



Especies de *Malassezia* asociadas a diversas dermatosis y a piel sana en población mexicana

Francisca Hernández Hernández¹, Luis Javier Méndez Tovar², Elva Bazán Mora¹, Alfredo Arévalo López³, Adriana Valera Bermejo¹ y Rubén López Martínez¹

¹Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM; ²Unidad de Investigación Médica en Dermatología y Micología, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y ³Servicio de Dermatología y Micología Médica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

Resumen

Hasta ahora se han descrito ocho especies de *Malassezia*, cuya distribución corporal en piel sana y en diversas dermatosis es variable. El objetivo del presente trabajo fue determinar la frecuencia y distribución de especies de *Malassezia* en pacientes con psoriasis, dermatitis seborreica y pitiriasis versicolor atendidos en un hospital de la ciudad de México, además de un grupo de individuos sanos. Las escamas de piel enferma y sana fueron sembradas en agar Dixon modificado y la identificación de especies fue realizada por morfología macroscópica y microscópica, pruebas de catalasa y ureasa, crecimiento a 32, 37 y 40 °C, así como asimilación de Tween 20, 40, 60 y 80. Los cultivos de 63 personas fueron incluidos en el estudio: 46 pacientes (20 con psoriasis, 15 con dermatitis seborreica, 11 con pitiriasis versicolor) y 17 individuos sanos (conducto auditivo externo). Se obtuvo un total de 96 aislamientos. Las especies aisladas con mayor frecuencia fueron: *M. sympodialis* (38,2%) y *M. furfur* (26,5%) en psoriasis; *M. sympodialis* (38,5%) y *M. slooffiae* (34,6%) en dermatitis seborreica; *M. globosa* (46,7%) y *M. sympodialis* (26,7%) en pitiriasis versicolor; *M. restricta* (47,6%) y *M. globosa* (23,8%) en individuos sanos. El número de aislamientos, la variedad y la asociación de especies, fue mayor en el grupo de pacientes que en el grupo de individuos sanos.

Palabras clave

Malassezia, Psoriasis, Pitiriasis versicolor, Dermatitis seborreica

Species of *Malassezia* associated with various dermatoses and healthy skin in the mexican population

Summary

At the present, eight *Malassezia* species have been described and their distribution in normal skin and in several skin diseases appears variable. The aim of the present study was to determine the frequency and distribution of *Malassezia* species in patients with psoriasis, seborrhoeic dermatitis and pityriasis versicolor attended in a Hospital from Mexico City, in addition to a healthy individual group. Scales of abnormal and healthy skin were grown in modified Dixon agar and the species identification was performed by macroscopic and microscopic features; by catalase and urease reaction; growth at 32, 37 and 40 °C; and Tween 20, 40, 60 and 80 assimilation. The cultures from 63 persons were included: forty six patients (20 psoriasis, 15 seborrhoeic dermatitis, 11 pityriasis versicolor) and 17 healthy individuals (external auditory canal). A total of 96 isolates were obtained. The more frequently isolated species were: *M. sympodialis* (38.2%) and *M. furfur* (26.5%) in psoriasis; *M. sympodialis* (38.5%) and *M. slooffiae* (34.6%) in seborrhoeic dermatitis; *M. globosa* (46.7%) and *M. sympodialis* (26.7%) in pityriasis versicolor; and *M. restricta* (47.6%) and *M. globosa* (23.8%) in normal skin. The number of isolates, the species diversity and association were higher in the patients group than in the healthy individuals group.

Key words

Malassezia, Psoriasis, Pityriasis versicolor, Seborrhoeic dermatitis

Dirección para correspondencia:

Dra. Francisca Hernández Hernández
Laboratorio de Micología Médica
Departamento de Microbiología y Parasitología
Facultad de Medicina, UNAM, Ciudad Universitaria
C.P. 04510, México, D. F.-México
E-mail: micoher@hotmail.com
Tel.: + 52 (55) 5623 2458
Fax: + 52 (55) 5623 2459

