

ISSN 2304-9081

Учредители:  
Уральское отделение РАН  
Оренбургский научный центр УрО РАН

**Бюллетень**  
**Оренбургского научного центра**  
**УрО РАН**



**2015 \* № 1**

**Электронный журнал**  
On-line версия журнала на сайте  
<http://www.elmag.uran.ru>

© Коллектив авторов, 2015

УДК 579.62

*А.С. Акжигитов<sup>1</sup>, Т.М. Пашкова<sup>2</sup>, Р.М. Нурғалиева<sup>1</sup>*

### **ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ ГРИБОВ РОДА MALASSEZIA, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ РАЗНЫХ ФОРМАХ ТЕЧЕНИЯ ОТИТОВ У СОБАК**

<sup>1</sup> Оренбургский государственный аграрный университет, Оренбург, Россия

<sup>2</sup> Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

*Цель.* Определить чувствительность грибов рода *Malassezia*, выделенных от собак с острым и хроническим течением отита, к антимикотикам.

*Материалы и методы.* Определена чувствительность 24 штаммов грибов рода *Malassezia*, выделенных от собак с разным течением отита, к 6 антимикотикам диско-диффузионным методом.

*Результаты.* Установлены различия в чувствительности/резистентности к антимикотикам у разных видов грибов рода *Malassezia*, а также штаммов, выделенных при острым и хроническом течении отита у собак.

*Заключение.* Полученные в ходе исследования данные могут быть использованы при выборе препаратов для эмпирической терапии собак больных отитом.

*Ключевые слова:* грибы рода *Malassezia*, отит, антимикотики.

---

---

*A.S. Akzhigitov<sup>1</sup>, T.M. Pashkova<sup>2</sup>, R.M. Nurgalieva<sup>1</sup>*

### **SENSITIVITY TO ANTIFUNGAL AGENTS OF THE GENUS MALASSEZIA, ISOLATED FROM DOGS WITH VARIOUS FORMS OF OTITIS**

<sup>1</sup> Orenburg State Agrarian University, Orenburg, Russia

<sup>2</sup> Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia

*Purpose.* To define sensitivity of fungi of the genus *Malassezia* allocated from dogs with acute and chronic otitis to antifungal agents.

*Materials and methods.* Sensitivity of 24 strains of fungi of the genus *Malassezia* allocated from dogs with various forms of otitis to 6 antifungal drugs by disco-diffusive method was defined.

*Results.* The differences in the sensitivity/resistance of different species of fungi of the genus *Malassezia* and also different strains of fungi isolated from external auditory canal of dogs with acute and chronic otitis to antifungal drugs have been found.

*Conclusion.* The obtained data can be used to select drugs for empirical therapy of otitis in dogs.

*Key words:* *Malassezia spp.*, otitis, antifungal agents,

### **Введение**

Наличие широкого спектра факторов патогенности и персистенции у грибов рода *Malassezia* определяет их этиологическую роль в возникновении и развитии кожных заболеваний у человека и животных [1]. При лечении *Ma-*

*lassezia*-инфекций обычно применяют противогрибковые препараты. Рядом авторов установлено, что малассезии высокочувствительны к азоловым антимикотикам (итраконазолу, кетоконазолу, вориконазолу) [2, 3], но устойчивы к 5-фторцитозину [4]. С другой стороны, исследования последних лет показали возможность формирования у грибов резистентности к этим препаратам [5]. Кроме того установлено, что чувствительность грибов рода *Malassezia* к триазолам (кетоконазол, итраконазол) варьирует в зависимости от вида [6]. Существуют данные о различиях в чувствительности к антимикотикам среди штаммов *M. pachydermatis* [7]. Вместе с тем остается неизвестным отношение к антимикотикам грибов, выделенных при разных формах течения отита.

В связи с вышеизложенным представляет интерес определение чувствительности к антимикотикам грибов рода *Malassezia*, выделенных от собак с острым и хроническим течением отита.

#### **Материалы и методы**

Материалом для исследования послужили 24 штамма грибов рода *Malassezia*: *Malassezia pachydermatis* (21 штамм), *Malassezia obtusa* (1 штамм), *Malassezia furfur* (2 штамма), выделенных от 24 собак, из них 16 собак с острой формой отита и 8 – с хронической формой.

