

Malassezia Species and Pityriasis Versicolor

Malassezia Türleri ve Pityriasis Versicolor

Malassezia Türleri ve Pityriasis Versicolor / Malassezia Species and Pityriasis Versicolor

Gülin Rodoplu
Sarıkamış Asker Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sarıkamış, Kars, Türkiye

Özet

Malassezia türleri insan normal cilt florasında bulunmakla birlikte bu mayaların pityriasis versicolordan seboreik dermatite kadar birçok farklı insan hastalıklarıyla birliktelik gösterdikleri yıllardır bilinmektedir. Ek olarak 1980'lerden sonra bu mayaların fırsatçı sistemik enfeksiyonlara da sebep olduklarını raporlanmaya başlamıştır. 13 zorunlu lipofilik türe ek olarak nadiren insanlarda kolonize olan ve zorunlu lipofilik olmayan bir türü de içeren Malassezia türlerinin taksonomisi yakın zamanda modifiye edilmiştir ve M. furfur, M. pachydermatis, M. sympodialis, M. globosa, M. obtusa, M. slooffiae, M. restricta, M. dermatis, M. japonica, M. nana, M. yamatoensis, M. caprae, M. equina, M. cuniculi olmak üzere cins 14 türden oluşmaktadır. Malassezia mayalarının güç üreme özellikleri bu organizmaların kültüre edilmesindeki ve doğru identifikasyonlarının yapılmasındaki ilk girişimlerde zorluklar çıkarmıştır ve farklı türler arasındaki ilişkiler ancak modern moleküler tekniklerin kullanımıyla mümkün olmuştur. Etken mantar özellikle kafa derisi, yüz, gövde ve üst ekstremiteler olmak üzere seboreik bölgelerde görülmektedir. Çeşitli endojen ve eksojen predispozan faktörlerin etkisiyle bu mayalar blastospor formundan miçelyal forma dönüşür ve patojenik hale gelir. Malassezia türlerinin sebep olduğu Pityriasis versicolorun tanısı genellikle kolaydır, klinik görünüm temeline dayanmaktadır ve mikolojik inceleme ile doğrulanabilmektedir. Tanı potasyum hidroksit (KOH) ile yapılan direkt mikroskopide psödohif ve blastokonidyaların oluşturduğu tipik "köfte ve spagetti" paterninin görülmesiyle konulur. Malassezia cinsinin karakteristik özellikleri değişik morfolojilerinden ve kültür için lipid gereksinimlerinin olmasından kaynaklanmaktadır. Kültür özellikle epidemiyolojik amaçlar için enfekte suşların elde edilmesi ve antifungal duyarlılık testlerinin yapılması için gereklidir. Lipofilik ve lipid bağımlı olan bu mayaların kültürü için en çok modifiye Dixon (mDixon) agar ve Leeming ve Notman agar kullanılmaktadır. Herbir tür filamentli ya da filamentsiz maya hücrelerinin mikroskopik özellikleri ve koloni yapılarını da içeren morfolojileri tariflenerek, 37 ve 40°C'de üreyebilme özelliği belirlenerek, katalaz, üreaz ve beta glukozidaz olmak üzere üç enzimatik aktivite ile 5 farklı lipid içeriğinin (Tween 20, 40, 60, 80 ve Cremophor EL) kullanım paterine göre tanımlanmaktadır. Bu derleme Malassezia türlerinin temel bilgilerine katkıda bulunmakla birlikte cins içinde bulunan mevcut 14 türün identifikasyon yöntemlerini özetlemektedir.

Anahtar Kelimeler

Malassezia; Pityriasis Versicolor; Lipofilik

Abstract

Malassezia species are found in part of the normal human cutaneous commensal flora, however it has been known for many years that the Malassezia yeasts are associated with a number of different human diseases ranging from pityriasis versicolor to seborrhoeic dermatitis. In addition, since the 1980s, they have been reported as causing opportunistic systemic infections. The taxonomy of Malassezia spp. has recently been modified to include 13 obligatorily lipophilic species, plus one non-obligatorily lipophilic species, which only rarely colonizes human hosts and currently the genus consist 14 species as M. furfur, M. pachydermatis, M. sympodialis, M. globosa, M. obtusa, M. slooffiae, M. restricta, M. dermatis, M. japonica, M. nana, M. yamatoensis, M. caprae, M. equina, M. cuniculi. Fastidious growth requirements of Malassezia yeasts defied the initial attempts to culture these organisms and their true identification and the relationship between different species only became apparent with the application of modern molecular techniques. The causative fungus is seen especially in such seborrheic areas as the scalp, face, trunk and upper back. Under the influence of various exogenous or endogenous predisposing factors, these yeasts change from the blastospore form to the mycelial form and become pathogenic. Diagnosis of pityriasis versicolor which is caused by Malassezia species is generally easy and lies on the basis of its clinical appearance and can be confirmed by mycological examination. The diagnosisis is mainly based on direct examination with potassium hydroxide (KOH) and demonstration that represents pseudohyphae and blastoconidia as the typical "spaghetti and meatballs" pattern. Characteristic features of the genus Malassezia include a distinctive morphology and an affinity for lipids in culture. Culture is necessary to recover the infecting strain, especially for epidemiologic purposes and also to test its antifungal susceptibility. For culturing these lipophilic and lipid dependent yeasts modified Dixon (mDixon) agar and Leeming and Notman agar are mostly used. Each species is described morphologically, including features of the colonies and microscopic characteristics of the yeast cells, either with or without filaments; physiologically, including the growth at 37 and 40°C, three enzymatic activities, namely catalase, beta-glucosidase and urease, and growth with 5 individual lipid supplements (Tween 20, 40, 60 and 80, and Cremophor EL). This review contributes the basic knowlege of Malassezia species and summarizes identifying methods of the 14 species that are presently included in the genus.

