



Aislamiento e identificación de *Malassezia* spp en pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica y piel sana

Vicente Crespo Erchiga, Antonio Ojeda Martos, Ángel Vera Casaño, Antonio Crespo Erchiga y Francisco Sánchez Fajardo

Servicio de Dermatología, Complejo Hospitalario Carlos Haya, Málaga, España

Resumen

La taxonomía del género *Malassezia* ha sido recientemente revisada, y comprende en la actualidad siete especies. El papel de las nuevas especies en la etiología de diversas enfermedades cutáneas y sistémicas permanece oscuro y apenas hay publicaciones al respecto. El objetivo de nuestro estudio fue establecer la prevalencia de las distintas especies en las lesiones de pitiriasis versicolor y dermatitis seborreica y en la piel sana de zonas seborreicas.

Se han estudiado 75 pacientes con pitiriasis versicolor, 75 con dermatitis seborreica y 150 muestras de piel sana (75 de región frontal y 75 de región escapular). Se llevó a cabo examen directo en KOH en las muestras de los dos primeros grupos y cultivo en medio de Dixon modificado en todos ellos, incubándose las placas a 31°C. Las colonias se identificaron en base a criterios macro y micromorfológicos con ayuda de tests fisiológicos, según el esquema propuesto por Guillot *et al.* [8].

En la PV se aisló *Malassezia globosa* en el 84% de los casos, sola o asociada a *Malassezia sympodialis* (39%) o *Malassezia slooffiae* (6%) y *Malassezia restricta* (3%). En la dermatitis seborreica, con frecuencia se encuentran dos o tres especies a la vez. Por orden de frecuencia, encontramos: *M. restricta* (63,9%), *M. globosa* (54,5%), *M. sympodialis* (34,6%), *M. slooffiae* (4%) y *Malassezia furfur* (1,3%). Fueron positivas un 40% de las muestras de piel sana, aislándose *M. sympodialis* (91,7%), *M. slooffiae* (3,3%) y *M. globosa* (5%), ésta última solo en la región frontal.

Del análisis de estos datos y las escasas referencias de otros autores, parece deducirse que *M. sympodialis* y *M. slooffiae* forman parte de la flora normal cutánea. *M. globosa*, en su fase micelial, parece ser el agente etiológico de la pitiriasis versicolor. En la dermatitis seborreica, el significado de la presencia de las distintas especies permanece inexplicado.

Malassezia, Pitiriasis, Dermatitis seborreica

Isolation and identification of *Malassezia* spp. in pityriasis versicolor, seborrheic dermatitis and healthy skin

Summary

The taxonomy of the genus *Malassezia* has been recently revised and enlarged to include seven distinct species. The aim of the study was to analyse the prevalence of these species in the cutaneous lesions of pityriasis versicolor and dermatitis seborrheica, as well as in the normal skin.

Seventy-five patients with pityriasis versicolor, 75 of dermatitis seborrheica, and 150 samples of normal skin (75 from the forehead and 75 from the shoulders) were studied. A direct microscopy with KOH+Parker ink was carried out in the pityriasis versicolor and dermatitis seborrheica samples. All the samples were inoculated in plates containing modified Dixon medium and incubated at 31 °C. The yeasts isolated were identified by its morphological and physiological characteristics, upon the scheme published by Guillot *et al.* [8].

Dirección para correspondencia:

Dr. Vicente Crespo Erchiga
C/ Especerías, 7
29005 Málaga, España
Tel. y fax: +34 952 214 776

In pityriasis versicolor, *Malassezia globosa* was found in 84% of cases, alone or associated with *Malassezia sympodialis*, which was by far the commonest species in normal skin (91.7% of isolates, predominating in the trunk skin). In dermatitis seborrhoica, *Malassezia restricta* was the commonest species (63.9%), often associated with *M. globosa* and/or *Malassezia sympodialis*. *M. globosa* was also very common in this disease (54.4%), where *Malassezia slooffiae* and *Malassezia furfur* could be detected in less than 5% of the samples.

