
Aislamiento e identificación de especies del género *Malassezia* en piel sana de niños desnutridos y eutróficos de multihogares de cuidado diario.

*Evelyn González-Morán*¹, *Sofía Rodríguez-Valero*¹, *María L Del Monte*¹, *Marlín Briceño*¹, *Skarleth Sintjago*¹, *Luz Mila Mesa*¹, *Doris García*², *Rafael Villalobos*³ y *Nayda Pereira*⁴.

¹Laboratorio de Micología, Escuela de Bioanálisis,

²Laboratorio de Investigación y Desarrollo en Nutrición, Escuela de Nutrición y Dietética,

³Cátedra de Medicina Tropical, Escuela de Medicina,

⁴Cátedra de Inmunología, Escuela de Bioanálisis.

Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Palabras clave: *Malassezia*, aislamiento e identificación, desnutridos, eutróficos, niños

Resumen. El género *Malassezia* comprende un grupo de levaduras lipófilas, integrantes de la microbiota normal de la piel del hombre y de animales. Se estudió la presencia de especies de *Malassezia* en piel sana de niños, que asistían a multihogares de cuidado diario de la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. La evaluación antropométrica permitió el diagnóstico de niños desnutridos (n = 48) y eutróficos (n = 40). Estos niños, entre 1 y 6 años de edad, que no presentaban lesiones en la piel, se seleccionaron para el estudio. Las muestras de la piel se tomaron de distintas regiones anatómicas. Se empleó el método de la impronta con cinta plástica transparente. Se realizó un examen directo con azul de metileno (0,25%) y se cultivó en el medio Dixon con antibiótico. La identificación de los aislados se hizo según la metodología clásica. Los resultados indican que los niños desnutridos y eutróficos presentaron una colonización por *Malassezia* en un elevado porcentaje (66,6% y 65,0%, respectivamente). Se observó en los desnutridos un predominio significativo de *M. furfur* (77,0%). Esta especie se aisló en todas las localizaciones, tanto en los desnutridos como en los eutróficos, mientras que *M. slooffiae* predominó en la espalda en los eutróficos. Por otra parte, se observó en los desnutridos un predominio significativo de *M. furfur* en el sexo masculino y en los eutróficos en el femenino. Esta investigación demostró el predominio de *M. furfur* en piel sana de niños desnutridos y eutróficos.

Isolation and identification of *Malassezia* species isolated of healthy skin of malnourished and eutrophic children attended in day care centers in Venezuela.

Invest Clin 2009; 50(2): 145 - 152

Key words: *Malassezia*, isolation and identification, bad nutrition, eutrophics, children

Abstract. The *Malassezia* genus contains a group of lipophilic yeasts that form part of the normal microbiota of human and animals skins. The presence of *Malassezia* species was studied on healthy skin in children, who attended day care centers, located in Maracaibo, Zulia state, Venezuela. Children without skin lesions that were anthropometrically classified as malnourished (48) and eutrophics (40), were studied. Samples were taken from different anatomic regions with a transparent plastic tape. The direct examination was done using blue methylene (0.25%) and then, samples were cultivated in Dixon medium with antibiotic. The identification of the isolated yeasts was done by classical methodology. The results obtained indicate that malnourished and eutrophics children were positive to *Malassezia* in relatively high prevalences (66.6% and 65.0% respectively). It is worthy of notice that *M. furfur* was predominantly present in malnourished children (77%). It was isolated from all the anatomic locations in both groups of children. *M. slooffiae* was mainly located in the back of the eutrophic children. *M. furfur* was isolated preferently in malnourished male children, while in the eutrophic children, it was observed in females. It was demonstrated that *M. furfur* was predominantly present in the healthy skin of malnourished and eutrophic children.

Recibido: 16-11-2007. *Aceptado:* 02-08-2008.

INTRODUCCIÓN

La colonización de la piel sana por especies de *Malassezia* comienza durante las primeras semanas de vida, alcanzado niveles del 30% al cabo de un mes (1). En niños menores de 10 años esta colonización es baja, pero durante la edad prepuberal y puberal, la colonización es mayor, debido al aumento de actividad de las glándulas sebáceas. Se ha sugerido un descenso en la colonización por estas levaduras a medida que se incrementa la edad; sin embargo, Gupta y col. (2), observaron el mayor número de

aislamientos en el grupo de edad mayor de 60 años.

