

Colonización de especies de *Malassezia* en piel sana de niños en edad preescolar

Colonization of Malassezia Species on Healthy Skin of Preschool Children

**González de Morán, Evelyn;
Delmonte, María Lucía; Robertiz, Sandra;
Fernández, Priscila*; Mesa, Luzmila
y Rodríguez de Valero, Sofia**

Cátedra de Micología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina,
Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela
*fer_priscila@hotmail.com

Resumen

Las levaduras del género *Malassezia* forman parte de la piel normal del hombre y otros vertebrados. La reciente descripción de nuevas especies para el género ha incentivado interés en el estudio de las mismas en diversos países, por lo tanto, es importante realizar investigaciones tendentes a obtener datos epidemiológicos de las especies en países tropicales como Venezuela. El estudio se realizó en piel sana de niños en edad preescolar (2 a 7 años) Las muestras fueron tomadas de diferentes áreas del cuerpo e inoculadas en el medio modificado de Dixon y Sabouraud Dextrosa Agar e incubadas a 32 °C. La identificación de las especies se realizó siguiendo las claves descritas por Guého y col. En la población estudiada se aislaron tres especies *M. furfur*, *M. globosa* y *M. slooffiae*. La especie predominante fue *M. furfur* con un 76,2% en todos los grupos etareos, seguida de *M. globosa* 16,7% y *M. slooffiae* 7,1% En relación a las localizaciones anatómicas *M. furfur* presentó un predominio en espalda (31,2%) seguida de pabellón auricular y pecho (21,9% respectivamente). *M. globosa* se aisló con mayor frecuencia de cuero cabelludo (71,4%) y *M. slooffiae* se observó en espalda (66,7%) y pabellón auricular (33,3%). Según las pruebas estadísticas aplicadas, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos evaluados. Cabe destacar la importancia de continuar las investigaciones en otros grupos etarios, para establecer cuáles son las especies prevalentes en nuestra región y evaluar su potencial patógeno.

Palabras clave: Levaduras lipofílicas, *Malassezia*, identificación, colonización.

Recibido: 15-03-11 / Aceptado: 09-10-11

Abstract

Malassezia yeast forms part of the normal skin on man and other vertebrates. Recent descriptions of new species have stimulated interest in their study in diverse countries; it is important to conduct further research to collect epidemiological data about the species in tropical countries such as Venezuela. This study was made on healthy skins of preschool-age children (2 to 7 years). Samples were taken from different areas of the body, inoculated into a modified medium of Dixon and Sabouraud Agar and incubated at 32°C. Species identification was made following the code described by Guého and collaborators. In the population of children, three species were isolated: *M. furfur*, *M. globosa* and *M. slooffiae*. The predominant species was *M. furfur* with 76.2% in all ages studied, followed by *M. globosa*, 16.7%, and *M. slooffiae*, 7.1%. In relation to anatomical locations, *M. furfur* predominated on the back (31.2%), followed by the auricle (outer ear) and chest (21.9%), respectively. *M. globosa* was most frequently isolated from the scalp (71.4%) and *M. slooffiae* was observed on the back (66.7%) and the auricle (33.3%). According to the statistical tests applied, there were no significant differences between the evaluated groups. It is important to continue this research with other age groups, to establish the prevalent species in this region and evaluate their pathogenic potential.

Keywords: Lipophilic yeast, *Malassezia*, identification, colonization.

Introducción

Las levaduras del género *Malassezia* requieren de ácidos grasos de cadena larga (3) para su crecimiento, a excepción de *M. pachydermatis*, por lo cual son lípido-dependientes. El hábitat natural de este género es el estrato córneo de la piel y mucosas de animales homeotermos entre los que resultan característicos el perro, el gato y el hombre. La utilización de lípidos hace que la presencia de estas levaduras en el humano sea mayor en aquellas zonas con abundancia de glándulas sebáceas como espalda, pecho y cuero cabelludo (10).