These results support that *M. globosa*, in its mycelial phase, plays a predominant role in the aetiology of pityriasis versicolor. In dermatitis seborrhoica, the significance of the presence of different species, mainly *M. restricta* and *M. globosa* in its yeast phase, remains unclear. Further studies are needed to establish appropriately the pathogenicity of the lipophilic skin mycoflora.

Key words *Malassezia*, Pityriasis, Seborrhoic dermatitis

Han pasado más de 150 años desde que Eichstedt, por vez primera, comunicara el hallazgo de elementos levaduriformes y filamentos en las escamas de la pitiriasis versicolor. Pese a ello y hasta fecha muy reciente el estudio de estas levaduras, que se incluyeron en el género *Malassezia* desde que este fue creado por Baillon en 1889, se ha visto rodeado de una gran confusión y suscitado una considerable controversia, tanto por lo que respecta a su posición taxonómica como a su capacidad patógena.

Las razones de ello radican por una parte en su notable variabilidad morfológica, reconocida ya incluso por los primeros investigadores, y por otra en sus peculiares exigencias fisiológicas, que retardaron grandemente su aislamiento en cultivo. Además en el plano patogénico, a su primitiva implicación en la pitiriasis versicolor se sumó su hallazgo en una variedad de procesos morbosos, tanto superficiales (dermatitis seborreica, foliculitis...) como sistémicos (peritonitis, sepsis vehiculadas por catéteres iv), así como en la piel sana del hombre y de otros vertebrados superiores.

Durante muchos años se ha venido utilizando el binomio *Malassezia furfur* para designar la fase micelial de las levaduras lipófilas encontradas en la piel humana, en tanto se reservaban los términos *Pityrosporum ovale* y *Pityrosporum orbiculare* para los dos tipos morfológicos de la fase de levadura. La primera de ellas, caracterizada por células ovales, se asociaba a la dermatitis seborreica en sus distintas facetas clínicas (pitiriasis, eczematide, etc...), mientras la segunda se implicaba en la pitiriasis versicolor. Una especie distinta no lipododependiente, descrita ya en 1935 y llamada *M. pachydermatis* (= *Pityrosporum pachydermatis*), pudo aislarse tanto en piel sana como en ciertas formas de dermatitis y otitis externa en carnívoros domésticos y en otros mamíferos [1].

La aplicación de técnicas de biología molecular permitió la identificación de una nueva especie, *Malassezia sympodialis*, en 1990 [2] y estudios ulteriores, tanto a nivel molecular como fisiológico y morfológico [3,4], han llevado recientemente a la descripción de otras cuatro especies: *Malassezia globosa*, *Malassezia restricta*, *Malassezia obtusa* y *Malassezia slooffiae* [5].

El papel patógeno de estas nuevas especies sigue sujeto a controversia y existen contadas publicaciones al

respecto [6,7]. El objetivo de nuestro trabajo ha sido el aislamiento e identificación de las levaduras lipófilas presentes en las lesiones de la pitiriasis versicolor y de la dermatitis seborreica, así como en la piel sana de regiones seborreicas, tanto de los pacientes de pitiriasis y dermatitis como de individuos controles sanos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado un total de 75 enfermos de pitiriasis versicolor, 33 varones y 37 mujeres, con edades comprendidas entre los 14 y los 65 años, y 75 pacientes con dermatitis seborreica de localización facial (cuero cabelludo y cara), todos adultos con edades comprendidas entre los 15 y los 75 años. Las muestras destinadas a cultivo se obtuvieron por raspado de las lesiones, y mediante papel adhesivo transparente las destinadas a examen directo.

Además, estudiamos dos grupos de control, constituidos cada uno de ellos por 75 muestras de piel sana de individuos adultos, el primero de la región escapular, y el segundo de la región frontal. El primer grupo estaba formado por 23 enfermos de pitiriasis versicolor, 27 de dermatitis seborreica y 25 controles sin patología dermatológica. En el segundo, 20 eran pacientes de pitiriasis versicolor, 20 de dermatitis y 35 controles sanos. Las muestras se obtuvieron en todos ellos por frotamiento mediante hisopo estéril y se destinaron a cultivo.

