

بررسی میزان شیوع مالاسزیا در پوست اسبهای استان گلستان و تعیین هویت آنها

دکتر سید جمال هاشمی^۱، دکتر آیت نصراللهی عمران^{۲*}، دکتر ایرج سهرابی حقدوست^۳، دکتر علیرضا خسروی^۴

چکیده

هدف از این مطالعه تعیین میزان شیوع مالاسزیا در پوست اسبهای استان گلستان و شناسایی آنها با توجه به سن، جنس، نژاد و منطقه جغرافیایی زندگی اسبها بوده است. در طول ۱۵ ماه از تیرماه ۸۳ الی شهریور ۸۴ نمونه گیری از اطراف مقعد، کشاله ران، پشت، زیر بغل و گوش ۲۵۶ راس اسب از طریق روشهای موکت استریل و اسکرابینگ انجام گرفت. قسمتی از نمونه ها جهت تهیه لام میکروسکوپی با استفاده از روش رنگ آمیزی میتیلن بلو مورد بررسی قرار گرفتند. همه نمونه ها بروی محیط سابورود گلولز آگار SGA حاوی روغن زیتون کشت داده شدند. همه محیط ها شامل ۱۵۰ میلیگرم کلرمفنیکل و یک گرم سیکلوهگزیمید بودند. شناسایی مخمرهای وابسته به لیپید بر اساس واکنش کاتالاز، توانایی استفاده از توین های ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ هیدرولیز صفر (اسکولین) رشد بروی محیط SGA حاوی روغن زیتون در دماهای ۳۷ و ۴۰ درجه سانتیگراد همراه با خصوصیات مورفولوژیکی آنها بروی محیط SGA حاوی روغن زیتون، چنانچه بوسیله گویولت (Guitlot) و گوئهو (Gueho) در سال ۱۹۹۶ توصیف شده، انجام گرفت. در این مطالعه میزان شیوع مالاسزیا در اسبهای بررسی شده ۳۳/۹۸٪ (۸۷ مورد) گزارش گردیده از ۲۵۶ راس اسب مطالعه شده ۵۰ مورد (۱۹/۵۳٪) از جنس نر و ۳۷ مورد (۱۴/۴۵٪) از جنس مادیا، کشت مثبت مالاسزیا داشتند. بیشترین میزان شیوع مالاسزیا در گروه سنی ۲ تا ۸ ساله با ۵۵ مورد (۲۱/۴۸٪) و نژاد ترکمن ۳۷ مورد (۱۴/۴۵٪) و کمترین میزان شیوع در گروه سنی زیر دو ساله با ۱۲ مورد (۴/۶٪) دیده شدند. بیشترین مالاسزیایی ایزوله از کشاله ران با ۲۵ مورد (۲۴/۲۷٪) و بدنبال آن اطراف مقعد ۲۳ مورد (۲۲/۳۳٪) گوش ۲۲ مورد (۲۱/۳۶٪)، زیر بغل ۱۷ مورد (۱۶/۵٪) و پشت بدن ۱۶ مورد (۱۵/۵۴٪) در رتبه های بعدی قرار داشتند. مالاسزیا گلوبوزا با ۲۳ مورد (۲۲/۳۳٪) غالبترین گونه مالاسزیا ایزوله شده بود و بدنبال آن مالاسزیا فوفور ۱۹ (۱۸/۴۵٪)، مالاسزیا رستریکتا ۱۴ مورد (۱۳/۵۹٪)، مالاسزیا پاکی در ماتیس ۱۲ مورد (۱۱/۶۵٪)، مالاسزیا سیمپودیالس ۱۲ مورد (۱۱/۶۵٪)، مالاسزیا ایتوزا ۱۲ مورد (۱۱/۶۵٪) و مالاسزیا اسلوفیه ۱۱ مورد (۱۰/۶۹٪) بودند. در مطالعه ما میزان شیوع مالاسزیا در اسبها برابر ۳۳/۹۸٪ بود که کمتر از گزارش سایرین (۶۰٪) بوده است. ارتباط معنی داری مابین میزان شیوع مالاسزیا با جنس، نژاد و منطقه جغرافیایی زندگی اسبها مشاهده نشد در حالیکه مابین سن و میزان شیوع مالاسزیا ارتباط معنی داری وجود داشت.

