

BOŻENA DWORECKA-KASZAK, ZBIGNIEW SZYNKIEWICZ

Występowanie *Pityrosporum pachydermatis* w przypadkach grzybic skórnych u psów

Zakład Bakteriologii Katedry Mikrobiologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Summary

Prevalence of *Pityrosporum pachydermatis* in cases of dermatomycosis in dogs

Pityrosporum pachydermatis was isolated from 28% of the samples collected from clinically positive cases of dermatomycosis in dogs. In two cases *Pityrosporum* was isolated together with dermatophytes. The aim of the investigations was to determine a frequency of *P. pachydermatis* infections in dogs with dermatomycosis and to evaluate the drug resistance of the isolated strains. Samples collected from dogs were cultivated on Sabouraud agar with actidion for 3 weeks at 30°C. In addition, microscopic examinations were carried out. The inoculated plates were read for fungal growth in 3-5 day intervals. After 3-4 days of incubation, small colonies of *P. pachydermatis* were observed although the incubation temperature was lower than that optimal for *P. pachydermatis* growth. Drug sensitivity was determined by the disc method and by ATB-Fungus Bio-Merieux Kit. It was found out that *P. pachydermatis* may be the only causative agent of dermatomycoses and that it may also be isolated together with other dermatophytes (*Microsporum*, *Trichophyton*). The isolates appeared to be significantly sensitive to imidazole, low sensitive to 5-fluorocytosine, imidazole derivatives and nystatin.

Drożdżaki z rodzaju *Pityrosporum* (Sabouraud), syn. *Malassezia* (Baillon), stanowią jeden ze składników komensalistycznej mikroflory normalnej ludzkiej skóry, szczególnie w okolicy gruczołów łojowych (1, 2). Mogą one również wywoływać schorzenia skóry ludzi i zwierząt. Do rodzaju *Pityrosporum* należą trzy gatunki: *Malassezia sympodialis* izolowany z przewodu słuchowego i ze skóry u pacjentów chorych na AIDS, *Malassezia furfur* z podgatunkami *Pityrosporum ovale* i *Pityrosporum orbiculare* oraz *Pityrosporum pachydermatis*, syn. *Malassezia pachydermatis*. *Pityrosporum ovale* i *Pityrosporum orbiculare* izolowane są ze zmian skórnych u ludzi, zarówno u osobników zdrowych (16), jak i u pacjentów z podwyższonym poziomem kortykosteroidów we krwi lub o obniżonej odporności (10). *Pityrosporum pachydermatis* izolowany jest w dużym procencie (30-70%) (3, 4, 5, 13, 14, 15) z klinicznych przypadków zapaleń uszu i skóry u małych zwierząt, szczególnie u psów i kotów. W etiologii tych schorzeń występuje bądź jako samodzielny czynnik etiologiczny bądź izolowany bywa równocześnie z gronkowcami koagulazododatnimi, paciorkowcami betahemolitycznymi lub też rzadziej z pałeczkami *Pseudomonas*.

Celem pracy było określenie częstości występowania *Pityrosporum pachydermatis* w przypadkach dermatomycosis u psów oraz oznaczenie wrażliwości wyizolowanych szczepów na wybrane leki przeciwgrzybicze.

Material i metody

Próbki przysyłane do rutynowych badań mikologicznych w kierunku dermatofitów posiewane były na podłoże Sabouraud z chloramfenikolem i actidionem (Bio Merieux) i inkubowane w temperaturze 30°C (optymalna dla wzrostu dermatofitów) do 3 tygodni. W odstępach 3-5-dniowych kontrolowano wzrost hodowli na pożywce. Z wyrosłych kolonii drożdżopodobnych sporządzano preparaty barwione błękitem metylenowym. Kolonie *Pityrosporum pachydermatis* wyrastały już 3. lub 4. dnia inkubacji, mimo niższej niż optymalna (37°C) temperatury inkubacji. Jako szczep referencyjny posiano szczep *Pityrosporum pachydermatis* KMCH 1185, otrzymany dzięki uprzejmości prof. Takahashi z Nippon Medical School z Tokio. Odsetek wyników pozytywnych obliczano w odniesieniu do 60 próbek, z których wyizolowano grzyby chorobotwórcze. Badane próbki pochodziły ze zmian klinicznie rozpoznawanych jako dermatomikozy. Biorąc pod uwagę fakt niewrażliwości drożdżaków na tradycyjny lek przeciwgrzybiczy, jakim jest gryzeofulwina, stosowana często w leczeniu dermatomikoz, celem było określenie wrażliwości wyizolowanych szczepów na inne leki przeciwgrzybicze. Dla wyizolowanych szczepów drożdżaków określano lekooporność tradycyjną metodą krążkową (krążki bibułowe Whatman 3 MMChr o średnicy 6 mm, DHN-PAN Kraków) oraz metodą z użyciem pasków ATB-Fungus (Bio-Merieux).