El examen directo de las muestras de pitiriasis versicolor y dermatitis seborreica, obtenidas mediante papel adhesivo transparente, se realizó con la técnica habitual de KOH+tinta Parker. Las muestras destinadas a cultivo se inocularon en placas con medio de Dixon modificado, que se incubaron seguidamente en estufa a 31°C.

Las colonias obtenidas se identificaron siguiendo el esquema propuesto por Guillot *et al.* [8]: estudio de la morfología macro y microscópica, test de catalasa y tests de asimilación de Tween 20, 40, 60 y 80. A esta batería se añadió posteriormente el Cremophor EL, que había mostrado su utilidad en la diferenciación de cepas dudosas de *M. furfur* y *M. sympodialis* [9]. Sin embargo creemos que es posible llegar a distinguir bien, tras un periodo de entrenamiento, *M. globosa*, *M. sympodialis* y *M. restricta* solo en base a su morfología macro y microscópica, completada en la última de estas especies por la negatividad del test

de catalasa. Por ello, una vez alcanzada la suficiente experiencia reservamos la práctica de los tests de asimilación sólo a los cultivos dudosos (Figuras 1, 2 y 3).

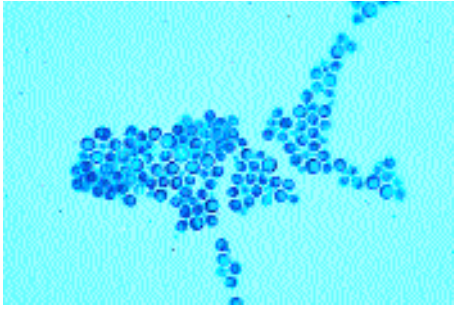


Figura 1. *M. globosa*. Azul algodón-lactofenol. X1000.

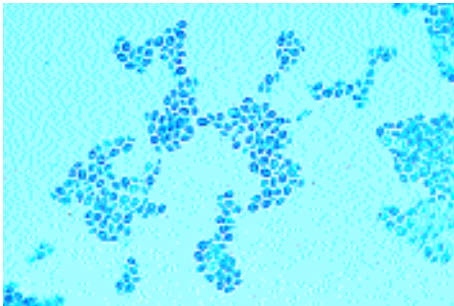


Figura 2. *M. sympodialis*. Azul algodón-lactofenol. X1000.

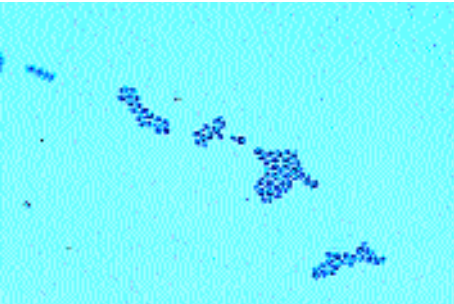


Figura 3. *M. restricta*. Azul algodón-lactofenol. X1000.

RESULTADOS

1. *Pitiriasis versicolor*. El examen directo en KOH mostró en todos los casos, menos en uno, la imagen típica constituida exclusivamente por blastosporos globosos y pseudomicelio (Figura 4). En un caso, correspondiente a una localización facial, se observaron junto a los elementos globosos formas ovaladas.

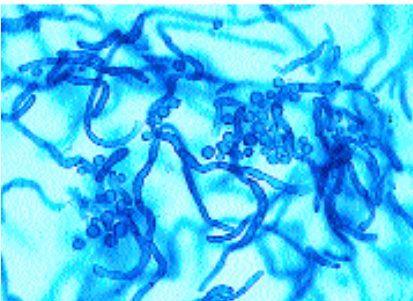


Figura 4. Examen Directo de PV. Imagen típica: blastosporos globosos y pseudomicelio. KOH+Tinta Parker X1000.

En cultivo, se aisló una sola especie en 51 de los 75 casos: *M. globosa* (n=39; 52%), *M. sympodialis* (n=10; 13,3%) y *M. restricta* (n=2; 2,7%), y dos especies en los restantes 24 casos: *M. globosa* con *M. sympodialis* en 19 (25,3 %); y *M. globosa* con *M. slooffiae* en cinco (6,7%) (Figura 5).