واژگان کلیدی: مالاسزیا، اسب، پوست، گلستان

The Prevalence and Identification of Malassezia spp on the horses Golestan Province

Hashemi.S.J¹, NasrollahiOmran.A², Sohrabi Haghdost.I³, khosravi .A.R⁴

1-Department of Mycology, Tehran University, Tehran, Iran

2-Graduated of Mycology, Islamic Azad University, Science & Research Campus, Tehran, Iran

3-Department of pathology, Faculty of Specialised Veterinary Science, Islamic Azad University, Science & Research Campus Tehran, Iran

4-Department of Mycology, Faculty of Specialised Veterinary Science, Islamic Azad University, Science & Research Campus Tehran, Iran

The purpose of this study was to determine the prevalence of Malassezia spp on the skin of horses of Golestan province and the effects of sex, breed, age and the geographical area. During 15 months, from July 2004 to Sept 2005 sampling was performed by strilmoquet (kind of carpet) and scraping from perineum, ear, axilla, groin and dorsum of 256 horses. Part of samples were stained by methylene blue staining method, and were seen microscopically. All samples were inoculated on the saborured glucose agar (SGA) supplemented with olive oil. All media contained 150 mg of chlorphenicol and 1 gr of cycloheximide. The identification of lipid dependent yeasts was based on the ability to use tweens 20, 40, 60 and 80, catalase reaction, splitting of esculin, growth on SGA supplement with olive oil in 37, 40 and morphological characteristic on SGA supplemented by olive oil, as described by guillot and gueho (1996). In this study the prevalence of Malassezia spp was 33.98% (87 case). From 256 horses under study, 50 (19.53%) males and 37 (14.45%) mares had Malassezia positive culture. The highest prevalence of Malassezia were seen in 2-8 years (55 case) (21.48%) and turkmonans (37 case) (14.45%). The lowest prevalence were in under 2 year (12 case) (4.69%). Isolated Malassezia spp frequently was in groin with frequency of (25 case) (24.27%), and then anus (23 case) (22.33%), ear (22 case) (21.36%), axilla (17 case) (16.5%) and dorsum 16 case (15.54%) respectively. The most isolated species was Malassezia globosa with 23 case (22.33%) and then Malassezia furfur (19 case) (18.45%), Malassezia restricta (14 case) (13.59%), Malassezia pachydermatis (12 case) (11.65%), Malassezia obtusa (12 case) (11.65%), Malassezia sympodialis (12 case) (11.65%) and Malassezia slooffiae (11 case) (10.69%) respectively. The prevalence of Malassezia spp in horses was 33.98% in our study that was lower than other reports (60%). There was no correlation between the prevalence of Malassezia with sex, breed, geographical area except for age.

Key Words: Malassazia, Horse, Skin, Golestsn

۱- گروه فارغ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران- ایران

۲- دانش اموزته دکتری تخصصی فارغ شناسی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران- ایران

۳- گروه پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران- ایران

۴- گروه فارغ شناسی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران- ایران

مقدمه

مخمرهای بازیدیومیست جنس مالاسزیا میکرو فلور طبیعی پوست انسان، حیوانات و سایر پستانداران خونگرم و پرندگان می باشند که تحت شرایط خاصی می توانند تبدیل به حالت بیماریزا شوند. بنابراین بعنوان پاتوژنهای فرصت طلب انسان و حیوانات شناخته می شوند (۲، ۱۹۰، ۳). در حیوانات فاکتورهایی از قبیل وجود گوشهای بلند، استرس رطوبت و حرارت بالا، از بین رفتن لایه شاخی پوست، نگهداری حیوان در محیط های نامناسب، افزایش لیپیدهای سطحی پوست، نقص سیستم ایمنی و سو تغذیه بعنوان مهمترین فاکتورهای مساعدکننده مطرح می باشند که سبب تبدیل مخمر از حالت فلور طبیعی به حالت بیماریزا می شوند که غالباً در حیوانات عفونت مالاسزیا به شکل اوتیت و درماتیت تظاهر می کند (۲، ۳، ۴، ۶، ۷، ۸، ۱۱).