Исследуемый материал получали методом смывов с помощью тампона из наружного слухового прохода собак [8], засевали на среду Лиминга-Нотманна (посевы инкубировали при 37°C в течение 48 часов). Идентификацию грибов осуществляли по морфологическим и культуральным характеристикам [9]. Чувствительность к антимикотикам: амфотерицину В, нистатину, флуконазолу, клотримазолу, итраконазолу, кетоконазолу определяли диско-диффузионным методом согласно инструкции по использованию дисков с противогрибковыми препаратами научно-исследовательского центра фармакотерапии (ЗАО «НИЦФ», Санкт-Петербург).

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью параметрических методов [10]

#### **Результаты и обсуждение**

Грибы *M. pachydermatis* составляли 87,5% от числа культур, выделенных при остром и хроническом отите. При остром инфекционном процессе 12,5% штаммов принадлежали к виду *M. furfur*, при хроническом течении отита в 12,5% изолятов относилось к виду *M. obtusa*.

Результаты изучения чувствительности к антимикотикам изолятов *M. pachydermatis*, выделенных при остром течении инфекционного процесса представлены на рисунке 1.

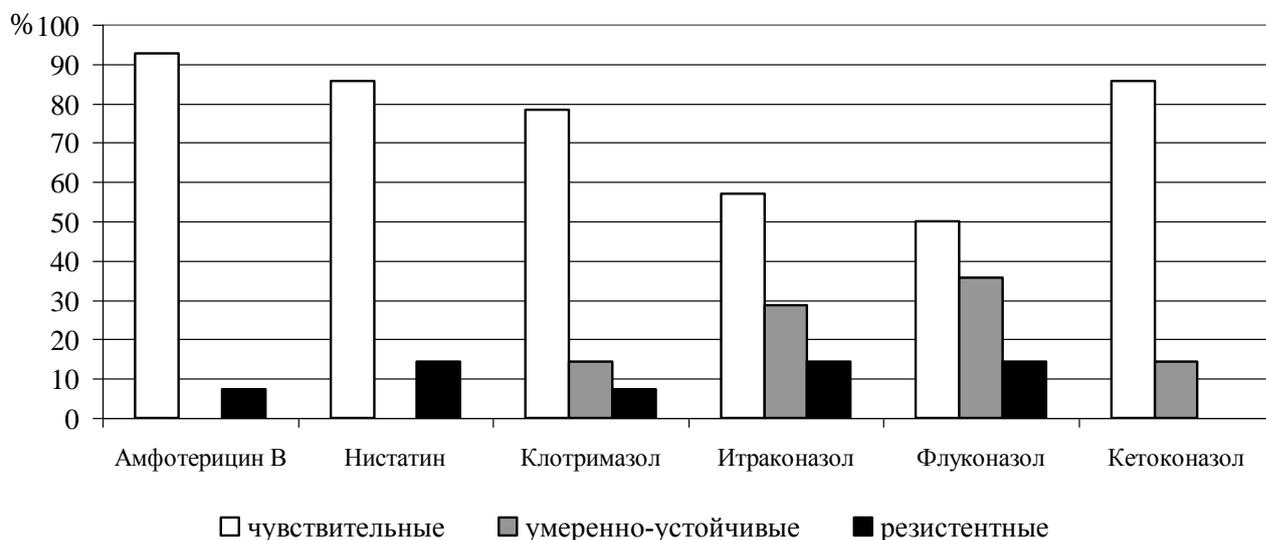


Рис 1. Частота встречаемости резистентных/чувствительных к антимикотикам штаммов *M. pachydermatis*, выделенных при остром течении отита.

Установлено, что 92,9% штаммов *M. pachydermatis* были чувствительны к амфотерицину В, 85,7% – к нистатину и кетоконазолу, 78,6% – к клотримазолу, 57,1% – к итраконазолу и лишь 50% изолятов проявляли чувствительность к флуконазолу.

К нистатину, итраконазолу и флуконазолу устойчивыми оказались 14,3% штаммов *M. pachydermatis*, к амфотерицину В и клотримазолу – 7,1% изученных изолятов. Резистентные к кетоконазолу культуры среди грибов *M. pachydermatis* отсутствовали.

