

Μύκητες του γένους *Malassezia* ως αιτιολογικοί παράγοντες δερματικών λοιμώξεων του ανθρώπου και του σκύλου: Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας

Βασίλειος Σταυρόπουλος, Γεώργιος Φιλιούσης

Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νοσημάτων, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη



Περίληψη

Τα είδη του γένους *Malassezia* αποτελούν τους μοναδικούς ευκαρυωτικούς μικροοργανισμούς της φυσιολογικής χλωρίδας του δέρματος του ανθρώπου και των ζώων. Η παθογόνος δράση τους ως αίτιο δερματοπαθειών εγείρει συνεχείς προβληματισμούς. Από τα 14 αναγνωρισμένα είδη του γένους, τα 8 ενοχοποιούνται για την πρόκληση δερματικών αλλοιώσεων συνηθέστερα σε περιοχές πλούσιες σε σμηγματογόνους αδένες. Ο τρόπος με τον οποίο από φυσιολογική χλωρίδα μεταπίπτουν σε παθογόνους μικροοργανισμούς δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί. Η *Malassezia furfur* είναι το είδος το οποίο έχει κατεξοχήν συνδυαστεί με την πρόκληση νοσημάτων του δέρματος του ανθρώπου όπως η ποικιλόχρους πιτυρίαση, η θυλακίτιδα από *Pityrosporum*, η σμηγματορροϊκή δερματίτιδα και η ατοπική δερματίτιδα. Σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση αυτών των νοσημάτων διαδραματίζουν η κακή διατροφή, η λήψη κορτικοστεροειδών και η μακρόχρονη χρήση αντιβιοτικών. Η *M. pachydermatis*, ένα ιδιαίτερα λιπόφιλο είδος, απομονώνεται από το δέρμα και τον έξω ακουστικό πόρο και το δέρμα υγιών σκύλων σε ιδιαίτερα υψηλά πο-

σοστά. Η διαβίωση του ζώου σε υγρό περιβάλλον, η φυσική πτύχωση του δέρματος, η υπερέκκριση σμήγματος και η παρατεταμένη χρήση γλυκοκορτικοειδών ή και αντιβιοτικών είναι παράγοντες που προάγουν την ανάπτυξη της. Η κλινική εκδήλωση της στο σκύλο χαρακτηρίζεται από εντοπισμένες ή γενικευμένες κνησιμώδεις δερματικές αλλοιώσεις με ερύθημα, αλωπεκία με έντονη όξινη οσμή. Η μετάδοση της *M. pachydermatis* από σκύλους σε ανασκοκατασταμένους ανθρώπους έχει τεκμηριωθεί. Επίσης, έχουν αναφερθεί μελέτες στις οποίες ανθρωπόφιλα είδη *Malassezia* απομονώθηκαν από σκύλους, κάνοντας πιθανή τη θεώρηση των μυκητιακών αυτών λοιμώξεων ως ζωνοδότες.



Λέξεις κλειδιά

Malassezia spp., λοιμώξεις του δέρματος, άνθρωπος, σκύλος

Υπεύθυνος αλληλογραφίας

Γεώργιος Φιλιούσης,
Τμήμα Κτηνιατρικής, Εργαστήριο Μικροβιολογίας
και Λοιμωδών Νοσημάτων, Τμήμα Κτηνιατρικής,
Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστημιούπολη
Α.Π.Θ., ΤΚ 54124, Θεσσαλονίκη,
Τηλέφωνο: 2310999839,
Email: georgefilious@vet.auth.gr

Εισαγωγή

Οι μύκητες του γένους *Malassezia* αποτελούν τους μοναδικούς ευκαρυωτικούς μικροοργανισμούς της φυσιολογικής χλωρίδας του δέρματος. Η αλληλεπίδραση των μονοκύτταρων αυτών μικροβίων με ιστό (δέρμα) ενός πολυκύτταρου οργανισμού είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη και πολυπαραγοντική. Όπως η πλειονότητα των διμορφων μυκήτων, οι μύκητες του γένους *Malassezia* έχουν την ιδιότητα να σαπροφυτούν με τη μορφή του ζυμοειδών κυττάρων. Γενικά η παρουσία τους σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο υγιές δέρμα αποτελεί συχνό φαινόμενο και συνήθως παραμένει ασυμπτωματική. Αντίθετα υψηλές συγκεντρώσεις τους έχουν παρατηρηθεί στο δέρμα ασθενών με ποικιλία δερματοπαθειών, μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνονται η ποικιλόχρους πιτυρίαση, η θυλακίτιδα, η σμηγματορροϊκή δερματίτιδα, η ατοπική δερματίτιδα και η έξω ωτίτιδα. Παρά το γεγονός ότι οι δερματοπάθειες, που αναφέρονται είναι νοσήματα με καλή πρόγνωση, το πρόβλημα της έγκαιρης διάγνωσης τους μπορεί να οδηγήσει σε αστοχία της θεραπευτικής προσέγγισής τους. Στην παρούσα μελέτη αρχικά ανασκοπείται η ταξινόμηση, η μορφολογία και η φυσιολογία των μυκήτων του γένους *Malassezia*. Ακολούθως παρατίθενται στοιχεία σχετικά με την παθογένεια και τις παθολογικές καταστάσεις, που προκαλούν στον άνθρωπο και στο

σκύλο. Στο τέλος αναφέρεται η μεθοδολογία της διάγνωσης, που ακολουθείται για την ταυτοποίηση του είδους της *Malassezia*, που προκαλεί την αντίστοιχη δερματική λοίμωξη.

Ιστορικά στοιχεία-Ταξινόμηση

Οι μύκητες του γένους *Malassezia*, γνωστοί και ως *Pityrosporum*, περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τον Eichstedt το 1846¹ ως σαπρόφυτα, ευκαιριακά παθογόνα του δέρματος και του έξω ακουστικού πόρου των ζώων και του ανθρώπου. Αρχικά ταξινομήθηκαν στους ζυμομύκητες, δηλαδή στην ομάδα των μονοκύτταρων μυκήτων σχήματος σφαιρικού-, ωοειδούς, μεγέθους 3-5μm, που πολλαπλασιάζονται με εκβλάστηση. Από ένα μητρικό κύτταρο εκβλαστάνει ένα θυγατρικό, το βλαστοσπόριο ή βλαστοκονίδιο.² Ο τρόπος αναπαραγωγής καθορίζει και το χαρακτηριστικό σχήμα των θυγατρικών κυττάρων, που προσομοιάζουν με διάφορα αντικείμενα, όπως κορίνα του bowling, αραχίδα, ή μπουκάλι. Παρότι, όπως ήδη αναφέρθηκε, οι μικροοργανισμοί του γένους *Malassezia* υπάγονται στους ζυμομύκητες, ενίοτε μεταπίπτουν σε μορφή μυκητυλλιακού μύκητα.^{2,3} Η εσφαλμένη αυτή θεώρηση είχε σαν αποτέλεσμα την ταξινόμηση τους σε δύο διαφορετικά γένη. Ειδικότερα, αρχικά καθιε-