Keywords

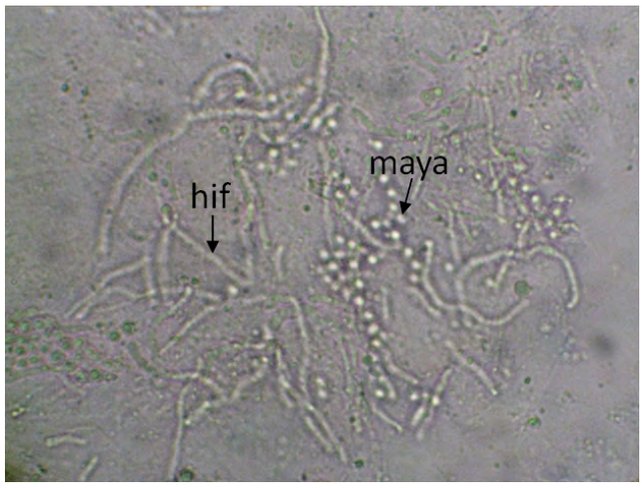
Malassezia; Pityriasis Versicolor; Lipophilic

DOI: 10.4328/JCAM.2308 Received: 05.02.2014 Accepted: 06.03.2014 Printed: 01.04.2015 J Clin Anal Med 2015;6(suppl 2): 231-6
Corresponding Author: Gülin Rodoplu, Sarıkamış Asker Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sarıkamış, Kars, Türkiye.
GSM: +905058444099 E-Mail:drgulinonat@hotmail.com

Giriş

Malassezia türleri, genel olarak insan ve sıcakkanlı hayvanların normal cilt florasında bulunan, aynı zamanda pityriasis versicolor, seboreik dermatit, kepek, psöriasis, kaşıntılı kulak, eksternal otit ve atopik dermatit gibi birçok klinik tabloyla ilişkili olan, altta yatan uygun predispozan faktörleri olan hastalarda sistemik hastalıklara da sebep olabilen basidiomycota şubesine ait mayalardır [1,2].

Pityriasis versicolor (PV), diğer adı ile tinea versicolor, Malassezia maya mantarının sebep olduğu kronik yüzeyel bir cilt enfeksiyonudur. Bu hastalık bütün dünyada yaygın olarak görülmektedir. PV, deride hipo ve/veya hiperpigmentasyona sebep olmakta ve sıklıkla vücudun yağdan zengin olan boyun, sırt, göğüs gibi bölgelerinde görülmektedir [1]. PV asemptomatiktir ve kozmetik bozukluğa sebep olmaktadır. Ancak, lezyonlarda bazen kaşıntı görülebilmektedir. Lezyonlardan alınan örneğin potasyum hidroksit (KOH) solüsyonu ile incelemesinde tipik "köfte-spagetti" (konidya ve hif) görüntüsü izlenmektedir (Resim 1) [2]. PV'ye sebep olan Malassezia cinsinde bugün için tanımlanmış 14 tür vardır: M. furfur, M. pachydermatis, M. sympodialis, M. globosa, M. obtusa, M. slooffiae, M. restricta, M. dermatis, M. japonica, M. nana, M. yamatoensis, M. caprae, M. equina, M. cuniculi.



Resim 1. Maya ve hiflerin oluşturduğu "köfte-spagetti" görüntüsü (%10'luk KOH ile preparasyon, x40 büyütme)

Epidemiyoloji

Sağlıklı deride Malassezia türlerinin varlığı 19. yüzyılın başlarında fark edilmiştir. PV oluşumu Malassezia türlerinin kolonizasyon yoğunluğunun artışı ile ilgilidir. Kolonizasyonun sıklığı ve yoğunluğu kişinin yaşıyla ve yağ bezlerinin aktivitesi ile paralellik göstermektedir [3]. PV genellikle adölesan ve genç erişkinlerde görülmektedir [4]. PV küçük çocuklar ve yaşlılarda nadiren izlenmektedir. PV tablosu insan derisinin normal florasında bulunan bu mantarın maya formundan derinin stratum corneum tabakasını invaze edecek olan patojen hif formuna dönüşümü ile birlikte ortaya çıkmaktadır [4]. Bu dönüşüm, endojen ve ekzojen faktörlerle tetiklenebilmektedir [5]. PV'ye yol açan kolaylaştırıcı faktörler arasında yüksek ısı, nem, dar giysiler, aşırı terleme, kötü beslenme, gebelik, doğum kontrol hapları, immünosupresifler, kortikosteroid ve antineoplastiklerin kullanılması, derinin seboreik ve hiperhidrotik yapıda olması, deriye aşırı yağ sürülmesi, AIDS ve visseral layşmanyazis gibi bağışıklık sistemini baskılayan hastalıklar ve genetik faktörler sayılabilir [4]. PV'nin, radyoterapi ve lityum tedavisi alan kişilerde de görüldüğü rapor edilmiştir [6].

Yapılan çalışmalarda cinsiyetin PV gelişimi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı ortaya konulmuştur [6-8]. Özellikle sporcular bu hastalığa yatkınlık göstermektedirler. Bu durumun aşırı terlemeden olup olmadığı açık değildir. Hijyen bu hastalığın gelişmesinde önemli bir etmen değildir. Ancak, deriye krem veya losyon uygulanması bu hastalığın gelişmesinde kolaylaştırıcı bir faktördür [6].

