

## Caracterización de especies de *Malassezia* en piel sana de estudiantes de secundaria

### *Characterization of Malassezia Species on the Healthy Skin of High School Students*

**Priscila Fernández C.<sup>2\*</sup>, Evelyn González de Morán<sup>1</sup>, María Lucía Delmonte V<sup>1</sup>., Sandra Robertiz Ch.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Micología,

<sup>2</sup>Cátedra de Micología, Escuela de Bioanálisis.  
Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

\*fer\_priscila@hotmail.com

#### **Resumen**

El género *Malassezia* comprende un grupo de levaduras lipofílicas que forman parte de la microbiota de la piel del hombre y otros vertebrados. Sin embargo se han relacionado con varias entidades dermatológicas. En esta investigación se planteó como objetivo caracterizar las especies de *Malassezia* aisladas en piel sana de estudiantes del Liceo Baralt de la Ciudad de Maracaibo- Edo. Zulia. Las muestras fueron tomadas, mediante el método de la impronta con cinta adhesiva transparente, de cuero cabelludo, pabellón auricular, pecho y espalda e inoculadas en el medio Dixon Agar modificado e incubadas a 32°C por 14 días. La identificación de las especies se realizó siguiendo las claves descritas por Gueho y Cols. y el test de difusión en tween propuesto por Guillot y Cols, la prueba de la catalasa y la utilización de triptófano como única fuente de carbono. De un total de 100 estudiantes evaluados 81(81%) fueron positivos a *Malassezia*, se obtuvo 184 aislamientos, 100 (54,30%) para el sexo masculino y 84 (45,6%) para el femenino. Los resultados muestran una alta prevalencia de *Malassezia furfur* (54,3%) seguida de *Malassezia sympodialis* (45,1%) y *Malassezia globosa* (0,50%). Las localizaciones anatómicas con mayor número de aislamientos fueron espalda (33%) y pecho (30,2%).

**Palabras claves:** *Malassezia*, levaduras lipofílicas, flora normal, aislamiento e identificación.

## Abstract

The genus *Malassezia* includes a group of lipophilic yeasts that form part of the microbiota of the skin of humans and other vertebrates. Nevertheless, they have been related to several dermatological entities. This research proposed to characterize the morfo-physiological *Malassezia* species isolated on the healthy skin of students at the Baralt High School in the city of Maracaibo, State of Zulia. Samples were taken using the imprint method with adhesive transparent tape on the scalp, pinna, chest and back, inoculated into a modified Dixon Agar medium and incubated at 32°C for 14 days. Identification of the species was carried out following the keys described by Gueho and Cols, the diffusion in tween test proposed by Guillot and collaborators, the catalase test and the utilization of triptophan as the only source of carbon. Out of a total of 100 evaluated students, 81 (81%) were positive for *Malassezia* and 184 isolations were obtained; 100 (54.30%) were of the masculine sex and 81 (45.6%) were females. The results show a high prevalence of *Malassezia furfur* (54.3%) followed by *Malassezia sympodialis* (45.1%) and finally, *Malassezia globosa* (0.50%). Anatomical locations with the greatest number of isolations were the back (33%) and chest (30.2%).

**Keywords:** *Malassezia*, lipophilic yeasts, normal flora, isolation and identification.

## Introducción

Las levaduras del género *Malassezia* son consideradas como parte de la microbiota normal de la piel humana y de otros mamíferos, pertenecen al orden *Malasseziales*, clase *Ustilaginomycetes*, *phylumbasidiomicotas* (1, 2, 3). Presentan características morfológicas, moleculares y fisiológicas diferentes de otros géneros. Las Blastoconidias pueden ser globosas a subglobosa, ovals y cilíndricas, dependiendo de la especie, se reproducen por brotación unipolar dejando una prominente y característica cicatriz en la célula madre.

La forma levaduriforme fue asociada a piel normal y la micelial a procesos patológicos. Sin embargo se ha señalado que no todos los aislamientos de *Malassezia* son capaces de producir esta transformación y ambas formas tienen la misma capacidad patogénica (1).

En la última década la taxonomía del género *Malassezia* ha sufrido una profunda reestructuración gracias a la aparición de nuevas técnicas moleculares, al principio solo se conocían 3 especies, *Malassezia furfur* Robin Malassez, Baillon 1889, *Malassezia pachydermatis* Weid Mondolgel 1935 y *Malas-*

*sezia sympodialis* Simmons y Gueho (1990), luego basándose en características morfológicas, inmunológicas, fisiológicas, ultraestructurales y moleculares en 1996, Gueho y colaboradores descubrieron otras especies de *Malassezia*, *globosa*, *obtusa*, *slooffiae*, *stricta*, *japonica*, *dermatis*, *equi* y *nana*.