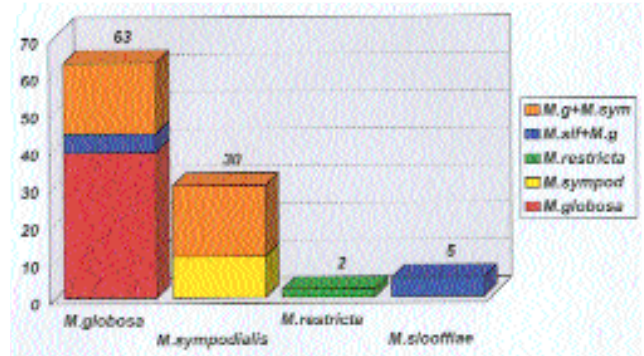


Figura 5. Pitiriasis versicolor (n=75).

Dicho de otro modo, la especie predominante fue *M. globosa*, que se aisló sola o asociada a otras especies en el 84% de los casos, seguida por *M. sympodialis* que se encontró, sola o asociada, en el 38,6% de los casos (Figuras 6 y 7).

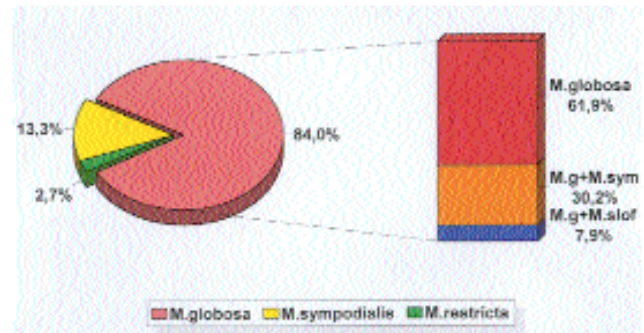


Figura 6. Pitiriasis versicolor (n=75). *M. globosa* (sola o asociada): 84%.



Figura 7. Cultivo de PV: colonias de *M. globosa*. Arriba, una colonia de *M. sympodialis*. Dixon modificado.

2. *Dermatitis seborreica*. El examen directo mostró siempre la presencia de un número variable de blastosporos de morfología desigual: formas globosas junto a formas ovaladas de diferente tamaño (Figura 8).

En cultivo, aislamos una única especie de *Malassezia* en 36 de los 75 pacientes, dos especies en 35 y

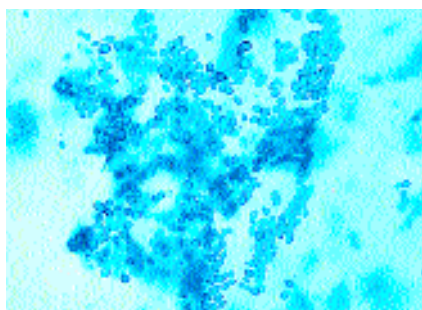


Figura 8. Examen Directo de DS: blastosporos de forma variable. KOH+Tinta Parker X1000.

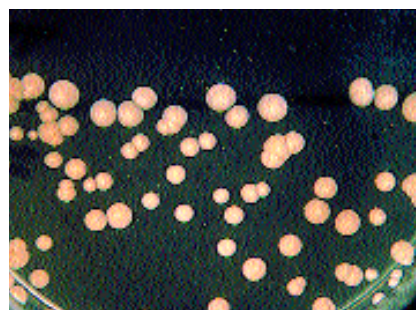


Figura 11. Cultivo de piel sana (tronco): abundantes colonias de *M. sympodialis*. Dixon modificado.

hasta tres especies distintas en cuatro casos. Las especies predominantes fueron *M. restricta* y *M. globosa*. (Figura 9). La primera se encontró en 48 pacientes (63,9%): sola en 16, asociada a *M. sympodialis* en 12, a *M. globosa* en 16 y a ambas en cuatro casos (Figura 10).