En sık görülen yüzeyel mikozlardan biri olan PV'nin yaygınlığı, iklimin ılıman ya da tropikal olmasına göre de değişkenlik göstermektedir. Tropikal ülkelerde PV yaygın olarak görülmektedir ve bazı bölgelerde PV sıklığı %50'lere kadar ulaşabilmektedir [9]. Tropikal ülkelerde bireysel duyarlılık değişiklik gösterebilmekteyken, lezyonların tekrarlaması neredeyse kaçınılmazdır [6]. Buna karşılık, İskandinavya'da toplumun ancak %1'inde PV görüldüğü belirtilmiştir [10].

Bugün için PV tablosuna en sık neden olan tür olarak pek çok çalışmada M. globosa gösterilmektedir [8,9,11-19]. Bununla birlikte sınırlı sayıdaki çalışmalarda, PV olgularından en sık izole edilen Malassezia türü olarak M. sympodialis rapor edilmişse de bu çalışmalarda da ikinci en sık izole edilen tür olarak M. globosa dikkati çekmektedir [20-23]. Tropikal ve subtropikal bölgelerden bildirilmiş bazı çalışmalarda ise M. furfur en sık PV etkeni olarak raporlanmıştır [24-27]. Tropikal ve subtropikal bölgelerde yapılmış bu çalışmalarda da en sık ikinci etken olarak yine M. globosa ve M. sympodialis bulunmuştur. En sık soyutlanan tür farklılıklarının çalışmaların gerçekleştirildiği bölgelerin iklim özelliklerinden kaynaklanması mümkündür. Çünkü M. furfur, M. globosa'ya nazaran daha termotolerandır ve 40°C'de üreyebilme özelliğine

Tablo I. Ondört Malassezia Türünün Ayırtedici Özellikleri [5,28,38,39]

Türler	Tween Asimilasyon Testleri				cEL'de üreme	Eskülin hidrolizi	Katalaz reaksiyonu	Üreme			Kristal presipitat oluşumu
	T20	T40	T60	T80				SGA	37 °C	40 °C	
M. furfur	+	+	+	+	+	-(z)	+	-	+	+	-
M. pachydermatis	+	+	+	+	+	+(-)	+	+	+	+	-
M. globosa	-	-,b	-,b	-	-	-	+	-	-	-	+
M obtusa	-	-,b	-,b	-	-	+	+	-	-	-	-
M. dermatis	+	+	+	+	-,b	-	+	-	-	-	+
M. caprea	+	+	+	+	-,b	+	+	-	-	-	-
M. japonica	-	z	+	+	z	+	+	-	+	-	-
M. nana	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+
M. equina	-	+	+	+	-,b	-	+	-	+	-	+
M. yamatoensis	+	+	+	+	z	-	+	-	+	-	-
M. slooffiae	+	+	+	z	-	-	+	-	+	+	-
M.sympodialis	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
M. restricta	-	-,b	-,b	-	-	-	-	-	-	-	-
M. cuniculi	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-

T: Tween, cEL: cremophor EL, SGA: Sabouraud glukoz agar, (+): pozitif, (-): negatif, (z): zayıf, b: beyaz presipitat

sahiptir (Tablo 1). Literatürde PV etkeni olarak en sık raporlanmış üç tür olan M. globosa, M. furfur ve M. sympodialis'in ortak özellikleri uygun ortamlarda psödohifal dönüşüm gösterebilmeleridir [28]. PV patogenezinde önemli olduğu tespit edilmiş diğer iki virülans faktörü olan lipaz ve esteraz enzimlerinin de M. globosa başta olmak üzere özellikle bu üç Malassezia türü (M. globosa, M. furfur ve M. sympodialis) tarafından üretiliyor olması, PV tablosundan bu üç türün daha sık izole edilmelerinin bir diğer nedeni olabilir [12,28]. Dünya genelinde bu konuda birçok yayın bildirilmesine rağmen ülkemizde sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Ülkemizden bildirilen bu yayınlarda yine en sık tür olarak M. globosa raporlanmıştır [15,29,30].

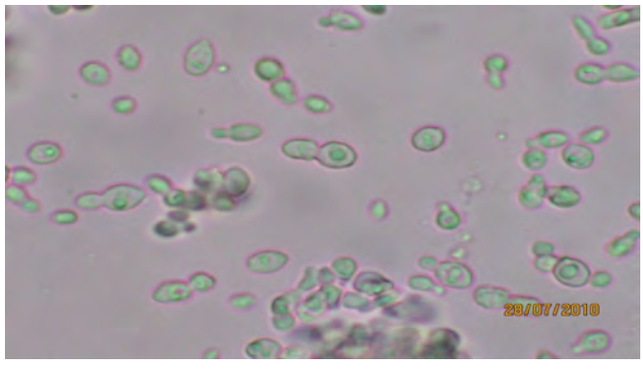
Malassezia Cinsinin Mikolojik Özellikleri

Hücre Yapısı

Malassezia cinsinin hücre duvarı yaklaşık 0,12 µm kalınlıkta olup temel olarak mannoproteinler (%75-80), lipitler (%15-20) ve kitinden (%1-2) oluşmaktadır. Çok az miktarlarda nitrojen ve sülfür de içermektedir. Araştırmacılar hücre duvarının çok katmanlı olduğunu göstermişlerdir [1]. En dışta yer alan membran benzeri tabaka, iki elektron yoğun hat arasında olan elektron seyrek tabakadan oluşan lameller bir yapıdır. Lameller tabakanın mikroorganizmanın insan cildine ve kateterlere adezyonunda rolü olabilir. Sitoplazmik membran ise lameller tabakadaki çentiklere sıkıca bitişiktir. Mitokondri sayısı ve şekli (yuvarlak ya da oval) her hücrede farklılık göstermektedir. Granüler homojen nükleoplazma ile çevrili olan nükleus iyi sınırlı membrana sahiptir. Lipit içeren vakuollerin boyutları hücre yaşına göre değişmektedir [2].