Todas las especies dependen de la presencia de lípidos para su crecimiento excepto *M. pachydermatis*. Necesitan ácidos grasos de cadena media y larga como fuente de carbono por lo que son llamados levaduras lipofílicas (2). Son incapaces de fermentar azúcares, no requieren vitaminas, oligoelementos o electrolitos, utiliza metionina como fuente de azufre, cistina o cisteína, muchos aminoácidos principalmente el triptófano y sales de amonio, pueden crecer en condiciones de aerobiosis microaerofilia y anaerobiosis (4).

Debido a su carácter lipofílico la mayoría se encuentran como comensales en áreas del cuerpo ricas en glándulas sebáceas, bajo la influencia de ciertos factores exógenos y endógenos pueden volverse patógenos. Entre los endógenos están la predisposición genética, piel seborreica, hiperhidrosis, infecciones crónicas, desnutrición y estados de inmuno-

supresión. Como factores exógenos se ha mencionado el calor, exposición solar, humedad ambiental excesiva actividades deportivas, uso de ropa con alto contenido de fibras sintéticas, aplicación de aceites y bronceadores así como uso de corticoides tópicos y sintéticos. (1, 5, 6).

Las afecciones dermatológicas relacionadas con *Malassezia* son: pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica (incluyendo caspa), foliculitis, dermatitis atópica, acné vulgaris, psoriasis, dacriocistitis, blefaritis seborreica, pustulosis neonatal, papilomatosis confluyente y reticulada, otitis e infecciones oportunistas sistémicas (1).

La colonización cutánea por *Malassezias* pp. se observa en personas sanas asintomáticas, en la zona de la piel con gran densidad de glándulas sebáceas como espalda, pecho y cuero cabelludo.

Se ha señalado que al principio, los recién nacidos sanos a término no son portadores de *Malassezia* spp. Comienzan a colonizarse durante las primeras semanas de vida, alcanzando niveles del 30% al cabo de un mes. En niños menores de diez años esta colonización es baja, y no se observa diferencia significativa entre el sexo masculino y femenino, ni con respecto a las distintas zonas anatómicas, pero durante la edad pre pubertad y pubertad, debido al aumento de la actividad de las glándulas sebáceas, la colonización es mayor (80 al 90%), (10). Investigaciones realizadas han señalado una frecuencia del 11,8% en menores de 15 años y una prevalencia del 11% en lactantes Se ha sugerido un descenso en la colonización por estas levaduras a medida que se incrementa la edad (8, 9).

En la etapa de la adolescencia se observa con frecuencia que el área mayormente colonizada por especies del género *Malassezia* es la espalda y el pecho debido a un mal hábito de limpieza en estas zonas, y por un aumento

en la producción de las glándulas sebáceas, (3, 9). Así mismo en ancianos se observa que esta colonización disminuye un 50%, debido a que histológicamente en la piel de los ancianos hay una disminución del grosor de la epidermis, degeneración de las fibras elásticas y disminución de las concentraciones del colágeno, atrofia de las glándulas sudoríparas y sebáceas (10), factor responsable en la disminución de la colonización de la piel de los ancianos por especies de *Malassezia* (8).

Por todo lo antes expuesto esta investigación se propone caracterizar las especies de *Malassezia* aisladas en piel sana de estudiantes de Maracaibo y relacionarla con la distribución anatómica y el sexo.

## Materiales y metodos

### Población

Se estudió un total de 100 estudiantes de secundaria sanos sin lesiones de piel en edades comprendidas entre 17 y 21 de edad de Maracaibo; Edo. Zulia Venezuela.

### Recolección y procesamiento de la muestra

Las muestras de los estudiantes se tomaron de cuero cabelludo, pabellón auricular, pecho y espalda, mediante el método de la impronta con cinta adhesiva transparente, colocándose firmemente un trozo de cinta adhesiva en cada una de las áreas anatómicas seleccionadas. De cada una de estas regiones anatómicas se obtuvieron dos muestras. Se realizó un examen directo con azul de metileno 0,25% y se observó al microscopio con objetivo de 40x, con la finalidad de visualizar las estructuras características (blastoconidias, de forma y tamaño variable) de *Malassezia*.