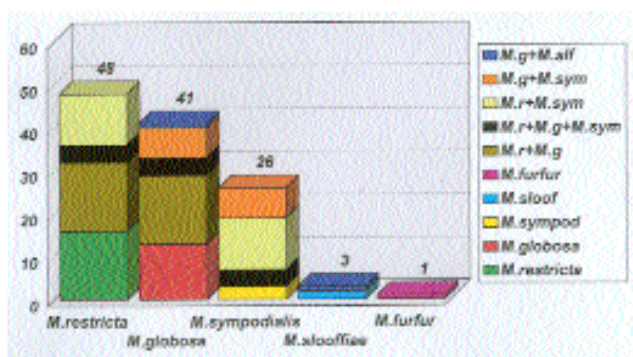


Figura 9. Dermatitis seborreica (N=75).

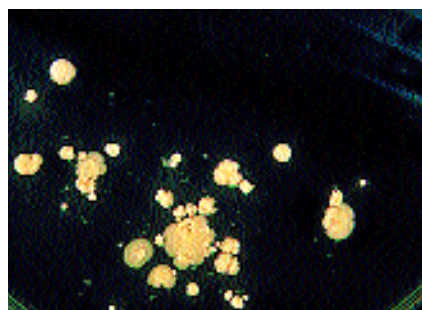


Figura 10. Cultivo de DS: colonias de *M. globosa*, *M. restricta* y *M. sympodialis*. Dixon modificado.

M. globosa se aisló en 41 ocasiones (54,5%): 13 sola, 16 con *M. restricta*, siete con *M. sympodialis*, una con *M. slooffiae* y cuatro con *M. restricta* y *M. sympodialis*.

M. sympodialis se aisló 26 veces (34,6%), de las cuales tres sola, 12 asociada a *M. restricta*, siete asociada a *M. globosa* y cuatro veces con ambas.

M. slooffiae fue aislada en tres ocasiones (4%), asociándose a *M. globosa* en una de ellas, y *M. furfur* se encontró tan solo en un caso (1,3%).

3. *Muestras de piel sana*. Fueron positivas el 69,4% de las 75 muestras estudiadas procedentes de la piel sana del tronco (zona escapular), donde encontramos solo dos especies, *M. sympodialis* y *M. slooffiae*. *M. sympodialis* predominaba ampliamente (96%), y a menudo se aislaba en gran abundancia (Figuras 11 y 12).

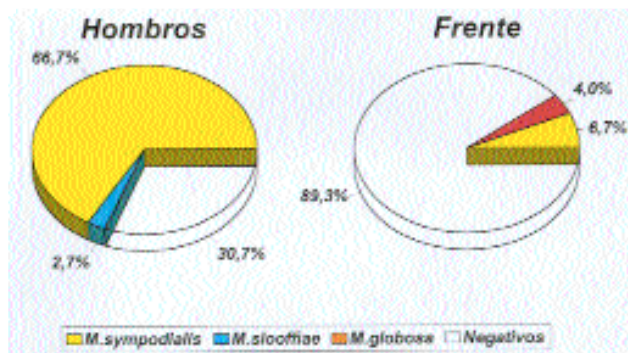


Figura 12. Piel sana (N=150).

En esta localización, en los cultivos de las muestras de piel clínicamente sana de los pacientes con pitiriasis versicolor (n=23), aislamos *M. sympodialis* en ocho casos y *M. slooffiae* en uno, siendo las restantes 14 muestras negativas. En el grupo formado por enfermos de dermatitis seborreica (n=27), se encontró también *M. sympodialis* en 21 casos, y *M. slooffiae* en uno, siendo negativas cinco de las muestras. Por último en los controles sanos (n=25), aislamos solo *M. sympodialis* en 21 casos, siendo los cuatro restantes negativos.

En las muestras de piel sana de la región frontal, al contrario de lo observado en la zona escapular, la mayoría (89,3%) fueron negativas, incluyendo todas las del grupo de enfermos de pitiriasis versicolor (n=20). Aislamos *M. sympodialis* en tres pacientes de dermatitis seborreica (n=20) y en dos del grupo control (n=35), y *M. globosa* en tan solo en tres casos de este último grupo.