Aceptado para publicación el 10 de octubre de 2003

Las levaduras del género *Malassezia* son consideradas como parte de la microbiota normal de la piel humana y de otros animales de sangre caliente. La mayoría de especies requiere de ácidos grasos de cadena media y larga como fuente de carbono, por lo que son llamadas levaduras lipofílicas. El crecimiento colonial es lento y los aislamientos son de difícil conservación. Cuando son crecidas en agar Dixon modificado, las colonias generalmente son blancas o amarillentas, de superficie lisa o rugosa, de bordes continuos o lobulados, de aspecto cremoso brillante o mate; la consistencia es suave y miden de 3 a 5 mm de diámetro. Microscópicamente las levaduras son globosas, ovoides o cilíndricas, de pared gruesa, constituida por varias capas; los blastoconidios, de base ancha, se forman por un mecanismo simpodial, dejando una cicatriz en el sitio polar de gemación de la célula madre [1].

Hasta 1995 se reconocían tres especies de *Malassezia*: *Malassezia furfur* (Robin) Baillon 1889, *Malassezia pachydermatis* (Weidman) Dodge 1935 y *Malassezia sympodialis* Simmons y Guého 1990 [2]. En 1996, Guého et al. [1] describieron cuatro nuevas especies: *Malassezia globosa*, *Malassezia obtusa*, *Malassezia restricta* y *Malassezia slooffiae*, basándose en las características morfológicas, fisiológicas, ultraestructurales y moleculares. En 2002, una octava especie, *M. dermatis*, fue descrita por Sugita et al. [3] por secuenciación del ARNr.

Las especies de *Malassezia* han sido relacionadas con dos grupos de enfermedades: como agente causal en pitiriasis versicolor, foliculitis y fungemia, y como factor asociado a dermatitis seborreica, psoriasis, dermatitis atópica, papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot y Cartaud, onicomiosis, pustulosis neonatal y otitis externa maligna [4-9].

Tradicionalmente se consideraba que estas patologías estaban causadas únicamente por *Pityrosporum ovale* o *Pityrosporum orbiculare* [10]. Una vez que estas levaduras se establecieron como sinónimo de *M. furfur*, esas patologías fueron atribuidas sólo a esta especie [11]. Los cambios taxonómicos de años recientes obligan a reclasificar a los agentes etiológicos o asociados a las dermatosis previamente mencionadas.

El objetivo de este trabajo fue conocer la frecuencia de especies de *Malassezia* aisladas de tres enfermedades cutáneas y del conducto auditivo externo de personas sanas mediante procedimientos morfológicos y fisiológicos.

Material y métodos

El material de estudio fueron los cultivos de *Malassezia* spp. obtenidos a partir de escamas de piel de pacientes atendidos en el Servicio de Dermatología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional (IMSS) de la Ciudad de México, con diagnóstico de psoriasis (extremidades superiores y tronco), dermatitis seborreica (área centofacial) y pitiriasis versicolor (tórax anterior y posterior); como grupo testigo se incluyó un grupo de personas sanas. Estos cultivos fueron obtenidos a partir de escamas tomadas de las áreas de piel afectada en el caso de los pacientes y del conducto auditivo externo en el grupo testigo. De los pacientes, las escamas fueron desprendidas con la ayuda de un bisturí con el filo mellado al fuego; las escamas fueron depositadas en una caja de Petri estéril para su posterior estudio. En el caso de las personas sanas, las escamas se obtuvieron con la ayuda de una pequeña espátula estéril, presionando moderadamente y deslizándola sobre el borde del conducto auditivo externo.

Los aislamientos primarios se obtuvieron en agar Dixon modificado (extracto de malta 3.6%; peptona 0.6%, bilis deshidratada de buey 2.0%; Tween 40 1.0%; glicerol 0.2%; ácido oleico 0.2%; agar 1.2 %; pH 6.0), incubados a 32 °C por siete días. Por examen directo de las colonias levaduriformes se confirmó el género. Por dilución y resiembra en estría abierta se detectó diversidad en la morfología de colonias y en este caso fueron resemebradas por separado. La identificación de especies se llevó a cabo mediante estudios de morfología macroscópica y microscópica, además de las pruebas fisiológicas de acuerdo a los criterios de Guého et al. [1] y Guillot et al. [12]. La morfología macroscópica fue determinada inoculando una placa de agar Dixon modificado con 10 µl de una suspensión de levaduras a una concentración de 10⁵ células/ml, e incubada a 32 °C por siete días. La morfología microscópica de levaduras teñidas con Gram fue determinada a partir de cultivos de tres días en caldo Dixon, a 32 °C. Para las pruebas fisiológicas se utilizaron cultivos de tres días en agar Dixon modificado, e incluyeron: reacción de catalasa, prueba de ureasa en Agar Christensen a 37 °C (con *Cryptococcus neoformans* y *Candida albicans* como control positivo y negativo respectivamente), crecimiento en agar Sabouraud a 32 °C y en agar Dixon a 32, 37 y 40 °C. La prueba de asimilación de los diferentes Tween consistió en mezclar 2 ml de la suspensión de levaduras (10⁵ células/ml) con 16 ml de agar Sabouraud a 50 °C para ser vertido en una caja de Petri; posteriormente se hicieron pequeños pozos en el agar para depositar 5 µl de Tween 20, 40, 60 y 80 respectivamente. La lectura de asimilación se hizo a los siete días.