El cultivo de las muestras se efectuó colocando la cinta con la impronta en las placas de petri con el medio Dixon Agar con cloranfenicol y se incuban a 32 °C por 14 días. Las placas que no presentaron crecimiento característico de *Malassezia* se reportaron como negativas a los 14 días de incubación. Las colonias compatibles con *Malassezia spp.* se subcultivaron en Dixon Agar sin cloranfenicol para su identificación.

### Identificación de las cepas

Se realizó siguiendo los parámetros de identificación de especies descritas por Gueho y Cols., el test de difusión en tween propuesto por Guillot y Cols. (11), la prueba de catalasa, Hidrólisis de la esculina, y la utilización de triptófano como única fuente de nitrógeno (12, 13).

El estudio macro- y micro morfológico se llevó a cabo tomando en cuenta la consistencia, aspecto, color de las colonias y la forma y tamaño de las blastoconidias. Para el examen microscópico se realizó un montaje de las colonias con azul de metileno al 0,25%, que permitió la coloración de las estructuras de reproducción (blastoconidias).

Para la realización del test de difusión de tween, se utilizó una placa de petri con el medio Sabouraud Dextrosa Agar previamente licuado en el cual se colocó una suspensión de agua destilada estéril, de la colonia a identificar, una vez solidificado el medio, se hicieron cuatro orificios de 3 mm, con un sacabocado, y se colocó con ayuda de un gotero una gota (equivalente a 5  $\mu$ l) de los tween 20, 40, 60 y 80, se incubaron a 32°C por 7 días, se leyó como positiva la formación de un halo de opacidad alrededor de los diferentes tween.

El test de la catalasa se realizó colocando una gota de peróxido de hidrógeno de 10 vol, en

una lámina portaobjeto, añadiendo una asada de la cepa a investigar, se interpretó como positiva la formación de burbujas de aire.

Las cepas en estudio compatibles con *Malassezia furfur* y *Malassezia sympodialis* se inocularon en medios de bilis esculina y Dixon con triptófano, incubándose a 32°C por 24 horas y 7 días respectivamente, luego de este lapso de tiempo se identificaron como *Malassezia furfur* las cepas que produjeron pigmento oscuro en el reverso del medio con triptófano. *Malassezia sympodialis* se identificó cuando las cepas no oscurecían el medio con triptófano.

### Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos en la presente investigación fueron analizados a través del programa estadístico SPSS versión 17, en donde se aplicó un análisis de tablas de frecuencias absolutas. En la identificación de las diferencias estadísticas de las variables estudiadas se realizaron tablas de contingencia y se efectuaron las Pruebas de Chi cuadrado y el análisis de corrección de Spearman y de Pearson. Se tomó el 99.99% como índice de confiabilidad estadístico ( $p < 0,0001$ ).

### Resultados

La investigación realizada a una población de 100 estudiantes, 81 (81%) de ellos fueron significativamente positivos para *Malassezia*, mientras que 19 (19%) resultaron negativos.

La Tabla 1 presenta la distribución de los aislados de las especies de *Malassezia* según el sexo de la población estudiada. Tanto *Malassezia sympodialis* (27.9%) como *Malassezia furfur* (26.6%) presentaron un predominio en el sexo masculino, observándose un

**Tabla 1.** Distribución según el sexo de los aislados de *Malassezia* en la piel sana de estudiantes de secundaria.

Especies de <i>Malassezia</i>	Femenino		Masculino		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>M. furfur</i>	51	27.7	49	26.6	100	54.3
<i>M. sympodialis</i>	33	17.9	50	27.9	83	45.6
<i>M. globosa</i>	-	-	1	0.5	1	0.5
Total	84	45.6	100	54.5	184	100

**Tabla 1.** Distribución según sexo y localización anatómica de los aislados de especies de *Malassezia* en piel sana de estudiantes de secundaria

Especies de <i>Malassezia</i>	Sexo	Localización Anatómica								Total	
		cc	%	pa	%	pe	%	esp	%	Nº	%
<i>M. furfur</i>	M	7	3.8	10	5.4	12	6.5	20	10.8	49	26.6
	F	6	3.2	8	4.3	20	10.8	7	3.8	51	27.7
<i>M. sympodialis</i>	M	11	5.9	11	5.9	16	8.69	12	6.5	50	27.1
	F	4	2.1	10	5.4	7	3.8	12	6.5	33	17.9
<i>M. globosa</i>	M	-	-	-	-	1	0.5	-	-	1	0.5
	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total		28	15	39	21	56	30.2	51	33	184	100

CC: Cuero cabelludo. PA: Pabellón. PE: pecho. ESP: Espalda. M: Masculino. F: Femenino.

solo aislado de *Malassezia globosa* (0,50%). En el femenino *M. furfur* (27.7%) obtuvo un mayor número de aislamiento que *M. sympodialis* (17.9%) no encontrándose *M. globosa*.