ρώθηκε η ονομασία *Pityrosporum* για τη ζυμοειδή μορφή και η ονομασία *Malassezia* για τη μυκητυλιακή. Επιπλέον, το γένος *Pityrosporum* διαχωρίστηκε σε δύο είδη, το *P. ovale* (σχήματος ωοειδούς) και το *P. orbiculare* (σχήματος σφαιρικού).⁴

Ο Sabouraud το 1904 ήταν ο πρώτος ερευνητής, ο οποίος πρότεινε τη συσχέτιση βλαστικής και μυκητυλλιακής μορφής.² Παρόλα αυτά για μακρό χρονικό διάστημα τα γένη *Pityrosporum* και *Malassezia* αναγνωρίζονταν ως διαφορετικά. Η ταξινόμηση τους διευκρινίστηκε οριστικά το 1977 όταν επιτεύχθηκε *in vitro* η αναπαραγωγή υφών (μυκητύλλιων) από τις βλαστικές μορφές ειδών *Pityrosporum*.^{5,6}

Η ικανότητα μετεξέλιξης της βλαστικής μορφής σε υφή, οδήγησε το 1986 στην αναγνώριση άλλων δύο ειδών του γένους *Malassezia*: της *M. furfur* και της *M. pachydermatis*. Το 1990, με βάση τα αντιγόνα επιφανείας του κυττάρου αναγνωρίστηκαν τρεις ορότυποι της *M. furfur* (A, B και C) καθώς επίσης ταυτοποιήθηκε ένα ακόμη είδος, η *M. sympodialis*.⁷ Σήμερα με την εξέλιξη των μοριακών τεχνικών αναγνωρίζονται 14 είδη του γένους *Malassezia* από τα οποία μεγαλύτερης σημασίας για την παθολογία ανθρώπου και ζώων έχουν οι *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. obtusa*, *M. globosa*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, και *M. pachydermatis*.⁸

Μορφολογία του κυττάρου

Το κύτταρο των ειδών του γένους *Malassezia* έχει την τυπική μορφή ευκαρυωτικού κυττάρου, μεγέθους 3 - 5 μm και σχήματος σφαιρικού ή ωοειδούς. Ως ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του κυττάρου αναγνωρίζονται τα ακόλουθα:

- το αυξημένο πάχος του κυτταρικού τοιχώματος του (0,12 μm), το οποίο αντιστοιχεί στο 26-37% του συνολικού κυτταρικού όγκου. Τα σάκχαρα αποτελούν το κύριο δομικό συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος σε ποσοστό 70%. Το υπόλοιπο 30% αποτελείται από πρωτεΐνες και λιπίδια, ενώ ανιχνεύονται και μικρές ποσότητες αζώτου και θείου.⁹
- η παρουσία ελύτρου μεμβρανοειδούς υφής εξωτερικά του κυτταρικού τοιχώματος, το οποίο διευκολύνει την προσκόλληση του κυττάρου στο δέρμα του ξενιστή.¹⁰
- η παρουσία πολλών κοκκίων και κεντοπίων, γεμάτα με λιπίδια, στο κυτταρόπλασμα.
- οι διαφορές στη δομή και τη σύσταση των μιτοχονδρίων μεταξύ των διαφορετικών ειδών του γένους *Malassezia*, οι οποίες αποτελούν μια βασική μέθοδο για την τυποποίησή τους.¹¹

Όπως ήδη αναφέρθηκε είναι εφικτή η αναπαραγωγή υφών από ζυμοειδή κύτταρα τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* σε κοινά και σε ειδικά θρεπτικά. Αναλόγως

του θρεπτικού υποστρώματος που χρησιμοποιείται από τους ζυμομύκητες αναπαράγονται λίγες ή πολλές υφές βραχείες ή μακρές, καμπυλωτές ή διακλαδισμένες, με ή χωρίς διαφράγματα και μέγεθος μεταξύ 15-50 μm.¹²

Αναπαραγωγή

Όλα τα είδη του γένους *Malassezia* αναπαράγονται αγενώς. Το γενετικό υλικό τους βρίσκεται σε ευδιάκριτο πυρήνα, που περιβάλλεται από πυρηνική μεμβράνη. Κατόπιν αλληλούχησης αποδείχθηκε ότι το γονιδίωμα τους αριθμεί στα 9 εκατομμύρια νουκλεοτίδια, και 4.285 γονίδια.¹³ Στο μικρό αριθμό των γονιδίων αποδίδεται η προσαρμοστικότητα του μύκητα σε έναν συγκεκριμένο ιστό ή όργανο, όπως είναι το δέρμα.^{14,15} Κατά τον αγενή κύκλο αναπαραγωγής παράγεται πολύ μεγάλος αριθμός θυγατρικών κυττάρων, γεγονός το οποίο διευκολύνει τη διασπορά του μικροοργανισμού. Πάνω στο μητρικό κύτταρο αναπτύσσεται ένα θυγατρικό, το εκβλάστημα, το οποίο αυξάνει προοδευτικά σε μέγεθος και διαχωρίζεται από το μητρικό με ένα διάφραγμα, γνωστό ως «σέπτο». Όταν το θυγατρικό κύτταρο αποκτήσει ένα ιδανικό μέγεθος αποχωρίζεται πλήρως καταλείποντας στο σημείο της εκβλάστησης, πάνω στο μητρικό, μια «ουλή».

Εγγενής αναπαραγωγή δεν έχει επιβεβαιωθεί σε κανένα από τα 14 γνωστά είδη του μύκητα.¹⁶

Μεταβολισμός

Ο μικροοργανισμός αξιοποιεί τα αμινοξέα μεθειονίνη, κυστίνη, κυστεΐνη σαν πηγές θείου.¹⁷ Δεν διαθέτει μηχανισμούς ζύμωσης σακχάρων και ως μοναδική πηγή άνθρακα χρησιμοποιεί τα λιπίδια.¹⁴ Ιδιαίτερο ενδιαφέρον όμως παρουσιάζει η παρατήρηση, ότι όλα τα είδη του γένους *Malassezia* αδυνατούν να συνθέσουν λιπίδια, λόγω μη παραγωγής του ενζύμου συνθάσης.¹⁸ Σαν αποτέλεσμα, για την *in vitro* αναπαραγωγή τους, κρίνεται απαραίτητη η προσθήκη έτοιμων λιπαρών οξέων (λινολεϊκού, ολεϊκού, παλμιτικού, στεατικού, μυριστικού οξέος) στο καλλιεργητικό υλικό.¹⁹ Επιπλέον η προσθήκη λιπαρών οξέων μακράς αλύσου, αποδείχτηκε ότι προάγει την ανάπτυξη του μύκητα. Εξαιρέση αποτελεί το είδος *M. pachydermatis*, το οποίο δεν απαιτεί για την *in vitro* καλλιέργεια του παρουσία λιπιδίων χωρίς όμως να έχει αποδειχτεί εάν διαθέτει την ικανότητα παραγωγής συνθάσης.²⁰