Resultados

De un total de 59 cultivos de *Malassezia* spp provenientes de 46 pacientes (20 con psoriasis, 15 con dermatitis seborreica y 11 con pitiriasis versicolor) y de 17 personas sanas, se obtuvieron 96 aislamientos. En la Tabla 1 se puede observar que en el grupo de pacientes con psoriasis, las especies predominantes fueron *M. sympodialis* (38,2%) y *M. furfur* (26,5%); en dermatitis seborreica, *M. sympodialis* (38,5%) y *M. slooffiae* (34,6%); en pitiriasis versicolor, *M. globosa* (46,7%) y *M. sympodialis* (26,7%). A partir de piel de individuos sanos se aislaron principalmente *M. restricta* (47,6%) y *M. globosa* (23,8%).

La asociación de dos o tres especies fue un hallazgo más frecuente en los pacientes con patología cutánea que en los individuos sanos: psoriasis 60%; dermatitis seborreica 53,3%; pitiriasis versicolor 27,3% y piel sana 23,5%. La principal asociación de especies fue entre *M. sympodialis* y *M. slooffiae* (9 casos) y entre *M. sympodialis* y *M. furfur* (5 casos). Estas asociaciones se observaron principalmente en pacientes con psoriasis.

La frecuencia global por especie identificada en los 91 aislamientos fue: *M. sympodialis* 31,3%; *M. slooffiae* 19,8%; *M. globosa* 16,6%; *M. furfur* 14,6%; *M. restricta* 12,5% y *M. obtusa* 5,2%.

Discusión

Desde el primer trabajo publicado por Eichstedt en 1846 [13] sobre la asociación entre *Malassezia* y la pitiriasis versicolor, el número de patologías relacionadas con esta levadura ha crecido e incluyen: a) infecciones causadas directamente por organismos de este género como la foliculitis, pitiriasis versicolor y la infección sistémica; b) enfermedades cutáneas como la psoriasis, otitis externa

Tabla 1. Especies de *Malassezia* identificadas en pacientes con diversas dermatosis y en piel sana.