La Tabla 2 muestra la distribución de los aislados de las especies de *Malassezia* según el sexo y la localización anatómica. En el sexo masculino la especie con mayor número de aislamiento fue *M. sympodialis* (27,1%) y la colonización anatómica más frecuente fue espalda (10,8%). En el femenino *M. furfur* (27,7%) y pecho (10,8%). El único aislado de *M. globosa* se obtuvo en el sexo masculino, en pecho. (0,5%).

## Discusión

*Malassezia* forma parte de la flora normal en la piel humana, género que ha sido un tema de gran confusión y controversia (14), el cual ha adquirido en la actualidad gran importancia dentro de los patógenos emergentes debido a las recurrentes infecciones sistémicas causadas por estos hongos (1).

A partir de la descripción de las diferentes especies de *Malassezia* identificadas por técnicas morfológicas, fisiológicas y moleculares, se han realizado estudios en individuos

sanos, donde las especies varían de acuerdo a la localización anatómica, la edad, y ubicación geográfica en la cual habitan los individuos estudiados (8,15).

En esta investigación se estudiaron 100 estudiantes del Liceo Baralt, observándose 81 (81%) casos positivos para *Malassezia spp.* y 19 (19%) negativos. Este significativo número de aislamiento podría deberse al hecho de que en la edad puberal se observa un aumento de la actividad de las glándulas sebáceas con mayor producción de sebo, situación aprovechada por estas levaduras lipofílicas para su desarrollo (16, 17). Cabe destacar que en países tropicales como Venezuela las condiciones climáticas (alta humedad relativa, altas temperaturas) e inclusive la herencia varían con respecto a los países europeos y asiáticos donde se ha observado una baja frecuencia en el aislamiento de *Malassezia* en piel sana y enferma hecho que podría estar influenciado por los factores antes mencionados (3).

Al relacionar el número de aislamientos de *Malassezia* y el sexo de la población bajo estudio, se observó un predominio no significativo en el masculino, *M. sympodialis* (27,9%), *M. furfur* (26,6%), obteniéndose un solo aislado de *Malassezia globosa* (0,50%). En el sexo femenino *M. furfur* (27,7%) y *M. sympodialis* (17,9%), no encontrándose presente *M. globosa*. La especie con mayor número de aislamiento fue *M. furfur* (54,3%) seguida por *M. sympodialis* (45,1%) y *M. globosa* (0,50%), resultados similares fueron reportados por Rincón y Cols en Colombia donde *M. furfur* y *M. sympodialis* fueron las especies más frecuentes. Sin embargo difieren de los presenta-

dos por Crespo y Cols, en España donde *M. sympodialis* fue la más frecuente (18). Se ha señalado que factores climatológicos podría tener un papel importante en las especies 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 *globosa* en climas tropicales (9).

En la distribución de las especies de *Malassezia* aisladas de las diferentes áreas del cuerpo, no hubo diferencias significativas. Se observó un leve predominio en espalda (33%) y pecho (30,2%). *M. furfur* (54,3%) fue la especie más frecuente seguida de *M. sympodialis* (45%), resultados que coinciden con los reportados en otras investigaciones (3, 9, 19, 20), que señalan el tronco como el sitio anatómico más frecuente y *M. furfur* como la especie con mayor número de aislamientos. En la piel hay una gran cantidad de sustancias liposolubles, las cuales se eliminan por el sudor, debido a que las elevadas temperaturas y la humedad incrementan el material sebáceo excretado, aproximadamente 3 veces más de la cantidad normal (21), lo cual hace que la colonización de estas levaduras sea mayor.

Los resultados obtenidos indican una estrecha relación entre la excreción de grasa y colonización de especies *M. furfur*, *M. sympodialis* en las diferentes zonas del cuerpo, en la población estudiantil evaluada.