Για την αξιοποίηση των εξωγενών λιπιδίων όλα τα είδη της *Malassezia* συνθέτουν έναν μεγάλο αριθμό ενζύμων και μεταβολιτών με λιπολυτική δραστηριότητα (λιπάσες), οι οποίες εντοπίζονται στο κυτταρικό τοί-

χωμα ή/και στις μεμβράνες των κυτταροπλασματικών οργανιδίων.²¹ Ειδικότερα το είδος *M. globosa* διαθέτει πληθώρα γονιδίων υπεύθυνων για τη σύνθεση λιπασών, διαμέσου των οποίων υδρολύει τα τριγλυκερίδια του σμήγματος και καλύπτει τις ενεργειακές του ανάγκες.²² Επίσης το είδος *M. furfur* παράγει το ένζυμο φωσφολιπάση.²¹ Τα επιθηλιακά κύτταρα της επιδερμίδας υδρολύονται από τη φωσφολιπάση και εκλύουν αραχιδονικό οξύ, μια ερεθιστική ουσία, που ενοχοποιείται για την πρόκληση φλεγμονής του δέρματος.²³

Για την ανάπτυξή του ο μύκητας δεν παρουσιάζει ιδιαίτερες απαιτήσεις σε βιταμίνες, ιχνοστοιχεία και ηλεκτρολύτες. Όσον αφορά στις απαιτήσεις σε οξυγόνο, αναπτύσσεται ευκολότερα σε αερόβιες συνθήκες χωρίς όμως να αναστέλλεται ο μεταβολισμός του σε περιβάλλον με χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου ή ακόμη και απουσία του. Τέλος η τιμή pH 5.0 αποτελεί τη βέλτιστη τιμή για την ανάπτυξή του.⁵

Malassezia ως φυσιολογική χλωρίδα του δέρματος

Τα είδη του γένους *Malassezia* ανήκουν στη φυσιολογική χλωρίδα του δέρματος και συνήθως απομονώνονται από περιοχές πλούσιες σε σμηγματογόνους αδένες (θώρακας, κranίο, μεσοδακτύλια διαστήματα).²⁴ Η κατανομή των διαφόρων ειδών στο δέρμα μελετήθηκε εκτενώς από τους Leeming και συνεργάτες με τη χρήση ειδικού καλλιεργητικού υποστρώματος και την εφαρμογή μιας ιδιαίτερα αποτελεσματικής μεθόδου δειγματοληψίας, που επιτρέπει τη συλλογή του 98% της μικροβιακής χλωρίδας.²⁵ Διάφορα είδη *Malassezia* αναπτύχθηκαν από όλες τις περιοχές δειγματοληψίας (στήθος, πλάτη, πίσω από τα αυτιά, μέτωπο, μάγουλα, εσωτερικό μηρών κ.α.). Μεγαλύτεροι πληθυσμοί καταμετρήθηκαν σε δείγματα από την πλάτη, το στήθος, τα αυτιά, τα μάγουλα και το μέτωπο. Επίσης, παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των δύο φύλων με την υψηλότερη πυκνότητα μυκήτων να καταμετράται στους άνδρες και σε δείγματα από το κάτω τμήμα του κορμού και το άνω των μηρών.²⁶ Οι Bergbrant και Faegermann⁵ διαπίστωσαν ότι ο πληθυσμός του μικροοργανισμού μειώνεται με την πάροδο της ηλικίας, λόγω ανάλογης προοδευτικής μείωσης της παραγωγής λιπιδίων στο δέρμα. Επιπλέον, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η συχνότητα αποικισμού με *Malassezia* του δέρματος ατόμων προερχομένων από διαφορετικές χώρες ποικίλει.²⁷

Ειδικές ανοσοσφαιρίνες IgG και IgM είναι πιθανών να ανιχνευθούν και σε υγιείς ξενιστές. Κατά κανόνα όμως η *Malassezia* διεγείρει την παραγωγή αντισωμάτων σε άτομα, που εμφανίζουν λύσεις συνεχείας του δέρματος. Για παράδειγμα διαπιστώθηκε ότι μέχρι ποσοστού 50%

οι πάσχοντες από ατοπική δερματίτιδα είχαν ειδικές ανοσοσφαιρίνες έναντι του μικροοργανισμού. Ο βαθμός ευαισθητοποίησης εξαρτιόταν κατά κανόνα από την έκταση των αλλοιώσεων του δέρματος.²⁸

Παθογένεια

Η παθογένεια των δερματικών λοιμώξεων, που προκαλούνται από τη *Malassezia* δεν είναι πλήρως γνωστή. Το γεγονός αυτό οφείλεται στις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις του ζυμομύκητα με το δέρμα, ένα όργανο το οποίο υπέστη πολλαπλές μεταλλαγές κατά τη διάρκεια της βιολογικής εξέλιξης. Το δέρμα αποτελεί φυσικό φραγμό του οργανισμού έναντι των μολύνσεων από μικροοργανισμούς.²⁹ Μέσω της φυσιολογικής χλωρίδας και του μικροβιακού ανταγωνισμού περιορίζεται η πιθανότητα αποικισμού της επιδερμίδας από παθογόνους μικροοργανισμούς.²⁴ Επιπλέον η παρουσία στο δέρμα μηχανισμών μη ειδικής (φαγοκύτταρα), αλλά και ειδικής ανοσίας (κύτταρα Langerhans, μονοκύτταρα, σιτευτικά, ενδοθηλιακά, Τ-κύτταρα, ανοσοσφαιρίνες IgG, IgA) αυξάνει την άμυνα του έναντι διαφόρων παθογόνων μικροβίων. Σε υγιές δέρμα, οι ζυμομύκητες *Malassezia* αντλούν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξή τους, χωρίς να προκαλούν ασθένειες. Στην περίπτωση όμως κατά την οποία η άμυνα του δέρματος διαταράσσεται οι μύκητες προσαρμόζονται τροποποιώντας την έκφραση των λιπασών και φωσφολιπασών, ενζύμων που εμπλέκονται στην άντληση ενέργειας από τα δερματικά κύτταρα.^{30,31} Οι λιπάσες και φωσφολιπάσες, που εντοπίζονται ως προένζυμα στο κυτταρικό τοίχωμα του ζυμοειδούς μύκητα ενεργοποιούν το σύστημα του συμπληρώματος προκαλώντας φλεγμονή της επιδερμίδας, κερατινόλυση, επιδερμική σπογγίωση και πιθανά κνησμό.³² Επιπλέον κατά την εξέλιξη της φλεγμονής παράγονται από το μύκητα τα ένζυμα εστεράση, λιποσυγγενάση και πρωτεάση, τα οποία συμβάλουν στην επιδείνωση του κνησμού και στην πρόκληση πόνου.³³

Νοσήματα του δέρματος του ανθρώπου

Το είδος *M. furfur* έχει συνδυαστεί με την πρόκληση νοσημάτων του δέρματος του ανθρώπου, σημαντικότερα των οποίων είναι: η ποικιλόχρους πιτυρίαση, η θυλακίτιδα από *Pityrosporum*, η σμηγματορροϊκή δερματίτιδα και η ατοπική δερματίτιδα.

