

Artículo Invitado

## Identificación de la especie predominante de *Malassezia* sp en muestras de pacientes con pitiriasis versicolor, foliculitis y dermatitis seborreica

C. Castillo<sup>1</sup>, G. Chacón<sup>1</sup>, N Del Cid<sup>1</sup>, L. Lemus<sup>1</sup>, A. Zamboni<sup>1</sup>,  
H. Logeman, V. Matta<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

### Resumen

*Malassezia* sp. es un hongo dimórfico, el cual es posible aislarlo de la piel humana por ser microbiota normal de la piel. Es reconocido como agente causal de tres micosis superficiales: pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica y foliculitis. El desarrollo de dichas patologías se ve influenciado por factores como el clima cálido y una exposición prolongada al sol. En el presente estudio se realizó el muestreo en tres bases militares del pacífico con una población total de 1,261 pacientes. Se evaluó un total de 95 muestras de pacientes que presentaron lesiones sugestivas de pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica o foliculitis. El examen directo con KOH y tinta Parker reveló la presencia de micelio y/o levaduras en el 62% de las muestras. Se cultivó inicialmente Sabouraud con antibióticos y agar Sabouraud con antibióticos y aceite de oliva. De dichos cultivos se obtuvo un crecimiento levaduriforme en 31 muestras (33%). Para la identificación subsiguiente se utilizó agar diferencial de Dixon modificado, obteniéndose un 90% (28 muestras) de crecimiento. Estas muestras fueron sembradas en agar Sabouraud simple obteniéndose crecimiento únicamente en 8 de ellas (29%), las que fueron eliminadas del estudio por ser identificadas como levaduras no lipofílicas. Las 20 muestras restantes, correspondientes al 71%, fueron sometidas a las pruebas bioquímicas de catalasa y ureasa; y evaluación microscópica con azul de lactofenol, obteniéndose resultados correspondientes a *Malassezia furfur*, lo cual permite afirmar que esta especie es el agente causal de las lesiones de pitiriasis versicolor en Guatemala.

### Introducción

*Malassezia* sp. es un hongo dimórfico que presenta una forma micelial y una forma levaduriforme de pared gruesa y tiene una producción de blastoconidios mediante un proceso monopolar repetitivo y de germinación simpodial. Es posible aislarlo de la piel humana y de animales de sangre caliente, ya que se reconoce como perteneciente a la microbiota normal de la piel (1). Es reconocido como agente causal de tres micosis superficiales: pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica y foliculitis. Estas patologías se desencadenan por la alteración

de la microbiota normal, mediada por factores del hospedero y del medio ambiente (2). La mayoría de casos se presentan en áreas cálidas como Escuintla, Retalhuleu y Puerto Barrios, lo cual está asociado a exposición al sol por tiempos prolongados.

Por el desconocimiento de la existencia de las siete especies de *Malassezia*, actualmente se considera que estas patologías son causadas únicamente por *Malassezia furfur*, por lo que se hace necesario identificar la principal especie de *Malassezia* responsable de estas patologías en el país.

Durante la presente investigación se realizó un raspado de lesiones sugestivas de las patologías antes mencionadas, en soldados destacados e tres Bases Militares del Pacífico se realizó un examen directo (KOH + Tinta Parker); se cultivó inicialmente en agar Sabouraud con antibióticos y agar Sabouraud con antibióticos y aceite de oliva. Las muestras con crecimiento en agar Sabouraud con antibióticos y aceite de oliva fueron sembradas en medio Dixon modificado y las colonias obtenidas fueron sometidas a pruebas bioquímicas confirmatorias.

Los objetivos del estudio fue identificar las especies causantes de pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica y foliculitis en Guatemala, así como establecer una comparación entre los datos obtenidos durante el estudio y los datos reportados de mas reciente publicación.

Los resultados obtenidos indican que el porcentaje de recuperación de *Malassezia* fue menor al esperado, considerando que se vio disminuido por factores contaminantes al momento de la toma de muestra. Además con las pruebas bioquímicas y examen microscópico con azul de lactofenol se obtuvieron resultados correspondientes a *Malassezia furfur* lo cual permite afirmar que esta especie es la que predomina en lesiones de pitiriasis versicolor.