تا سالهای زیادی تاکسونمیک جنس مالاسزیا همیشه موضوع سر درگمی بوده است تا دو دهه گذشته تنها دو گونه از این جنس قابل قبول بوده ولی با مطالعات اولتراساختمانی، فیزیولوژیکی، بیولوژی مولکولی، بیوشیمیایی، ژنتیک مولکولی اخیراً این جنس به دوازده گونه افزایش یافته مالاسزیا فور فور (۱۸۸۹)، مالاسزیا پاکی درماتیس (۱۹۳۵)، مالاسزیا سیمپودیالیس (۱۹۹۰)، مالاسزیا گلوبوزا، مالاسزیا اوبتوزا، مالاسزیا رستریکتا، مالاسزیا اسلوفیه (۱۹۹۶) مالاسزیا درماتیس (۲۰۰۲)، مالاسزیا اکوئی (۲۰۰۲)، مالاسزیا ژاپونیکا (۲۰۰۳)، مالاسزیا یاماتونسیس (۲۰۰۴) و مالاسزیا نانا (۲۰۰۴) است (۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳).

اگر چه بیشترین مطالعات بر روی مالاسزیا در ارتباط با نمونه های انسانی می باشد ولی گونه های مالاسزیا می توانند بر روی پوست بدن خوک، فیل، کرگدن، روبه، سگ، گربه، گاو گوسفند، بز و پرندگان مستقر شده و به شکل همزیست در نقاط پرچرب پوست نرمال و غیر نرمال بخصوص در مجرای گوش، اطراف مخرج، کشاله ران، زیر

بغل، پستان، لب و چانه درآیند (۱، ۳، ۵، ۶، ۸). در حیوانات مثل انسان فلور هر ناحیه ای از پوست از سایر نواحی متفاوت بوده و بایستی از نواحی پوستی مختلف نمونه گیری کرد تا وضعیت فلور نرمال از نظر تعداد و گونه مشخص گردد اگر چه وضعیت فلور نرمال دائمی ثابت ولی فاکتورهایی می توانند تعداد این فلور را بطور نسبی تغییر دهند (۶، ۸، ۱۰، ۱۱، ۱۷).

بیشترین مطالعات در خارج از کشور درارتباط با مالاسزیا در حیوانات مربوط به سگ، گربه و گاوها میباشد ولی درباره مالاسزیا اسبها غیراز یک مطالعه تحقیق دیگری صورت نگرفته است (۳). از اینرو این تحقیق با هدف تعیین میزان شیوع مالاسزیا در پوست اسبهای استان گلستان و تعیین هویت آنها باتوجه به فاکتورهایی نظیر سن، جنس، نژاد و منطقه زندگی اسبها طراحی گردیده است.

روش کار

اسبهای موجود در استان گلستان بعنوان جامعه آماری در نظر گرفته شدند و طی یک دوره ۱۵ ماهه از تیر ۱۳۸۳ الی شهریور ۱۳۸۴ برای نمونه برداری انتخاب شدند. لذا اقدام به جمع اوری نمونه با استفاده از روشهای موکت استریل و اسکراب از کشاله ران، اطراف مخرج، گوش، زیر بغل و پشت بدن ۲۵۶ راس اسب نمودیم. قسمتی از نمونه ها جهت تهیه لام میکروسکوپی مستقیم با استفاده از روش رنگ آمیزی میتلن بلو مورد بررسی قرار گرفتند. کشت نمونه بر روی محیط سابورود گلوکز آگار (SGA) حاوی روغن زیتون همراه با آنتی بیوتیکهای سیکلوهگزیمید (۱ گرم) و کلرامفنیکل (۵۰۰ میلیگرم) تحت شرایط استریل و اینکوباسیون در ۳۰ درجه سانتیگراد بمدت یک هفته انجام گرفت.