Wyniki i omówienie

Z 60 próbek wyizolowano 17 szczepów *Pityrosporum pachydermatis* co stanowiło 28% pozytywnych badań hodowlanych. Pozostałe 72% (43 szczepy) określono jako typowe dermatofity (np. *Microsporum*, *Trichophyton*). W przypadku hodowli *Pityrosporum*, mimo inkubacji w temp. niższej (30°C) niż temperatura optymalna dla wzrostu drożdżaków (37°C), po 3-5 dniach inkubacji obserwowano charakterystyczne kremowe, w miarę starzenia brązowiejące kolonie o wielkości 1-4 mm, mocno wypukłe, o równym brzegu, litej konsystencji, słabo związane z podłożem i o ciemnym rewersie. W preparatach mikroskopowych stwierdzano typowe butelkowate lub gruszkowate blastospory. Nie obserwowano pseudomycelium (7). Właściwości fizjologiczne i morfologiczne wyizolowanych szczepów porównywano ze szczepem referencyjnym. Żaden z badanych szczepów nie fermentował glukozy, natomiast wszystkie rozkładały mocznik na podłożu Christensena (8, 9). W 2 przypadkach z tych samych próbek łącznie z *Pityrosporum* wyizolowano również typowe dermatofity z rodzaju *Microsporum* (1 przypadek) lub *Trichophyton* (1 przypadek).

Określanie lekooporności metodą krążkową przedstawia tab. 1.

Stwierdzono bardzo małą wrażliwość badanych szczepów na 5-fluorocytozynę i stosunkowo dobrą na leki z grupy pochodnych imidazolowych, tzn. klotrimazol, mikonazol, ketokonazol i tiokonazol. Określanie lekooporności metodą pasków ATB-Fungus przedstawia tab. 2. W metodzie tej również potwierdzono małą przydatność terapeutyczną 5-fluorocytozyny ze względu na dużą liczbę szczepów opornych. Ocena zaś

Tab. 1. Lekooporność *Pityrosporum pachydermatis* izolowanych z grzybic skórnych u psów określana metodą krążkową (n = 17)

Leki	Stężenie leku	Ocena lekooporności (liczba szczepów)		
		wrażliwy	ślabo wrażliwy	oporny
Nystatyna	100 j.	12	4	1
Pimaricyna	10 mcg	8	5	4
Amfoterycyna B	10 mcg	4	8	5
5-Fluorocytozyna	0,5 mcg	0	3	14
Klotrimazol	10 mcg	8	7	2
Mikonazol	10 mcg	10	7	0
Ketokonazol	10 mcg	12	5	0
Tiokonazol	10 mcg	9	8	0

Tab. 2. Lekooporność *Pityrosporum pachydermatis* określana metodą pasków ATB-Fungus (n = 17)

Leki	Stężenie leku	Ocena lekooporności (liczba szczepów)		
		wrażliwy	ślabo wrażliwy	oporny
Nystatyna	4-8 mg/l	6	9	2
Amfoterycyna B	4-1 mg/l	1	10	6
5-Fluorocytozyna	2-32 mg/l	4	2	11
Mikonazol	1-8 mg/l	5	10	2
Ketokonazol	1-8 mg/l	6	8	3
Ekonazol	1-8 mg/l	5	10	2

preparatów imidazolowych nie była tak jednoznaczna, jak w metodzie krążkowej. Część szczepów była oporna na pochodne imidazoli, a część wykazywała niewielką wrażliwość na te preparaty. Obydwoma metodami wykazano dobrą wrażliwość badanych szczepów na nystatynę i stosunkowo małą liczbę szczepów opornych na ten lek.

Szereg badaczy (4, 11, 13, 14) opisał izolację *Pityrosporum pachydermatis* ze zmian skórnych. Dotyczyło to szczególnie izolacji tego drożdżaka z przypadków zapalenia uszu (otitis) u zwierząt. Dufait (6) stwierdził, że może on powodować skórne infekcje u psów. Autor ten izolował wielokrotnie *Pityrosporum pachydermatis* ze zmian skórnych u psów. Doświadczalnie udało się również wywołać zapalenie ucha zewnętrznego indukowane podaniem *Pityrosporum pachydermatis* (12). Rola więc tego drożdżaka w etiologii schorzeń uszu i skóry u małych zwierząt jest znana. Autorzy przedstawionej pracy zwrócili uwagę na fakt, że grzyby te były izolowane z próbek przysyłanych w celu wykonania rutynowych badań mikologicznych na obecność dermatofitów. Można z tego wnioskować, że obraz kliniczny zmian skórnych nie jest charakterystyczny dla zakażenia *P. pachydermatis* i nie sugeruje czynnika etiologicznego. W praktyce weterynaryjnej diagnozowanie zmian skórnych często jeszcze opiera się bądź tylko na wyniku badania mikroskopowego bądź na doświadczeniu lekarza diagnozującego. Biorąc pod uwagę fakt, że badanie mikroskopowe włosów i skóry w przypadkach infekcji drożdżakami często daje wynik wątpliwy lub negatywny, szczególnie gdy zakażeniu wywołanemu przez *Pityrosporum* nie towarzyszą typowe dermatofity (np. *Microsporum*) ustalenie czynnika etiologicznego