Se estima que *Malassezia* spp puede aislarse del 90% de la piel de individuos sanos; la colonización de estas levaduras parece estar influenciada por factores raciales, sexuales y cambios estacionales, siendo más aislada en épocas cálidas y húmedas. Es posible que factores climáticos juegan un papel importante en las especies de *Malassezia* presentes en la piel sana, por ejemplo: *M. sympodialis* es más común en climas fríos y *M. globosa* en climas cálidos con localización tropical (2).

En individuos sanos, las especies de *Malassezia* varían de acuerdo a la región corporal. Del tronco se ha aislado *M. sympodialis*, *M. furfur* y *M. slooffiae*, en el cuero cabelludo además de las especies mencionadas también se ha aislado *M. restricta* (2, 3), en conducto auditivo externo *M. restricta*, *M. globosa* y *M. sympodialis*, evidenciándose una alta diversidad de especies en individuos sanos (4). La prevalencia de las especies de *Malassezia* también parece estar relacionada con la edad. Se ha señalado que *M. furfur* y *M. globosa* son especies frecuentemente aisladas en niños y adolescentes, mientras que *M. sympodialis* es la más común en adultos sanos (2).

Las especies de *Malassezia*, a excepción de *M. pachydermatis*, son lípido-dependiente por lo cual requieren de ácidos grasos de cadenas largas para el crecimiento. La presencia de determinados tipos de ácidos grasos libres y triglicéridos en la piel del hombre promueve el desarrollo de *Malassezia* (5). La utilización de esos lípidos hace que la presencia de estas levaduras sea mayor en aquellas zonas con abundancia de glándulas sebáceas como espalda, pecho y cuero cabelludo. La dependencia de *Malassezia* a una fuente externa de ácidos grasos se atribuye a la incapacidad de sintetizar ácidos grasos saturados entre 12 y 14 átomos de carbono de longitud como el ácido mirístico. Estos ácidos grasos son indispensables para la formación de estructuras morfológicas de estas levaduras (6).

En niños desnutridos la carencia de ácidos grasos en la piel ocasiona una piel seca, escamosa, delgada e inelástica semejante a la piel de los ancianos, por lo cual es importante realizar estudios que permitan establecer la prevalencia de las especies de *Malassezia* en la piel de niños desnutridos.

El propósito de este trabajo fue la caracterización morfológica y fisiológica de las especies de *Malassezia* aisladas en la piel sana de niños desnutridos y eutróficos,

asistentes a hogares de cuidado diario de dos parroquias de la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio analítico, transversal, no experimental, en el cual se seleccionaron, de acuerdo a criterios de inclusión clínicos y antropométricos, 88 niños de ambos sexos y condiciones socioeconómicas comparables, pertenecientes a familias de bajos ingresos (estrato IV y V) según método de Graffar modificado. Dichos niños asistían a diferentes hogares de cuidado diario, centros de atención integral en nutrición, salud, cuidado y socialización para hijos de madres trabajadoras, financiado por el Gobierno Regional.

Población

Estuvo conformada por 88 niños, 56 del sexo masculino y 32 del femenino, sin lesiones en la piel, con edades comprendidas entre 1 a 6 años, de los multihogares de la parroquias Antonio Borjas Romero y Venancio Pulgar de la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, a quienes se les realizó una evaluación antropométrica, la cual permitió diagnosticar a 48 niños desnutridos y 40 eutróficos.

Evaluación antropométrica

Se llevó a cabo utilizando las variables edad, sexo, talla y peso, las cuales al ser relacionadas entre sí permitieron obtener los indicadores corporales tradicionales: peso para la talla (P/T) y talla para la edad (T/E). Para la estimación del déficit nutricional se analizaron los resultados de talla por edad (desnutrición crónica) y peso por talla (desnutrición aguda) expresadas por Score Z (<-2 para niños desnutridos y >-2 para los eutróficos) (7). Se realizó la evaluación clínica con el objetivo de excluir aquellos que pudieran presentar lesiones de

piel. Previo consentimiento de los padres y de la Coordinación de los hogares de cuidado diario, bajo los lineamientos establecidos en el tratado de Vancouver, se procedió a la obtención de las muestras.