بررسی پلیتها روزانه وبعد از ۷، ۵، ۳، ۱۰ و ۱۴ روز بعمل آمده و خصوصیات رشد کلنی ها بعد از بالا آمدن جهت جدا

بوده که از نظر سنی بین یک تا ۱۵ سال داشتند و اکثریت آنها در گروه سنی ۲ تا ۸ ساله (۴۴/۹۲٪) قرار می گرفتند. بدنبال آنها گروه سنی بالاتر از ۸ سال با ۳۵/۵۵٪ و کمترین گروه سنی متعلق به گروه زیر دو ساله ۱۹/۵۳٪ بود. بخشی از نمونه هایی که از طریق آزما یش میکروسکوپی مورد بررسی (قرر گرفتند از نظر وجود مالاسزیا ارزیابی مثبتی نشان ندادند. از مجموع ۱۲۸۰ کشت بعمل آمده تعداد ۱۰۵ کلنی مثبت مالاسزیا از ۷۸ اسب (۳۳/۹۸٪) ایزوله گردیدند در حالیکه کشت ۱۶۹ راس اسب (۶۶/۰۲٪) منفی بود..

جدول ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی اسبهای مورد بررسی بر حسب فلور نرمال مالاسزیا با گونه مالاسزیا ایزوله شده و موضع نمونه برداری از اسبان را نشان می دهد. با توجه به جدول ۲ چنین استنباط میشود که درصد میزان شیوع مالاسزیا در کشاله ران با ۲۵ مورد (۲۴/۲۷٪) بعنوان شایعترین موضع و بدنبال آن اطراف مخرج با ۲۳ مورد (۲۲/۳۳٪) گوش با ۲۲ مورد (۲۱/۳۶٪)، زیر بغل با ۱۷ مورد (۱۶/۵٪) و پشت بدن با ۱۶ مورد (۱۵/۵۴٪) در رتبه های بعدی قرار داشتند. با توجه به جدول ۳ مشخص گردید که مالاسزیا گلوبوزا با ۲۳ مورد (۲۲/۳۳٪) بعنوان شایعترین ایزوله مالاسزیایی شناسایی شد و بدنبال آن مالاسزیا فورفور با ۱۹ مورد (۱۸/۴۵٪)، مالاسزیا رستریکتا با ۱۴ مورد (۱۳/۵۹٪)، مالاسزیا پاکی درماتیس با ۱۲ مورد (۱۱/۶۵٪)، مالاسزیا اوبتوزا با ۱۲ مورد (۱۱/۶۵٪)، مالاسزیا سیمپودیالیس با ۱۲ مورد (۱۱/۶۵٪) و مالاسزیا اسلوفیه با ۱۱ مورد (۱۰/۶۸٪) قرار داشتند. نتایج حاصله از بررسی فوق بر حسب متغیرهای مطالعه نشان داد که اسبهای نر دارای کشت مثبت مالاسزیایی بوده در حالیکه این رقم در جنس ماده برابر ۱۴/۴۵٪ میباشد. لذا ارتباط معنی داری بین جنس و درصد میزان شیوع مالاسزیا دیده نشد. با توجه به آنالیز آماری مشخص گردید که ارتباطی معنی داری ما بین منطقه زندگی و درصد میزان شیوع وجود ندارد. از طرفی نژاد ترکمن با ۳۷ مورد کشت مثبت (۱۴/۴۵٪)

سازی اولیه مورد بررسی قرار می گرفتند. تشخیص اولیه ایزوله های مالاسزیا بر اساس خصوصیات ماکروسکوپی و سپس میکروسکوپی کلنی های رشد یافته و مشاهده مورفولوژی هر گونه با کمک رنگ آمیزی میتلن بلو استوار بود. شکل سلولهای مخمری، اندازه تقریبی جوانه ها، محل اتصال جوانه به سلول مادر سبب تمایز جنس مالاسزیا از جنس کانیدیدا می گشت.

جنس مالاسزیا شامل مخمرهایی هستند که خصوصیات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و ملکولی نزدیک بهم دارند. شکل کلنی و شکل سلولهای مخمری، نحوه جوانه زدن و قطر مخمر در شناسایی مورفولوژی گونه ها کاربرد دارد ولی شناسایی گونه های مختلف بعد از میکرو و ماکرو مورفولوژی کشت بر اساس خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نظیر توانایی رشد بر روی محیط SGA فاقد روغن، تست کاتالاز، تست تجزیه توین های مختلف (۸۰،۶۰،۴۰،۲۰) تست هیدرولیز صفرا (اسکولین)، تست توانایی رشد بروی محیط SGA در دماهای ۳۷ و ۴۰ درجه سانتیگراد با توجه به دستورالعمل پیشنهادی Mayer, Gillot و Gueho صورت پذیرفت (۱۸،۱۶،۱۲،۹).