В то же время 35,7% штаммов *M. pachydermatis* были умеренно-устойчивы к флуконазолу, 28,6% штаммов грибов – к итраконазолу и 14,3% штаммов *M. pachydermatis* – к кетоконазолу и клотримазолу. К амфотерицину В и нистатину умеренно-устойчивых штаммов *M. pachydermatis* выявлено не было.

При этом оба штамма *M. furfur*, выделенные при остром течении отита, проявляли резистентность к нистатину, клотримазолу, итраконазолу, но были умеренно-устойчивы к амфотерицину В. 1 штамм резистентен к флуконазолу, 1 штамм умеренно-устойчив к флуконазолу и кетоконазолу и 1 штамм *M.*

*furfur* чувствителен к кетоконазолу.

*M. pachydermatis*, выделенные от животных с хроническим течением отита, проявляли разное отношение к антимикотикам (рис. 2).

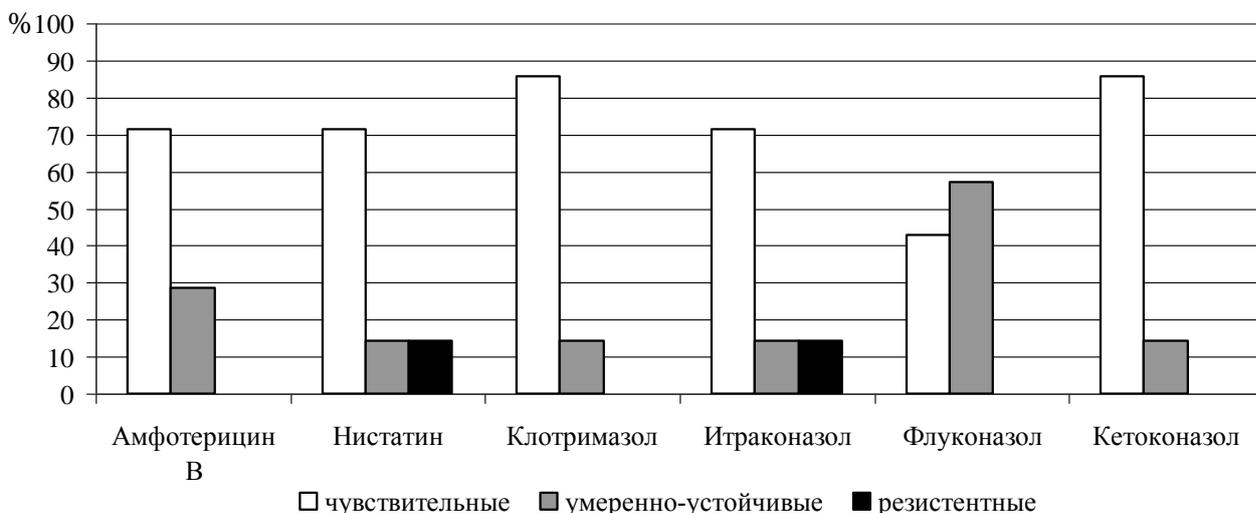


Рис 2. Частота встречаемости резистентных/чувствительных к антимикотикам штаммов *M. pachydermatis*, выделенных при хроническом течении отита.

Показано, что 85,7% штаммов *M. pachydermatis*, выделенных при хроническом течении отита, были чувствительны к клотримазолу и кетоконазолу, 71,4% штаммов – к амфотерицину В, нистатину и итраконазолу, а 42,8% изученных штаммов проявляли чувствительность к флуконазолу.

Отмечено, что 14,3% штаммов *M. pachydermatis* были резистентны к нистатину и итраконазолу. К остальным изученным антимикотикам резистентность у культур грибов отсутствовала.

К флуконазолу умеренную устойчивость проявили 57,2% штаммов *M. pachydermatis*, к амфотерицину В – 28,6%, к нистатину, клотримазолу, итраконазолу и кетоконазолу – 14,3% изученных изолятов грибов.

При этом штамм *M. obtusa*, выделенный при хроническом течении отита, был резистентен ко всем изученным антимикотикам, за исключением кетоконазола, к которому он был умеренно-устойчив.