Recolección y procesamiento de las muestras

Las muestras de la piel de los niños, se tomaron de cuero cabelludo, pabellón auricular, pecho y espalda. Se utilizó el método de la impronta con cinta plástica transparente. De cada región anatómica se obtuvieron dos muestras, una se extendió sobre una lámina portaobjeto con unas gotas de azul de metileno al 0,25% y se observó al microscopio con la finalidad de apreciar las estructuras morfológicas características de *Malassezia* (blastoconidias, de forma y tamaño variable).

Para el cultivo, las muestras se colocaron en placas de petri con el medio Dixon Agar con cloranfenicol e incubaron a 32°C por 14 días. Las colonias compatibles con *Malassezia* spp se subcultivaron en Dixon Agar con cloranfenicol para identificar las diferentes especies.

Identificación de los aislados

Se realizó siguiendo la metodología para la identificación de especies descritas por Gueho y col. (8), el test de difusión en tween propuesto por Guillot y col. (9) y la prueba de la catalasa.

El estudio macro y micro morfológico se realizó con base en la consistencia, aspecto, color de las colonias y la forma y tamaño de las blastoconidias.

Para el test de difusión en tween, se utilizó una placa de petri con el medio Sabouraud Dextrosa Agar previamente licuado en el cual se colocó una suspensión de la colonia a identificar. Luego que se solidificó se hicieron orificios de 3 mm, con un sacabocado y se colocó con la ayuda de una micropipeta automática, 5 μ L de los tween

20, 40, 60 y 80. Se incubó en estufa a 32°C por 7 días. Se leyó como positiva la formación de un halo de opacidad alrededor de los diferentes tween. La prueba de la catalasa se realizó mediante la técnica tradicional.

Análisis estadístico

Los resultados se presentaron como frecuencias absolutas y relativas. Para identificar las diferencias estadísticas en las variables estudiadas se practicaron el análisis porcentual y la prueba del Chi cuadrado. Se tomó el 95% como índice de confiabilidad estadística ($p < 0,05$).

RESULTADOS

De un total de 88 niños estudiados, 58 (65,9%) fueron positivos a *Malassezia*. De los 48 niños desnutridos, 32 fueron positivos con un 66,6% y de los 40 eutróficos, 26, con un 65,0%.

La Tabla I muestra la distribución de la colonización del sitio anatómico de acuerdo a la condición nutricional. Tanto en los desnutridos como en los eutróficos predominaron dos o más sitios de colonización, con un 65,6% y 77%, respectivamente.

La Tabla II presenta la distribución de los aislados de las especies de *Malassezia* según los grupos estudiados. *M. furfur* presentó un predominio tanto en los desnutridos (77,0%) como en los eutróficos (65,0%), mientras que *M. slooffiae* se presentó en un mayor porcentaje (16,7%) en los eutróficos que en los desnutridos (5,4%). Solo se observó un aislado de *M. globosa*, en los eutróficos.

La Tabla III muestra la distribución de los aislados de *Malassezia* según el sexo y la condición nutricional. *M. furfur* predominó en el sexo masculino en los desnutridos (49,0%) y en el femenino en los eutróficos (21,8%). *M. slooffiae* también se observó con mayor frecuencia en el sexo masculino

TABLA I
 COLONIZACIÓN DE *Malassezia* EN PIEL SANA DE NIÑOS DESNUTRIDOS Y EUTRÓFICOS DE LOS MULTIHOGARES DE CUIDADO DIARIO DE LAS PARROQUIAS ANTONIO BORJAS ROMERO Y VENANCIO PULGAR DE LA CIUDAD DE MARACAIBO, VENEZUELA

Condición nutricional	Cantidad de sitios anatómicos colonizados								Total	
	Uno		Dos		Tres		Todos		n	(%)
Desnutridos	11	(34,74)	8	(25,0)	5	(15,6)	8	(25,0)	32	(55,2)
Eutróficos	6	(23,0)	8	(30,8)	8	(39,8)	4	(15,4)	26	(44,8)
Total	17	(29,3)	16	(27,6)	13	(22,4)	12	(20,7)	58	(100)

p = 0,224. El análisis porcentual corresponde a los totales expresados en la última columna.