Morfoloji

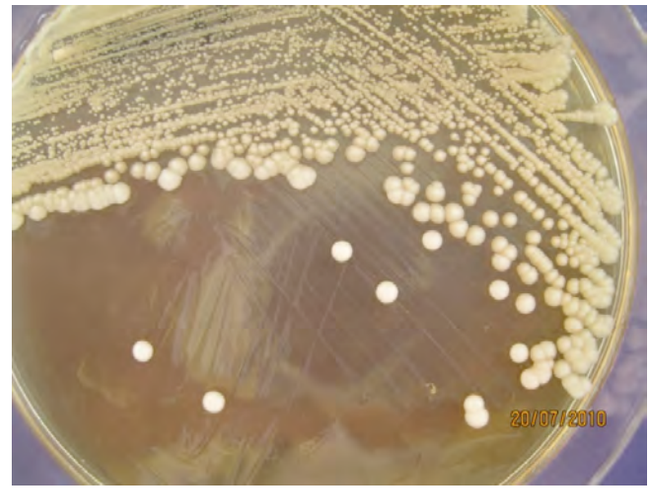
Malassezia hem maya hem hif şeklinde bulunabilen, normal deride ve kültürde özellikle maya şekli ile karşılaşılan bir mantardır [2]. M. globosa, M. furfur ve M. sympodialis'in glisin, kolesterol ve kolesterol esterleri gibi katkıların eklendiği çeşitli besiyerlerinde in vitro olarak psödohifal yapılar oluşturabildiği gösterilebilirken [28,31], diğer kökenler bu dönüşüm yeteneğinden yoksundur [32]. Eşeysiz üreme tek kutuplu enteroblastik tomurcuklanma ile gerçekleşmektedir ve ana hücre yavru hücreden bir bölme ile ayrılmaktadır. Tomurcuk ana hücreden fisyon (transversal yönde bölme duvarı oluşturarak) ile ayrılır ve ana hücrede belirgin bir kopma yeri izi kalır [2]. Tomurcuğun geniş dipli olması karakteristiktir, ancak dar da olabilmektedir (Resim 2). Maya hücreleri küremsi, yumurtamsı, şişe veya silindir biçimli iken, hifler kısa, kıvrık ve nadiren dallanma gösteren bir yapıdadır [2].



Resim 2. Geniş ve dar tabanla tomurcuklanan Malassezia mayaları (x40 büyütme, KOH ile inceleme)

Üreme Özellikleri

Malassezia türleri, M. pachydermatis hariç zorunlu lipofilik mantarlardır. Malassezia türleri in vitro olarak üretilebilmeleri için ekzojen olarak C12-C24 serisindeki yağ asitlerine ihtiyaç göstermektedirler. Üreme ortamına eklenen lipitler enerji kaynağı olarak değil hücrenin yapısal bileşenleri olarak kullanılırlar. Mikroorganizma insan derisinde bulunan lipitleri karbon kaynağı olarak kullanırken, eser elementlere, vitaminlere ya da elektrolitlere ihtiyaç duymamaktadır [2]. Malassezia türleri normalde in vitro aerobik şartlar altında üremelerine rağmen, mikroaerofilik ve anaerobik şartlarda da üreyebilmektedirler. Koloni yapıları genellikle krem-bej, düzgün yüzeyli maya kolonilerinden ibarettir (Resim 3).



Resim 3. Malassezia türlerinin düzgün yüzeyli, krem rengi koloni yapısı (mDixon besiyerinde, 10 günlük üreme)

Biyokimyasal Özellikler

Malassezia türleri biyokimyasal olarak nispeten durağandır ve şekerleri fermente etmezler [28]. Bununla birlikte bu mayalar mikroorganizmaya karakteristik meyve kokusunu veren ve gamma laktonları da içeren birçok metabolit üretmektedir. Oleik asitli ortamda üretildiğinde diğer dikarboksilik asitlere ek olarak azeleik asit de üretmektedir. Azeleik asit, reaktif oksijen moleküllerinin oluşumunun azalmasına ve aynı zamanda nötrofil inhibisyonuna sebep olmaktadır. Pityriasis versicolorda görülen hipo/depigmente değişikliklerde önemli olduğu düşünülen azeleik asit, melanogenezde anahtar enzim olan tirozinazın yarışmalı inhibitörüdür [33].

Virulans Faktörleri

• Malassezia Türlerinin Pigmentleri:

Malassezia türleri florokromlar ve pigmentler üretmektedir. Bu pigmentler indol alkaloidleri olarak karakterize edilmektedir ve mikroorganizmayı UVA ve UVB radyasyonuna karşı in vitro korumaktadır [33]. Melanize mantarların immünolojik cevaplar sırasında ortaya çıkan reaktif oksijen moleküllerine karşı duyarlılıkları daha azdır. Kriptokoklar için önemli bir virulans faktörü olarak bilinen melanin üretiminin diğer bir patojen basidiomiçet olan Malassezia türlerinin de konak savunmasından korunmasında rol alması mümkündür. Bu mayanın da melanin benzeri pigmentinin (melanin-like pigment) varlığı in vitro ve in vivo olarak pityriasis versicolor ve seboreik dermatitli hastalarda rapor edilmiştir [28,33].