Η ποικιλόχρους πιτυρίαση (Pityriasis versicolor) είναι μια χρόνια επιφανειακή μυκητίαση. Η νόσος είναι συχνότερη σε εφήβους και νέους ενήλικες, λόγω της έντονης λειτουργίας των σμηγματογόνων αδένων

τους. Παρόλα αυτά έχει περιγραφεί σε νεογνά³⁴ αλλά και σε ηλικιωμένους.³⁵ Σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση της ποικιλόχρους πιτυρίασης διαδραματίζουν και ενδογενείς παράγοντες, όπως η κακή διατροφή, η λήψη αντισυλληπτικών και η συστηματική χρήση κορτικοστεροειδών.³⁶ Η νόσος εκδηλώνεται όταν η *M. furfur* λαμβάνει μορφή μυκητυλλιακού μύκητα και εισβάλλει στην κερατίνη στιβάδα του δέρματος. Χαρακτηρίζεται από εμφάνιση υποχρωματικών ή υπερχρωματικών αλλοιώσεων, κατά κανόνα στον κορμό και στα ανώτερα τμήματα των άκρων. Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις περιορίζονται στην κερατίνη στιβάδα του δέρματος.³⁷

Η θυλακίτιδα από *Pityrosporum* έχει την ίδια ηλικιακή κατανομή με την ποικιλόχροα πιτυρίαση. Ο επιπολασμός της όμως είναι μεγαλύτερος σε χώρες με θερμό και υγρό κλίμα, με ιδιαίτερες εξάρσεις κατά τους θερινούς μήνες.³⁸ Η παθογένεια του νοσήματος έγκειται στην πρόκληση θυλακίτιδας από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, στα οποία η *M. furfur* διασπά τα τριγλυκερίδια του σμήγματος. Η κλινική εικόνα της νόσου χαρακτηρίζεται από την παρουσία κνησμωδών βλατίδων ή φλυκταινών στον αυχένα, στη ράχη, στο θώρακα και στους ώμους.³⁹ Εφόσον η διάγνωση της νόσου γίνει έγκαιρα, η πρόγνωση της είναι καλή και η ίαση πλήρης.

Η σμηγματορροϊκή δερματίτιδα εμφανίζεται κατά κανόνα κατά τη βρεφική ηλικία, καθώς και κατά την 4η-5η δεκαετία της ζωής του ανθρώπου. Εκτός από τη *M. furfur*, στην αιτιοπαθογένεια της νόσου εμπλέκεται και η *M. globosa*. Η νόσος κυρίως οφείλεται σε μη ειδική ερεθιστική φλεγμονή του δέρματος και λιγότερο σε ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή.⁴⁰ Η κλινική εκδήλωση κυμαίνεται από ήπια ερυθρότητα των ρινοπαραριακών πτυχών μέχρι και έντονη φλεγμονή του προσώπου και του άνω τμήματος του κορμού.⁴¹

Η ατοπική δερματίτιδα αποτελεί χρόνια κνησμώδη ανοσολογική αντίδραση του δέρματος, χαρακτηριζόμενη από ερύθημα, απολέπιση και πάχυνση της επιδερμίδας. Προσβάλλονται άνθρωποι κάθε ηλικίας με τον υψηλότερο επιπολασμό να παρατηρείται σε νεαρά άτομα διαμένοντα στη Β. Ευρώπη.⁴² Η εκδήλωση της νόσου εξαρτάται από παράγοντες, που σχετίζονται με την κληρονομικότητα, το περιβάλλον του ξενιστή, τις προϋπάρχουσες βλάβες του δέρματος καθώς και τη συνύπαρξη διαφόρων άλλων λοιμωδών παραγόντων.⁴³ Ιδιαίτερως ευκαιριακή λοίμωξη από το είδος *M. sympodialis* συνδέεται με την πρόκληση ατοπικής δερματίτιδας.^{44,45}

Νοσήματα του δέρματος του σκύλου

Το κύριο είδος ζυμομύκητα, σχετιζόμενο με την εκδή-

λωση δερματικής νόσου του σκύλου είναι η *M. pachydermatis*. Αποτελεί ένα ιδιαίτερα λιπόφιλο είδος του οποίου η ανάπτυξη προάγεται από την παρουσία φυσικών λιπιδίων στο δέρμα των ζώων. Συγκεκριμένα έχει απομονωθεί από τον έξω ακουστικό πόρο και το δέρμα υγιών σκύλων σε ποσοστό 8-86% και 23-50% αντίστοιχα.⁴⁶ Συχνά επίσης απομονώνεται από τα βλενογονοδερματικά όρια (χειλη, αιδοίο), τα μεσοδακτύλια διαστήματα, την κάτω επιφάνεια του θώρακα και της κοιλιάς καθώς και την περιπρωκτική χώρα. Σε ποσοστό 46% καλλιεργείται από υλικό προερχόμενο από φλεγμαίνοντες περιπρωκτικούς σάκους.⁴⁷ Αλλαγές στο μικροπεριβάλλον του δέρματος και διαταραχές του ανοσοποιητικού συστήματος, μπορεί να οδηγήσουν στην υπερανάπτυξη της *M. pachydermatis* με μηχανισμούς που ακόμη δεν είναι απολύτως γνωστοί.⁴⁸ Πολλές φυλές σκύλων ιδιαίτερα οι μακρύτριχες όπως Basset hound, English Setter, German Sepherd και αρκετές άλλες εμφανίζουν προδιάθεση στην εκδήλωση δερματικών μυκητιάσεων. Στις ίδιες φυλές βρέθηκε να υπάρχει προδιάθεση στην ατοπική δερματίτιδα, χωρίς να έχει αποσαφηνιστεί εάν αυτή η νόσος σχετίζεται με λοίμωξη από *Malassezia*.⁴⁹

Η *M. pachydermatis* ως σαπροφυτικός οργανισμός, μπορεί να μεταπέσει σε παθογόνο κάτω από ειδικές συνθήκες. Η διαβίωση σε υγρό περιβάλλον, η φυσική πτύχωση του δέρματος και η υπερέκκριση σμήγματος είναι παράγοντες που προάγουν την ανάπτυξη της.^{50,51} Η παρουσία βακτηρίων στον έξω ακουστικό πόρο του σκύλου δεν παρεμποδίζει, αλλά αντιθέτως προάγει την ανάπτυξη της. Το παραπάνω γεγονός επιβεβαιώνεται από τη συχνή, ταυτόχρονη απομόνωση *Staphylococcus intermedius* και *M. pachydermatis* από τον έξω ακουστικό πόρο σκύλων, που πάσχουν από έξω ωτίτιδα.^{52,53} Επιπλέον συνυπάρχουσες παθολογικές καταστάσεις δημιουργούν ιδανικές συνθήκες για την ανάπτυξη της *M. pachydermatis*. Σε αυτές περιλαμβάνονται η αλλεργική δερματίτιδα, η δεμοδήκωση, οι διάφορες ενδοκρινοπάθειες (π.χ. υπερφλοιοεπινεφριδισμός), οι μεταβολικές διαταραχές (π.χ. παχυσαρκία) και οι πρωτογενείς διαταραχές κερατινοποίησης.⁵⁴ Τέλος η παρατεταμένη χρήση γλυκοκορτικοειδών ή και αντιβιοτικών μπορούν επίσης να συμβάλουν στην υπερανάπτυξη του ζυμομύκητα στο δέρμα σκύλων.⁵⁵