نتایج

با توجه به بررسی بعمل آمده مشخص گردید از بین ۲۵۶ راس اسب مورد مطالعه ۸۶ راس (۳۳/۵۹٪) از شهرستان بندر ترکمن، ۷۸ راس (۳۰/۷٪) از شهرستان آقلا، ۶۰ راس (۲۲/۴۴٪) از شهرستان گنبد، ۳۲ راس (۱۲/۵٪) از شهرستان گرگان انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند که ۱۳۰ راس از آنها (۵۰/۷۸٪) از جنس نر و بقیه ۱۲۶ راس (۴۹/۲۲٪) از جنس مادیا بودند. از تعداد کل اسبها ۹۰ راس (۳۵/۱۵٪) از نژاد ترکمن، ۷۷ راس (۳۰/۰۹٪) از نژاد دو خونه ترکمن، ۶۹ راس (۲۶/۹۵٪) از نژاد تروبرد و ۲۰ راس از نژاد نا مشخصی بودند. متوسط سن اسبهای مورد بررسی ۷ سال

بیشترین درصد کلنیزاسیون پوستی در بین نژاد های مختلف نژادها در کلنیزاسیون پوستی نشان نداد. را دارا بوده که از لحاظ آماری تفاوت معنی داری با سایر

جدول ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی اسبهای مورد بررسی برحسب وجود فلورنرمال مالاسزیا و گونه مالاسزیا ایزوله شده با موضع نمونه برداری اسبها

| جمع | | گوش | | اطراف مخرج | | پشت بدن | | کشاله ران | | زیر بغل | | محل نمونه برداری گونه مالاسزیا |
|-------|-----|-------|----|------------|----|---------|----|-----------|----|---------|----|-----------------------------------|
| ۱۸/۴۵ | ۱۹ | ۹/۰۹ | ۲ | ۱۳/۰۵ | ۳ | ۴۳/۱۵ | ۷ | ۲۰ | ۵ | ۱۱/۷ | ۷۲ | مالاسزیا فورفور |
| ۱۱/۶۵ | ۱۲ | ۳۱/۸۲ | ۷ | ۸/۷ | ۲ | ۱۲/۵ | ۲ | ۴ | ۱ | ۰ | ۰ | مالاسزیا پاکی درماتیس |
| ۱۱/۶۵ | ۱۲ | ۹/۰۰۹ | ۲ | ۰ | ۰ | ۶/۲۵ | ۱ | ۲۰ | ۵ | ۲۳/۵۳ | ۴ | مالاسزیا سیمپودیالیس |
| ۱۱/۶۵ | ۱۲ | ۲۲/۷۳ | ۵ | ۳۰/۴۳ | ۷ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | مالاسزیا ابتوزوا |
| ۲۲/۳۳ | ۲۳ | ۰ | ۰ | ۳۰/۴۳ | ۷ | ۳۷/۵ | ۶ | ۱۶ | ۴ | ۳۵/۲ | ۹۶ | مالاسزیا گلوبوزوا |
| ۱۰/۶۹ | ۱۱ | ۹/۰۹ | ۲ | ۱۷/۳۹ | ۴ | ۰ | ۰ | ۲۰ | ۵ | ۰ | ۰ | مالاسزیا اسلوفیه |
| ۱۳/۵۹ | ۱۴ | ۱۸/۱۸ | ۴ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۲۰ | ۵ | ۲۹/۴۱ | ۵ | مالاسزیا رستریکتا |
| ۱۰۰ | ۱۰۳ | ۱۰۰ | ۲۲ | ۱۰۰ | ۲۳ | ۱۰۰ | ۱۶ | ۱۰۰ | ۲۵ | ۱۰۰ | ۱۷ | جمع |

جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی اسبهای مورد بررسی برحسب وجود فلور نرمال مالاسزیا و موضع نمونه برداری اسبها

| درصد | تعداد | فلور نرمال موضع نمونه برداری |
|-------|-------|---------------------------------|
| ۱۶/۵ | ۱۷ | زیر بغل |
| ۲۴/۲۷ | ۲۵ | کشاله ران |
| ۱۵/۵۴ | ۱۶ | پشت بدن |
| ۲۲/۳۳ | ۲۳ | اطراف مخرج |
| ۲۱/۳۶ | ۲۲ | گوش |
| ۱۰۰ | ۱۰۳ | جمع |

جدول ۳- توزیع فراوانی مطلق و نسبی اسبهای مورد بررسی برحسب وجود فلور نرمال و گونه مالاسزیا ایزوله شده

| فلور نرمال گونه مالاسزیا | تعداد | درصد |
|-----------------------------|-------|-------|
| مالاسزیا فوفور | ۱۹ | ۱۸/۴۵ |
| مالاسزیا پاکی درماتیس | ۱۲ | ۱۱/۶۵ |
| مالاسزیا سیمپودیالیس | ۱۲ | ۱۱/۶۵ |
| مالاسزیا ابتوزوا | ۱۲ | ۱۱/۶۵ |
| مالاسزیا گلوبوزوا | ۲۳ | ۲۲/۳۳ |
| مالاسزیا اسلوفیه | ۱۱ | ۱۰/۶۹ |
| مالاسزیا رستریکتا | ۱۴ | ۱۳/۵۹ |
| جمع | ۱۰۳ | ۱۰۰ |

بحث

متغیرهایی در مطالعه منظور نگردید (۳). جهت شناسایی گونه ها کشت نمونه ها الزامی است. به استثناء مالاسزیا پاکی درماتیس سا یرگونه ها نیاز مطلق به چربی دارند. بنابراین این نیاز را می توان با افزودن اسید های چرب با زنجیره های بلند به شکل روغن زیتون و ترکیب عمده آن یعنی اسید اولئیک برطرف نمود (۲).

در اکثر مطالعات تمایز بین گونه ها با استفاده از خصوصیات فیزیولوژیک وبدون کمک به خصوصیات مورفولوژیک صورت می گیرد (۳). از نتایج کسب شده می توان پی برد که از ۱۰۵ کلنی ایزوله شده از ۸۷ راس اسب، ۱۲ کلنی (۱۱/۴۳٪) مربوط به گونه مالاسزیا پاکیدرماتیس و ۱۰۳ کلنی (۸۸/۵۷٪) در ارتباط با گونه های وابسته به لیپید بوده اند چنین آمار مشابهی نیز کرسپو از ۳۰ راس اسب بدست آورد (۳) بطوریکه از ۷۴ کشت مثبت مالاسزیا ۸ کلنی (۱۰/۸٪) مالاسزیا پاکی درماتیس و ۶۴ کلنی (۸۹/۱۹٪) گونه های وابسته به لیپید راجدا سازی کرد (۳).

با توجه به آنالیز آماری مجذور کای معلوم گردید در این تحقیق مالاسزیا گلوبوزا با ۲۳ مورد (۲۲/۳۳٪) شایعترین و مالاسزیا اسلوفیه با ۱۱ مورد (۱۰/۶۸٪) کمترین ایزوله های

هم اکنون در حدود دوازده گونه مالاسزیا شناسایی شده و تا قبل از تغییرات تاکسونومیک تنها مالاسزیا پاکی درماتیس بعنوان فلور نرمال حیوانات محسوب می گشته ولی مطالعات دیگری که جهت یافتن گونه های جدید در حیوانات مختلف انجام گرفته نشاندهنده وجود گونه های دیگری از این جنس در آنها می باشد (۱، ۴، ۱۳، ۱۴). طبق محاسبات انجام گرفته میزان شیوع مالاسزیا در اسبهای استان گلستان برابر ۳۳/۹۸٪ بوده در حالیکه در تحقیقی که توسط کرسپو (Crespo) در سال ۲۰۰۲ در اسپانیا انجام گرفت.