Malassezia türlerinin oluşturduğu diğer bir pigment olan pityrialactone, PV lezyonlarının Wood ışığı altında floresansından sorumlu olan bir alkaloittir ve PV'nin diğer klinik belirtileri ile alakalı olacağı ön görülmektedir. Malassezin ise melanosit apopi-

tozunu indükleyerek melanin sentezinde azalmaya neden olmaktadır ve bazı hastalarda lezyonların depigmentasyonuna katkıda bulunduğu belirtilmektedir. Pityriarubin sınırlı inflamatuar cevaptan kısmen sorumlu olduğu düşünülen, pityriacitrin ise Malassezia türlerinin UV ışınlarına karşı dirençli olmalarını sağlayan pigmentleridir [33].

• Malassezia Türlerinin Enzimleri:

Malassezia türlerinin hem in vivo hem de in vitro lipolitik aktiviteye sahip olmaları lipaz üretimini göstermektedir. Lipaz hücre duvarında ve/veya sitoplazmik membranda yer almaktadır. Malassezia türleri in vitro fosfolipaz da üretebilmektedir. Bu fosfolipaz aktivitesi Hep-2 hücrelerinden araşidonik asit salınımına neden olmaktadır. Araşidonik asit metabolitlerinin ciltteki inflamasyonda rol almasından dolayı Malassezia türlerinin neden olduğu cilt inflamasyonunu da tetikleyebileceği öne sürülmüştür [2]. Malassezia türleri ayrıca lipooksijenaz aktivitesi de gösterirler. Bu enzim serbest ve esterlenmiş yağ asitlerini, skualeni ve kolesterolü okside edebilmektedir. Lipoperoksitlerin üretimi sonucunda, PV'de görülen cilt pigmentasyon değişikliklerine sebep olan hücre membranı zararının ortaya çıkabileceği düşünülmektedir [2].

Laboratuvar Tanı

Örnek Alınması ve Taşınması

Klinik olarak şüphelenilen cilt lezyonunun %70 etil alkol ile temizlenmesini takiben lezyon kenarından steril bistüri yardımı ile alınan deri kazıntı örnekleri, eküvyon yardımıyla nemli bölgelerden alınan sürüntü örnekleri, yenidoğan ünitesinden gelen kan ve steril vücut sıvıları ve total parenteral nütrisyonla beslenen hastalara ait kateter uçları steril petri kutuları veya tüpler içerisinde laboratuvara ulaştırılır.

Mikroskobik İnceleme

Kazıntı örnekleri lam/lamel arasında %10-15'lik KOH solüsyonu ile muamele edilir ve böylece keratinize dokular uzaklaştırılır. Preparatın mikroskobik incelemesinde (x40) bölmeli, 1,5–4 µm çapında, düz veya eğri, seyrek olarak dallanabilen hiflerle, 3–8 µm çapında, az çok yuvarlak, tomurcuklanma gösterebilen mayaların varlığı karakteristik "köfte ve spagetti" görünümünü ortaya çıkarır (Resim 1) [9]. En tatmin edici mikroskobik inceleme, kazıntı örneğinin mürekkep (Parker kalıcı mavi ve siyah boyası) ve %10-15 KOH içeren karışımla incelendiği zaman sağlanmaktadır. Albert solüsyonu da (toluidin mavisi 0,15 g, malaşit yeşili 0,2 g, glasiyal asetik asit 1 ml, %95'lik etanol 2 ml ve distile su 110 ml) alternatif olarak bu amaçla kullanılabilir [6]. Doğrudan mikroskobik incelemeye ilave olarak örnek PAS, immünoperoksidaz gibi histokimyasal boyalarla boyanabilir. Laboratuvar floresan mikoskobuna sahipse, kalkoflor beyazı yöntemi de kullanılabilmektedir [9].

Kültür

Pityriasis versicolorun karakteristik lezyonlarının klinisyenler tarafından kolaylıkla tanınabilmesine ve tanısının mikroskopik inceleme ile doğrulanmasına rağmen bu mantarın kültürü antifungal duyarlılık çalışmaları ve epidemiyolojik/filogenetik incelemeler gibi bazı durumlarda gereklilik göstermektedir. Malassezia türleri derideki kepeklerden ve diğer enfekte materyallerden Sabouraud besiyerinde (glukoz %2, pepton %1, agar %2) veya zeytinyağı eklenmiş Sabouraud besiyerinde üretilmiştir. Her iki besiyerine de bakteri ve maya kontaminasyonunu önlemek için sırasıyla %0,5 kloramfenikol ve %0,5 siklohekzimit ilave edilmiştir [5]. Lipofilik Malassezia türlerini üretmek amacıyla geliştirilmiş özel besiyerlerinden ilki 1964'te Van Abbe [34] tarafından tanımlanan Dixon besiyeri (malt özütü agar %6, öküz safrası %2, Tween 40 %1, gliserol monooleat %0,25, streptomisin sülfat 40 µg/ml, siklohekzimit 250 µg/ml ve distile su) ve bu besiyerinin modifiye formülüdür. Modifiye Dixon besiyeri; malt özütü %3,6, pepton %0,6, öküz safrası %2, Tween 40 %1, gliserol %2, oleik asit %0,2 ve %1,2 agardan oluşmaktadır [5]. 1987'de ise Leeming ve Notman tarafından tanımlanan ve kendi adları ile anılan özel besiyeri (pepton 10 g, glikoz 5 g, maya özütü 0,1 g, öküz safrası 4 g, gliserol 1 ml, gliserol monostearat 0,5 g, agar 12 g, Tween 60 0,5 ml, tam yağlı inek sütü 10 ml, kloramfenikol 50 µg/ml, siklohekzimit 200 µg/ml, distile su 1000 ml, pH=6,2) tanımlanmıştır [35]. Besiyerlerine kloramfenikol ve siklohekzimit ilave edilmesi tavsiye edilmektedir. mDixon besiyerinin Leeming-Notman besiyerine göre avantajı, koyu rengiyle koloni sayımına kolaylık sağlaması ve özellikle birkaç türün birlikte mevcudiyetinde morfolojilerinin daha iyi tanımlanmasına olanak sağlayabilmesidir. Bu sebeple araştırmacılar çalışmalarında mDixon besiyerini tercih etmektedirler [5].