### Procedimiento

Se realizó el muestreo en el personal de tres Bases Militares del pacífico: Base Naval del pacífico, Base de Tropas Paracaidistas "General Felipe Cruz" y la Base Militar No. 12 de Santa Lucía

Cotzumalguapa. Las muestras se obtuvieron por raspado de lesiones y se realizó un examen directo inicial y posteriormente un cultivo. Para el examen directo se utilizó la técnica de KOH con tinta Parker. El aislamiento primario de los hongos levaduriformes se realizó sembrando las muestras en agar Sabouraud con antibióticos y agar Sabouraud con antibióticos y aceite de oliva con incubación a temperatura ambiente por 14 días. Posteriormente se procedió al estudio de la morfología macro y microscópica de las colonias, utilizando para ello preparaciones con azul de lactofenol. Las colonias levaduriformes sugestivas de *Malassezia* fueron resembradas en medio Dixon modificado, e incubadas a temperatura ambiente por 15 días. Posteriormente se realizó la observación microscópica de la morfología de las colonias obtenidas utilizando azul de lactofenol. Por falta de cepas control fue necesaria una resiembra de las colonias sugestivas en agar Sabouraud simple, a fin de descartar la presencia de cualquier levadura no lipofílica. A las muestras que no presentaron crecimiento en agar Sabouraud simple se le realizaron las pruebas bioquímicas de catalasa y ureasa.

Los datos obtenidos se expresaron en porcentajes.

### Resultados

La población del estudio fue de 1,261 pacientes, distribuidos en las tres bases Militares de la siguiente forma: 51 pacientes de la Base Naval del Pacífico, 1000 pacientes de la Base de Tropas Paracaidistas "General Felipe Cruz" y 210 pacientes de la Base Militar No. 12 Santa Lucía Cotzumalguapa.

El 100% de los pacientes llenaban la característica de exposición diaria al sol por largos periodos de tiempo.

En la evaluación se identificaron 95 pacientes que presentaban lesiones sugestivas de pitiriasis versicolor o dermatitis seborreica; de ellos 94 varones y una mujer, en edades comprendidas entre 18 y 35 años. De los 95 pacientes evaluados, 79 (el 83%) presentaron lesiones hipocrómicas, 10 (el 11%) hiperocrómicas y 6 (el 6%) no presentaban color.

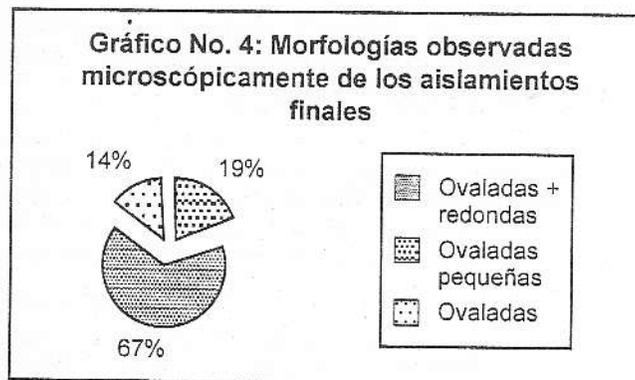
Las regiones del cuerpo afectadas se presentan en el siguiente cuadro:

| REGIÓN    | CANTIDAD | PORCENTAJE |
|-----------|----------|------------|
| • Brazo   | 36       | 37.9       |
| • Otro    | 17       | 17.9       |
| • Cuello  | 13       | 13.7       |
| • Espalda | 9        | 9.5        |
| • Cabeza  | 6        | 6.3        |
| • Tórax   | 5        | 5.3        |
| • Cara    | 4        | 4.2        |
| • Mano    | 2        | 2.1        |
| • Pierna  | 2        | 2.1        |
| • Cintura | 1        | 1.00       |

El 95.6% de las lesiones evaluadas presentaron características sugestivas de dos de las patologías causadas por *Malassezia*, distribuidas en 84% de pitiriasis versicolor y el 11.6% de dermatitis seborreica. El examen directo con KOH y tinta Parker reveló la presencia de micelio y/o levaduras en el 62% de las muestras.

En el cultivo primario en agar Sabouraud con antibióticos y aceite de oliva se obtuvo crecimiento levaduriforme en 31 muestras (33%) y el 67% restante se descartó del estudio debido a que presentó un crecimiento filamentososo.