Es importante continuar las investigaciones en piel sana y enferma de otros grupos etáreos, en diferentes regiones del país ya que permitirán determinar cuáles son las especies de *Malassezia* predominante y el potencial patógeno de las mismas.

## Referencias bibliográficas

- (1) Gisiano G. *Malassezia*. Estado del conocimiento y perspectivas en su estudio. *RevArgentiMicribiol* 2006; 1:41-48.
- (2) 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. *Revista Iberoamericana de Micología* 2003; 20: 141-144.
- (3) Rodríguez S., Mesa L., González E., Delmonte M., Robertiz S., Valero A. Caracterización fenotípica de especies de *Malassezia* en piel sana de población estudiantil universitaria. *Investigaciones Clínicas* 2005; (46). 4: 329-335.
- (4) Ruth Ashbee H., Glyn V., Evans E. Inmunología de enfermedades asociadas con especies de *Malassezia*. *Clinical Microbiology Reviews* 2002; 1: 21-57.
- (5) Padilla Desgarenes, M. Pitiriasis Versicolor. *Dermatología RevMex* 2005; 49:157-67
- (6) Carrillo M, Brio S. Género de *Malassezia*. Estado de su situación como patógeno. *Actual Dermatol* 2004; 40: 321-329.
- (7) Juncosa T., González A., Aleyeto J., Muñoz C., Moreno J., Gene A., Latorre C. Colonización cutánea neonatal por *Malassezia spp.* *Medicina y Neonatología* 2002; (57) 5: 452-456.
- (8) Coronado E., Fernández P., González J., Rivas S. Caracterización morfológica y fisiológica de especies del género *Malassezia* aislada en piel sana de ancianos de la casa hogar San José de la Montaña. 2007. 18-22.
- (9) Gupta A., Kohli Y. Prevalence of *Malassezia* species on various body sites in clinically healthy subjects representing age groups *Medical Mycology* 2004; 42: 35-42.
- (10) Rodríguez de V., 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. (4): 71-87.
- (11) Guillot J., Gueho E., Lessourd M., Midgley G., Ghévriér G., Dupont B. Identificación de *Malassezia* spp. *J Micro Med* 1996; 6:103-110.
- (12) Aspiroz C., Moreno L. A., Rezusta A., Rubio C. Differentiation of three biotypes of *Malassezia* species on human normal skin. Correspondence with *M. globosa*, *M. sympodialis* and *M. restricta*. *Mycopathologia* 1999; 145: 69-74.
- (13) Shams M., Razzaghi A. Rapid identification of *Malassezia furfur* from other *Malassezia* species: a major causative agent of Pityriasis versicolor. *IJMS* 2004; 29: 36-39.
- (14) Rendic E., Díaz C. Caracterización de especies del género *Malassezia* en pacientes con dermatitis seborreica y en controles. *RevMed Chile* 2003; 131: 1295-1300.
- (15) Celis A., Cepedo de García M. Polimorfismos genéticos de aislamientos del género *Malassezia* obtenidos en Colombia de pacientes con lesión dermatológica y sin ellas. *Rev científica de America Latina y el Caribe, España y Portugal* 2005; 25: 481-487.
- (16) Acosta M., Cazorla D. Aspectos clínicos-epidemiológicos de la pitiriasis versicolor (PV) en una comunidad pesquera de la región semiárida del Estado Falcón, Venezuela. *RevIberoamMicol* 2004; 21: 191-194.
- (17) Isa R., Cruz A.1, Arenas R., Duarte Y. Linares C. y Bogaert H. Pitiriasis versicolor en lactantes. Estudio de 92 casos. *Rev IberoamMicol* 2001; 18:109-112
- (18) Guillot J., Gueho E. The diversity of *Malassezia* yeast confirmed by RNA sequence and nuclear DNA comparisons.

- Antonie VanLeeuwenhoeck 1995; 67: 173-176.
- (19) Ochoa de Quinzada M. Estudio de las especies de *Malassezia*, relacionadas con la patología cutánea, Pitiriasis Versicolor en Panama. Editorial de la Universidad de Granada 2006. 49-51.
- (20) Carvalho Miranda K., Rodrigues de Araujo C., Soares A., Lemos J., Hasmoto e Souza L., do Rosário Rodrigues Silva M. Identification of *Malassezia* species in patients with pitiriasis versicolor in Goiânia-GO. Rev. Soc. Bras. Med Trop 2006;(39):6 198-203.
- (21) 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.