TABLA II
 AISLADOS DE ESPECIES DE *Malassezia* EN PIEL SANA DE NIÑOS DESNUTRIDOS Y EUTRÓFICOS DE LOS MULTIHOGARES DE CUIDADO DIARIO DE LAS PARROQUIAS ANTONIO BORJAS ROMERO Y VENANCIO PULGAR DE LA CIUDAD DE MARACAIBO, VENEZUELA

Aislados de especies de <i>Malassezia</i>	Condición nutricional				Total	
	Desnutridos		Eutróficos		n	%
	n	%	n	%		
<i>M. furfur</i> *	57	77,0	39	65,0	96	71,6
<i>M. slooffiae</i>	4	,4	10	16,7	14	10,4
<i>M. globosa</i>	-	-	1	6,0	1	0,8
<i>Malassezia</i> sp	13	17,6	10	16,7	23	17,2
Total	74	100	60	100	134	100

*p = 0,01. El análisis porcentual corresponde a los totales expresados en la última fila.

TABLA III
 DISTRIBUCIÓN SEGN SEXO Y CONDICIÓN NUTRICIONAL DE LOS AISLADOS DE *Malassezia* EN PIEL SANA DE NIÑOS DE LOS MULTIHOGARES DE CUIDADO DIARIO DE LAS PARROQUIAS ANTONIO BORJAS ROMERO Y VENANCIO PULGAR DE LA CIUDAD DE MARACAIBO, VENEZUELA

Sexo	Condición nutricional	Especies de <i>Malassezia</i>								Total	
		<i>M. furfur</i>		<i>M. slooffiae</i>		<i>M. globosa</i>		<i>M. sp</i>		n	%
		n	%	n	%	n	%	n	%		
Masculino	D*	47	49,0	2	14,3	-	-	9	39,1	58	43,3
	E	18	18,8	7	50,0	-	-	4	17,4	29	21,7
Femenino	D*	10	10,4	2	14,3	-	-	4	17,4	16	11,9
	E**	21	21,8	3	21,4	1	100	6	26,1	31	23,1
Total		96	100	14	100	1	100	23	100	134	100

D: Desnutrido. E: Eutrófico. * p= 0,014. ** p=0,048. El análisis porcentual corresponde a los totales expresados en la última fila.

en los desnutridos (14,3%) y en el femenino en los eutróficos (21,4%). El único aislado de *M. globosa* se presentó en una niña eutrófica.

La Tabla IV presenta los aislados de las especies de *Malassezia* distribuidos según la condición nutricional y la localización anatómica de la colonización. En los desnutridos *M. furfur* se aisló en todas las localizaciones en un porcentaje mayor que en los eutróficos. *M. slooffiae* predominó (12,5%) en la espalda, en los eutróficos.

DISCUSIÓN

En esta investigación se estudiaron 48 niños desnutridos y 40 eutróficos, de los cuales 32 (66,6%) y 26 (65,0%) respectivamente, fueron positivos para *Malassezia*, coincidiendo con los resultados obtenidos por Bergbrant y Broberg (10) quienes reportan un alto porcentaje de *Malassezia* (87%) en la piel de niños sanos y difieren de

Gupta y col. (2) quienes señalan un 36,3% de positividad en individuos entre 0 a 14 años de edad, con una cantidad de aislamiento baja al compararla con otros grupos de edad. En esta investigación no hubo diferencia significativa entre la presencia o ausencia de *Malassezia* entre desnutridos y eutróficos; sin embargo, 58 (65,9%) de los niños estaban colonizados. La malnutrición proteica energética, es causa de inmunodeficiencia en los niños desnutridos, lo cual conlleva a una alta prevalencia de infecciones bacterianas, parasitarias y micóticas (11).