Estas 31 muestras fueron resembradas en el agar selectivo de Dixon modificado, obteniéndose crecimiento en el 90% (28 muestras), estas fueron resembradas en agar Sabouraud simple obteniéndose crecimiento en 8 de ellas (29%) las que fueron eliminadas del estudio al ser identificadas como levaduras no lipofílicas. Las 20 muestras restantes correspondientes al 71%, fueron sometidas a las pruebas bioquímicas de catalasa y todas dieron un resultado positivo. Luego se les realizó el test de ureasa, en el cual 15 muestras fueron positivas (75%) y 5 fueron negativas (25%). Las 20 muestras finales fueron evaluadas microscópicamente, utilizando azul de lactofenol, para determinar la morfología de las colonias; y se obtuvo el siguiente resultado:



### Discusión de resultados

En los últimos años se ha realizado la identificación del género *Malassezia* sobre la base de sus características distintivas; pero es muy poco lo que se ha publicado de las 7 nuevas especies identificadas más recientemente. En Guatemala aún no se han realizado estudios relacionados al tema, por lo que se considera que *Malassezia furfur* es la especie predominante, en los diagnósticos de pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica y foliculitis

El desarrollo de estas patologías se ve influenciado por factores como el clima cálido y una exposición prolongada al sol. Durante este estudio se pudo comprobar que estos factores predisponen a los pacientes a estas dolencias ya que quienes eran originarios de tierra más templada o fría refirieron que sufrían las molestias desde que estaban en la costa y las alteraciones se veían favorecidas por los prolongados periodos de exposición al sol durante los entrenamientos.

Al analizar la apariencia de todas las muestras obtenidas se puede establecer que el 84% presentaba características clínicas indicativas de pitiriasis versicolor, el 11.6% presentaba características de dermatitis seborrética y el 4.4% restante presentaba características clínicas indicativas de dermatofitosis.

En la actualidad, el establecimiento de un diagnóstico de pitiriasis versicolor o dermatitis seborrética se realiza por la apariencia de las lesiones, la información clínica del paciente y el examen microscópico inicial. El 95% de los pacientes presentó lesiones sugestivas de una de las dos patologías, y únicamente el 62% de las muestras evidenció la presencia de levaduras o micelio en el examen microscópico inicial. Las condiciones en las que se encontraban los pacientes, como el hacinamiento, presencia de tierra y polvo exposición a bacterias y esporas probablemente favorecieron la contaminación de las muestras con agentes que pudieron encubrir a *Malassezia*. Se considera que este disminuyó en una proporción significativa el porcentaje esperado de recuperación de *Malassezia*, tomando en cuenta la elevada incidencia de las patologías (en especial pitiriasis versicolor) que se reporta en el área de la costa.

Dados los requerimientos para el crecimiento primario de *Malassezia* fue necesario utilizar el medio Sabouraud con antibióticos y aceite de oliva para lograr un óptimo desarrollo. Esto facilitó el descarte inicial de hongos levaduriformes no lipofílicos, para continuar así con las demás pruebas de identificación.

Uno de esos procedimientos de identificación fue la siembra en medio diferencial de Dixon modificado, el cual se considera específico para el crecimiento de *Malassezia* y descarta el

crecimiento de otros hongos saprofitos. Este medio, junto con los agares de Sabouraud con antibióticos y Sabouraud con antibióticos y aceite de oliva, constituyeron un procedimiento de selección e identificación del género *Malassezia* para ello una cepa control de *Candida albicans* la cual debía crecer en los tres medios, a diferencia de *Malassezia*, que por ser un hongo lipofílico sólo debía crecer en Sabouraud con antibióticos y aceite de oliva y Dixon.

Al final se obtuvo un total de 20 muestras sugestivas del género *Malassezia*, a las que se les realizó las pruebas de catalasa y ureasa. En cuanto a la morfología microscópica de las 20 muestras finales, el 100% de ellas fueron levaduras ovaladas, la mayoría pequeñas y sólo unas pocas redondas. De acuerdo Guého y colaboradores la morfología de *Malassezia furfur* es pleomórfica, la cual concuerda con lo observado en las muestras de este estudio. A esto se añade que todas las muestras exhibieron una reacción positiva de catalasa, concordando con lo reportado en literatura (3).

Con los resultados obtenidos se concluye que el agente causal en muestras obtenidas de lesiones de pitiriasis versicolor en Guatemala es *Malassezia furfur*.

Inicialmente se consideró que probablemente *Malassezia globosa* podría haber sido la especie predominante en Guatemala, de forma similar a lo recientemente reportado en España, pero se descarta esta posibilidad en base a los resultados obtenidos.

#### Referencias

- Guého E., Mikhley G., Guillot J. The genus *Malassezia* with description of seven new species. A van Leeuwenhoek 1996; 69: 337-355.
- Logemann Lima HE. Manual Práctico de Micología Médica. Primera Edición. Guatemala. 1995.
- Gupta AK., Kohli Y., Summerbell RC. Molecular differentiation of seven *Malassezia* species. J. Clin Microbiol 2000; 38: 1869-1875.