Se ha señalado que la colonización de la piel sana por especies de *Malassezia* comienza durante las primeras semanas de vida, alcanzando niveles del 30% al cabo de un mes, observándose una mayor colonización (80 al 90%) en la edad adulta (10). La colonización de estas levaduras parece estar influenciada por factores raciales, sexuales y cambios estacionales (7).

En individuos sanos, las especies de *Malassezia* varían de acuerdo a la región corporal estudiada. De tronco se ha aislado *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. furfur* y *M. slooffiae*, en el cuero cabelludo además de estas especies se ha aislado *M. restricta*. En conducto auditivo externo *M. restricta*, *M. globosa* y *M. sympodialis*, evidenciándose una alta diversidad de especies en individuos sanos (9).

La prevalencia de las especies de *Malassezia* también parece estar relacionada con la edad, Gupta y col. (7) señalan que *M. furfur* y *M. globosa* son las (21) especies más aisladas en niños y adolescentes, *M. sympodialis* es la más común en (22) adultos sanos.

En los últimos años se han realizado estudios en diferentes países (3, 7, 12, 15, 16, 17, 24) que han contribuido al conocimiento de nuevas especies del género *Malassezia*, así como la influencia de diversos factores en la prevalencia de estas levaduras en la piel de individuos sanos y su papel como patógenos emergentes.

El objetivo de este trabajo fue determinar la colonización de especies del género *Malassezia* en piel sana de niños en edad preescolar.

Materiales y métodos

Población

De una población de 246 preescolares pertenecientes a la Unidad Educativa colegio Altamira, Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, se seleccionaron al azar el 33% de la población total (80 estudiantes) 42 del sexo femenino y 38 del masculino sin lesiones en piel, en edades comprendidas entre 2 y 7 años.

Recolección y procesamiento de las muestras

Las muestras de la piel de los niños en estudio, se tomaron de cuero cabelludo, pabellón auricular, pecho y espalda. De cada región anatómica se obtuvo dos muestras empleando el método de la impronta con cinta plástica transparente. Para ello se aplicó un trozo de cinta transparente pegante en cada área a estudiar presionando firmemente. Con la finalidad de observar las estructuras características (blastocnidias, de forma y tamaño variable) de *Malassezia* se efectuó el examen directo colocando una de las improntas sobre una lámina porta objeto y se le agregó una gota de azul de metileno al 0,25% y se observó al microscopio con objetivo de 40X.

Para realizar los cultivos, las muestras fueron inoculadas en placas de petri con el (18) medio de cultivo de Dixon agar, y se incubaron a 32 °C por 7 días. Las placas que (19) no presentaron crecimiento característico de *Malassezia* se reportaron como negativas a los 14 días de incubación. Las colonias compatibles con *Malassezia* spp se sub-

cultivaron en Dixon agar para identificar las especies.

Identificación de los aislados

Se realizó siguiendo las claves para la identificación de especies descritas por Ghueho y col. (5), el test de difusión en tween propuesto por Guillot y col. (6) y la prueba de la catalasa.

El estudio macroscópico de los aislados se realizó en base a la consistencia, aspecto y color de las colonias. Para el examen microscópico se efectuó un montaje de las colonias con azul de metileno al 0,25%, y se observó la forma y tamaño de las blastocnidias.

Para el test de difusión en tween, se utilizó una placa de Petri con el medio Sabouraud dextrosa agar previamente licuado al cual se le adicionó una suspensión de la colonia a identificar. Una vez solidificado se le realizaron orificios de 3 mm, con un sacabocado y se colocó con la ayuda de una micropipeta automática en cada uno de los orificios 5 µL de tween 20, tween 40, tween 60 y tween 80. Se incubó a 32 °C por 7 días. Se leyó como positiva la formación de un halo de crecimiento alrededor de los diferentes tween. La prueba de la catalasa se realizó colocando una gota de peróxido de hidrógeno de 10 volúmenes, en una lámina porta objeto, añadiendo una asada de la cepa a investigar. Se interpretó como positiva la formación de burbujas de aire.