Проведенные исследования позволили установить, что выделенные штаммы *M. pachydermatis* отличались по чувствительности к изученным антимикотикам. Так, при острой форме заболевания в 1,3 раза чаще высевались штаммы *M. pachydermatis* чувствительные к амфотерицину В и в 1,2 раза чаще – чувствительные к нистатину и флуконазолу. Тогда как при хроническом

отите в 1,3 раза чаще регистрировались культуры чувствительные к итраконазолу.

При остром течении процесса высевались штаммы *M. pachydermatis*, резистентные к амфотерицину В, клотримазолу и флуконазолу, а при хроническом течении процесса таких штаммов выявлено не было. В обоих случаях не было выявлено штаммов *M. pachydermatis* резистентных к кетоконазолу.

Вместе с тем, были зарегистрированы и умеренно-устойчивые к изученным антимикотикам штаммы *M. pachydermatis*. Причём, при остром течении процесса в 2 раза чаще высевались штаммы, умеренно-устойчивые к итраконазолу, тогда как при хроническом отите в 1,6 раза чаще высевались штаммы умеренно-устойчивые к флуконазолу. И только при хроническом течении отита выделялись штаммы умеренно-устойчивые к амфотерицину В и нистатину. Доли штаммов *M. pachydermatis*, проявлявших умеренную устойчивость к клотримазолу и кетоконазолу, при разных формах течения заболевания не отличались.

Установлены и межвидовые различия в чувствительности/резистентности грибов рода *Malassezia* к изученным антимикотикам.

Так, штаммы *M. furfur*, выделенные при остром течении процесса, были резистентны к нистатину, клотримазолу и итраконазолу, тогда как штаммы *M. pachydermatis*, выделенные при этой форме патологии, были чувствительны к данным антимикотикам в 85,7, 78,6 и 57,1% случаев соответственно.

Штамм *M. obtusa*, выделенный при хроническом течении процесса, оказался резистентным ко всем изученным антимикотикам, за исключением кетоконазола, тогда как изоляты *M. pachydermatis*, выделенные при этом заболевании, достаточно часто (71,4-85,7%) были чувствительны к амфотерицину В, нистатину, клотримазолу, итраконазолу и кетоконазолу.

### **Заключение**

Таким образом, штаммы *M. pachydermatis*, изолированные при остром течении отита, были максимально чувствительны к амфотерицину В, нистатину и кетоконазолу, а при хроническом – к клотримазолу и кетоконазолу. Штаммы, выделенные при остром течении отита, резистентны к пяти изученным антимикотикам, тогда как при хроническом течении заболевания – к двум. Среди штаммов, выделенных при остром течении заболевания, не обнаружено штаммов умеренно-устойчивых к амфотерицину В и нистатину.

При этом виды *M. furfur* и *M. obtusa* характеризовались более высоким уровнем антимикотикорезистентности в сравнении с *M. pachydermatis*.

Проведенные исследования показали, что препаратом выбора может быть кетоконазол, так как резистентности к этому антимикотику у изученных грибов рода *Malassezia* выявлено не было.