Η κλινική εκδήλωση της *M. pachydermatis* στο σκύλο χαρακτηρίζεται από εντοπισμένες ή γενικευμένες κνησμώδεις δερματικές αλλοιώσεις. Συχνότερα οι αλλοιώσεις αυτές εντοπίζονται στο πρόσωπο (βλενογονοδερματικά όρια των χειλέων, περιοφθαλμικά, στη ραχιαία επιφάνεια του επιρρινίου), στον έξω ακουστικό πόρο, στα άκρα (μεσοδακτύλια διαστήματα, ανάμεσα στα πελματικά φύματα), στη μασχαλαία και βουβωνική χώρα, στο θώρακα και στην κοιλιά.⁵⁶ Η τυπική εικόνα των αλλοιώσεων χαρακτηρί-



ζεται από αλωπεκία, σημηματόρροια και ερύθημα. Σε πιο χρόνιες καταστάσεις μπορεί να παρατηρηθούν υπέρχρωμες κηλίδες και ληχεινοποίηση του δέρματος. Βλατίδες και φλύκταινες διαπιστώνονται μόνο σε δευτερογενή βακτηριδιακή επιμόλυνση των αρχικών αλλοιώσεων του μύκητα.⁵⁷ Ιδιαίτερως συχνά η λοίμωξη από *Malassezia* στους σκύλους εκδηλώνεται ως ετερόπλευρη οξεία έξω ωτίτιδα με έντονο κνησμό του περυγίου του ωτός, ερύθημα και κηρώδους σύστασης, καστανόχρωμο, κυψελιδικό έκκριμα.⁵⁸ Η χρόνια μορφή της πιθανόν να είναι ετερόπλευρη ή αμφοτερόπλευρη και χαρακτηρίζεται από έντονο κνησμό, απουσία πόνου, ληχεινοποίηση δέρματος και από την παρουσία δύσοσμου ορώδους ή κηρώδους σύστασης εκκρίματος στην περιοχή του έξω ωτός. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων και σε αντίθεση με ό,τι παρατηρείται στην βακτηριακή ωτίτιδα, το περύγιο του ωτός φλεγμαίνει. Πολύ συχνά η μυκητιακή έξω ωτίτιδα συνδυάζεται με ποδοδερματίτιδα.⁵⁹

Διάγνωση

1. Άμεση μικροσκοπική

Σε υποψία ποικιλόχρους πιτυρίασης συλλέγονται λέπια από τις κηλιδώδεις βλάβες ή εναλλακτικά χρησιμοποιείται η μέθοδος της προσκολλητικής ταινίας. Η μικροσκόπηση γίνεται άμεσα μετά την προσθήκη μιας σταγόνας μελάνης Quick Parker με μία σταγόνα διαλύματος KOH 20%. Εναλλακτικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί κυανό του μεθυλενίου, μετά από μονιμοποίηση του παρασκευάσματος με οξικό οξύ. Διαγνωστικά στοιχεία λοίμωξης από *Malassezia* αποτελούν τα αθροίσματα κατά τύπους σφαιρικών κονιδίων διαμέτρου 4-8μm με παχύ τοίχωμα και ευρεία βάση, συνήθως με εκβλαστώματα σε συνδυασμό με βραχείες, γωνιώδεις ψευδοϋφές, εύρους 2-5μm και ποικίλου μήκους (εικόνα ως "spaghetti & meatballs").⁶⁰ (Εικόνα 1)

2. Κυτταρολογική εξέταση

Ο τρόπος δειγματοληψίας εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την περιοχή εντόπισης των αλλοιώσεων. Επιχρίσματα μπορούν να ληφθούν άμεσα με την μέθοδο του εντυπώματος, κατά την οποία μια αντικειμενοφόρος πλάκα πιέζεται σταθερά πάνω στις αλλοιώσεις. Επίσης επιχρίσματα παρασκευάζονται από ξέσματα ή υλικό της αλλοίωσης, τα οποία δειγματίζονται με αποστειρωμένη γάζα και τοποθετούνται πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα. Τα διαγνωστικά επιχρίσματα θα πρέπει να λαμβάνονται από πολλαπλές πάσχουσες περιοχές του σώματος και κατά προτίμηση να θερμαίνονται πριν από την χρώση.⁶¹ Στη συνέχεια τα επιχρίσματα βάφονται με χρώσεις τύπου Romanovski (χρώση Diff-Quick). Η μικροσκόπηση των επιχρισμά-

των γίνεται με φακό 40X. Η καταμέτρηση περισσότερων των 10 ζυμομυκήτων ανά οπτικό πεδίο θεωρείται υψηλή συγκέντρωση και είναι ενδεικτική λοίμωξης (Εικόνα 2). Σε κυτταρολογικά επιχρίσματα κυψελιδικού εκκρίματος ωτός αναμένεται μεγαλύτερος αριθμός ζυμομυκήτων / οπτικό πεδίο. Αν και τυπικά τα ουδετερόφιλα απουσιάζουν στη δερματίτιδα από *Malassezia*, η παρουσία τους δηλώνει συνυπάρχουσα βακτηριακή μόλυνση.⁶²

Και η δύο παραπάνω μέθοδοι αποτελούν μέθοδο αναφοράς για τη διάγνωση των λοιμώξεων του δέρματος από μύκητες του γένους *Malassezia*.

2. Καλλιέργεια

Για την καλλιέργεια των ειδών του γένους *Malassezia* χρησιμοποιείται το ειδικό θρεπτικό υλικό m-Dixon agar (2133 CONDA, Spain). Μικρή ποσότητα παθολογικού υλικού καλλιεργείται επιφανειακά σε τρυβλία, τα οποία επάζονται αερόβια στους 30-32°C για χρονικό διάστημα έως 15 ημερών. Οι χαρακτηριστικές λευκοκίτρινες και κρεμώδεις αποικίες ανακαλλιεργούνται σε m-Dixon agar και στη συνέχεια ταυτοποιούνται στο επίπεδο του είδους με βάση:⁶³

- την ανάπτυξη τους σε θρεπτικό υλικό Sabouraud agar
- τη δοκιμή της καταλάσης
- την αναστολή ανάπτυξης από tween η/και Chremphor EL
- τη δοκιμή της εσουλίνης.