Enfermedad	Especies identificadas (n)	Especies (n y % global)		
Psoriasis (n = 20)	- <i>M. sympodialis</i>	2	<i>M. sympodialis</i>	13 (38,2)
	- <i>M. furfur</i>	2	<i>M. furfur</i>	9 (26,5)
	- <i>M. slooffiae</i>	2	<i>M. slooffiae</i>	8 (23,5)
	- <i>M. obtusa</i>	1	<i>M. obtusa</i>	3 (8,9)
	- <i>M. globosa</i>	1	<i>M. globosa</i>	1 (2,9)
	- <i>M. furfur, M. sympodialis</i>	5		
	- <i>M. slooffiae, M. sympodialis</i>	4		
	- <i>M. furfur, M. slooffiae</i>	1		
	- <i>M. furfur, M. sympodialis, M. obtusa</i>	1		
	- <i>M. slooffiae, M. sympodialis, M. obtusa</i>	1		
Dermatitis seborreica (n = 15)	- <i>M. sympodialis</i>	3	<i>M. sympodialis</i>	10 (38,5)
	- <i>M. globosa</i>	2	<i>M. slooffiae</i>	9 (34,6)
	- <i>M. slooffiae</i>	2	<i>M. globosa</i>	3 (11,5)
	- <i>M. slooffiae, M. sympodialis</i>	4	<i>M. furfur</i>	2 (7,7)
	- <i>M. globosa, M. furfur</i>	1	<i>M. obtusa</i>	2 (7,7)
	- <i>M. slooffiae, M. sympodialis, M. obtusa</i>	2		
	- <i>M. furfur, M. sympodialis, M. slooffiae</i>	1		
Pitiriasis versicolor (n = 11)	- <i>M. globosa</i>	5	<i>M. globosa</i>	7 (46,7)
	- <i>M. sympodialis</i>	2	<i>M. sympodialis</i>	4 (26,7)
	- <i>M. furfur</i>	1	<i>M. restricta</i>	2 (13,3)
	- <i>M. sympodialis, M. globosa</i>	1	<i>M. furfur</i>	2 (13,3)
	- <i>M. furfur, M. restricta</i>	1		
	- <i>M. sympodialis, M. globosa, M. restricta</i>	1		
Piel sana (n = 17)	- <i>M. restricta</i>	8	<i>M. restricta</i>	10 (47,6)
	- <i>M. globosa</i>	4	<i>M. globosa</i>	5 (23,8)
	- <i>M. sympodialis</i>	1	<i>M. sympodialis</i>	3 (14,3)
	- <i>M. sympodialis, M. slooffiae</i>	1	<i>M. slooffiae</i>	2 (9,5)
	- <i>M. sympodialis, M. restricta</i>	1	<i>M. furfur</i>	1 (4,8)
	- <i>M. globosa, M. restricta</i>	1		
	- <i>M. furfur, M. slooffiae</i>	1		

maligna, dermatitis atópica, dermatitis seborreica, onicomicosis, pustulosis neonatal o papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot y Cartaud, en las cuales es frecuente la asociación con *Malassezia*, aunque su papel etiológico se desconoce [4-9].

A partir de la descripción de las diferentes especies de *Malassezia*, identificadas por estudios morfológicos, fisiológicos y moleculares, se han realizado estudios en diversas áreas geográficas, para establecer la asociación entre cada una de las especies y las diferentes patologías.

En nuestro estudio, incluimos tres dermatosis frecuentemente relacionadas con *Malassezia* en una población mexicana (pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica y psoriasis) además de un grupo de individuos sanos. De cada uno de los grupos estudiados, se aislaron la mayoría de las especies descritas, observando que no existe una especificidad entre microorganismo y patología, de manera que una especie se puede encontrar en más de una dermatosis y a su vez, de una dermatosis se pueden aislar diferentes especies.

En la pitiriasis versicolor, *M. sympodialis* y *M. globosa* han sido las especies más comúnmente publicadas [8,14,15]. En este estudio, estas especies también fueron las más comunes, aunque en menor proporción (46%) que la descrita por Crespo et al. [16], quienes encontraron a esta especie en 97% de los casos; las asociaciones que ellos encontraron fueron únicamente de *M. globosa* con *M. sympodialis* y *M. globosa* con *M. slooffiae*. En este trabajo el aislamiento de *M. globosa* fue como aislamiento único o asociado con *M. sympodialis*, o con *M. restricta*.

En dos estudios de dermatitis seborreica, Crespo et al. observaron que *M. restricta* y *M. globosa* fueron las especies predominantes [17,18]. En pacientes canadienses, Gupta et al. [8] encontraron *M. globosa*, *M. sympodialis* y *M. slooffiae* como las especies más comunes. En un trabajo sobre 42 pacientes, Nakabayashi et al. [14], aislaron

M. furfur como especie dominante seguida de *M. globosa*. Con lo observado en el presente estudio, en donde *M. sympodialis* fue la especie predominante seguida de *M. slooffiae* y *M. globosa*, se muestra la variabilidad de especie asociada a dermatitis seborreica.

En los pacientes con psoriasis, se obtuvo la mayor variedad de especies, el mayor número de asociaciones y un número mayor de aislamientos respecto al número de pacientes (34 de 20). En contraste, el grupo estudiado por Gupta et al. [8], presentó una menor diversidad de especies.