Tür Düzeyinde Tanımlama

Malassezia cinsinin taksonomik olarak belirlenmesinde ve tür düzeyinde tanımlanabilmesinde moleküler yöntemler oldukça güvenilirdir. Malassezia türlerinin moleküler tanısında temel olarak 4 yöntem kullanılmaktadır; 1) enzimatik yöntemlerle biyotipleme, 2) pulsed field gel electrophoresis (PFGE) ile kromozomal analiz, 3) PCR (polymerase chain reaction) bazlı yöntemler ve 4) DNA sekans analizi yöntemleri. PCR bazlı yöntemlerde hedef olarak ribozomal DNA'nın büyük altünitesi (large subunit, LSU) ve internally transcribed spacer (ITS) bölgeleri kullanılmaktadır [28]. Ayrıca mikrobiyoloji laboratuvarlarında özellikle son dönemde hızlı ve güvenilir tanı için kullanılmaya başlanan Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) sistemi ile Malassezia mayalarının mevcut 14 türünün de doğru olarak tanımlandığı bir çalışmada raporlanmıştır [36].

Malassezia türlerinin tanımlanmasında moleküler biyolojik tekniklerin çok güvenilir olmasına rağmen, çoğu klinik laboratuvarda bu şartların olmamasından dolayı kültüre dayanan geleneksel yöntemler kullanılarak identifikasyonları yapılmaktadır. Malassezia türlerinin çoğu üreme karekterlerine, koloni morfolojilerine, üreme sıcaklıklarına, katalaz aktivitesine, Tween asimilasyon paternlerine, cremophor EL (cEL) kullanma ve eskülin hidrolizi (ß-glukozidaz) aktiviteleri gibi fenotipik özelliklerine dayanan çeşitli rutin teknikler kullanılarak tanımlanabilirler. Tablo I'de mevcut 14 Malassezia türünün ayırtedici özellikleri verilmiştir.

Malassezia türlerinin tanımlanmasında kullanılan testler:

• Tween Asimilasyon Testleri

Esansiyel yağ asitleriyle suda çözünebilir hale getirilmiş polisorbat deriveleri olan Tween bileşiklerinin Malassezia türleri tarafından asimilasyon paternleri türler arasında farklılık gösterir [28]. Tween türevleri SGA besiyerine tek lipit kaynakları olarak ayrıca eklenir. Malassezia mayaları ile yaklaşık 10^7 hücre/ml yoğunlukta hazırlanan süspansiyon SGA besiyeri ile katılaşmadan hemen önce, besiyeri yaklaşık 45oC civarına soğutulduğunda karıştırılır ve bu karışım plaklara dökülür. Besiyeri katılaştıktan sonra 3 mm çapında 4 ayrı kuyucuk açılarak bu kuyucukların her birine ayrı ayrı Tween 20, 40, 60 ve 80 solüsyonlarından 5-15 µl hacminde dökülür. Bazı uygulamalarda ise çevredeki bu dört Tween bileşiğine ilave olarak merkeze açılan beşinci

kuyucuk yoluyla cEL'nin de birlikte test edilmesi tercih edilmektedir [20,28]. Plaklar 32oC'de 7 gün inkübe edilir. Hangi Tween asimile edilmiş ise o Tween bileşiğinin bulunduğu kuyucuk çevresinde gözlenen üremeye göre Tween kullanım paternleri kayıt edilir [11].

• Cremophor EL Asimilasyonu

Malassezia türleri arasında cEL'yi tek lipit kaynağı olarak asimile edebilme özelliği farklılık gösterdiğinden, bir tanımlama testi olarak kullanılır. Tanımlanacak Malassezia kökeni kültürde saf olarak üretildikten sonra steril öze yardımı ile cEL yatık besiyerine ekilir. Aerop koşullarda, 32°C'de 7-10 gün inkübasyona bırakıldıktan sonra üreme sonuçları günlük olarak takip edilir ve üremenin olması cEL'i kullanma özelliği bakımından pozitif olarak kaydedilir [13,37]. İstenirse cEL asimilasyon testi, cEL'in SGA besiyeri içerisine eklenmesi yerine, Tween test plaklarında açılacak beşinci kuyucuk içerisine cEL'nin damlatılmasıyla da test edilebilir [28].