Análisis estadístico

Los resultados se presentaron como frecuencias absolutas y relativas. Para identificar las diferencias estadísticas en las variables estudiadas se realizaron tablas de contingencia y se practicó las pruebas del test exacto de Fisher's y chi χ^2 cuadrado según correspondió. Se tomó el 95% como índice de confiabilidad estadística ($p < 0.05$).

Resultados

De 80 preescolares evaluados, 29 (36.3%) resultaron positivos, correspondiendo el 27,6% al grupo etario de 2 a 4 años y el 72,4% al grupo de 5 a 7 años (Tabla 1). Los aislados se identificaron como *Malassezia furfur*, *Malassezia globosa* y *Malassezia slooffiae*, con base en el estudio macro y micro morfológico, la asimilación de tween (20, 40, 60 y 80) y la prueba de la catalasa. *M. furfur* fue la especie predominante con un 76,2% en todos los grupos etarios estudiados, seguida por *M. globosa* 16,7% y *M.*

slooffiae 7,1%. Sin embargo, este predominio no tuvo significancia estadísticas (Tabla 2). La distribución de *M. furfur* en diferentes sitios anatómicos presentó un predominio en espalda (31,2%) seguido de pabellón auricular (25,0%), cuero cabelludo (21,9%) y pecho (21,9%). *M. globosa* se aisló con mayor frecuencia en cuero cabelludo (71,4%) observándose en pabellón auricular y espalda en un 14,3% respectivamente. *M. slooffiae* se aisló en un 66,7% de espalda y en un 33,3% de pabellón auricular no encontrándose en cuero cabelludo y pecho (Tabla 3).

Tabla 1. *Malassezia* spp en piel sana de preescolares según grupo etario.

Edad (años)	Presencia		Ausencia		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
2-4	8	27,6	21	41,0	29	36,3
5-7	21	72,4	30	59,0	51	63,7
Total	29	100,0	51	100,0	80	100,0

Tabla 2. Especies de *Malassezia* aisladas de piel sana de preescolares según grupo etario.

Edad (años)	Especies de <i>Malassezia</i>						Total	
	<i>M. furfur</i>		<i>M. globosa</i>		<i>M. slooffiae</i>		Nº	%
	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
2-4	10	76,9	2	15,4	1	7,7	13	100
5-7	22	75,9	5	17,2	2	6,9	29	100
Total	32	76,2	7	16,7	3	7,1	42	100

Tabla 3. Especies de *Malassezia* aisladas de piel sana de preescolares distribuidos según localización anatómica.

Especies de <i>Malassezia</i>	Localización anatómica								Total	
	CC		PA		PE		ESP		Nº	%
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
<i>M. furfur</i>	7	21,9	8	25,0	7	21,9	10	31,2	32	100
<i>M. globosa</i>	5	71,4	1	14,3	-	-	1	14,3	7	100
<i>M. slooffiae</i>	-	-	1	33,3	-	-	2	66,7	3	100
Total	12	28,6	10	23,8	7	16,7	13	30,9	42	100

CC: Cuero cabelludo. PA: Pabellón auricular. PE: Pecho. ESP: Espalda.

Discusión

Las levaduras del género *Malassezia* son consideradas como parte de la flora normal de piel de humanos y otros vertebrados de sangre caliente (11). La mayoría de las especies requieren de ácidos grasos de cadena media y larga como fuente de carbono, por lo que son llamadas levaduras lipofílicas (9).

A partir de la descripción de nuevas especies de *Malassezia*, identificadas por estudios morfológicos, fisiológicos y moleculares, se han realizado investigaciones en diversas áreas geográficas, para establecer la prevalencia de estos hongos en individuos sanos, así como la asociación entre cada una de las especies y las diferentes patologías (9).