Al evaluar la prevalencia de *Malassezia* en los niños, se observó que *M. furfur* fue la especie con mayor número de aislamientos (71,6%), predominando en los niños desnutridos, seguida de *M. slooffiae* (10,4%); en el 17,2% de los casos no se logró identificar la especie. Estos resultados son similares a los reportados en otras investigaciones (2, 12-14), donde *M. furfur* fue la especie más

TABLA IV
DISTRIBUCIÓN SEGÚN LOCALIZACIÓN ANATÓMICA Y CONDICIÓN NUTRICIONAL DE LOS AISLADOS DE *Malassezia* EN PIEL SANA DE NIÑOS DE LOS MULTIHOOGARES DE CUIDADO DIARIO DE LAS PARROQUIAS BORJAS ROMERO Y VENANCIO PULGAR DE LA CIUDAD DE MARACAIBO, VENEZUELA

Especies de <i>Malassezia</i>	Condición nutricional	Localización anatómica								Total	
		CC		PA		PE		ESP		n	%
		n	%	n	%	n	%	n	%		
<i>M. furfur</i> *	D	13	50,0	14	45,2	13	35,2	17	42,5	57	42,5
	E	7	27,0	11	35,4	11	29,7	10	25,0	39	29,1
<i>M. slooffiae</i>	D	-	-	3	9,7	-	-	1	2,50	4	3,0
	E	2	7,7	-	-	3	8,1	5	12,5	10	7,66
<i>M. globosa</i>	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E	1	3,8	-	-	-	-	-	-	1	0,7
<i>M. sp</i>	D	2	7,7	3	9,7	5	13,5	3	7,5	13	9,7
	E	1	3,8	-	-	5	13,5	4	10,7	10	7,5
Total		26	100	31	100	37	100	40	100	134	100

CC: Cuero cabelludo. PA: Pabellón auricular. PE: Pecho. ESP: Espalda. D: Desnutridos. E: Eutróficos.

* p < 0,01. El análisis porcentual corresponde a los totales expresados en la última fila.

frecuente. Sin embargo difieren de los obtenidos por Hernández y col. (4), en México, donde *M. restricta* fue la más frecuente (47,6%), seguida de *M. globosa* (23,8%) en piel sana; Crespo y col. (3), en España aislaron a *M. sympodialis* con un 91,7% y *M. restricta* con un 63,9%. Se ha señalado que los factores climatológicos podrían tener un papel importante en la especie de *Malassezia* presente en la piel sana; en este sentido, se ha observado que *M. sympodialis* es más frecuente en climas subtropicales mientras que *M. furfur* y *M. globosa* en climas tropicales (2).

Al relacionar la prevalencia de las especies de *Malassezia* según el sexo de la población estudiada, se observó que *M. furfur* predominó significativamente en el sexo masculino ($p = 0,014$) en los desnutridos y en el sexo femenino en los eutróficos ($p = 0,048$). Resultados similares en relación al sexo masculino y femenino han sido reportados (13). En contraste, otro estudio (12) observó que no existía diferencia significativa entre el sexo masculino y el femenino, en la colonización de la piel sana por especies del género *Malassezia*.

En la distribución de las especies de *Malassezia* aisladas de las diferentes áreas del cuerpo no hubo diferencia significativa. Sin embargo, se observó un leve predominio de *M. furfur* en espalda. Resultados que coinciden con los reportados por Gupta y col. (2), quienes señalan a la espalda como el sitio anatómico más frecuente para *M. furfur* y *M. globosa*. La presencia de las diferentes especies de *Malassezia* parece estar influenciada por cambios estacionales, en este sentido la mayoría de los aislamientos aparecen en épocas cálidas y húmedas (15). Se ha reportado a *M. globosa* como agente predominante en pitiriasis versicolor en zonas de clima templado (16). En la superficie de la piel existen una amplia gama de sustancias liposolubles, las cuales se eliminan por el sudor y las elevadas temperatu-

ras y la humedad incrementan el material sebáceo excretado, aproximadamente 3 veces más de la cantidad normal (12, 17), lo cual hace que la colonización de estas levaduras sea mayor. El clima cálido y húmedo en la región zuliana, además de la ausencia de sistemas de climatización en las habitaciones donde se encontraban los niños estudiados, podría haber influido en la colonización por *Malassezia*.