DISCUSIÓN

Dado que la identificación definitiva de la mayoría de los miembros del género *Malassezia* se estableció solo en fecha muy reciente, apenas se han publicado datos concernientes a la distribución de las nuevas especies, al menos tal como ahora son conocidas, tanto en la piel sana como en las distintas patologías con las que, en mayor o menor medida, y bajo distintas denominaciones, se han visto asociadas.

Con anterioridad, varios autores habían publicado datos discordantes sobre la densidad de la población de levaduras designadas como *P. orbiculare*, *P. ovale* o *M. furfur*, tanto en las lesiones de pitiriasis versicolor como en la dermatitis seborreica, la pitiriasis capitis y la piel sana. Así, en esta última, Leeming *et al.* [10] ya habían mostrado que la densidad de población de *M. furfur* era más elevada en las áreas cutáneas de mayor riqueza en glándulas sebáceas.

Bergbrant y Faegermann [11] no hallaron diferencias cuantitativas entre la población de *M. furfur* en las lesiones de dermatitis seborreica y en la piel sana, aunque McGinley *et al.* [12] habían referido previamente una mayor densidad de *M. furfur* en las lesiones de pitiriasis capitis, comparada con la piel normal. Heng *et al.* [13] encontraron que la densidad de *M. furfur* no solo era significativamente mayor en las lesiones de dermatitis seborreica que en la piel sana, sino que el número de levaduras estaba relacionado con la severidad del cuadro clínico y que, tras tratamiento antifúngico apropiado, la disminución del número de *M. furfur* corría paralelo con la mejoría de la enfermedad. McGinley *et al.* [14] habían encontrado también que, en las lesiones de pitiriasis versicolor, el número de levaduras y pseudomicelio era muy superior al observado en la piel sana de los mismos pacientes.

Sólo a partir de la diferenciación de tres serovariedades por Cunningham *et al.*, en 1990, [15], podemos encontrar datos más precisos, ya que la serovariedad A de estos autores corresponde a lo que ahora conocemos como *M. sympodialis*, la serovariedad B a *M. globosa* y la serovariedad C a *M. restricta*. Ashbee *et al.* [16] publican en 1993 un estudio sobre 10 pacientes de pitiriasis versicolor, 10 de dermatitis seborreica y 10 controles sanos, midiendo la densidad de población de cada una de las tres serovariedades en distintas localizaciones (pecho, espalda, frente, mejillas). Encuentran que, como ya había observado Cunningham, la serovariedad A (*M. sympodialis*) es la especie predominante a nivel del tronco en todos los grupos, pero no ven diferencias significativas en la distribución de las tres variedades en el frente o mejillas. Hacen notar, sin embargo, que la densidad de población de la serovariedad C (*M. restricta*) es diez veces mayor en las lesiones de dermatitis seborreica que en la piel sana. Los autores tampoco hallan diferencias significativas, ni en la población total de *M. furfur sensu lato*, ni en la distribución de las tres serovariedades conocidas entonces en la piel lesional de los sujetos afectados de pitiriasis versicolor y de dermatitis seborreica, comparada con la piel sana de estos mismos pacientes o de los controles.

En la revisión recientemente publicada por Guého *et al.* [6] se resumen los conocimientos actuales a cerca de la ecología de las nuevas especies. *M. globosa* se ha encontrado regularmente, tanto en las lesiones de pitiriasis versicolor como en la dermatitis seborreica, mientras que *M. restricta* se ha aislado, casi siempre asociada a otras especies, en la piel de la cara y del cuero cabelludo en sujetos sanos. *M. sympodialis* parece ser la especie más común, tanto en piel sana como enferma, mientras que *M. slooffiae*, primeramente aislada en animales, se encuentra solo de forma ocasional en la piel humana. Por último, *M. obtusa* se aísla en la piel humana solo de manera excepcional, al igual que *M. pachydermatis*, que está adaptada al parasitismo de animales domésticos, aunque se la ha implicado en algunas infecciones sistémicas en humanos [17]. En fin, *M. furfur sensu stricto* parece ser, paradójicamente, una especie muy poco común, tanto en la piel sana como en las distintas patologías clásicamente relacionadas con ella.