En esta investigación 29 (36,3%) de los preescolares estudiados fueron positivos para *Malassezia* spp coincidiendo con los resultados obtenidos por Gupta y col. (7) donde el 36,3% de individuos entre 0 a 14 años de edad fueron positivos para *Malassezia*, indicando esto que la cantidad de especies de *Malassezia* aisladas en niños es baja si se compara con otros grupos etarios. Cabe destacar que estos resultados difieren de los obtenidos por Bergbrant y Broberg (1) en los cuales la cantidad de *Malassezia* recuperada de la piel de niños sanos fue alta (87%). Faergemann y Fredrickson (4) no encontraron especies de *Malassezia* en niños menores de 5 años.

Es de resaltar que la edad ha sido considerada como un factor implicado en la cantidad de *Malassezia* aislada de piel sana. En general se ha observado que la prevalencia de estas levaduras es más alta en adultos que en niños (7), reportándose un índice de colonización de *M. furfur* muy bajo en niños sanos, siendo su aislamiento ocasional en grupos etarios de 4 a 10 años incrementándose en la pubertad; confirmándose la importancia que

tienen los cambios en la composición de aminoácidos, lípidos y sebo en la etapa de la preadolescencia y adolescencia (14).

Al evaluar la prevalencia de las especies aisladas en niños en edad preescolar encontramos que *M. furfur* (76,2%) fue la especie con mayor número de aislamientos, seguida de *M. globosa* (16,7%) y *M. slooffiae* (7,1%). Resultados que coinciden con los obtenidos por Gupta y Kohli (7) donde *M. furfur* (64,5%) fue la especie significativamente más frecuente en el grupo etario de 0 a 3 años de edad y *M. globosa* (59,7%) en el grupo de 4 a 14 años. Sin embargo estos resultados difieren de los obtenidos por otros investigadores. Hernández y Colaboradores (9), en México reportaron a *M. restricta* como la más frecuente (47,6 %) seguida de *M. globosa* (23,8%) en piel sana; Crespo y col. (2) en España aislaron a *M. sympodialis* con un 91,7% seguida de *M. restricta* (63,9%) asociada con *M. globosa*. En Suecia, Sandstrom y col. (13) reportaron que *M. sympodialis* fue la especie más aislada en piel sana. Se ha señalado que es posible que los factores climatológicos jueguen 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. globosa* y *M. furfur* en climas tropicales (11, 7).

En relación a la distribución de las especies de *Malassezia* aisladas en las diferentes áreas del cuerpo, en esta investigación se observó un predominio de *M. furfur* y *M. slooffiae* en espalda (31,2% y 66,7% respectivamente) y *M. globosa* en cuero cabelludo (71,4%). Resultados que coinciden con los obtenidos por Gupta y col. (7) quienes reportaron la espalda como el sitio anatómico más frecuente para *M. furfur* y *M. slooffiae* y cuero cabelludo para *M. globosa*, resultados que a su vez discrepan con los presentados en

otra investigación (8) donde *M. globosa* y *M. slooffiae* se aislaron con mayor frecuencia de cuero cabelludo. Es oportuno destacar que el predominio de las especies de *Malassezia* varía según la región corporal estudiada. De tronco se han aislado *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. furfur* y *M. slooffiae* y en cuero cabelludo, además de esas especies se ha aislado *M. restricta*, en escamas del conducto auditivo externo la especie más frecuente es *M. restricta*, seguida de *M. globosa* y *M. sympodialis* (9).

Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que la colonización de las especies *Malassezia* pueden tener relación con factores como la edad y localización anatómica en el grupo de preescolares estudiados.