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran un predominio de *M. furfur* en la piel sana de los niños desnutridos y eutróficos evaluados. El análisis discriminante confirmó que la única variable relacionada con el estado nutricional es la especie de *Malassezia* aislada. Es necesario continuar realizando investigaciones en piel sana y enferma de otros grupos de individuos que permitan establecer cuales son las especies de *Malassezia* predominantes en un clima tropical como el de Venezuela y evaluar el potencial patógeno de las mismas.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de La Universidad del Zulia (CONDES) por el soporte financiero de la investigación.

REFERENCIAS

1. Juncosa T, González A, Aleyeto J, Muñoz C, Moreno J, Gené A, Latorre C. Colonización cutánea neonatal por *Malassezia* spp. Ann Ped 2002; 57:452-456.
2. Gupta A, Kohli Y. Prevalence of *Malassezia* species on various sites in clinically healthy subjects representing different age groups. Med Mycol 2004; 42:35-42.
3. Crespo V, Ojeda A, Vera A, Crespo A, Sánchez F. Aislamiento e identificación de *Malassezia* spp. en pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica y piel sana. Rev Iberoam Micol 1999; 16:S16-S21.

4. **Hernández F, Méndez L, Bazán E, Arévalo A, Valera A, López R.** Especies de *Malassezia* asociadas a diversas dermatosis y a piel sana en población mexicana. *Rev Iberoam Micol* 2003; 20:141-144.
5. **Hernández-Molina JM.** Revisión bibliográfica sobre *Malassezia* y su importancia en las infecciones sistémicas. *Rev Iberoam Micol* 1993; 10:24-28
6. **Carrillo MA, Brio SS.** Género *Malassezia*. Estado de su situación como patógeno. *Actual Dermatol* 2004; 40:321-329.
7. **Balzan A, Gatella M, Cotti M.** Aplicación de dos métodos diagnósticos para evaluar el estado nutricional de una población infantil: Enfoque epidemiológico y enfoque de punto de corte. *Rev Chil Pediatr* 2005; 76:485-493.
8. **Guèho E, Midgley G, Guillot J.** The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie van Leeuwenhoek* 1996; 69:337-355.
9. **Guilliot J, Guèho E, Lisourd M, Midgly G, Dupont B.** Identification of *Malassezia* species: a practical approach. *J Mycol Med* 1996; 6:103-110.
10. **Bergbrant IM, Broberg A.** *Pityrosporum ovale* culture from the forehead of healthy children. *Acta Derm Venerol* 1994; 74: 260-261.
11. **Estado mundial de la infancia 1998** Tema: Nutrición. UNICEF. (En línea] <http://w.w.w.unicef.org/spanish/sowc98sp/> (Consulta 19 de Noviembre de 2005)
12. **Tarazooie B, Kordbacheh P, Zaini F, Zomorodian K, Saadat F, Zeraati H, Hallaji Z, Rezaie S.** Study of the distribution of *Malassezia* species in patients with pityriasis versicolor and healthy individual in Teherán, Iran. *BMC Dermatol* 2004; 1:4-5.
13. **Rodríguez-Valero S.** *Pityrosporum orbiculare* y *ovale*. Prevalencia en piel sana de niños y ancianos de comunidad educativa y asilo en el Estado Zulia. *Kasmera* 1990; 18: 71-87.
14. **Rodríguez-Valero S, Mesa L, González-Morán E, Del Monte ML, Robertiz S, Valero A.** Caracterización fenotípica de especies de *Malassezia* en piel sana de población estudiantil universitaria. *Invest Clin* 2005; 46:329-335.
15. **Acosta M, Garvett M, Cazorla D.** Prevalencia de Pitiriasis Versicolor en escolares de Sabaneta, Municipio Mara, Edo. Falcón-Venezuela. Libro Resúmenes de las XXVII Jornadas Nacionales de Microbiología. Capítulo Trujillo. Trujillo, Venezuela Noviembre 2001.
16. **Crespo-Erechiga V, Dlegad V.** *Malassezia* species in skin diseases. *Curr Opin Infect Dis* 2006; 15:133-144.
17. **Fitzpatrick T, Einsen A, Wolf K, Freedberg Austen K.** *Dermatología en medicina general*. 4º Ed. Editorial Médica Panamericana Buenos Aires, Argentina 1997. p 269.