میزان شیوع مالاسزیا در ۵۰ راس اسب برابر ۶۰٪ گزارش گردید اختلافات مشاهده شده در زمینه شایعترین موضع درجدا سازی ایزوله ها و درصد میزان شیوع مالاسزیا در اسبها می تواند در نتیجه اختلافات در جنس، نژاد، سن ومنطقه مورد مطالعه اسبها باشد (۳). با توجه به تحقیق انجام یافته مشخص گردید که ارتباط معنی داری بین درصد میزان شیوع مالاسزیا با سن بلوغ اسبها وجود دارد در حالیکه با نژاد، منطقه زندگی و جنس اسبها چنین ارتباطی مشاهده نگردید. در صورتیکه در تحقیق کرسپو چنین

فیزیولوژیک جهت افتراق گونه‌ها تست جذب و مصرف توپین‌های مختلف توسط گونه‌های متفاوت می‌باشد. در تست توپین در اثر مصرف توپین و هیدرولیز اسیدهای چرب غیر محلول نمکهایی حاصل می‌گردد که سبب ایجاد دیسک یا هاله شفاف در اطراف چاهک مربوطه میشود. مالاسزیا سیمپودیالیس قادر به هیدرولیز توپین ۲۰ مالاسزیا اسلوفیه قادر به هیدرولیز توپین ۸۰ مالاسزیا فورفور قادر به هیدرولیز همه توپین‌ها و مالاسزیا اوبتوزا و گلوبوزا قادر به هیدرولیز ۴۰ و ۶۰ می‌باشند بنابراین شناسایی دو گونه اخیر از یکدیگر توسط روشهای میکروسکوپی صورت می‌گیرد.

فهرست منابع

1. Bond, R., Howells, A., Haywood, p. (1997). Isolation of *Malassezia sympodialis* and *Malassezia globosa* from pet cats. *Veterinary Research*, 141:200-201.
2. Crespo, M.J., Abaraca, M.L. (1997). Isolation of *Malassezia furfur* from a cat. *Journal of Clinical Microbiology*, 37:1573-74.
3. Crespo, M.J., Abraca, M.L., Cabanes, F.J. (2002). Occurrence of *Malassezia* spp. in horses and domestic ruminants. *Mycoses*, 45:333-337.
4. Crespo, M.J., Abaraca, M.L., Cabanes, F.J. (2002). Occurrence of *Malassezia* spp in the external ear canals of dogs and cats with and without otitis external. *Medical Mycology*, 40:115-121.
5. De Hoog, G.S., Gene, G.J. (2000). *Atlas of Clinical Fungi*. 2nd Edition Central bureau voor schimmculturers Utrecht.
6. Duarte, E.R., Hahn, R.C. (1999). Prevalence of *Malassezia* spp Ears of asymptomatic cattle and cattle with otitis. *Medical Mycology*, 37(3):159-162.
7. Durate, E.R., Hamdan, J.S. (2002). Identification of atypically strains of *malassezia* spp. from cattle and dogs. *Candidan Microbiology*, 48:749-752.
8. Durate, E.R., Batista, R.D. (2003). Factors associated with in the external ears of cattle

شناسایی شده در حالیکه در مطالعه کرسپو مالاسزیا فورفور با ۲۵ مورد (۳۳/۷۸٪) بیشترین و مالاسزیا سیمپودیالیس با ۱ مورد (۱/۳۵٪) کمترین ایزوله شناسایی شدند (۳). در این تحقیق و مطالعه کرسپو مالاسزیا پاکی درماتیس از گوش، کشاله ران، مخرج و پشت بدن اسبها، مالاسزیا فورفور از تمام نقاط نمونه برداری شده، مالاسزیا اوبتوزا از مخرج و گوش اسبها، مالاسزیا رستریکتا از نواحی زیر بغل کشاله ران و گوش اسبها ایزوله گردیدند. نکته حائز اهمیت در مطالعه، جداسازی مالاسزیا سیمپودیالیس برای اولین بار از گوش، کشاله ران و پشت اسبها بود در صورتیکه در تحقیقی کرسپو فقط یک مورد آنهم از زیر بغل حیوان جداسازی این گونه انجام گرفت (۳).