3. Διάγνωση με μοριακές μεθόδους

Η μοριακή διάγνωση των δερματικών λοιμώξεων, που οφείλονται στο είδος *Malassezia* γίνεται με βάση την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης, τόσο τη συμβατική (jel based PCR), όσο και την πραγματικού χρόνου (real time PCR).⁶⁴ Πρόσφατα έχει εφαρμοστεί διαγνωστικά με ιδιαίτερη επιτυχία η μέθοδος της ανάλυσης πολυμορφισμών (PCR-RFLP) με τα περιοριστικά ενζυμα Hha1 και BstF1.^{64,65} Τέλος με τη χρήση της φασματομετρίας μάζας MALDI-TOF MS στη διαγνωστική των δερματικών λοιμώξεων επιτυγχάνεται η ταυτοποίηση της *Malassezia* στο επίπεδο του είδους σε ελάχιστο χρονικό διάστημα.⁶⁵

Επίλογος

Τα είδη του γένους *Malassezia* αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του δέρματος του ανθρώπου και του σκύλου. Οι μεγαλύτεροι πληθυσμοί τους ανευρίσκονται σε περιοχές του σώματος με μεγάλη πυκνότητα σε σημηματογόνους αδένες, όπως τριχωτό της κεφαλής, πρόσωπο, στέρνο, μέση της πλάτης, έξω ακουστικό πόρο. Η ολοκλήρωση της αλληλούχησης

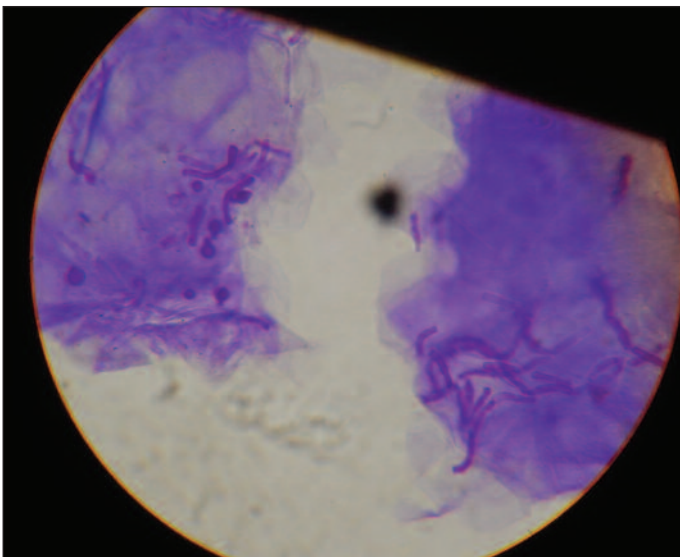
του γονιδιώματος αποτέλεσε ένα σημείο καμπής, για την καλύτερη κατανόηση των νοσημάτων, που προκαλούνται από αυτό το γένος ζυμομυκήτων.⁶⁸ Ειδικότερα ανακαλύφθηκαν γονίδια συνδεδεμένα τόσο με την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό τους στο δέρμα, όσο και με την παθογόνο δράση τους. Συμπερασματικά τα δερματικά νοσήματα, που προκαλούνται από μύκητες του γένους *Malassezia* θεωρούνται ενδογενή και η συνύπαρξη γενετικών, περιβαλλοντικών, ορμονικών, και άλλων παραγόντων είναι ιδιαίτερης σημασίας για την εκδήλωσή τους.

Τόσο ο άνθρωπος όσο και ο σκύλος προσβάλλονται από τους ζυμομύκητες αυτού του είδους και εκδηλώνουν παρόμοια συμπτωματολογία. Η μετάδοση της *M. pachydermatis* από σκύλους σε ανθρώπους έχει τεκμηριωθεί. Ειδικότερα αποδείχτηκε η ζωονοτική μετάδοση της σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς μέσω

του υγειονομικού προσωπικού που διέθετε σκύλους.⁶⁹ Επίσης έχει διευκρινιστεί ότι τα ανθρωπόφιλα είδη είναι δυνατό να μεταδοθούν στα κατοικίδια ζώα και κάτω από συγκεκριμένες προϋποθέσεις να προκαλέσουν δερματικά νοσήματα.⁷⁰ Η «αμφίδρομη» αυτή μετάδοση των ζυμομυκήτων *Malassezia* αποτελεί ένα σημαντικό κρίκο στην αλυσίδα της ενιαίας ιατρικής, η οποία συνδέει άρρηκτα τον άνθρωπο με το περιβάλλον του.

Δήλωση σύγκρουσης συμφερόντων: Οι συγγραφείς δηλώνουν ότι δεν υπάρχει σύγκρουση συμφερόντων.

Ευχαριστίες: Οι συγγραφείς ευχαριστούν το Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ για την ευγενή παραχώρηση της εικόνας 1 του κειμένου.

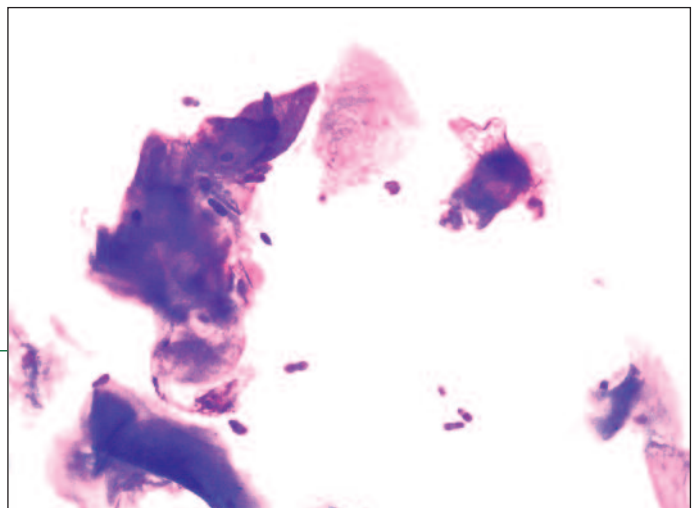


Εικόνα 1

Άμεσο παρασκεύασμα ξεσμάτων ψιλού δέρματος από ασθενή με ποικιλόχροη πυτηρίαση όπου φαίνονται σφαιρικά κονίδια με εκβλάστηση και βραχείες γωνιώδεις υφές (Χρώση κυανού του μεθυλενίου X 100)

Εικόνα 2

Κυτταρολογικό επίχρισμα εκκρίματος έξω ακουστικού πόρου σκύλου. Ο αριθμός των βλαστοκονιδίων *M. pachydermatis* υπολογίζεται σε περισσότερα από 10 κύτταρα/οπτικό πεδίο (Χρώση Diff - Quick 100X).