Estos datos coinciden ampliamente con los derivados de nuestro estudio, donde encontramos que la especie predominante en las lesiones de pitiriasis versicolor es *M. globosa*, que se aísla casi en el 85% de los casos y cuya morfología microscópica corresponde fielmente a las células globosas que observamos siempre, y de manera casi exclusiva, en los exámenes directos con KOH, aunque en cultivo no detectamos la formación de pseudomicelio. *M. globosa* se encontró como única especie de

Malassezia en las lesiones de pitiriasis versicolor en la mitad de las ocasiones (52 %). La asociación más habitual de esta especie fue con *M. sympodialis*, y en mucha menor medida con *M. slooffiae*.

M. sympodialis es la segunda especie en frecuencia en la pitiriasis versicolor, ya que aparece junto a *M. globosa* en una cuarta parte de los casos, y sola en una décima parte de los mismos. Teniendo en cuenta que esta especie es la predominante en la piel sana del tronco, tanto en los sujetos enfermos como en los controles, y que es en el tronco donde se localizan la casi totalidad de las lesiones estudiadas, no es extraño que se aisle con frecuencia notable. Por otra parte, como ya han observado varios autores, *M. sympodialis* es nutricionalmente menos selectiva que otras especies, como *M. globosa* o *M. restricta*, y crece más y con mayor rapidez que ellas. Comprobamos que también muestra un mejor índice de conservación (en caldo Dixon a 31°C). En fin, *M. restricta*, cuya presencia en la piel del tórax parece ser escasa, al contrario de lo que ocurre en la cara o en el cuero cabelludo, se aisló tan solo en dos ocasiones en las lesiones de pitiriasis versicolor.

En cambio en los pacientes de dermatitis seborreica, *M. restricta* aparece como la especie más frecuente, aunque en este proceso los cultivos reflejan en gran medida la diversidad que ya se patentaba en los exámenes directos. *M. restricta* se aisló en 48 de los 75 casos estudiados, siendo la única especie en 16. Hay que indicar que el reducido tamaño y el pobre crecimiento de sus colonias hacen que puedan pasar fácilmente desapercibidas o queden ocultas por especies vecinas de desarrollo más vivo, como *M. globosa* y, sobre todo, *M. sympodialis* y *M. slooffiae*. Por otra parte, *M. globosa* figura también en lugar destacado en las lesiones de dermatitis seborreica, ocupando el segundo puesto en frecuencia tras *M. restricta*, con un total de 41 aislamientos.

Por el contrario, en las muestras de piel sana del tronco no encontramos nunca *M. globosa*, ni en los pacientes de pitiriasis versicolor, ni en los de dermatitis seborreica, ni en los controles sanos, y solo la aislamos en 3 ocasiones de la piel clínicamente sana de la región frontal. Como se ha visto, de las 75 muestras obtenidas de esta localización solo encontramos ocho positivas (10%), aislando *M. sympodialis* en cinco de ellas y *M. globosa* en las restantes.

En cambio, hallamos colonias de *Malassezia*, a menudo en gran número, en el 62,5% de las muestras de piel sana de región escapular, donde *M. sympodialis* representa el 94,7% de los aislamientos (frente a sólo el 5,3% de *M. slooffiae*), lo que confirma a *M. sympodialis* como la especie predominante en la piel sana, al menos en la región del tronco.

CONCLUSIÓN

Nuestros resultados sugieren que *M. globosa* juega un papel etiológico importante, si no exclusivo, en la pitiriasis versicolor. En apoyo de esta tesis destacamos su constante presencia en los exámenes directos, donde puede identificarse gracias su morfología típica, y su aislamiento en cultivo en el 84% de los casos. La presencia concomitante de otras especies, como *M. sympodialis* o *M. slooffiae*, queda explicada por el hecho de encontrarlas como miembros de la flora cutánea de la piel sana, tanto en los pacientes de pitiriasis versicolor como en los de dermatitis seborreica y en los controles. Además, en nuestro estudio, *M. globosa* no fue aislada en ninguna ocasión en la piel sana del tronco, localización selectiva de las

lesiones de la pitiriasis versicolor, y sólo lo fue excepcionalmente en la de la región frontal.