با توجه به نتایج مطالعه فوق میتوان دریافت که گونه‌های وابسته به چربی مالاسزیا همانند مالاسزیا پاکی درماتیس در پوست اسبها مثل سایر حیوانات کلنیزه گردیده و این گونه‌ها به راحتی از محیط SGA واجد روغن زیتون جداسازی می‌گردند از طرفی آنها میزان شیوع بیشتری نسبت به گونه غیر وابسته به چربی در اسبها دارند. بررسی مستقیم کلنی گونه‌های مالاسزیا اطلاعات کافی برای تشخیص دقیق و اختصاصی گونه‌ها را به ما نمیدهد لذا انجام تستهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اجتناب ناپذیر می‌باشد. سرعت، دقت، سادگی، ارزان و تکرارپذیر بودن از مزایای این تستها می‌باشد. چنین تستها و روشهایی قبلا توسط محققین زیادی از جمله Raabe (سال ۲۰۰۰) و Durate (سال ۲۰۰۳) و Crespo (۲۰۰۲) جهت شناسایی گونه‌های مختلف مالاسزیا در حیوانات دیگر بکار برده شد (۱۹، ۱۴۸، ۴).

رشد بر روی محیط SGA فاقد چربی مختص گونه مالاسزیا پاکی درماتیس می‌باشد. تست کاتالاز یک تست کلیدی جهت شناسایی گونه رستریکتا و افتراق آن از سایرگونه‌های می‌باشد. تست هیدرولیز صفرها یک تست تشخیصی جهت تمایز گونه‌های اوبتوزا و سیمپودیالیس از سایر گونه‌ها در دسترس می‌باشد. در واقع مهمترین تست

9. Gueho, E., Guillot, J. (1996). The Genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 9:336-353.
10. Gueho, E., Guillot, H.R. (1998). The role of *Malassezia* Species in the ecology of human skin as pathogenic. *Medical Mycology*, sup1:220-229.
11. Gueho, E., Guillot, J. (1999). Common *Malassezia* species. *Mycoses*, 42:673-74.
12. Guillot, J., Gueho, E., Dupont, B. (1996). Identification of *Malassezia*: A practical approach. *Journal of Medical Mycology*. 6:103-110.3.
13. Guillot, J., Bond, R. (1999). *Malassezia pachydermatis*. *Medical Mycology*, 37(3):295-306.
14. Gupta, A., Kohi, Y., Summerbell, R. (2000). Molecular Differentiation of seven *Malassezia* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(5): 1869-1875.
15. Hirai, A., Kano, R. (2004). *Malassezia nana* a novel lipid dependent yeast isolated from animals. In. *Journal Systematic Microbiology*, 54(2): 623-627.
16. Mayser, P., Gueho, E. (1997). Differentiation of *Malassezia* species selectivity of cremophor EL, castor oil for *Malassezia furfur*. *British Journal of Dermatology*, 137:208-213.
17. Nardoni, S., Mancianti, F., Rum, A. (2004). Occurrence of *Malassezia* species in healthy and dermatologically diseased dogs. *Mycopathologia*, 157:383-88.
18. Nell, A., Bond, C.J. (2002). Identification and distribution a novel *Malassezia* species by a normal equine skin. *Veterinary Research*, 150(3): 395-398
19. Raabe, P., Mayser, P. (1998). Demonstration *Malassezia furfur* and *Malassezia sympodialis* together with *Malassezia pachydermatis* in veterinary specimens. *Mycoses*, 41(10) :4695-4699.
20. Sugita, T., Takashima, M. (2002). New yeast species *Malassezia dermatis* isolated from patients with atopic dermatitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(4): 1363-67
21. Sugita, T., Takashima, M. (2003). Description of a new Yeast species: *Malassezia japonica*. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(10): 4695-4699
- from the State of Munas, Brail. *Medical Mycology*, 43:137-142.
22. Sugita, T., Tajima, A. (2004). New yeast *Malassezia yamatoensis*, isolated from patients with seborrheic and healthy subject. *Microbiology Immunology*, 85(1): 579-83.
23. Weiss, R., Raabe, P., Mayser, P. (2000). Genus *Malassezia*: taxonomic classification and clinical significance in animals and man. *Mycoses*, 43(sup1) 69-72.