Summary

Skin infections of humans and dogs caused by *Malassezia* yeasts: A review of the literature

Vasileios Stavropoulos, George Filioussis

Laboratory of Microbiology and Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine,
School of Health Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

Malassezia yeasts are the only eukaryotic commensal microorganisms of the normal skin of humans and animals. Their potential as causative agents in the pathogenesis of skin disorders causes continued speculation. The genus comprises 14 species, 8 of which have been linked to several skin diseases preferentially distributed in the seborrheic areas of the skin surface. The question whether they are mere commensals coincidentally found in diseased skin or a real cause of human skin disorders remains controversial. *Malassezia furfur* is the main anthropophilic species that is believed to be the causative agent of various human dermatological disorders including pityriasis versicolor, seborrheic dermatitis, atopic dermatitis, and dandruff. Predisposing factors to *M. furfur* skin diseases include bad nutrition, prolonged use of glucocorticoids or antibiotics. *M. pachydermatis* is a highly lipophilic species isolated from the skin and the external ear canal of healthy dogs. Humid environment, natural skin folding, sebaceous hypersecretion and prolonged use of glucocorticoids and / or antibiotics are factors that promote the growth of this species. Common clinical findings of *M. pachydermatis* dog infection are pruritic lesions characterized by alopecia, seborrhea, erythema and rancid smell. *M. pachydermatis* is occasionally isolated from human skin. Moreover studies in which dogs have been infected by anthropophilic species of *Malassezia* are also mentioned and contribute to the knowledge of ecology and possible mechanism of zoonotic transmission of this organism.



Key words

Malassezia spp., skin infections, human, dog

Βιβλιογραφία

- Guillot J, Bond R. *Malassezia pachydermatis*: a review. *Med Mycol* 2008; 37:295–306.
- Guého E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1996;69:337–55.
- Midgley G. The lipophilic yeasts: state of the art and prospects. *Med Mycol* 2000;38 Suppl 1:9–16.
- Saadatzadeh MR, Ashbee HR, Holland KT, Ingham E. Production of the mycelial phase of *Malassezia* in vitro. *Med Mycol*. 2001;39:487–93.
- Bergbrant IM, Faergemann J. Variations of *Pityrosporum orbiculare* in middle-aged and elderly individuals. *Acta Derm Venereol* 1988; 68:537–40.

6. Bandhaya M. The distribution of *Malassezia furfur* and *Malassezia pachydermatis* on normal human skin. *Southeast Asian J Trop Med Public* 1993;24:343–6.
7. Guillot J, Guého E. The diversity of *Malassezia* yeasts confirmed by rRNA sequence and nuclear DNA comparisons. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1995;67:297–314.
8. Harada K, Saito M, Sugita T, Tsuboi R. *Malassezia* species and their associated skin diseases. *J Dermatol* 2015;42:250–7.
9. Stalhberger T, Simenel C, Clavaud C, Eijssink VGH, Jourdain R, Delepierre M, et al. Chemical Organization of the Cell Wall Polysaccharide Core of *Malassezia restricta*. *J Biol Chem*. 2014;289:12647–56.
10. Mittag H. Fine structural investigation of *Malassezia furfur*. II. The envelope of the yeast cells. *Mycoses*. 1995 ;38:13–21.
11. Yokoyama K. [Phylogenetic relationship of the genus *Malassezia* based on mitochondrial cytochrome B gene]. *Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 2005;46:151–6.
12. Midgley G. Morphological Variation in *Malassezia* and its Significance in Pityriasis Versicolor. In: Dimorphic Fungi in Biology and Medicine [Internet]. Boston, MA: Springer US; 1993 . p. 267–77.
13. Xu J, Saunders CW, Hu P, Grant RA, Boekhout T, Kuramae EE, et al. Dandruff-associated *Malassezia* genomes reveal convergent and divergent virulence traits shared with plant and human fungal pathogens. *Proc Natl Acad* 2007;104:18730–5.
14. Ashbee HR, Evans EG V. Immunology of diseases associated with *Malassezia* species. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:21–57.
15. Chen T-A, Hill PB. The biology of *Malassezia* organisms and their ability to induce immune responses and skin disease. *Vet Dermatol* 2005;16:4–26.
16. Feldbrügge M, Kämper J, Steinberg G, Kahmann R. Regulation of mating and pathogenic development in *Ustilago maydis*. *Curr Opin Microbiol* 2004;7:666–72.
17. Mayer P, Imkamp A, Winkeler M, Papavassilis C. Growth requirements and nitrogen metabolism of *Malassezia furfur*. *Arch Dermatol Res* 1998 ;290:277–82.
18. Chen T-A, Hill PB. The biology of *Malassezia* organisms and their ability to induce immune responses and skin disease. *Vet Dermatol* 2005;16:4–26.
19. Bond R, Lloyd DH. Comparison of media and conditions of incubation for the quantitative culture of *Malassezia pachydermatis* from canine skin. *Res Vet Sci* 1996 ;61:273–4.
20. Riciputo RM, Oliveri S, Micali G, Sapuppo A. Phospholipase activity in *Malassezia furfur* pathogenic strains. *Mycoses*; 39:233–5.
21. Saunders CW, Scheynius A, Heitman J. *Malassezia* Fungi Are Specialized to Live on Skin and Associated with Dandruff, Eczema, and Other Skin Diseases. Goldman WE, editor. *PLoS Pathog* 2012;8:e1002701.
22. Greaves MW, Camp RD. Prostaglandins, leukotrienes, phospholipase, platelet activating factor, and cytokines: an integrated approach to inflammation of human skin. *Arch Dermatol Res*. 1988; 280 Suppl: S33–41.
23. Leeming JP, Notman FH, Holland KT. The distribution and ecology of *Malassezia furfur* and cutaneous bacteria on human skin. *J Appl Bacteriol* 1989;67:47–52.
24. Leeming JP, Notman FH. Improved methods for isolation and enumeration of *Malassezia furfur* from human skin. *J Clin Microbiol* 1987;25:2017–9.
25. Findley K, Grice EA. The skin microbiome: a focus on pathogens and their association with skin disease. Vol. 10, *PLoS pathogens*. 2014.
26. Soares RC, Zani MB, Belini AC, Arruda B, Fávaro De Arruda LH, Paulino LC. *Malassezia* Intra-Specific Diversity and Potentially New Species in the Skin Microbiota from Brazilian Healthy Subjects and Seborrheic Dermatitis Patients.
27. Selander C, Zargari A, Möllby R, Rasool O, Scheynius A. Higher pH level, corresponding to that on the skin of patients with atopic eczema, stimulates the release of *Malassezia sympodialis* allergens. *Allergy* 2006;61:1002–8.
28. Tagami H. The role of complement-derived mediators in inflammatory skin diseases. *Arch Dermatol Res* 1992 ;284 Suppl 1:S2–9.
29. Bieber T. Atopic Dermatitis. *N Engl J Med* 2008;358:1483–94.
30. Bieber T. Atopic dermatitis. *Ann Dermatol* 2010;22:125–37.
31. Cafarchia C, Otranto D. Association between phospholipase production by *Malassezia pachydermatis* and skin lesions. *J Clin Microbiol* 2004;42:4868–9.
32. Gehrman U, Qazi KR, Johansson C, Hulténby K, Karlsson M, Lundeberg L, et al. Nanovesicles from *Malassezia sympodialis* and Host Exosomes Induce Cytokine Responses - Novel Mechanisms for Host-Microbe Interactions in Atopic Eczema. Zimmer J, editor. *PLoS One* 201;6:e21480.
33. Rapelanoro R, Mortureux P, Couprie B, Maleville J, Taïeb A. Neonatal *Malassezia furfur* pustulosis. *Arch Dermatol* 1996;132:190–3.
34. Baroni A, Perfetto B, Paoletti I, Ruocco E, Canozo N, Orlando M, et al. *Malassezia furfur* invasiveness in a keratinocyte cell line (HaCat): effects on cytoskeleton and on adhesion molecule and cytokine expression. *Arch Dermatol Res* 2001;293:414–9.
35. Ljubojevic S, Lipozencic J, Basta-Juzbasic A. Contact allergy to corticosteroids and *Malassezia furfur* in seborrheic dermatitis patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011;25:647–51.
36. Gaitanis G, Velegaki A, Magiatis P, Pappas P, Basukas ID. Could *Malassezia* yeasts be implicated in skin carcinogenesis through the production of aryl-hydrocarbon receptor ligands? *Med Hypotheses* 2011; 77: 47–51.