En la dermatitis seborreica, por otra parte, aunque tanto los exámenes microscópicos como los cultivos muestran la presencia habitual de varias especies distintas, *M. globosa* aparece también con una frecuencia notable, sugiriendo que esta levadura posee una capacidad patógena superior a sus vecinas del género *Malassezia*, al menos a nivel de la superficie cutánea.

Agradecemos vivamente a Mrs. Gillian Midgley del Department of Medical Mycology del St John's Hospital, y a Mme. Éveline Guého de la Unité de Mycologie del Institut Pasteur, su desinteresada información e inapreciables consejos.

Bibliografía

- Guillot J, Chermette R, Guého E. Prévalence du genre *Malassezia* chez les Mammifères. *J Myco .Med* 1994; 4: 72-79.
- Simmons RB, Guého E. A new species of *Malassezia*. *Mycol Res* 1990; 94: 1146-1149.
- Guého E. Réévaluation du genre *Malassezia* à l'aide de la microscopie électronique et des comparaisons génomiques. *Bull Soc Fr Mycol Med* 1988; 17: 245-254.
- Guillot J, Guého E, Prévost MC. Ultrastructural features of the dimorphic yeast *Malassezia furfur*. *J Mycol Med* 1995b; 5: 86-91.
- Guého E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie van Leeuwenhoek* 1996; 69: 337-355.
- Guého E, Boeckhout T, Ashbee HR, Guillot J, Van Belkum A, Faergemann J. The role of *Malassezia* species in the ecology of human skin and as pathogens. *Med Mycol* 1998; 36 (Suppl 1): 220-229.
- Midgley G, Guého E, Guillot J. *Malassezia* species. In: Hay RJ and Ajello L (Eds.) *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. (Vol 4) *Superficial keratinophilic fungi*. London, Arnold Publ, 1997 (Part IV): 201-211.
- Guillot J, Guého E, Lesourd M, Midgley G, Chévrier G, Dupont B. Identification of *Malassezia* species. A practical approach. *J Mycol Med* 1996; 6: 103-110.
- Mayer P, Haze P, Papavassilis C, Pickel M, Gruender K, Guého E. Differentiation of *Malassezia* species: selectivity of Cremophor EL, castor oil and ricinoleic acid for *M. furfur*. *Br J Dermatol* 1997; 137: 208-213.
- Leeming JP, Notman FH, Holland KT. The distribution and ecology of *Malassezia furfur* and cutaneous bacteria on human skin. *J Appl Bacteriol* 1989; 67: 47-52.
- Bergbrant IM, Faergemann J. Seborrhoeic dermatitis and *Pityrosporum ovale*: a cultural and immunological study. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1989; 69: 332-335.
- McGinley KJ, Leyden JJ, Marples RR, Kligman AM. Quantitative microbiology of the scalp in non-dandruff, dandruff and seborrhoeic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1975; 64: 401-405.
- Heng MCY, Hemderson CL, Barker DC, Haberferlde G. Correlation of *Pityrosporum ovale* density with clinical severity of seborrhoeic dermatitis assessed by a simplified technique. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23: 82-86.
- McGinley KJ, Lantis LR, Marples RR. Microbiology of tinea versicolor. *Arch Dermatol* 1970; 102: 168-171.
- Cunningham AC, Leeming JP, Ingham E, Gowland G. Differentiation of three serovars of *Malassezia furfur*. *J Appl Bacteriol* 1990; 68: 439-446.
- Ashbee HR, Ingham E, Holland KT, Cunliffe WJ. The carriage of *Malassezia furfur* serovars A, B and C in patients with pityriasis versicolor, seborrhoeic dermatitis and controls. *Br J Dermatol* 1993; 129: 533-540.
- Chang HJ, Miller HL, Watkins N, et al. An epidemic of *Malassezia pachydermatis* in an intensive care nursery associated with colonization of health care workers' pet dogs. *N Eng J Med* 1998; 338: 706-711.