Поскольку противогрибковая терапия должна проводиться с учётом региональных особенностей антимикотикорезистентности грибов рода *Malassezia*, полученные нами данные могут быть использованы при выборе препаратов для эмпирической терапии собак, страдающих отитом.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Уткина Т.М., Акжигитов А.С., Нургалиева Р.М. Видовой состав и факторы персистенции микроорганизмов, выделенных от собак с отитами. Вестник ветеринарии. 2014. 2: 47-49.
2. Rincon S.A., Cepero de Garcia M., Espinel-Ingroff A. Modified christensen's urea and CLSI broth microdilution method for testing susceptibilities of six *Malassezia* species to voriconazole, itraconazole and ketoconazole. Journal of Clinical Microbiology. 2006. 44(9): 3429-3431.
3. Van Custem J., Van Cergen F., Van Peer A. Ketoconazole: activite in vitro sur *Pityrosporum*. Efficacy daans la pityrosporuose experimentale du cobaye et dans le pityriasis capitis humain. Bull. Soc. Fr. Mycol. Med. 1988. 17: 282-294.
4. Yurayart C., Nuchnoul N., Moolkum P. et al. Antifungal agent susceptibilities and interpretation of *Malassezia pachydermatis* and *Candida parapsilosis* isolated from dogs with and without seborrheic dermatitis skin. Med Mycol. 2013. 51: 721-730.
5. Nijima M., Kano R., Nagata M. et al. An azole-resistant isolate of *Malassezia pachydermatis*. Vet Microbiol. 2011. 149: 288-290.
6. Carrillo-Muñoz A.J., Rojas F., Tur-Tur C. et al. In vitro antifungal activity of topical and systemic antifungal drugs against *Malassezia* species. Mycoses. 2013. 56: 571-575.
7. Ершов П.П. Этиологическая значимость дрожжевых грибов рода *Malassezia* при кожных заболеваниях животных: дис.... канд. вет. наук. М., 2008. 165 с.
8. Ивченко О.В. Диагностика малассезиозов животных: дис. ... канд. вет. наук. Москва, 2010. 152 с.
9. Mason I.S. A review of the biology of canine skin with respect to the commensals *Staphylococcus intermedius*, *Demodex canis* and *Malassezia pachydermatis*. Vet. Derm. 1996. 7: 119-132.
10. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз, 1962. 180 с.

Поступила 26.03.2015

(Контактная информация: **Акжигитов Абай Сарсенгалиевич** - аспирант кафедры микробиологии и заразных болезней Оренбургского государственного аграрного университета; E-mail: [abaj\\_akz@mail.ru](mailto:abaj_akz@mail.ru);

**Пашкова Татьяна Михайловна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории по изучению механизмов и регуляции персистенции микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; E-mail: [lab-persist@mail.ru](mailto:lab-persist@mail.ru);

**Нургалиева Рахима Мукташевна** – к.в.н., доцент кафедры микробиологии и заразных болезней Оренбургского государственного аграрного университета; E-mail: [Nurga-](mailto:Nurga-)

#### LITERATURA

1. Utkina T.M., Akzhigitov A.S., Nurgalieva R.M. Vidovoj sostav i faktory persisten-cii mikroorganizmov, vydelennyh ot sobak s otitami. Vestnik veterinarii. 2014. 2: 47-49.
2. Rincon S.A., Cepero de Garcia M., Espinel-Ingroff A. Modified christensen's urea and CLSI broth microdilution method for testing susceptibilities of six *Malassezia* species to voriconazole, itraconazole and ketoconazole. Journal of Clinical Microbiology. 2006. 44(9): 3429-3431.
3. Van Custem J., Van Cergen F., Van Peer A. Ketoconazole: activite in vitro sur *Pityrosporum*. Efficacity daans la pityrosporuose experimentale du cobaye et dans le pityriasis capitis humain. Bull. Soc. Fr. Mycol. Med. 1988. 17: 282-294.
4. Yurayart C., Nuchnoul N., Moolkum P. et al. Antifungal agent susceptibilities and interpretation of *Malassezia pachydermatis* and *Candida parapsilosis* isolated from dogs with and without seborrheic dermatitis skin. Med Mycol. 2013. 51: 721-730.
5. Nijima M., Kano R., Nagata M. et al. An azole-resistant isolate of *Malassezia pachydermatis*. Vet Microbiol. 2011. 149: 288-290.
6. Carrillo-Muñoz A.J., Rojas F., Tur-Tur C. et al. In vitro antifungal activity of topical and systemic antifungal drugs against *Malassezia* species. Mycoses. 2013. 56: 571-575.
7. Ershov P.P. Jetiologicheskaja znachimost' drozhzhevyyh gribov roda *Malassezia* pri kozh-nyh zabolevanijah zhivotnyh: dis.... kand. vet. nauk. M., 2008. 165 s.
8. Ivchenko O.V. Diagnostika malasseziozov zhivotnyh: dis. ... kand. vet. nauk. Moskva, 2010: 152.
9. Mason I.S. A review of the biology of canine skin with respect to the commensals *Staphylococcus intermedius*, *Demodex canis* and *Malassezia pachydermatis*. Vet. Derm. 1996. 7: 119-132.
10. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovanijah. L.: Medgiz, 1962. 180 s.