En individuos sanos, las especies de *Malassezia* varían de acuerdo a la región corporal estudiada. De tronco se han aislado *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. furfur* y *M. slooffiae* [8,17], mientras que en cuero cabelludo, además de estas especies se ha aislado *M. restricta* [18]. En nuestro estudio, realizado a partir de escamas de piel del conducto auditivo externo, la especie más frecuente fue *M. restricta* seguida de *M. globosa* y *M. sympodialis*.

Nuestros resultados, así como los de otros investigadores, ponen en evidencia una alta diversidad de especies de *Malassezia* asociadas a diferentes dermatosis e incluso en individuos sanos. Con excepción de la pitiriasis versicolor, estos estudios observacionales no permiten establecer el papel patogénico de estas levaduras lipofílicas en otras dermatosis; por lo tanto, será necesario realizar más estudios con bases bioquímicas, inmunológicas y moleculares para lograr ese objetivo.

Bibliografía

1. Guého E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie van Leeuwenhoek* 1996; 69: 337-355.
2. Simmons RB, Guého E. A new species of *Malassezia*. *Mycol Res* 1990; 94: 1146-1149.
3. Sugita T, Takashima M, Shinoda T, et al. New yeast species, *Malassezia dermatis* isolated from patients with atopic dermatitis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1363-1367.
4. Devos SA, van der Valk PG. The relevant of skin prick tests for *Pityrosporum ovale* in patients with head and neck dermatitis. *Allergy* 2000; 55: 1056-1058.
5. Midgley G, Guého E, Guillot J. Diseases caused by *Malassezia* species. In: Ajello L, Hay RJ (Eds.) 9th edition. *Topley and Wilson's microbiology and microbial infections*. London, Arnold, 1998: 201-211.
6. Nordby CA, Mitchell AJ. Confluent and reticulated papulomatosis responsive to selenium sulfide. *Int J Dermatol* 1986; 25: 194-199.
7. Escobar ML, Carmona-Fonseca J, Santamaría L. Onicomicosis por *Malassezia*. *Rev Iberoam Micol* 1999; 16: 225-229.
8. Gupta AK, Kaohli Y, Summerbell RC, Faergemann J. Quantitative culture of *Malassezia* species from different body sites of individuals with or without dermatosis. *Med Mycol* 2001; 39: 243-251.
9. Chai FC, Auret K, Christiansen K, Yuen PW, Gardam D. Malignant otitis external caused by *Malassezia sympodialis*. *Head Neck* 2000; 22: 87-89.
10. Pérez-Chavarría E, Castañón-Olivares LR, Tamayo L, López-Martínez R, Ruiz-Maldonado R. *Pityrosporum ovale* in seborrheic dermatitis and in other dermatoses in children. *Med Cut Iberolatinoamer* 1989; 17: 98-102.
11. Ingham E, Cunningham AC. *Malassezia furfur*. *J Med Vet Mycol* 1993; 31: 265-288.
12. Guillot J, Guého E, Lesourd M, Midgley G, Chévrier G, Dupont B. Identification of *Malassezia* species. A practical approach. *J Mycol Méd* 1996; 6: 103-110.
13. Eichstedt E. Pilzbildung in der Pityriasis versicolor. *Fröriep Neue Notis. a. d. Natur Heilk.* 1846; 39: 270. Citado en Ingham y Cunningham, 1993.
14. Nakabayashi A, Sei Y, Guillot J. Identification of *Malassezia* species isolated from patients with seborrheic dermatitis, atopic dermatitis, pityriasis versicolor and normal subjects. *Med Mycol* 2000; 38: 337-341.
15. Aspiroz C, Ara M, Varea M, Rezusta A, Rubio C. Isolation of *Malassezia globosa* and *M. sympodialis* from patients with pityriasis versicolor in Spain. *Mycopathologia* 2001; 154: 111-117.
16. Crespo EV, Ojeda MA, Vera CA, Crespo EA, Sanchez FF. *Malassezia globosa* as the causative agent of pytriasis versicolor. *Br J Dermatol* 2000; 143: 799-803.
17. Crespo EV, Ojeda MA, Vera CA, Crespo EA, Sanchez FF. Aislamiento e identificación de *Malassezia* spp. en pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica y piel sana. *Rev Iberoam Micol* 1999; 16 (suppl): S16-S21.
18. Crespo V, Delgado V. *Malassezia* species in skin diseases. *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15: 133-142.