Referencias bibliográficas

- (1) Bergbrant, I; Broberg, A. (1994). *Pityrosporum ovale* culture from the forehead of healthy children. Acta Derm Venereol (Stockh) 74: 260-261.
- (2) Crespo, E; Ojeda, A; Vera, A; Crespo, A; Sánchez, F. (1999). Aislamiento e identificación de *Malassezia spp.* en pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica y piel sana. Rev Iberoamer Micol. 16: S16-S21. Derbel, M; Benzina, Z; Ghorbel, I; Abdelmoula, S; Makni, F; Ayadi, A; Feki, J. (2005). *Malassezia* fungal blepharitis: a case report. J. Fr Ophtalmol Oct; 28 (8): 862- 865.
- (3) Faegemann, J; Fredrikson, T. (1980). Age incidence of *Pityrosporum orbiculare* on human skin. Acta Derm Venereol. 60: 531-533.
- (4) Guého, E; Midgley, G; Guillot, J. (1996). The genus *Malassezia* with description of four new species. Antonie Van Leeuwenhoek 69: 337-335.
- (5) Guillot, J; Guého, E; Lesourd, G; Midgley, G; Chévrier, G; Dupont, B. (1996). Identification of *Malassezia* species. A practical approach. J Mycol Med 6: 103-110.
- (6) Gupta, A; Kohli, Y. (2004). Prevalence of *Malassezia* species on various body sites in clinically healthy subjects representing different age groups. Medical Mycology February; 42: 35-42.
- (7) Gupta, A; Kohli, Y; Summerbell, R; Faergemann, J. (2001). Quantitative culture of *Malassezia* species from different body sites of individuals with or without dermatoses. Medical Mycology 39 (3) Junio 01: 243-259.
- (8) Hernández, F; Méndez, L; Tovar, E; Bazán, E; Arévalo, A; Valera, A; López, R; (2003). Especies de *Malassezia* asociadas a diversas dermatosis y a piel sana en población mexicana. Revista Iberoamericana de Micología 20:141-144.
- (9) Juncosa, T; González, A; Aleyeto, J; Muñoz, C; Moreno, J; Gené, A; Latorre, C. (2002). Colonización cutánea neonatal por *Malassezia spp.* Medicina y Neonatología 57 (5); 452-456.
- (10) Midgley, G. (2000). The lipophilic yeast: state of art and prospects. Medical Mycology 38, Supplement 1: 9-16.
- (11) Rodríguez, S; Mesa, L; González, E; Delmonte, M; Robertis, S; Valero A (2005). Caracterización fenotípica de especies de *Malassezia* en piel sana de población estudiantil universitaria. Investigaciones Clínicas 46 (4): 329-335.
- (12) Sandstrom, M; Bartosik, J; Back, O. (2001). The prevalence of the *Malassezia* yeasts in patients with atopic dermatitis, seborrheic dermatitis and healthy controls. J Eur Acad Dermatol Venerol 15 (Supl 2): 104-274 (Abstract).
- (13) Silva, V; Di Tilia, C; Fishman, O. (1995-96). Skin colonization by *Malassezia furfur* in healthy children up to 15 years old. Mycopathol 132:143-145.
- (14) Sugita, T; Tajima, M; Takashima, M; Amaya, M; Saito, M; Tsuboi, R; Nishikawa, A. (2004). A new yeast, *Malassezia yamatoensis*, isolated from patient with seborrheic dermatitis, and its distribution in patients and healthy subjects. Microbiol Immunol 48 (8): 579-83.
- (15) Sugita, T; Takashima, M; Kodama, M; Tsuboi, R; Nishikawa, A. (2003). Descrip-

- tion of a new yeast species, *Malassezia japonica*, and detection in patients with atopic dermatitis and healthy subjects. *J Clin Microbiol* 41 (10): 4695-4699.
- (16) Tarazooie, B; Kordbache, P; Zaini, F; Zomorodian, K; Saadat, F; Zeraati, H; Hallaji, Z; Rezaire, S. (2004). Study of the distribution of *Malassezia* species in patients with pityriasis versicolor and healthy individuals in Tehran, Iran. *BmC Dermatol* May 1; 4: 5.