• Katalaz Reaksiyonu

Katalaz, hidrojen peroksidi (H2O2) su (H2O) ve oksijene (O2) ayıran bir enzimdir. İncelenecek mikroorganizma kolonisi üzerine H2O2 damlatarak hava kabarcığı (O2) oluşup oluşmadığı gözlenir. Kültürde üreyen kolonilerden bir tanesi temiz bir lam üzerine transfer edilir. Üzerine bir damla %3'lük H2O2 damlatılır. Hidrojen peroksit damlatıldıktan hemen sonra hava kabarcığı oluşuyorsa deney pozitiftir. Katalaz testi, agar yüzeyindeki koloniler üzerine bir damla %3'lük H2O2 damlatılarak da yapılabilir. M. restricta katalaz negatif olan tek Malassezia türüdür [13,37].

• Eskülin Hidrolizi Testi

Malassezia türlerindeki β-glukozidaz aktivitesi ile eskülinin hidrolizi esasına dayanan bir testtir. Steril iğne öze ile koloninin merkezine dokunulur. Eskülin agarın yüzeyine pasajlanır. 32°C'de, yedi gün süreyle inkübe edilir. Günlük olarak kültürde üreme ve eskülin hidrolizine bağlı siyahlaşma olup olmadığı kontrol edilir [13,37].

• SGA Besiyerinde Üreme Testi

Malassezia pachydermatis lipit bağımlı olmadığı için standart SGA besiyerinde üreyebilmesi ile diğer Malassezia türlerinden kolaylıkla ayrılabilmektedir. mDixon besiyerinde üreyen mayalar SGA besiyerine steril öze yardımıyla pasajlanır ve aerop koşullarda, 32°C'de 7-10 gün inkübasyona bırakılır. Bu süre sonunda SGA besiyerinde üreme görülmemesi lipofilik maya varlığını gösterir [13].

• 37 oC ve 40oC'de Üreme Testi

Malassezia türlerinin standart inkübasyon sıcaklığı 30-32oC'dir. Bunun yanı sıra bazı Malassezia türleri sadece 37 oC, bazıları ise hem 37 oC hem de 40oC'de üreyebilmektedir [37].

• Presipitat Oluşumunun İncelenmesi

Malassezia türlerinin identifikasyon tablo ve şemalarında genellikle ayırt edici bir karakteristik olarak belirtilmeyen presipitat oluşumu iki şekilde ortaya çıkar. "Kristal presipitat" olarak adlandırılan fenomen, mDixon besiyerindeki kültürlerde, kolonilerin çevresinde, agar içerisinde kontaminasyonu andırır şekilde bir patern olarak dikkati çeker. "Beyaz presipitat" olarak adlandırılan diğer fenomen ise SGA besiyerinde Tween ve/veya cEL kuyucuklarının çevresinde, agar içerisinde, üreme olmaksızın üreme varmış hissi uyandıran bir görünüm olarak ortaya çıkar [28].

Sonuç

Malassezia mayaları ve bu organizmaların etyolojisinde rol oynadığı hastalıklar son 150 yıldır tıp yaşamında dikkat çekmektedir. Modern moleküler yöntemlerin katkılarıyla cins içinde taksonomik olarak yerini alan tür sayısı da yıllar içerisinde artış göstermektedir. Bu derleme Malassezia türlerinin temel bilgilerine katkıda bulunmakla birlikte cins içinde bulunan mevcut 14 türün identifikasyonunun yapılabilmesi için çok sayıdaki kaynaklarda dağınık olarak yer alan önemli bilgilerin bir araya toplanması ve bu konuda çalışacak araştırmacılara kolaylık sağlaması amacıyla özetlenmiştir.

Çıkar Çakışması ve Finansman Beyanı

Bu çalışmada çıkar çakışması ve finansman destek alındığı beyan edilmemiştir.

