további kutatásokat igényel. Felmerül a zoonosis lehetősége; az *M. pachydermatis* esetében PCR-teszttel nagy arányban mutatták ki ezen gombát a kutyatulajdonosok kezéről (függetlenül attól, hogy az állatnak volt-e bőrbetegsége vagy sem) (5).

Ezen okokból javasolható, hogy a rutin gombatenyésztés során olajat is tartalmazó Sabouraud- vagy Dixon-agar használatára is sor kerüljön a lipidforrást nem tartalmazó táptalajok mellett.

A rutin gombatenyésztés során olajat is tartalmazó táptalajt is kell használni

IRODALOM

1. CRESPO, M. J. – ABARCA, M. L. – CABAÑES, F. J.: Atypical lipid-dependent *Malassezia* species isolated from dogs with otitis externa. J. Clin. Microbiol., 2000. 38. 2383–2385.
2. CRESPO, M. J. – ABARCA, M. L. – CABAÑES, F. J.: Isolation of *Malassezia furfur* from a cat. J. Clin. Microbiol., 1999. 37. 1573–1574.
3. CRESPO, M. J. – ABARCA, M. L. – CABAÑES, F. J.: Otitis externa associated with *Malassezia sympodialis* in two cats. J. Clin. Microbiol., 2000. 38. 1263–1266.
4. DE HOOG, G. S. – GUARRO, J. et al.: Atlas of Clinical Fungi, 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands and Facultat de Medicina, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain, 2000. 144.
5. GAITANIS, G. – MAGIATIS, P et al.: The *Malassezia* genus in skin and systemic diseases. Clin. Microbiol. Rev., 2012. 25. 106–141.
6. KISS G. – SZIGETI G.: A *Malassezia pachydermatis* élesztőgomba előfordulása. Magy. Állatorv. Lapja, 1993. 48. 76–81.
7. MARCON, M. J. – PWELL, D. A.: Human infections due to *Malassezia* spp. Clin. Microbiol. Rev., 1992. 5. 101–119.

Közlésre érke.: 2013. júl. 3.

TALLÓZÁSOK

Tejelő tehenek anyarozsmérgezése. Egy svájci tejelő tehenészetben (25 tehén, pihenőboksos, kifutóval rendelkező istálló, takarmány: széna, fű- és kukoricaszilázs, 2 kg tritikálemag) minden tehén a tritikálemag etetésének kezdetét követő 2. héten megbetegedett: 39,2–39,7 °C láz, erős orrfolyás és nyálzás, a szutyak piszkos, az orrnyílások kitágultak, különböző mértékű, akár 60-at is meghaladó, szapora légzésszám, köhögés nélkül. Az egész tüdő fölött felerősödött sejtcsíngés volt hallható, kóros zörejek nélkül. Sok tehén szőrzete fénytelen és borzolt, az étvágy változatlan, a bélsár normális volt. Vérvizsgálattal csak csökkent hematokritérték (25,8–28,1%; referencia: 28–38% és megkevesbedett thrombocytaszám ($189\text{--}226 \times 10^9$; referencia: $300\text{--}800 \times 10^9/l$) volt megállapítható. A katéterrel vett vizelet vizsgálata negatív eredményre vezetett. A tritikále 0,7% anyarozsot (*Claviceps purpurea*) tartalmazott. A tritikáléból hatféle ergoalkaloidot mutattak ki, összmenyiségük $14\,263\text{ }\mu\text{g/kg}$ volt. Kérődzőkben az ergoalkaloidok passzív transzport révén már a bendőből felszívódnak. Kiválasztásuk a vizelettel, az epével és a bélsárral, kisebb mennyiségben a tejjel történik. Az anyarozsmérgezés tüneteit már Kr. e. 600-ban leírták, de csak 1630-ban ismerték fel a valódi okot. Emberekben az anyarozsmérgezésnek egy heveny és két idült formája fordul elő. Heveny mérgezéskor görcsök, fejfájás, hányinger és elhalások jelentkeznek. Idült esetben vagy ergotizmus gangraenosus (a végtagok égésszerű elhalása) vagy pedig ergotizmus convulsinus (görcsök,

epileptikus tünetek és hallucináció) lép fel. Állatokban a heveny mérgezés jelentős testhőmérséklet-emelkedést és kifejezett idegrendszeri tüneteket, nyálzást, remegést, egyensúlyzavart, szapora szívverést és légzést okoz. Idült esetben ergotizmus cutaneus s. mumificans lép fel végtagelhalás formájában. Nyári melegben a tünetek kifejezettebbek. A vízfogyasztás lényegesen megnő a láz miatt. A toxinhatás és a klinikai tünetek amiatt alakulnak ki, hogy erős antagonisták hatásúak az ergotoksinok az α -adrenerg és dopaminerg receptorokra, valamint agonisták és antagonisták hatásúak a szerotoninreceptorokra. Az α -adrenerg-hatásra az erek összehúzódnak, vérellátási zavar lép fel a perifériás területeken, és ott a szövetek elhalnak. A testhőmérséklet emelkedésének az oka még nem ismert. A tehenek tünetei, az anyarozssal szennyezett takarmány megvonása után 7–10 nappal lényegesen enyhültek. A légzésszám csökkent, az orrfolyás és a nyálzás megszűnt. A fokozott vízfogyasztás azonban csak az összes tünet elmúltával vált normálissá. Egyes teheneknél a megnövekedett testhőmérséklet csak 4 hét elteltével állt helyre. (Prakt. Tierarzt, 2013. 94. 918–925. –ViL–)

Veszett macska. Párizs központjában, 2013 októberének végén veszett macskát találtak, amely három nap múlva elhullott. Hogy honnan származott az állat, sajnos nem derült ki. Franciaország 2001 óta hivatalosan mentes a betegségtől. [VETimpulse, 2013. 22. (22.) 1. –ViL–]