38. Gaitanis G, Magiatis P, Hantschke M, Bassukas ID, Velegraki A. The *Malassezia* Genus in Skin and Systemic Diseases. *Clin Microbiol Rev* 2012;25:106–41.
39. Faergemann J. Pityrosporum infections. *J Am Acad Dermatol* 1994;31:S18–20.
40. Faergemann J, Bergbrant IM, Dohsé M, Scott A, Westgate G. Seborrhoeic dermatitis and Pityrosporum (*Malassezia*) folliculitis: characterization of inflammatory cells and mediators in the skin by immunohistochemistry. *Br J Dermatol* 2001;144:549–56.
41. Parry ME, Sharpe GR. Seborrhoeic dermatitis is not caused by an altered immune response to *Malassezia* yeast. *Br J Dermatol*. 1998;139:254–63.
42. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet* (London, England). 1998;351:1225–32.
43. Novak N, Bieber T, Leung DYM. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:S128–39.
44. Scheynius A, Johansson C, Buentke E, Zargari A, Tengvall Linder M. Atopic Eczema/Dermatitis Syndrome and <i>Malassezia</i>. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002 ;127:161–9.
45. Schmid-Grendelmeier P, Scheynius A, Cramer R. The Role of Sensitization to *Malassezia sympodialis* in Atopic Eczema. In: Allergy and Asthma in Modern Society: A Scientific Approach 2006 p. 98–109.
46. Bajwa J. Canine *Malassezia* dermatitis. *Can Vet J* 2017; 58:1119–21.
47. Puig L, Castellá G, Cabañes FJ. Cryptic Diversity of *Malassezia pachydermatis* from Healthy and Diseased Domestic Animals. *Mycopathologia* 2016;181:681–8.
48. Ledbetter EC, Starr JK. *Malassezia pachydermatis* keratomycosis in a dog. *Med Mycol Case Rep* 2015; 10:24–6.
49. Bond R. Superficial veterinary mycoses. *Clin Dermatol* [Internet]. 2010;28:226–36.
50. Zur G, Lifshitz B, Bdoolah-Abram T. The association between the signalment, common causes of canine otitis externa and pathogens. *J Small Anim Pract* 2011; 52:254–8.
51. Plant JD, Rosenkrantz WS, Griffin CE. Factors associated with and prevalence of high *Malassezia pachydermatis* numbers on dog skin. *J Am Vet Med Assoc* 1992;201:879–82.
52. Saridomichelakis MN, Farmaki R, Leontides LS, Koutinas AF. Aetiology of canine otitis externa: a retrospective study of 100 cases. *Vet Dermatol* 2007; 18:341–7.
53. 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;160:143–9.
54. Nenoff P, Handrick W, Krüger C, Vissiennon T, Wichmann K, Gräser Y, et al. Dermatomykosen durch Haus- und Nutztiere. *Der Hautarzt* 2012;63:848–58.
55. Mueller RS, Bergvall K, Bensignor E, Bond R. A review of topical therapy for skin infections with bacteria and yeast. *Vet Dermatol* 2012;23:330–e62.
56. Machado MLS, Ferreiro L, Ferreira RR, Corbellini LG, Deville M, Berthelemy M, et al. *Malassezia* dermatitis in dogs in Brazil: diagnosis, evaluation of clinical signs and molecular identification. *Vet Dermatol* 2011;22:46–52.
57. Patel A, Forsythe P, Smith S. Small animal dermatology. *Elsevier/Saunders*; 2008. 379 p.
58. Nardoni S, Corazza M, Mancianti F. Diagnostic and clinical features of animal malasseziosis. *Parassitologia*. 2008;50:81–3.
59. Prado MR, Brillhante RSN, Cordeiro RA, Monteiro AJ, Sidrim JJC, Rocha MFG. Frequency of yeasts and dermatophytes from healthy and diseased dogs. *J Vet Diagnostic Investig* 2008;20:197–202.
60. Μιχαήλογλου-Φραγκούλη Ε. Επιπολής Μυκητιάσεις. Εκδόσεις Κασκός, Αθήνα 2009, σελ. 250-251
61. Griffin JS, Scott DW, Erb HN. *Malassezia* Otitis Externa in the Dog: The Effect of Heat-fixing Otic Exudate for Cytological Analysis. *J Vet Med Ser A* 2007; 54:424–7.
62. Angus JC. Otic cytology in health and disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2004;34:411–24.
63. Velegraki A, Cafarchia C, Gaitanis G, Iatta R, Boekhout T. *Malassezia* Infections in Humans and Animals: Pathophysiology, Detection, and Treatment. Heitman J, editor. *PLoS Pathog* 2015;11:e1004523.
64. Ilahi A, Hadrich I, Neji S, Trabelsi H, Makni F, Ayadi A. Real-Time PCR Identification of Six *Malassezia* Species. *Curr Microbiol* 2017 ;74:671–7.
65. Zia M, Mirhendi H, Toghiani M. Detection and identification of *Malassezia* species in domestic animals and aquatic birds by PCR-RFLP. *Iran J Vet Res* 2015;16:36–41.
66. Kim JY, Hahn HJ, Choe YB, Lee YW, Ahn KJ, Moon KC. Molecular biological identification of *malassezia* yeasts using pyrosequencing. *Ann Dermatol* [Internet]. 2013 ;25:73–9.
67. Kolecka A, Khayhan K, Arabatzis M, Velegraki A, Kostrzewa M, Andersson A, et al. 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.
68. Grumbt M, Monod M, Staib P. Genetic advances in dermatophytes. *FEMS Microbiol Lett* 201;320:79–86.
69. Morris DO, O’Shea K, Shofer FS, Rankin S. *Malassezia pachydermatis* carriage in dog owners. *Emerg Infect Dis* 2005;11:83–8.
70. Marín G, Rojas B, Por Malassezia Z, Galvis Marín JC, Rojas FB. Artículo de Revisión Zoonotic Infections caused by *Malassezia* yeasts: A Review. *Div Cient* 2016;19:381–93.