Kaynaklar

1. Kantarcıoğlu AS, Yücel A. Malassezia türleri: taksonomi, mikoloji, immunoloji, patogenez, vücuttaki dağılımı ve ilişkili infeksiyonlar, laboratuvar tanımı, antifungallere duyarlılığı. Cerrahpaşa J Med 2005;36:134-154.
2. Ashbee HR, Glyn E, Evans V. Immunology of diseases associated with Malassezia species. Clin Microbiol Rev 2002;21-57.
3. Marcon MJ, Powell DA. Humans infections due to Malassezia spp. Clin Microbiol Rev 1992 5:101-119.
4. Gupta AK, Batra R, Bluhm R, Boekhout T, Dawson TL. Skin disease associated with Malassezia species. J Am Acad Dermatol 2004;51:785-798.
5. Midgley G, Gueho E, Guillot J. Superficial basidomycetous yeasts. chapter 12: diseases caused by Malassezia species. In: Collier LE, (ed.). Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Vol. 4. Medical Mycology. 9th edn. London: Arnold, 1998:201–211.
6. Gupta AK, Bluhm R, Summerbell R. Pityriasis versicolor review. JEADV 2002;16:19–33.
7. Fitzpatrick TB, Johnson RA, Wolff K, Suurmond R. Color Atlas & Syn-opsis of Clinical Dermatology 4th edition. New York: Mc Graw Hill; Pityriasis versicolor. 2001;722-726.
8. Crespo Erchiga V, Martos AO, Casaño AV. Mycology of pityriasis versicolor. J Mycol Med 1999;9:143-148.
9. Crespo-Erchiga V, Florencio VD. Malassezia yeasts and pityriasis versicolor. Curr Opin Infect Dis 2006;19:139–147.
10. Svejgaard E. Epidemiology and clinical features of dermatomycoses and dermatophytoses. Acta Derm Venereol (Stockh) 1986;121:19–26.
11. Nakabayashi A, Sei Y, Guillot J. Identification of Malassezia species isolated from patients with seborrhoeic dermatitis, atopic dermatitis, pityriasis versicolor and normal subjects. Med Mycol 2000;38:337-341.
12. Aspiroz C, Ara M, Varea M ve ark. Isolation of Malassezia globosa and M. sympodialis from patients with pityriasis versicolor in Spain. Mycopathologia 2001;154:111–117.
13. Khosravi AR, Eidi S, Katiraee F, Ziglari T, Bayat M, Nissiani M. Identification of different Malassezia species isolated from patients with Malassezia infections. World J. Zool 2009;4(2):85-89.
14. Tarazooie B, Kordbacheh P, Zaini F ve ark. study of the distribution of Malassezia species in patients with pityriasis versicolor and healthy individuals in Tehran, Iran. BMC Dermatology 2004;4:5.
15. Karakaş M, Bíçer AT, Ílkít M ve ark. Epidemiology of pityriasis versicolor in Adana, Turkey. Journal of Dermatology 2009;36:377–382.
16. Prohic A, Ozegovic L. Malassezia species isolated from lesional and non-lesional skin in patients with pityriasis versicolor. Mycoses 2006;50:58–63.
17. Chaudhary R, Singh S, Banerjee T ve ark. Prevalence of different Malassezia species in pityriasis versicolor in central India. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2010;76(2):159-164.
18. Crespo-Erchiga V, Martos AO, Vera-Casano A ve ark. Malassezia globosa as the causative agent of pityriasis versicolor. Br J Dermatol 2000;143:799–803.
19. Gaitanis G, Velegraki A, Alexopoulos EC ve ark. Distribution of Malassezia species in pityriasis versicolor and seborrheic dermatitis in Greece. Typing of the major pityriasis versicolor isolate Malassezia globosa. Br J Dermatol 2006;154:854–859.
20. Gupta AK, Kohli Y, Summerbell RC, Faergemann J. Quantitative culture of Malassezia species from different body sites of individuals with or without dermatoses. Med Mycol 2001;39(3):243-251.
21. Ramadán S, Sortino M, Bulacio L, Prevalence of Malassezia species in patients with pityriasis versicolor in Rosario, Argentina. Rev Iberoam Micol 2012;29(1):14–19.
22. Gupta AK, Kohli Y, Faergemann J ve ark. Epidemiology of Malassezia yeasts associated with pityriasis versicolor in Ontario, Canada. Med Mycol 2001;39(2):199-206.
23. Kindo AJ, Sophia SKC, Kalyani J ve ark. Identification of Malassezia species. Indian Journal of Medical Microbiology 2004;22(3):179-181.

24. Krisanty RIA, Bramono K, Wisnu IM. Identification of Malassezia species from pityriasis versicolor in Indonesia and its relationship with clinical characteristics. Mycoses 2008;52:257–262.
25. Razanakolona I, Rakotozandrindrainy N, Razafimahefa J ve ark. Pityriasis versicolor à antananarivo: première étude sur l´identification d´espèces de malassezia responsables. Abst FSMM J Mycol Méd 2004;14:152.
26. De Quinzada M, estudio de las especies de malassezia relacionadas con la patología cutánea pitiriasis versicolor en Panamá. Thesis Doctoral Panamá. 2005.
27. Miranda KC, Rodrigues de Araujo C, Soares AJ ve ark. Identificaçâo de espécies de Malassezia em pacientes com pitiríase versicolor em Goiania-GO. Rev Soc Bras Med Trop 2006;39:582–583.
28. Boekhout T, Guého-Kellermann E, Mayser, Velegraki A. Malassezia and the Skin Science and Clincal Practice. Verlag Berlin Heidelberg: Springer; 2010.
29. Aytimur D, Ertam I, Gerçeker Türk B ve ark. The distribution of Malassezia species in pityriasis versicolor. Turkiye Klinikleri J Dermatol 2009;19(1):1-4.
30. Vuran E, Karaarslan A, Karasartova D, Turegun B, Sahin F. Identification of Malassezia species from pityriasis versicolor lesions with a new multiplex pcr method. Mycopathologia 2013;Nov 5.
31. Guého E, Midgley G, Guillot J. The genus Malassezia with description of four new species. Antonie van Leeuwenhoek 1996;69:337-355.
32. Saadatzadeh MR, Ashbee HR, Holland KT, Ingham H. Production of mycelial phase of Malassezia species in vitro. Med Mycol 2001;39:487-493.
33. Ashbee HR, Update on the genus Malassezia. Med Mycol 2007;45:287-303.
34. Van Abbe NJ, The investigation of dandruff. J Soc Cosmetic Chemists 1964;15: 609-630.
35. Leeming JP, Notman FH. Improved methods for isolation and enumeration of Malassezia furfur from human skin. J Clin Microbiol 1987;25:2017-2019.
36. Kolecka A, Khayhan K, Arabatzis M, Velegraki A, Kostrzewa M, Andersson A ve ark. Efficient identification of Malassezia yeasts by matrix-assisted laser desorption ionizationtime of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Br J Dermatol 2013;Oct11.
37. Kaneko T, Makimura K, Abe M ve ark. Revised culture-based system for identification of Malassezia species. J Clin Microbiol 2007;3737–3742.
38. Cabañes FJ, Theelen B, Castella G. Two new lipid - dependent Malassezia species from domestic animals. FEMS Yeast Res 2007;1064–1076.
39. Cabañes FJ, Vega S, Castella G. Malassezia cuniculi sp. nov. a novel yeast species isolated from rabbit skin. Med Mycol 2011;49(1):40-48(9).

How to cite this article:
Rodoplu G. Malassezia Species and Pityriasis Versicolor. J Clin Anal Med 2015;6(suppl 2): 231-6.