zmian skórnych bez wykonania posiewu staje się niemożliwe. Leczenie zaś wszystkich zmian skórnych o tle grzybiczym gryzeofulwiną jako lekiem z wyboru przy rozległych ogniskach grzybiczych mija się z celem, gdyż – jak większość drożdżaków – *Pityrosporum pachydermatis* jest na ten lek niewrażliwy (17).

W celu określenia lekooporności posłużono się dwiema różnymi metodami, mając na uwadze zwiększenie wiarygodności wyników (a nie porównanie metod). Stwierdzone różnice wynikające z użycia różnych metod pozwalają jedynie na orientacyjne określenie lekowrażliwości badanych szczepów oraz sugerują konieczność ich odniesienia do klasycznej metody określania MIC, co może być tematem oddzielnej pracy. Wrażliwość wyizolowanych szczepów na preparaty przeciwgrzybicze wydaje się przemawiać za stosowaniem preparatów imidazolowych, również przy zmianach uogólnionych. Nowoczesne postacie tych leków, np. Nizoral (Janssen Pharmaceutica), pozwalają na doustne ich podawanie. Przy stosowaniu miejscowym sugerować można preparaty oparte na nystatynie.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że:

– *Pityrosporum pachydermatis* może być jedynym czynnikiem etiologicznym grzybic skórnych lub też może być izolowany łącznie z typowymi dermatofitami (*Microsporum*, *Trichophyton*),

– największą wrażliwość *in vitro* *Pityrosporum pachydermatis* wykazywał na preparaty imidazolowe,

– biorąc pod uwagę fakt izolacji *Pityrosporum pachydermatis* ze zmian klinicznych, sugerujących zakażenie typowymi dermatofitami, celowe wydaje się leczenie dermatomikoz z uwzględnianiem wrażliwości drożdżaków na stosowany lek,

– duży rozrzut liczby szczepów *Pityrosporum pachydermatis* wrażliwych na różne leki przeciwgrzybicze sugeruje celowość określania lekooporności *Pityrosporum* w przypadkach klinicznych grzybic skórnych.

Dlatego też przy występowaniu zmian skórnych nasuwających podejrzenie grzybicy u psów wskazane jest równoczesne badanie na obecność dermatofitów i drożdżaków oraz określanie lekowrażliwości wyizolowanych szczepów.

Piśmiennictwo

1. Akpata L. E., Gugnani H. C., Utsalo S. J.: *Mycoses* 33, 549, 1990.
2. Brasch J.: *Mycopathologia* 123, 99, 1993.
3. Breierova E., Kockova-Kratochvilova A., Sajbidov J., Ladzińska K.: *Mycoses* 34, 349, 1991.
4. Van Cutsem J., De Kayser H., Rochette F., Van der Flaes M.: *Vet. Record* 116, 568, 1985.
5. Damoser J., Flatscher J., Mikula M., Kuttin E. S.: *Tierärztl. Umsch.* 47, 193, 1992.
6. Dufait R.: *Vlaams diergeneesk. Tijdschr.* 50, 99, 1981.
7. Faergeman J., Bernander S.: *Sabouraudia* 19, 117, 1981.
8. Kockova-Kratochvilova A.: *Yeast and Yeast-like Organisms*. VCH, Berlin 1990.
9. Sanguinetti V., Tampieri M. P., Morgan L.: *Mycopathologia* 85, 93, 1984.
10. Simmons R. B., Guecho E.: *Mycol. Res.* 94, 1146, 1990.
11. Sinha B. K., Mohapatra L. N., Kumar R.: *Mykosen* 19, 63, 1976.
12. Uchida Y., Mizutani M., Kubo T., Nakade T., Otomo K.: *J. Vet. Med. Sci.* 54, 611, 1992.
13. Winiarczyk S., Woźniak M.: *Medycyna Wet.* 47, 78, 1991.
14. Winiarczyk S., Kostro K.: *Medycyna Wet.* 38, 650, 1982.
15. Winiarczyk S.: *Badania nad budową antygenową i właściwościami immunogennymi Pityrosporum pachydermatis*. Praca dokt., AR Lublin, 1988.
16. Wołoszyn S., Winiarczyk S.: *Medycyna Wet.* 42, 131, 1986.
17. Wright M. C., Hevert F., Rozman T.: *Mycoses* 36, 207, 1993.

Adres autora: dr Bożena Dworecka-Kaszak, ul. Pięciolinii 8 m. 11, 02-764 Warszawa